Cientistas detalham ações de proteína que 'marca' moléculas

Estudo do IB revela como a quinase Nek 7 interage com 'parceiros'

CARLOS ORSI
carlos.orsi@reitoria.unicamp.br

A divisão celular, na qual uma célula viva se converte em duas, é uma das ocorrências mais corriqueiras da natureza, mas também uma das mais complexas e vitais. Dela dependem o crescimento e a reprodução dos seres vivos, e doenças como o câncer nascem de erros nesse processo, que utiliza um sofisticado maquinário molecular, feito de proteínas. Detalhes até agora desconhecidos do funcionamento de parte dessa aparelhagem foram desvendados em pesquisas realizadas por Edmarcia Elisa de Souza, do Laboratório Nacional de Biociências (LNBio), na sua tese de doutorado, defendida no Instituto de Biologia (IB) da Unicamp.

O foco do trabalho de Edmarcia foi uma quinase, um tipo de proteína que "marca" outras moléculas, por meio de um processo chamado fosforilação, ativando-as, desativando-as ou alterando sua função, chamada Nek 7. "A Nek 7 é um conhecido regulador da divisão celular", disse a pesquisadora ao ***Jornal da Unicamp***, mas um regulador pouco estudado.

"Uma das coisas que se faz muito no meu grupo, quando a gente estuda a função de uma proteína, é identificar os seus parceiros de interação, outras proteínas que interagem com a proteína alvo. As quinases são proteínas que se comportam como 'hub', ou 'nó', que se encontram como focos em redes de interações e que interagem com muitas outras proteínas, geralmente", acrescentou Jörg Kobarg, professor da Unicamp, pesquisador do LNBio e orientador da tese de Edmarcia. "Então, a abordagem do doutorado dela foi identificar os parceiros de interação da Nek 7".

Com isso, a pesquisadora construiu o interatoma – o mapa das relações de interação – da Nek 7. "Se uma proteína está interagindo fisicamente com outra, é um indicativo de que ela pode estar atuando na mesma função desse interator. É uma primeira hipótese. A segunda hipótese é que elas podem atuar juntas, ou dependentemente associadas, num mecanismo molecular específico ou que ainda não foi descoberto, por exemplo", explicou Edmarcia. Uma das descobertas do estudo do interatoma da Nek 7 foi a de que a sua função é independente da de outra quinase, a Nek 6, algo que contrariava a literatura disponível até então. Essa descoberta rendeu a Edmarcia a publicação de um artigo no *Journal of Proteome Research*, um dos principais periódicos da área.

"Nossos estudos demonstraram um amplo espectro de proteínas de interações com a Nek7 humana, classificadas dentro de múltiplas categorias funcionais, sobretudo, da divisão celular", diz o texto da tese.

Segregando cromossomos

Durante a mitose, processo em que uma célula se divide em duas células idênticas à original, ocorre a segregação do material genético, que está presente nos cromossomos alojados no núcleo, durante uma fase chamada intérfase. Depois de se replicarem na intérfase, os cromossomos precisam ser alinhados corretamente no plano central da célula e então separados, com cada coleção completa sendo puxada para longe da outra, por um "guindaste" cujos cabos, os microtúbulos, são cordas moleculares feitas de proteínas.

Numa mitose normal, estruturas chamadas centrossomos migram para extremidades opostas do interior da célula, e produzem o chamado fuso mitótico, um conjunto de redes de microtúbulos que agarra os cromossomos, já duplicados e alinhados. A partir daí, os cromossomos são puxados em direção aos polos ocupados pelos centrossomos.

Problemas nestes mecanismos podem gerar defeitos como a aneuploidia, quando as células resultantes da divisão têm números diferentes de cromossomos. A aneuploidia é uma condição associada a tumores malignos, e que pode ser causada por uma mitose multipolar, em que os cromossomos são puxados não em duas, mas três ou mais direções diferentes, pelos centrossomos. É nessa fase, de alinhamento e separação dos cromossomos, que a Nek 7 atua. "Quando se reduz a expressão da Nek 7, acontece a mitose multipolar", explicou a pesquisadora. "A função de Nek 7 é, primeiro, separar corretamente os centrossomos, e o erro na separação causa esse tipo de condição característica de células de câncer".

Fotos: Antonio Scarpinetti

A pesquisadora Edmarcia Elisa de Souza, autora da tese: desenvolvendo o mapa das relações de interação da Nek 7

"Isso sugere que a Nek 7, por ser uma quinase, vai lá fosforilar as proteínas e, com isso, promove um processo ordenado. E se ela falta, há problemas", disse o orientador, Jörg Kobarg.

Em seu trabalho, Edmarcia descobriu uma ligação estreita entre a Nek 7 e a proteína chamada RGS2.

