

ANEXO I

Programa de Capacitação Institucional – PCI

PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM LUZ SÍNCROTRON, BIOCÍÊNCIAS,
NANOTECNOLOGIA E BIOETANOL

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA EM ENERGIA E MATERIAIS - CNPEM

Projeto 1: Título: Novas Fronteiras na Espectroscopia de Materiais Luminescentes

1. Introdução

Os materiais luminescentes são essenciais para diversas tecnologias modernas, incluindo iluminação, displays, imagem médica, detecção de radiação e segurança alimentar [1,2]. No entanto, seus mecanismos fundamentais ainda não são totalmente compreendidos, impulsionando novas investigações.

A compreensão detalhada da estrutura eletrônica desses materiais é crucial para validar modelos empíricos que orientam o design de novos compostos com propriedades ajustáveis para aplicações específicas [3]. No entanto, sua estrutura eletrônica é altamente complexa, devido à interação entre estados eletrônicos da matriz, dopantes e defeitos, cujas contribuições podem se sobrepor em energia e sofrer hibridização, dificultando a interpretação direta dos espectros ópticos.

Para superar essas limitações, propomos a aplicação combinada de técnicas avançadas de espectroscopia de raios X em fontes de luz síncrotron, permitindo uma caracterização abrangente da composição química e da estrutura eletrônica desses materiais. Serão utilizadas as técnicas de XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy), XAS (X-ray Absorption Spectroscopy) e RIXS (Resonant Inelastic X-ray Scattering) [4]. Diferentemente das espectroscopias ópticas, as técnicas de raios X excitam níveis de caroço, que mantêm caráter atômico e conferem seletividade química, possibilitando a análise específica de cada elemento no material. Além disso, as regras de seleção associadas à conservação do momento angular permitem investigar a simetria dos orbitais envolvidos nas transições, fornecendo informações valiosas sobre a hibridização dos estados eletrônicos.

2. Objetivo Geral

Explorar a seletividade química e regras de seleção de espectroscopias de raios X para sondar a distribuição em energia e hibridização de estados eletrônicos em materiais luminescentes.

Objetivo específico 1: Processamento e análise de conjunto de dados já existentes de XAS e RIXS coletados em amostras de fluoretos de magnésio dopados com Ce e Eu. Os experimentos foram realizados no final de 2024 em colaboração com grupo do Prof. Mário Valério UFS especialista em materiais luminescentes.

Objetivo específico 2: Refinar parâmetros de simulações computacionais de espectros XAS e RIXS de terras raras pelo método de multipletos e campo cristalino na aproximação de cluster isolado.

Objetivo específico 3: participar de novos experimentos na linha de luz IPE com propostas já aprovadas nas quais usaremos uma combinação de XAS, XPS e RIXS para mapear a energia e a hibridização dos estados eletrônicos da matriz e dos dopantes, além de buscar assinaturas de transições eletrônicas que não são ativas em espectroscopias ópticas.

3. Bibliografia

- [1] Opportunities for Next-Generation Luminescent Materials. Y. Zhuo and J. Brgoch. Journal of Physical Chemistry Letters 12, 764 (2021)
- [2] "Electronic structure engineering of lanthanide activated materials." P. Dorenbos Journal of Materials Chemistry, 22, 22344-22349 (2012)
- [3] Assessment of First-Principles and Semiempirical Methodologies for Absorption and Emission Energies of Ce³⁺-Doped Luminescent Materials. Y. Jia, A. Miglio, M. Mikami, X. Goze Advanced Optical Materials 5, 1600997 (2017)
- [4] Resonant inelastic X-ray scattering. Nat Rev Methods Primers 4, 46 (2024)

Projeto 2: Estudo de mutações no gene da agressividade MAOA em pacientes com Deficiência Intelectual.

1. Introdução

A deficiência intelectual (DI) pode ser definida como um comprometimento significativo da função cognitiva, com coeficiente intelectual abaixo da média, associado a prejuízo no comportamento adaptativo explícito em suas habilidades conceituais, sociais e práticas (capacidades funcionais nas atividades diárias), evidenciada antes dos 18 anos de idade. Entre as causas identificáveis de DI, a causa genética está presente em 17 a 40% dos casos, sendo que as principais mutações genéticas da DI considerada moderada-profunda, são as anomalias cromossômicas e as mutações em genes únicos. Estima-se que as causas ambientais, malformações do SNC e condições multifatoriais (componente ambiental e genético) são responsáveis por 15 a 30% dos casos. Além disso, pacientes com DI têm risco aumentado para uma série de comorbidades, como a epilepsia, encefalopatia crônica não progressiva, transtornos psiquiátricos, ansiedade, distúrbio opositor e autismo.

