

# Por que estou aqui hoje?

Dulce Helena Ferreira de Souza

1981-1985: Bacharelado em Química, UFSCar

1985-1989: Mestrado em Química Inorgânica, UFSCar

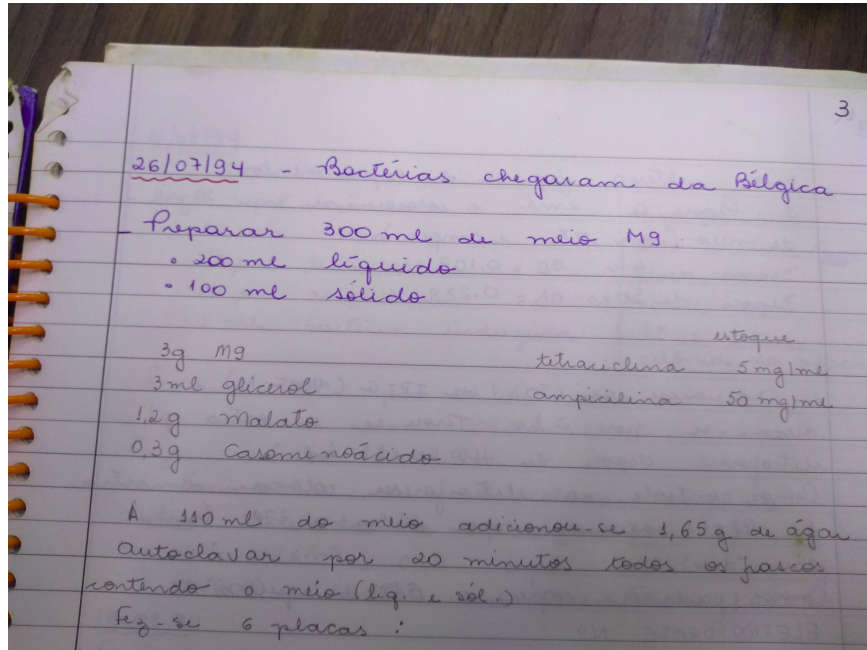
1989-1996: Doutorado no IQSC, USP; Orientador: Prof. Glaucius Oliva;

trancamento da matrícula por 2 anos; docente na UNESP/Iha Solteira; 1 filha

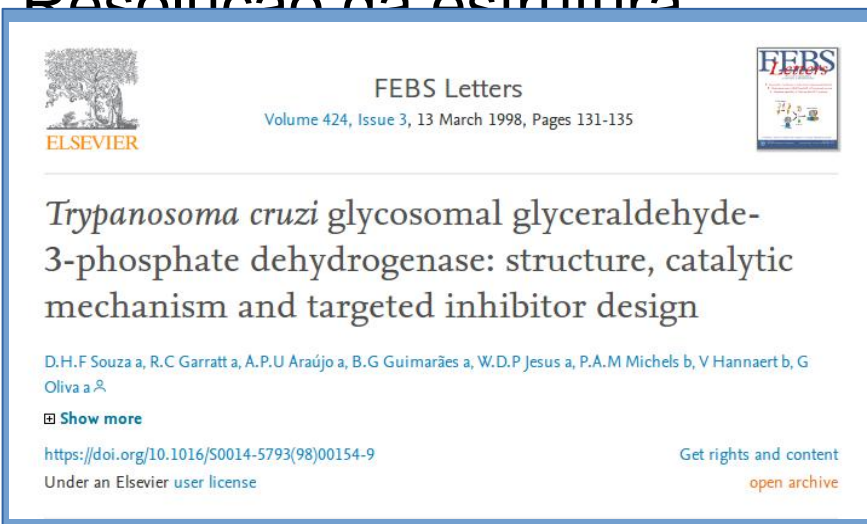
# Primeiro projeto: Cristalização da Troponina C; colaboração com Prof. Fernando Reinach, USP-SP



# Tese: Estrutura cristalográfica da enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase de *T. cruzi*: implicações nos mecanismos catalítico e potenciais sítios específicos de inibição



Expressão da enzima em *E. coli*;  
Cinética;  
Cristalização;  
Coleta de dados;  
Resolução da estrutura





# SBBq em Caxambu, 1995





1996-1998: PD no DCF/UFSCar- Proteínas de venenos de serpentes (Sup. Profa Heloisa Selistre-de-Araujo/FAPESP)

**1999-2001: PD no IFSC/USP (Sup. Prof. Glaucius Oliva/ FAPESP)**

(Enzimas de *Xylella fastidiosa* envolvidas na síntese da goma fastidiana)