"Nós descobrimos, inesperadamente, que um dos interactores de Nek7, a proteína RGS2, estava localizada em estruturas-chave, essenciais para o processo de divisão celular, dentre elas o centrossomo e o fuso mitótico", disse a pesquisadora. Uma desregulação dessas estruturas pode levar ao câncer.

Tecnologia

"E como você consegue chegar a essas conclusões? Tendo as ferramentas corretas", disse Edmarcia.

As descobertas de Edmarcia foram feitas com a ajuda de tecnologias de ponta para a produção de imagens microscópicas, que permitem monitorar e registrar o funcionamento, passo-a-passo, de uma célula viva.

A pesquisadora trabalhou por cinco meses no laboratório do pesquisador americano Stephen Doxsey, da Universidade Médica de Massachusetts, onde teve acesso a equipamentos que permitem fazer vídeos de "time-lapse" – que concentram um longo período de tempo em poucos segundos, como os filmes de flores desabrochando comuns em documentários sobre a natureza – de processos celulares.

"Fomos para os EUA para tentar desvendar a função de RGS2 e Nek 7 no fuso mitótico, a estrutura essencial para divisão celular e cuja desregulação está diretamente relacionada ao câncer", disse a pesquisadora. "O laboratório do professor Steve Doxsey possui equipamentos de ponta e seu grupo possui expertise em 'time-lapse image', que nos possibilita assistir à divisão celular, e à dinâmica molecular em células vivas, em tempo real. Então, você faz um filme da célula se dividindo".

Outros estudos realizados por ela, com o uso da tecnologia de microscopia confocal, que permite a produção de imagens tridimensionais de estruturas microscópicas, revelaram que a proteína RGS2 é necessária para a organização e orientação do sistema de "cabos" que segrega os cromossomos, o fuso mitótico.

"Então, se você me perguntar, qual o resumo da ópera, ele é: a redução da expressão de Nek 7 ou de RGS2 causaram efeitos similares no fuso mitótico. Além disso a localização de RGS2 no fuso mitótico é dependente de Nek7. Isso indica uma ligação funcional entre as duas", explicou Edmarcia. "E elas interagem fisicamente, também", lembrou Kobarg. "O efeito similar da redução de uma ou outra é um forte sinal de que, além de interagir fisicamente, elas atuam na mesma função".

A apresentação da descoberta sobre o papel da RGS2 no fuso mitótico deu a Edmarcia um prêmio da Sociedade Brasileira de Biologia Celular, e o uso que fez da microscopia confocal foi reconhecido com um prêmio num workshop sobre a tecnologia, realizado no LNBio.

"Ela aplicou todos os recursos que existem hoje em dia para estudar fenômenos moleculares dentro da célula viva, e achou coisas inéditas", disse Kobarg.

O professor Jörg Kobarg, orientador da pesquisa: "As proteínas também interagem fisicamente"

Indo mais fundo

"O fascinante é ver a função molecular: isso se traduz numa coisa para a célula, que por sua vez se traduz em outra no tecido, no órgão, na formação do tumor. Todas essas funções afetam diferentes níveis de organização, transbordam para o próximo nível, por assim dizer", disse o orientador.

Edmarcia e Kobarg reconhecem que ainda há muito a descobrir sobre a relação funcional entre Nek 7, RGS2 e os mecanismos de interação entre essas moléculas. "Nós não temos o mecanismo molecular, não temos a cascata de sinalização. E é isso que gostaríamos de saber: qual seria a posição da Nek 7 nessas funções. É o nosso principal interesse", disse a pesquisadora.

"Agora nós tentamos descobrir: será que Nek 7 diretamente interage e fosforila RGS2, e então a RGS2 desempenha a função no fuso mitótico e na divisão celular? E saber como isso acontece, quais as demais moléculas envolvidas", completou a pesquisadora.

"A gente sabe que a Nek7 fosforila *in vitro* a RGS2. Agora, se a gente pudesse, por exemplo, identificar os resíduos da RGS2 fosforilada *in vivo*, ou alterar esses resíduos, seria interessante", disse o orientador. "Saber se a fosforilação em uma posição da proteína faz diferença em relação a outra, será que essa mutação causa a mesma coisa? Se tivéssemos esse tipo de detalhamento do mecanismo, se pudermos conectar, molecularmente, algo como o início de uma etapa da divisão celular à fosforilação. A gente ainda está, neste momento, no nível das proteínas, mas tem um nível atômico, por dizer assim, um nível bem fino da regulação".

Publicação

Tese: "A Nek7 é uma quinase multifuncional que atua sobre diferentes processos biológicos e em concerto com a sinalização da divisão celular"

Autora: Edmarcia Elisa de Souza

Orientador: Jörg Kobarg

Unidade: Instituto de Biologia (IB)