O reconhecimento da importância dos genes do cromossomo X como causa de DI é antigo e deve-se à constatação de um excesso de 30% de homens afetados por DI em relação às mulheres e à ocorrência de numerosas famílias em que a DI segrega de forma compatível com o padrão de herança ligado ao cromossomo X. A DI ligada ao cromossomo X é classicamente dividida em dois grupos: (a) DI síndrômica, quando associada a outras características físicas ou neurológicas e (b) DI não síndrômica ou inespecífica, quando a DI é a única característica clínica consistente.

Dentre os genes mutados já descritos no cromossomo X que estão envolvidos com o desenvolvimento de DI, podemos citar o gene monoamina oxidase A (MAOA). Os genes da MAOA e seu homólogo MAOB estão localizados na porção p11.3 do cromossomo X e codificam enzimas cruciais para a degradação metabólica de aminas biogênicas e, em particular, dos neurotransmissores como norepinefrina, dopamina e serotonina.

Mutações nos genes da MAOA e MAOB foram descritas em pacientes que apresentam, além dos sintomas da doença de Norrie, deficiência intelectual grave, comportamento autista e epilepsia. Em 1993, Brunner e colaboradores descreveram uma grande família holandesa com anormalidades comportamentais proeminentes que apresentavam uma mutação ligada ao cromossomo X. Após uma extensa pesquisa nos indivíduos, os pesquisadores sugeriram e confirmaram que mutações no gene MAOA eram responsáveis pela característica sindrômica dos pacientes. Todos os pacientes afetados eram do sexo masculino, portavam mutação no gene MAOA e apresentavam DI, além de comportamento anormal característico, em particular, comportamento agressivo e violento induzido pelo estresse. Desde a publicação de Brunner e colaboradores, MAOA é considerado um gene associado a DI, está incluído nos painéis de diagnóstico de genes testados para mutações de DI ligadas ao cromossomo X e também já está fortemente relacionado com comportamento de agressividade.

Os detalhes do mecanismo de ação da enzima MAO-A ainda não são completamente conhecidos e pouco se sabe a respeito do impacto de mutações identificadas em pacientes com DI na sua estrutura e função. Atualmente a informação sobre a implicação das mutações no gene MAOA no Sistema Nervoso Central (SNC) é escassa e oriunda, em sua grande parte, de estudos em modelos animais e da descrição de casos clínicos. Além disso, normalmente os estudos representam apenas o estágio final da doença, eliminando a possibilidade de explorar os eventos iniciais responsáveis pela cascata de alterações celulares que levam ao resultado final, sejam elas alterações estruturais, moleculares ou celulares. Neste trabalho, pretende-se investigar especificamente ao nível celular o efeito da deficiência de atividade de MAO-A no contexto neuronal.

2. Objetivo geral

Compreender os impactos de uma mutação no gene MAOA em nível molecular e celular.

3. Objetivos específicos

Caracterizar fenotipicamente uma linhagem celular neuronal portadora de uma mutação no gene MAOA desenvolvida em nosso laboratório, para compreender em nível molecular e celular a os impactos dessa mutação na função da enzima MAO-A, com experimentos de função mitocondrial (produção de espécies reativas de oxigênio, produção de ATP, respiração mitocondrial, expressão de proteínas dos complexos respiratórios e morfologia mitocondrial), diferenciação neuronal e caracterização, viabilidade celular (MTS), morte celular (apoptose e necrose), autofagia e estresse oxidativo.

4. Metodologia

4.1 Diferenciação neuronal e caracterização das linhagens selvagem e mutante de MAOA, Cultivo de células, tratamento com ácido retinóico, imunofluorescência e microscopia confocal no Operetta.

4.2 Análises de função mitocondrial

a. Análise de produção de espécies reativas de oxigênio (EROS)

Microscopia confocal Operetta e leitor de placas ClarioStar.

b. Quantificação em tempo real de produção de ATP nas vias glicolítica e mitocondrial

Células diferenciadas e Seahorse XFe24.

c. Avaliação em tempo real da respiração mitocondrial (fosforilação oxidativa)

Células diferenciadas e Seahorse XFe24.

d. Análise da expressão de proteínas dos complexos respiratórios
Mitocôndrias isoladas e Western Blot.

e. Avaliação da morfologia mitocondrial

Células transfectadas com mito-tag-DsRed2 e microscopia Operetta.

4.3 Detecção de níveis de oxidação de proteínas

Western blot e imunodeteção de grupos carbonila das proteínas oxidadas.

4.4 Viabilidade celular (MTS), apoptose e necrose celular

Ensaio MTS, Western Blot e atividade de caspase-3.

4.5 Efeito da perda de atividade de MAOA na indução de autofagia contra estresse oxidativo

Cultivo e tratamento de células e Western Blot.