

Título do trabalho onde se insere a proposta do Mestrado: Identificação de factores responsáveis pela regeneração em estrelas-do-mar – uma abordagem proteómica

Introdução

O potencial de regeneração tem nos equinodermes a sua máxima expressão, no entanto estudos preliminares de regeneração em equinodermes baseiam-se na determinação de taxas de crescimento e alterações morfológicas. Portanto, estão disponíveis dados importantes sobre as alterações histológicas e sobre as bases celulares deste fenómeno, mas pouco se sabe sobre as moléculas reguladoras envolvidas. Alguns dos avanços importantes para compreender os eventos da regeneração foram atingidos através da construção de bibliotecas de cADN de equinodermes em estado normal e a regenerar tecidos, seguida da sequenciação de ESTs. A identificação de algumas proteínas importantes na regeneração de equinodermes resultou essencialmente de estudos de imunolocalização específicos, cujas proteínas candidatas eram conhecidos alvos com impacto relevante na regeneração de outros organismos. Contudo, não estão disponíveis estudos em grande escala de identificação de proteínas envolvidos no processo de regeneração dos equinodermes. Esta informação é obtida com sucesso através da análise de proteomas diferenciais, ou seja, pela comparação dos níveis de expressão de proteínas entre órgãos intactos e em regeneração.

O trabalho já desenvolvido no nosso Laboratório incide no estudo de uma espécie de estrela-do-mar comum na costa Portuguesa com elevada capacidade de regeneração, a *Marthasterias glacialis*. O processo de manipulação das estrelas, ou seja, a amputação dos braços e recolha dos tecidos foram estabelecidos, assim como o desenvolvimento de protocolos de preparação de extractos proteicos, separação por electroforese bidimensional e identificação de proteínas por espectrometria de massa (MALDI-TOF/TOF) e pesquisa em bases de dados de sequências de proteínas (UniProt). Foi atingido um sucesso de 70% na identificação de proteínas homólogas às da estrela do mar. Está concluída a caracterização do proteoma do nervo radial (CF Franco, R Santos, AV Coelho *Exploring the proteome of an echinoderm nervous system: 2DE of the sea star radial nerve cord and the synaptosomal membranes subproteome*, Proteomics, in press) e dos coelomócitos (CF Franco, R Santos, AV Coelho *Proteome characterization of sea star coelomocytes – the innate immune effector cells of echinoderms*, Proteomics, submitted) e a análise de proteómica diferencial do nervo em três fases distintas de regeneração do braço.

Tema I: Determinação das proteínas diferencialmente expressas nos coelomócitos da estrela do mar *Marthasterias glacialis* durante 3 fases distintas da regeneração

Plano de trabalhos

Os resultados obtidos compelem-nos a prosseguir com a determinação das diferenças de expressão de proteínas dos coelomócitos, células em circulação no fluido interno, também designado como os efectores do sistema imunológico inato dos equinodermes. Pretende-se com o tema proposto contribuir para a melhor compreensão dos fenómenos de regeneração, usando a abordagem “top-down” de proteómica/MS na identificação de proteínas com funções importantes neste extraordinário processo biológico. Para cumprir os objectivos propostos, o proteoma diferencial será analisado através da combinação das abordagens de 2D-DIGE (electroforese bidimensional diferencial) e MS, permitindo, respectivamente, a separação de misturas complexas de proteínas, determinação das variações de expressão e a sua identificação.

Orientadora: Ana Maria Varela Coelho; **Co-orientadora:** Catarina Ferraz Franco
Instituto de Tecnologia Química e Biológica – UNL; Laboratório de Espectrometria de Massa

Tema II: Determinação das proteínas diferencialmente expressas no fluido celómico da estrela do mar *Marthasterias glacialis* durante 3 fases distintas da regeneração

Plano de trabalhos

O fluido celómico da estrela-do-mar, uma vez que banha todo o interior do corpo da mesma, é extremamente rico em moléculas que participam nos processos de sinalização celular, tais como factores de crescimento, hormonas e neuropeptídeos.

Pretende-se com o tema proposto entender quais destas moléculas presentes no fluido celómico (péptidos e/ou proteínas) poderão ter um papel fundamental no fenómeno de regeneração dos órgãos da estrela-do-mar. Será utilizada a abordagem “top-down” de proteómica/espectrometria de massa de forma a caracterizar o proteoma diferencial. As proteínas seleccionadas serão identificadas/sequenciadas de novo por MALDI-TOF/TOF MS.

Orientadora: Ana Maria Varela Coelho; **Co-orientadora:** Catarina Ferraz Franco
Instituto de Tecnologia Química e Biológica – UNL; Laboratório de Espectrometria de Massa

Referência de projecto de investigação financiado em que os trabalhos propostos se inserem: PTDC/MAR/104058/2008