

XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Círculo de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



U III Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Papel da calcineurina na biossíntese de polifosfatos durante a resposta ao estresse do retículo endoplasmático

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

Os polifosfatos (PolyP) são biopolímeros presentes em todas as células, são moléculas armazenadoras de energia e fosfato. Células com alta demanda energética e poder proliferativo, como as imunológicas e tumorais, são ricas em PolyP. A síntese e acúmulo dos PolyP em compartimentos ácidos como vacúolos requer V-H⁺-ATPase. A calcineurina, proteína fosfatase Ca²⁺/calmodulina dependente, alvo de alguns fármacos imunossupressores, participa no controle do ciclo celular, na regulação da homeostase iônica, incluindo V-H⁺-ATPase e Ca²⁺-ATPases, e resposta ao estresse do retículo endoplasmático (ERE). Deleção de calcineurina em leveduras resulta em ERE. As células tumorais apresentam constante ERE, juntamente com reprogramação metabólica e bioenergética. A curcumina, composto natural com atividade anti-oxidativa e anti-tumoral, quando usado em leveduras, causa depleção dos estoques de ferro no retículo endoplasmático, promovendo ERE. O plano de trabalho teve como objetivo elucidar a regulação da síntese de PolyP durante o estresse do retículo endoplasmático dependente de calcineurina. Para isso, foram realizados ensaios com células de levedura de fissão *Schizosaccharomyces pombe* selvagem (Fy1180) e mutante deficiente de calcineurina (ppb1) na presença de cálcio e curcumina, sendo eles: cultivo e análise de proliferação celular, determinação de conteúdo de PolyP e análise de morfologia vacuolar. A cepa Fy1180 apresentou um crescimento melhor que a mutante ppb1, indicando que a proliferação depende da calcineurina. Além disso, ppb1 apresentou células multisseptadas com polaridade celular aberrante e, conseqüentemente, problemas na citocinese, enquanto Fy1180 apresentou divisão celular normal e morfologia de bastão. A ppb1 parece ser mais sensível a 50 mM de CaCl₂ que Fy1180, indicando perturbação na homeostase de Ca²⁺. Em contraste, Fy1180 teve crescimento inibido mais que duas vezes com 10 µM e totalmente inibido com 50 µM curcumina, já ppb1 mostrou resistência à curcumina nas duas concentrações, sugerindo que via de calcineurina pode ser alvo de curcumina. Análise de conteúdo de polifosfatos revelou níveis alterados em ppb1, o que poderia explicar a baixa sobrevivência desse mutante sob ERE. A análise da morfologia vacuolar mostrou que deleção de calcineurina resultou em maior número de vacúolos, com a possibilidade de ocorrência de fragmentação vacuolar. Assim, conclui-se que calcineurina regula a dinâmica vacuolar e suas funções como síntese e reservas de PolyP. Como ausência de calcineurina promove ERE, os dados estabelecem link entre acúmulo de PolyP, bioenergética celular e resposta a proteínas mal enoveladas.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF

Eixo temático: UENF - Ciências Biológicas

Fomento da bolsa (quando aplicável): UENF

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



U III Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Role of Calcineurin in Polyphosphates Biosynthesis During the Endoplasmic Reticulum Stress Response

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

Polyphosphates (PolyP) are biopolymers present in all cells, representing energy and phosphate storage molecules. Cells with high energy demand and proliferative capacity, such as immune and tumor cells, are rich in PolyP. PolyP synthesis and accumulation in acidic compartments such as vacuoles requires V-H⁺-ATPase. Calcineurin, a Ca²⁺/calmodulin-dependent protein phosphatase, target of some immunosuppressive drugs, participates in cell cycle control, regulation of ion homeostasis, including V-H⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPases, and endoplasmic reticulum (ER) stress response. Calcineurin deletion in yeast results in ERE. Tumor cells exhibit constant ERE, along with metabolic and bioenergetic reprogramming. Curcumin, a naturally occurring compound with anti-oxidative and antitumor activity, when used in yeast, promotes depletion of iron levels in the ER, promoting ER stress. The present study aimed to elucidate the regulation of PolyP synthesis during calcineurin-dependent endoplasmic reticulum stress. For this, assays were carried out with wild-type fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* cells (Fy1180) and calcineurin-deficient mutant (ppb1) in the presence of calcium and curcumin, namely: cultivation and analysis of cell proliferation, determination of PolyP content and analysis of vacuolar morphology. The Fy1180 strain showed better growth than the ppb1 mutant, indicating that proliferation depends on calcineurin. Furthermore, ppb1 showed multiseptated cells with aberrant cell polarity and, consequently, cytokinesis problems, while Fy1180 showed normal cell division and rod morphology. Strain ppb1 appears to be more sensitive to 50 mM CaCl₂ than Fy1180, indicating disturbance in Ca²⁺ homeostasis. In contrast, Fy1180 growth was inhibited more than twice with 10 μM and completely inhibited with 50 μM curcumin, whereas ppb1 showed resistance to curcumin at both concentrations, suggesting that the calcineurin pathway may be a target for curcumin. Analysis of polyphosphate content found altered levels in ppb1 cells, which could explain the poor survival of this mutant under ER stress. Examination of vacuolar morphology revealed that calcineurin deletion resulted in a higher number of vacuoles, with the possibility of vacuolar fragmentation. In conclusion, our data show that calcineurin regulates vacuolar dynamics and vacuolar functions as PolyP synthesis and storage. As deletion of calcineurin promotes ERE, the data establish a link between polyP accumulation, cellular bioenergetics and response to misfolded proteins.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