-alunos de IC

# 2001-2005: Técnica de nível superior no IFSC

**-Coordenadora de Projeto Regular da FAPESP**

(processo 01/07545-5), 2001-2003

**-Recursos complementares para projetos de pesquisa**

Pró-Reitoria de Pesquisa da USP, 2001-2003

**-Supervisora de PD da Dra Renata Krogh Andricop**

2002-2005, Bolsista Fapesp

**-Credenciada como orientadora no PPG do IFSC:**

- 4 alunos de Mestrado (Celina; João Renato; Danielle; Ana Letícia)

- 3 alunos de doutorado (Celina; Claudia; João Renato)



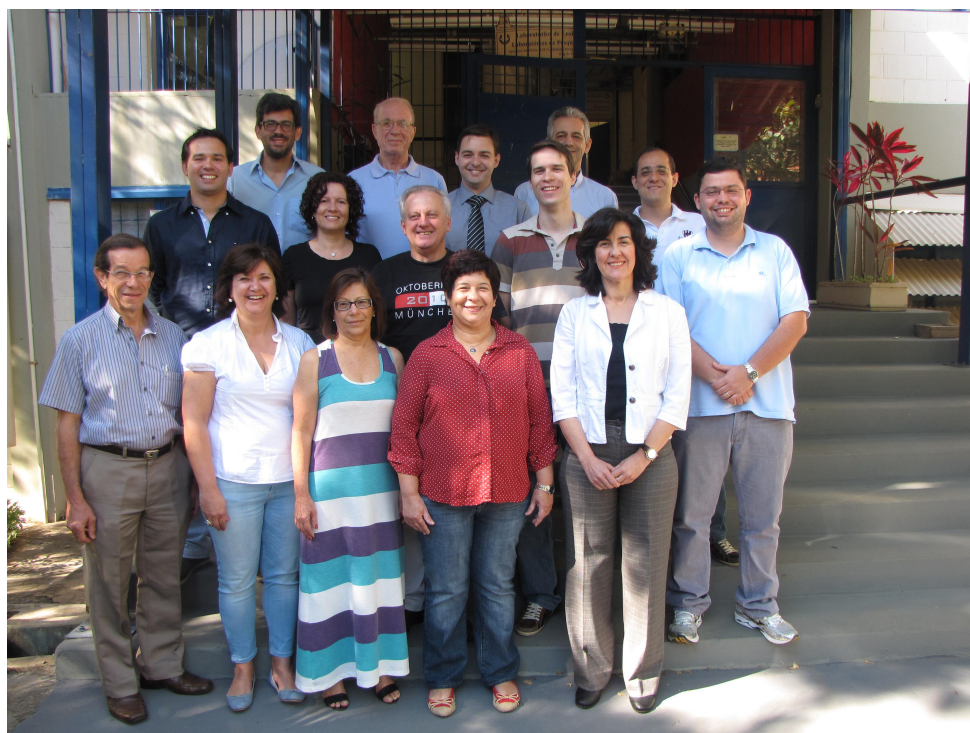
# Agosto de 2005

## Docente no Departamento de Química da UFSCar

**Após 10 anos no Grupo de Cristalografia de Proteínas:  
Churrasco de despedida**







Grupo de Química Orgânica do DQ



## Técnicas de Biologia Molecular e Bioquímica no estudo de proteínas de interesse biotecnológico

- ▶ Proteínas de venenos de serpentes;
- ▶ Estudos de proteínas nativas e recombinantes de fungos;
- ▶ Enzimas da formiga saúva;
- ▶ Análise de expressão gênica;
- ▶ Estudos usando interferência por RNA (RNAi).

*Atta sexdens* ; formiga cortadeira; acetilcolinesterase, quitinases

*L. gongylophorus*, fungo simbiote da cortadeira; lacases, xilanases, poligalacturonases

Fungos; enzimas com características termofílicas

**Prof. Maria Fátima F. da Silva**

National Institute of Science And Technology for the Biorational Control of Pest-insect (INCT)

**Prof. João Batista Fernandes**

Integrated studies for leaf cutting control (Temático-FAPESP)

**Prof. Odair Correa Bueno**

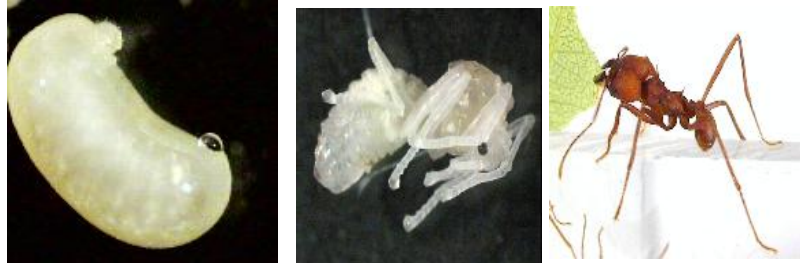
Centro de Estudos de Insetos Sociais, CEIS, UNESP, Rio Claro





*primers*

**PCR**



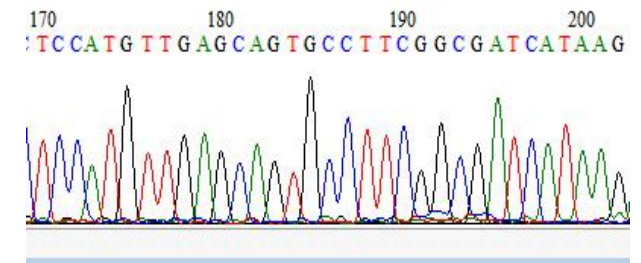
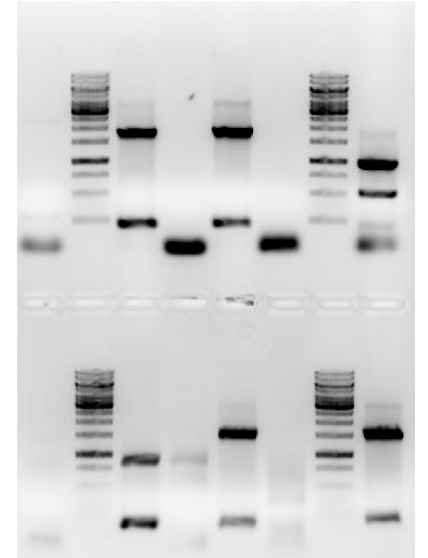
Extração de RNA

mRNA  
↓  
DNA

Transcriptase  
reversa

cDNA  
(DNA molde)

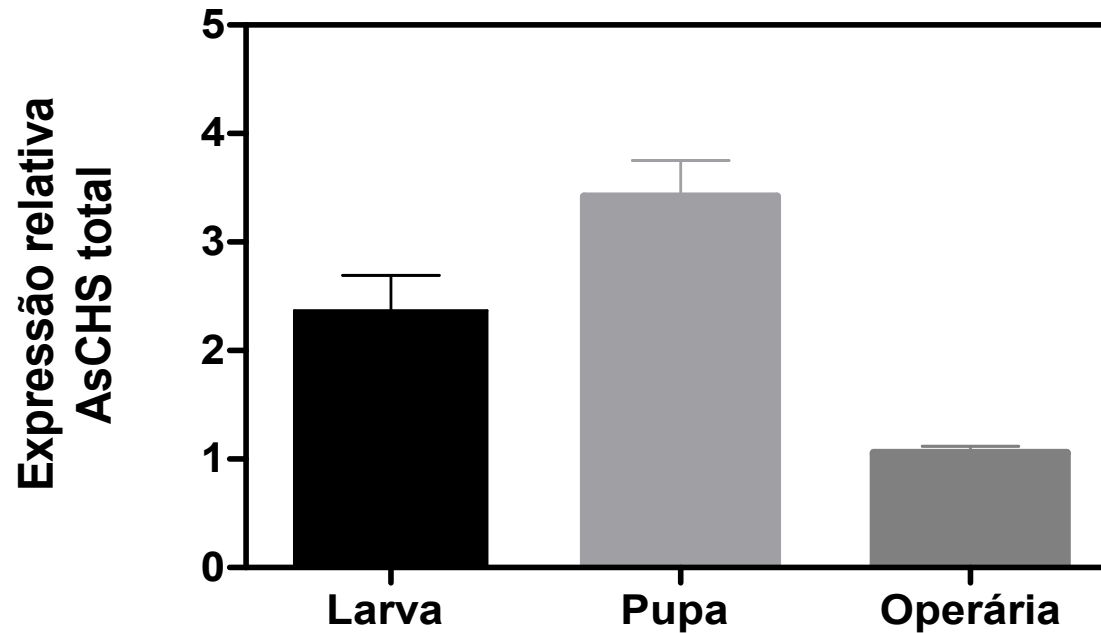
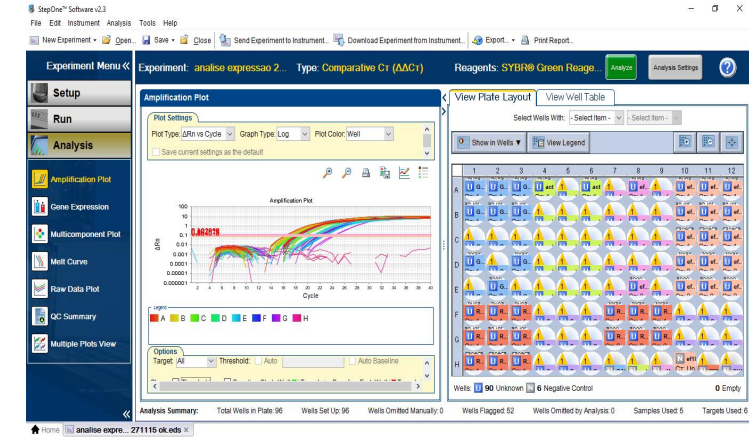
- *primers* (F and R)
- Taq DNA polimerase;
- dNTPs;
- DNA molde



**DNA amplificados foram sequenciados**

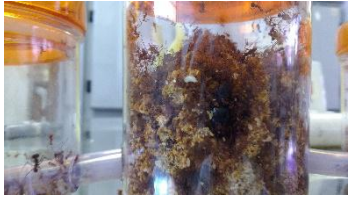
# qPCR para sintase de quitina

Novos primers  
(com sequências obtidas  
para larva/pupa e  
operária)



✓ **Gene CHS é mais quantitativamente expresso em pupa**

## Ninho



## Coleta de pupas



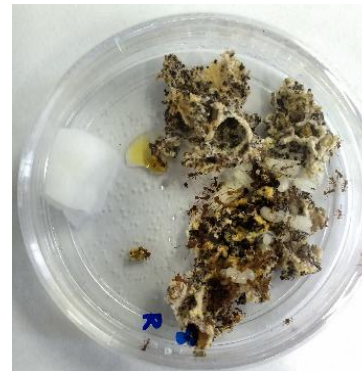
## Microinjeções siRNA AsCHS (300 ng)



Controles:

1- H<sub>2</sub>O

2- siRNA complementar a DNA que não existe em formigas (Sigma)

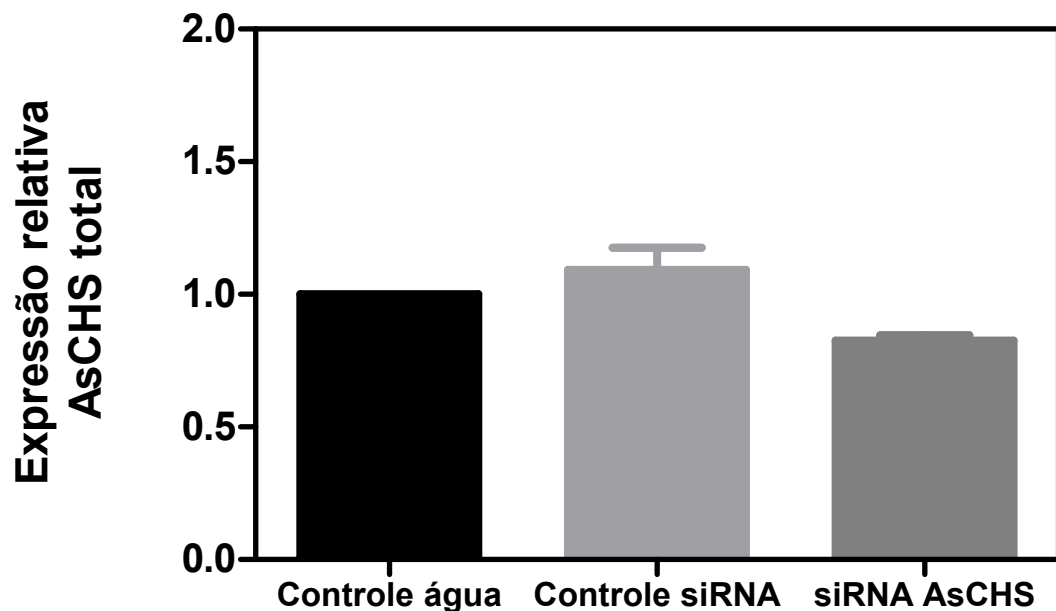


## Construção de sub-ninhos artificiais

- ✓ Operárias e o fungo simbionte;
- ✓ 10 pupas em cada ninho; 5 ninhos; duplicatas



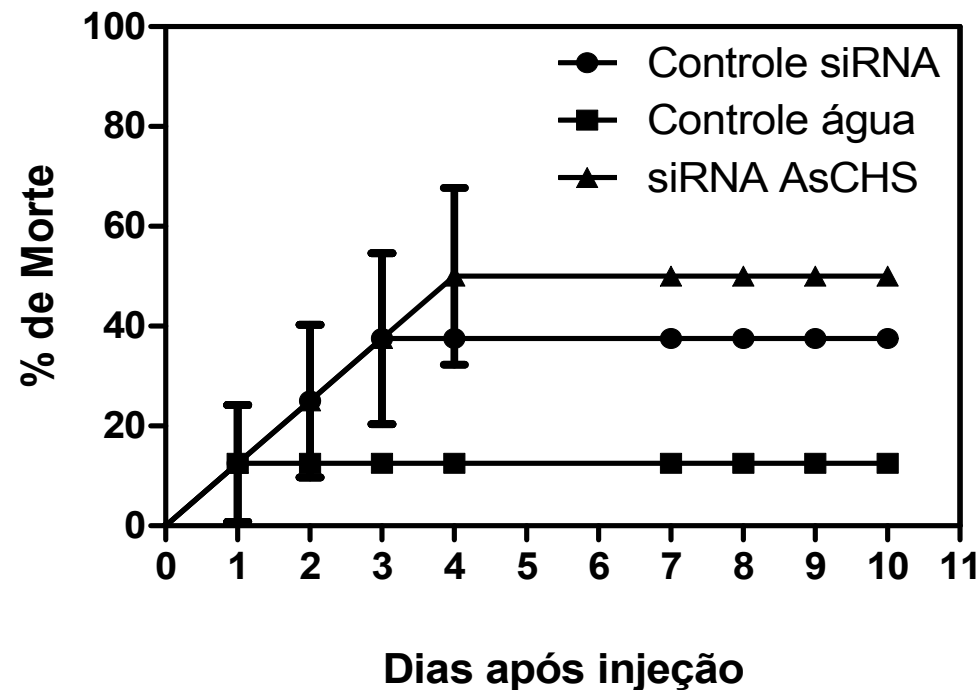
# qPCR



**~18% de redução de transcrito de CHS após 3 dias (72 hs) de tratamento com siRNA AsCHS**

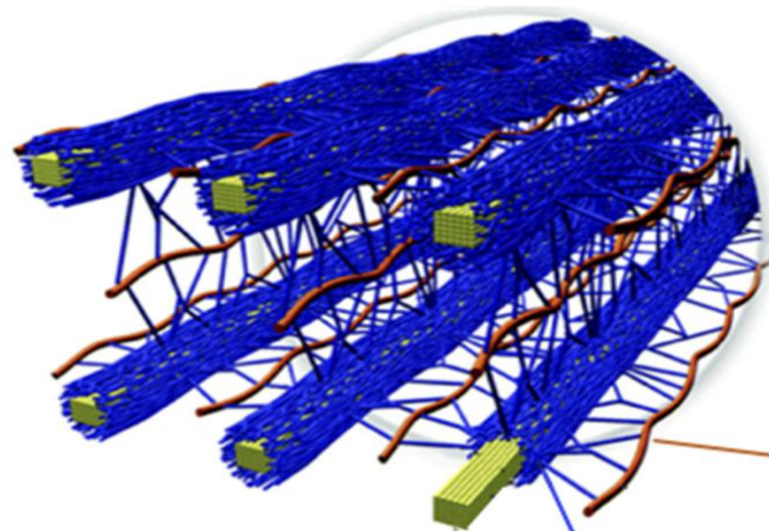
# Análise fenotípica

**a**

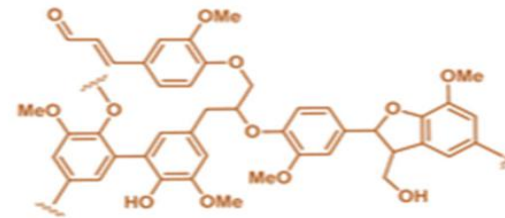


**50% de mortalidade, após 4 dias**

# Biomassa lignocelulósica



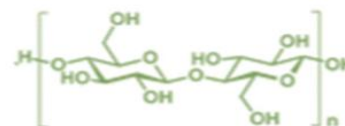
**Lignina (15-30%)**



**Hemicelulose (25-30%)**



**Celulose (35-50%)**





Fungo: *Chaetomium cupreum* URM 5066

Isolado: Raiz de cana-de-açúcar

Fonte: Micoteca URM de Recife-PE

---

Expressão das  
lacases nativas pelo  
fungo *C. cupreum*

Caracterização de  
3 lacases

Aplicação  
biotecnológica



# Aplicação das lacases na deslignificação do bagaço de cana-de-açúcar (BCA) antes da fermentação pela bactéria *Paraclostridium benzoelyticum*



