

Modularidade Gênica das Famílias da Dissulfeto Isomerase Proteica e do Inibidor da Dissociação de Guanina: Estudos Computacionais, Moleculares e Funcionais.

JESSYCA PAVANELLI

Orientador: Prof^o Dr. Francisco Rafael Martins Laurindo
Programa de Cardiologia

RESUMO

Pavanelli J C P. *Modularidade gênica das famílias da dissulfeto isomerase proteica e do inibidor da dissociação de guanina: estudos computacionais, moleculares e funcionais [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.*

Vias redox são importantes reguladores da homeostase e sinalização celular, mas o entendimento dos mecanismos desses processos é incompleto. TioI-proteínas como a dissulfeto isomerase proteica (PDI) podem ser moduladores dessas vias. A PDI(PDIA1) é o protótipo da família das PDIs, cuja função canônica é o enovelamento redox de proteínas no retículo endoplasmático. Além disso, PDI exerce regulação de NADPH oxidases, as principais fontes de oxidantes celulares, e é necessária para ativação de RhoGTPases, organização do citoesqueleto e migração de células vasculares. No estudo de mecanismos pelos quais a PDI regula RhoGTPases, mostramos, em redes computacionais e em experimentos de co-imunoprecipitação, associação entre PDIA1 e o regulador de RhoGTPases RhoGDI α . Além disso, identificamos forte proximidade entre os genes codificando estas proteínas. Neste estudo, caracterizamos o perfil e implicações desta sintenia gênica. A análise bioinformática pelos programas Ensembl, NCBI e UCSC evidencia um padrão de sintenia entre diferentes isoformas destas duas famílias: PDIA1 (P4HB), PDIA2 (PDIP) e PDIA8 (Erp27) são vizinhos, respectivamente, a RhoGDI α , RhoGDI γ e RHOGDI β , com correspondentes regiões intergênicas de 7.1, 2.9 e 0.14 kb em distintos cromossomos em *H. sapiens*. O padrão dessa sintenia foi

fortemente conservado em *C. elegans*, alguns peixes e uniformemente em anfíbios, répteis, aves e mamíferos. Leveduras expressam no mesmo cromossomo, porém em locais distantes (i.e. macrossintenia) ortólogos da PDIA1 e RhoGDI α , mas não expressam outras PDIs e RhoGDI sintênicas nos eucariotos complexos. No entanto, sintenia entre PDI e RhoGDI foi também observada na planta *A. thaliana*, sem evidência de um ancestral comum. Os pares sintênicos associam-se a blocos vizinhos conservados, porém diversos para cada par, enquanto cada bloco contém um gene codificando um distinto regulador da PP1 (fosfatase proteica-1). Análise filogenética mostrou topologia semelhante entre as duas famílias. Análise dos dados do estudo ENCODE e predição pelo Softberry identificou sítios de ligação a fatores de transcrição comuns entre os distintos pares, cuja ontologia indicou principalmente desenvolvimento, processos metabólicos e resposta imune. O estudo de possíveis implicações funcionais dessa sintenia mostrou que manipulações da expressão proteica de PDIA1 não promovem mudança consistente na expressão proteica de RhoGDI α , tanto *in vitro* (silenciamento da PDI por siRNA e superexpressão por vetor lentiviral induzível) como *in vivo* (camundongo transgênico com superexpressão constitutiva da PDIA1). No entanto, as mudanças da expressão gênica de ambos os genes na camada íntima de artérias carótidas de camundongo durante remodelamento induzido por fluxo foram fortemente correlacionadas. Experimentos de coimunoprecipitação e co-localização à microscopia confocal sugeriram interação física entre PDIA1 e RhoGDI α . Deste modo, estes dados mostram um intrigante padrão de conservação evolutiva da proximidade gênica entre PDIs e RhoGDIs, não usual em eucariotos. Genes sintênicos frequentemente codificam proteínas que tendem a interagir física e/ou funcionalmente. Com efeito, nossos dados sugerem co-regulação e interação física entre PDIA1 e RhoGDI α , corroborando a convergência entre essas proteínas como possível mecanismo envolvido na regulação redox do citoesqueleto pela PDIA1.

Descritores: Isomerases de dissulfetos de proteínas, Inibidores de dissociação do nucleotídeo guanina, Sintenia, Técnicas de diagnóstico molecular, Biologia.

