



O Papel da Calcineurina na Biossíntese de Polifosfatos

Manuela Izabel Paes Pinto, Daphne Alves Dias, Mayara Mayara Cristina de Freitas Correia, Sílvia Aparecida Ribeiro dos Santos, Lev Okorokov, Anna Okorokova-Façanha

Polifosfatos inorgânicos (poliP) são biopolímeros presentes em todas as células vivas, são moléculas armazenadoras de energia e fosfato. Células com alta demanda energética e poder proliferativo, como as neurais, cardíacas, hepáticas, imunológicas e tumorais, são ricas em polifosfatos. Polifosfatos são armazenados em vacúolos, onde sua síntese e translocação requer H⁺-ATPases, mas também são presentes no núcleo, onde participam na síntese de DNA, em mitocôndria, e na membrana plasmática de células animais, onde modulam a resposta imune. A síntese e translocação desse biopolímero requer energização de membrana por V-H⁺-ATPases, sendo que foi sugerido a ativação e regulação desse sistema de transporte de prótons pela calcineurina, uma proteína fosfatase Ca²⁺/calmodulina dependente, alvo de alguns fármacos imunossupressores. Objetivamos evidenciar a modulação diferenciada de níveis de polifosfatos pela V-ATPase e o papel da calcineurina na biossíntese e estoque desse polímero. A metodologia proposta inclui a quantificação de polifosfatos solúveis (de baixo peso molecular, fração ácido-solúvel) e insolúveis (cadeias longas de alto peso molecular, mais de 75 resíduos de fosfato na cadeia) realizada através de extrações de células selvagens e células mutante de levedura de físsão *Schizosaccharomyces pombe* com deleção em gene de calcineurina (ppb1). Os resultados apontam que o conteúdo de fosfato e polifosfatos solúvel em levedura *S. pombe* em cepa mutante com ausência de calcineurina resultou no aumento do conteúdo de ortofosfatos em 41%, polifosfatos solúveis em 57% e de polifosfatos insolúveis em 133%. Como a síntese e a translocação de polifosfatos para vacúolo dependem do gradiente eletroquímico de prótons estabelecido pela V- H⁺-ATPase através da membrana vacuolar, mudanças na síntese refletem as alterações no funcionamento de V-ATPase. Os resultados indicam a modulação da atividade de V-ATPase pela calcineurina e estabelecem o link entre biossíntese de polifosfatos e sinalização celular de cálcio.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF

Eixo temático: PPG Biociências e Biotecnologia

Fomento da bolsa (quando aplicável): UENF

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:

APOIO:

XV Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28º
Encontro de Iniciação Científica da UENF

20º
Círculo de Iniciação Científica do IFFluminense

16ª
Jornada de Iniciação Científica da UFF



VIII Congresso Fluminense de Pós-Graduação

23ª
Mostra de Pós-Graduação da UENF

8ª
Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

8ª
Mostra de Pós-Graduação da UFF

The Role of Calcineurin in Polyphosphate Biosynthesis

Manuela Izabel Paes Pinto, Daphne Alves Dias, Mayara Mayara Cristina de Freitas Correia, Sílvia Aparecida Ribeiro dos Santos, Lev Okorokov, Anna Okorokova-Façanha

Inorganic polyphosphates (polyP) are biopolymers present in all living cells, representing energy and phosphate storage molecules. Cells with high energetic demand and proliferative capacities, such as neural, cardiac, hepatic, immunological, and tumor cells, are rich in polyphosphates. Polyphosphates are stored in vacuoles, where their synthesis and translocation require H⁺-ATPases, but are also present in the nucleus, where they participate in DNA synthesis, in mitochondria, and in the plasma membrane of animal cells, where they modulate the immune response. The synthesis and translocation of polyP requires energization of cells membranes by V-H⁺-ATPases, and the activation and regulation of this proton pump was suggested to be modulated by calcineurin, a Ca²⁺/calmodulin-dependent protein phosphatase targeted by some immunosuppressive drugs. Present work aims to demonstrate differential modulation of polyphosphate levels by V-ATPase, and the role of calcineurin in the biosynthesis and storage of this polymer. The proposed methodology includes quantification of soluble (low molecular weight, acid-soluble fraction) and insoluble polyphosphates (long chains of high molecular weight, more than 75 phosphate residues in the chain) performed through extractions from wild-type and mutant fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* cells with deletion in the calcineurin gene (ppb1). The results suggest that the content of phosphate and soluble polyphosphates in the *S. pombe* mutant strain lacking calcineurin resulted in an increase in the content of orthophosphates by 41%, soluble polyphosphates by 57%, and insoluble polyphosphates by 133%. Since the synthesis and translocation of polyphosphates to the vacuole depend on the proton electrochemical gradient established by V-H⁺-ATPase across the vacuolar membrane, changes in polyP synthesis reflect alterations in the functioning of V-H⁺-ATPase. The data indicate the modulation of V-H⁺-ATPase activity by calcineurin and establish the link between polyphosphate biosynthesis and calcium signaling.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:

APOIO: