



PLANO DE TRABALHO

Convênio

SAGE N° 116 /2022

1 - DADOS CADASTRAIS

Órgão / Entidade PROPONENTE: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		
C.N.P.J: 33.781.055/0001-35		
Endereço: Av. Brasil, 4365, Manguinhos		
Cidade: Rio de Janeiro	UF: RJ	CEP: 21040-360
Telefone: (21) 3885-1616		
Nome do Responsável: Nísia Trindade Lima		
CPF: 405.005.407-15	Identidade: 034949451	Órgão Expedidor: IFP

Partícipe: Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Saúde		
Endereço: Av. Brasil 4306, Manguinhos		
Cidade: Rio de Janeiro	UF: RJ	CEP: 21040-361
Telefone: 21-2209-2600		
Nome do Responsável: Hayne Felipe da Silva		
CPF: 586.234.187-00	Identidade: 26484598-3	Órgão Expedidor: Detran - RJ

Partícipe: Fundação Araucaria de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná		
C.N.P.J: 03.579.617/0001-00		
Endereço: Av. Comendador Franco, 1341		
Cidade: Curitiba	UF: PR	CEP: 80215-090
Telefone: 41-4218-7803		
Nome do Responsável: Ramiro Wahrhaftig		
CPF: 321.770.549-15	Identidade: 952291-3	Órgão Expedidor: SESP-PR

2 - DESCRIÇÃO DO PROJETO

Identificação do Objeto:

Proteínas são efetoras de processos bioquímicos. O entendimento das interações dinâmicas entre proteínas e proteínas e com ligantes é chave na determinação de novos alvos moleculares para medicamentos e entendimento, ao nível molecular, de patologias. A recente técnica de reação com reagentes de ligação cruzada acoplada a espectrometria de massas, do inglês cross-linking mass spectrometry (XLMS), surgiu como uma ferramenta poderosa para a caracterização de estruturas proteicas e interações proteína-proteína. XLMS utiliza de espaçadores (os crosslinkers) que fazem ligação covalente entre cadeias laterais de aminoácidos próximos espacialmente (~15 angstrom). Os peptídeos ligados são identificados por espectrometria de massas, de modo que a técnica identifica não só as interações, mas também os resíduos de aminoácidos envolvidos. Nossa equipe protagonizou com o primeiro software interativo e integrado com repositório internacional para análise de dados de XLMS e o primeiro a

apresentar metodologias para resolver o acoplamento de homodímeros por esta técnica . Atualmente, a técnica ainda é restrita a complexos purificados ou sub-proteomas (ex. mitocôndria). Uma das motivações deste projeto está em romper estes limites conforme descrito na seção justificativa. Para tal, nosso modelo experimental será a apoptose-like em *T. cruzi*. A apoptose é um processo de morte celular extremamente regulado com a interação de inúmeros fatores. Em metazoários, as caspases são chave no processo e alvos no tratamento de doenças cardíacas, neoplasias e doenças neurológicas. Em organismos não metazoários, o processo denomina-se apoptose-like e sua via bioquímica é desconhecida. A ausência de caspases em organismos unicelulares sugere uma via bioquímica distinta para apoptose-like com alvos potenciais para o desenvolvimento de quimioterápicos.

Este projeto fornecerá três contribuições:

- 1) Disponibilização da primeira plataforma computacional capaz de analisar dados de XLMS em larga escala, ou seja, permitindo analisar dados de interatoma diferencial (i.e., quantitativo) ao nível celular em minutos, ao invés das soluções atuais que requerem semanas ou não conseguem tratar o problema.
- 2) Padronização de metodologia de enriquecimento de TcMCA3 para descrever os parceiros de interação por XLMS.
- 3) Interatoma diferencial de células apoptóticas de *T. cruzi* versus não apoptóticas através da técnica de XLMS e utilizando nosso ambiente computacional para viabilizar a análise.

Título do Projeto:

Metodologia para interatoma diferencial utilizando apoptose em *Trypanosoma cruzi* como modelo de estudo

Justificativa da Proposição:

Contribuição em Bioinformática: Até o momento, a aplicação de XLMS está restrita a proteínas purificadas, no auxílio de caracterização estrutural, e na determinação da interação entre pequenos complexos purificados. Estas limitações ocorrem devido ao combinatorial de possibilidades de interações entre peptídeos, o que torna o desafio computacional intratável. Recentemente, uma nova classe de agentes de ligação cruzada, que clivam durante o processo de análise no espectrômetro de massas (CXLMS), foram disponibilizadas. Estas moléculas fornecem informações adicionais no espectro de massas que facilita o trato computacional. Estas moléculas são permeáveis as membranas celulares, possibilitando estudos de interatoma diferencial in vivo. Apesar de já existirem software para análise de CXLMS, estes

são limitados a pequenos datasets (ex., interatoma de mitocôndria) por demorar, em alguns casos, semanas, inviabilizando experimentos de alta complexidade. Nossos resultados preliminares, software denominado MS-Scout, é capaz de analisar os referidos datasets em minutos. O mesmo se justifica como divisor de águas por viabilizar estudos de alta complexidade sem a necessidade de supercomputadores. Estamos certos que o Scout representará um ganho de ampla e rápida adoção na comunidade científica.