Pré-tratamento



Lacases



Açúcares disponíveis

Fermentação

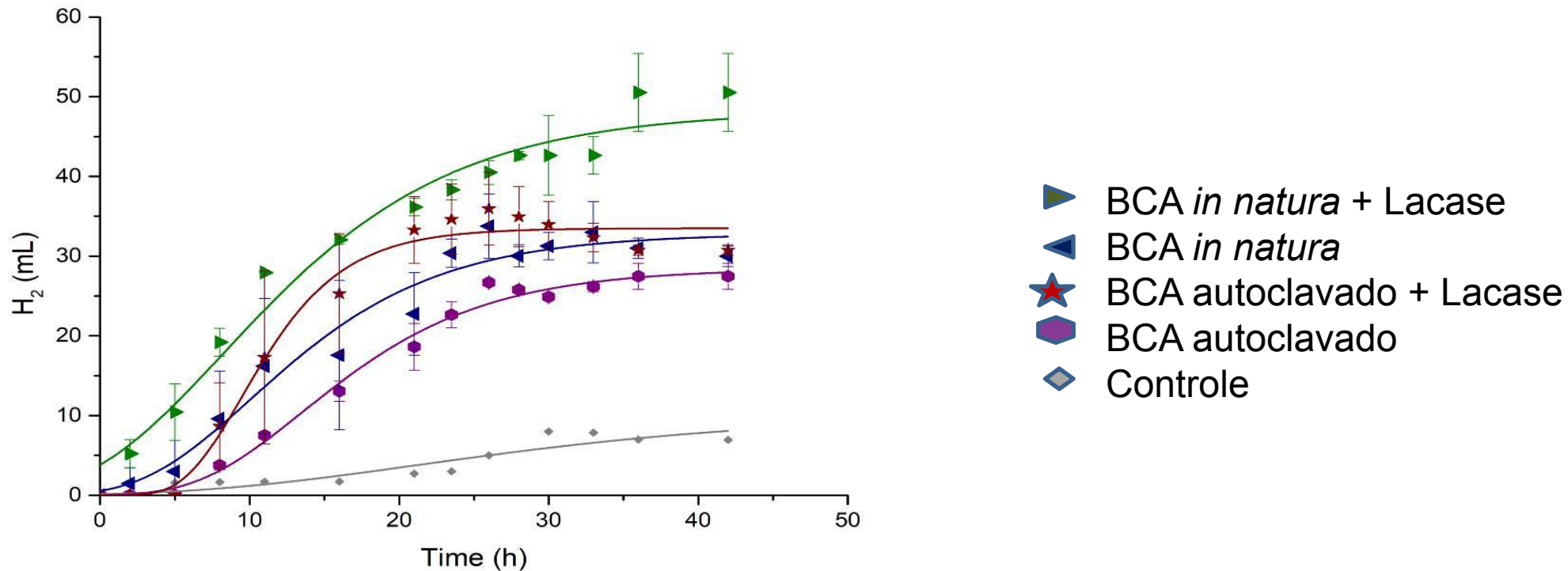


*P. benzoelyticum*

Biocombustível H<sub>2</sub>

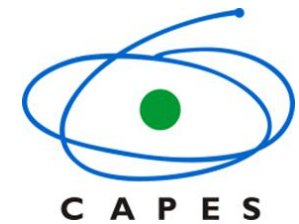
Colaboração com Profa. Dra. Maria Bernadete A. Varesche - EESC

# Aumento de 46 % na produção de H<sub>2</sub> com BCA *in natura* com o pré- tratamento com as Lacases



No momento: Otimização das condições

# LBFE







# CONFRATERNIZAÇÃO

“20 anos de Cristalografia  
de Proteínas no Brasil”

10/10/2009

a partir das 11h00

Chácara do Barão

Rua CAETANO MORUZZI, 111 - Vila São José

# 2009



2009, 2019, 2029....