Contribuição de relevância para saúde pública: Metacaspases têm papel central para apoptose-like 15. Nosso grupo tem contribuído em verificar os efeitos da interação da metacaspase 3 de *Trypanosoma cruzi* (TcMCA3) recombinante com moléculas pró-apoptóticas 16. Identificamos o composto ativador de Procaspase-1 (PAC1) como ligante de TcMCA3 16, reduzindo a viabilidade de epimastigotas de *T. cruzi* (IC50 de 14,12 M) e o potencial mitocondrial e expondo fosfatidilserina, características da apoptose 16. A análise do efeito de PAC1 em tripomastigotas metacíclicos indicou diferenças na regulação via TcMCA3 nos diferentes estágios morfológicos de *T. cruzi* 16. Além disso, análises de docking molecular mostram que a provável região da interação TcMCA3 e PAC-1 é única em *T. cruzi* 16. Toda essa caracterização permitiu controlar in vitro o processo de apoptose-like em *T. cruzi* e permitiu a caracterização do proteoma de epimastigotas de *T. cruzi* em apoptose-like reunindo proteínas diferencialmente abundantes 17. Agora, objetivamos a identificação do interatoma por CXLMS visando desvendar os sítios de interação em condições normais e apoptóticas.

3 - PRAZO DE VIGÊNCIA:

INÍCIO: 09/2022 TÉRMINO: 12/2024

4 - COORDENADOR E FISCAL

FIOCRUZ

Coordenador do Projeto: Tatiana de Arruda Campos Brasil de Souza	
Matrícula: 1994554	DDD/Telefone: 41-3316-3230
E-mail: tatiana.brasil@fiocruz.br	

Gestor do Projeto: Fabiano Borges Figueiredo	
Matrícula: 1555388	DDD/Telefone: 41-3316-3230
E-mail: fabiano.figueiredo@fiocruz.br	

PARCEIRO

Coordenador do Projeto: Gerson Koch	
Matrícula: <i>Se existir</i>	DDD/Telefone: 41- 3218-968/9269
E-mail: convenio@fundacaoaraucaria.org.br	

Fiscal: Prof. Dr. Luiz Marcio Spinosa	
Matrícula: <i>Se existir</i>	DDD/Telefone: 41- 3218-968/9269
E-mail: convenio@fundacaoaraucaria.org.br	

5 - CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO FÍSICA

Metas	Etapas	Produto	Quantidade	Valor(R\$)	Natureza de Despesa	Início	Término
1 Disponibilização da primeira plataforma computacional capaz de analisar dados de XL-MS em larga escala	1.1 - Analise de dados	Desenvolvimento das metodologias computacionais para a análise de dados	1	0,00	Consumo	Mês 1	Mês 08
2 Padronização de metodologia de enriquecimento protéico para descrever os parceiros de interação	2.1 - 33.90.30.11 Material de Consumo - Químico	Reagentes cliváveis	1	R\$5.000,00	Consumo	Mês 1	Mês 18
	2.2 - 33.90.30.35 Material de Consumo - Laboratorial	Kit para quantificação por Qubit,	1	R\$5.200,00	Consumo	Mês 1	Mês 18
3 Interatoma diferencial de células apoptóticas de T. cruzi versus não apoptóticas através da aplicação da técnica de XL-MS	3.1 - 33.90.30.31 Pessoa Jurídica	Pessoa Jurídica	1	R\$12.980,00	Diária	Mês 3	Mês 24
	3.2 - 33.90.30.01 Passagens	Passagens curitiba - berlin - curitiba	1	R\$ 6.820,00	Passagens	Mês 3	Mês 24
4 Prospecção tecnológica, escrita de artigo científico	4.1 - Prospecção Tecnológica	Avaliação patentária, comunicação em congressos e publicação dos resultados	1	R\$0,00		Mês 12	Mês 24

6 - PLANO DE APLICAÇÃO

Natureza de Despesa					
Código	Especificação <i>A forma como será utilizada o recurso</i>	Valor unitário	Quantidade	Total Concedente	Total Conveniente
33.90.30.10	MATERIAL DE CONSUMO - MATERIAL LABORATORIAL	R\$5.200,00	1	R\$5.200,00	R\$0,00
33.90.30.35	MATERIAL DE CONSUMO - MATERIAL QUÍMICO	R\$5.000,00	1	R\$5.000,00	R\$0,00

33.90.30.31	OUTROS SERVIÇOS DE TERCEIROS - PESSOA JURÍDICA - FORNECIMENTO DE ALIMENTAÇÃO	R\$12.980,00	1	R\$12.980,00	R\$0,00
33.90.33.01	PASSAGENS E DESPESAS COM LOCOMOÇÃO -PASSAGENS PARA O EXTERIOR:	R\$6.820,00	1	R\$6.820,00	R\$0,00
	Total Geral		1	R\$30.000,00	R\$0,00

7 - CRONOGRAMA DE DESEMBOLSO (R\$)

O repasse será feito pela concedente (Fundação Araucária) diretamente para a partícipe Fiotec

CRONOGRAMA DE DESEMBOLSO (EM R\$ 1,00) – PARCEIRO					
Meta/Etapa/Atividade	No. Parcela	Mês / Liberação	Rubrica 33903035	Valor Total (R\$)	Período de Execução
/ 2.1 / 2.2/ 3.1 /3.2	1	1º mês de vigência	30.000,00	30.000,00	Mês 1 – Mês 24
TOTAL				R\$ 30.000,00	

9 - EQUIPE DO PROJETO

COLABORADOR	PAPEL NO PROJETO	RESPONSABILIDADES E COMPETÊNCIAS	INSTITUIÇÃO	FUNÇÃO NA INSTITUIÇÃO	E-MAIL	DDD	TELEFONE	Link Currículo Lattes
Tatiana de Arruda Campos Brasil de Souza	Coordenador	Coordenador, orientação de alunos na parte proteomica estrutural	ICC	Pesquisador	tatiana.brasil@gmail.com	41	3316-3230	
Juliana de Saldanha da Gama Fischer	Pesquisador	Auxílio na padronização da metodologia experimental	ICC	Pesquisador	julifr@gmail.com	41	3316-3230	
Isis Venturi Biembengut	Auxiliar	Realização de experimentos e análise de dados	ICC	Auxiliar	isisventbiem@gmail.com	41	3316-3230	
Fabricia Pires Pimenta Ribeiro	Pesquisador	Prospecção tecnológica	ICC	Pesquisador	fabricia.pimenta@fiocruz.br	41	3316-3230	
Paulo Costa Carvalho	Pesquisador	Coordenador adjunto, orientação de alunos na parte computacional	ICC	Pesquisador	paulo@pcarvalho.com	41	3316-3230	

11 - GERENCIAMENTO DE RISCOS

META	EVENTO DE RISCO	PROBABILIDADE DE OCORRÊNCIA	IMPACTO	CATEGORIZAÇÃO/PRIORIZAÇÃO
1	Atraso na elaboração do plano	Baixa	Forte	Alta
2	Ausência do pagamento	Baixa	Forte	Alta

Curitiba,



Documento assinado eletronicamente por **Hayne Felipe da Silva, Usuário Externo**, em 01/03/2023, às 15:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **DEYVES MENDES PARAGUASSU, Vice-Diretor(a) de Gestão e Desenvolvimento Institucional**, em 01/03/2023, às 15:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **STENIO PERDIGAO FRAGOSO, Diretor(a) do Instituto Carlos Chagas**, em 02/03/2023, às 10:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **TATIANA DE ARRUDA CAMPOS BRASIL DE SOUZA, Pesquisadora em Saúde Pública**, em 06/03/2023, às 10:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ramiro Wahrhaftig, CPF: 321.770.549-15, IDENTIDADE: 952291-3 SSP SP**, em 15/03/2023, às 17:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **MARIO SANTOS MOREIRA, Presidente em Exercício**, em 16/03/2023, às 10:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Marcio Spinosa, CPF: 660.526.459-20, IDENTIDADE: 3439606-0 SSP PR**, em 16/03/2023, às 15:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gerson Luiz Koch, CPF: 183.960.899-49, IDENTIDADE: 75.4751-0 SSP PR**, em 22/03/2023, às 15:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.fiocruz.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2357409** e o código CRC **A97809F0**.

Referência: Processo nº 25028.000138/2022-45

SEI nº 2357409