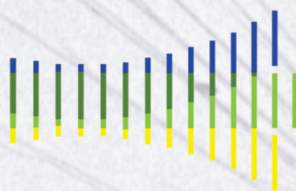
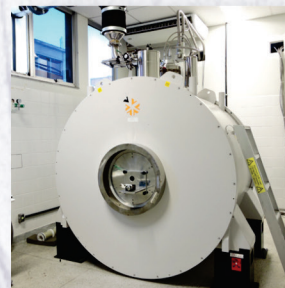
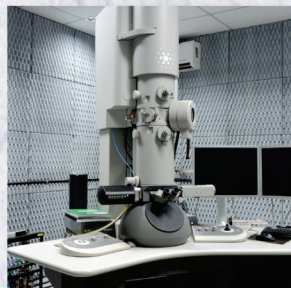
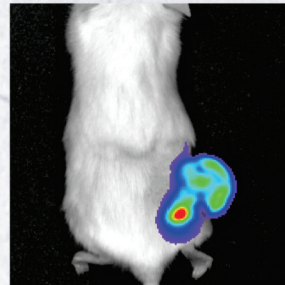
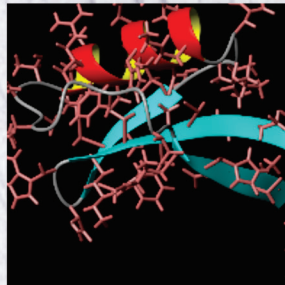
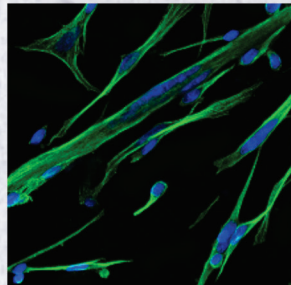


CENABIO

Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem

Um Centro Multiusuário em evolução
2023 - 2023
A Multiuser Center in evolution
2013-2023



CENABIO
Centro Nacional de
Biologia Estrutural e Bioimagem

CAPA: De cima para baixo

- Microscopia de fluorescência de super-resolução de células musculares esqueléticas crescidas em cultura, em verde, microtúbulos e em azul, o núcleo. Créditos: Kayo Bagri e Claudia Mermelstein.
- Células tumorais luminescentes no corpo de pequeno animal. Observação in vivo por Bioluminescência e Fluorescência. Créditos: Isalira Peroba Rezende Ramos e Flavia Aguiar.
- Psd1, a primeira defensina de planta a ter sua estrutura 3D determinada por RMN no Brasil. Créditos: Marcius da Silva Almeida.
- Espectrômetro de MRI de 7 Tesla para pequenos animais, instalado no CENABIO.
- Microscópio eletrônico de transmissão FEI TECNAI T20, instalado no CENABIO.
- Imagem do fundo: Células epiteliais em cultivo observadas em Microscopia Eletrônica de Varredura de Alta Resolução. Créditos: Márcia Attias

COVER: Top to bottom

- *Super-resolution fluorescence microscopy of skeletal muscle cells grown in culture, in green, microtubules and in blue, the nucleus. Credits: Kayo Bagri and Claudia Mermelstein.*
- *Luminescent tumor cells in the body of a small animal. In vivo observation by Bioluminescence and Fluorescence. Credits: Isalira Peroba Rezende Ramos and Flavia Aguiar.*
- *Psd1, the first plant defensin to have its 3D structure determined by NMR in Brazil. Credits: Marcius da Silva Almeida.*
- *7 Tesla MRI spectrometer for small animals, installed at CENABIO.*
- *FEI TECNAI T20 transmission electron microscope, installed at CENABIO.*
- *Background image: Epithelial cells observed by High Resolution Scanning Electron Microscopy. Credits: Marcia Attias*

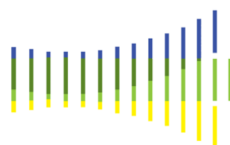
CENABIO - Centro Nacional de
Biologia Estrutural e Bioimagem
2013^a 2021

Um Centro Multiusuário em evolução

A multi-user center under evolution 2013 - 2021

1^a edição

Rio de Janeiro
2022



CENABIO
Centro Nacional de
Biologia Estrutural e Bioimagem

Esta publicação foi apoiada com recursos da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP).
Demanda: Chamada Pública MCTI/FINEP/FNDCT 02/2016 - Centros Nacionais Multiusuários.
Título: Excelência Multiusuário e Multidisciplinar em Biologia Estrutural e Bioimagem em Escala Mesoscópica:
Do Átomo ao Organismo Inteiro.
Referência: 0374/16
Contrato: 01.17.0058.00

Copyright © 2022 dos autores

Todos os direitos reservados.

É expressamente proibida a reprodução desta obra, no todo ou em parte, sem autorização dos autores.

Editor: Vieyra, Adalberto. Autores: Pesquisadores, Professores e
Equipe Técnica do CENABIO/UFRJ
Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem – CENABIO

CCS – Centro de Ciências da Saúde
ISBN XXXXXXXXXX

1. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2. Microscopia Eletrônica. 3. Imagem
de Animais. 4. Ressonância. 5. Pesquisa. 6. Multiusuário.
7. CENABIO

Rio de Janeiro, 2022

CENABIO - Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem

Av. Carlos Chagas Filho, 373 – Centro de Ciências da Saúde – CCS – Bloco M.
Cidade Universitária – Rio de Janeiro, RJ – CEP 21941-902
Telefone: +55 (21) 2590-6916 – +55 (21) 3105-1041
<https://cenabio.ccs.ufrj.br>

COLABORADORES - *Contribution:*

Adalberto Vieyra (autoria e revisão)

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho e Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO/UFRJ)

Ana Paula Valente

Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis e CENABIO/UFRJ

Claudia Mermelstein

Instituto de Ciências Biomédicas e CENABIO/UFRJ

Daniel Meira dos Anjos

CENABIO/UFRJ

Débora Bastos Mello

CENABIO/UFRJ

Denise Pires de Carvalho

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (Reitora da UFRJ)

Emiliano Horacio Medei

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho e CENABIO/UFRJ

Isalira Peroba Rezende Ramos (autoria e revisão)

CENABIO/UFRJ

Kildare Rocha de Miranda

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho e CENABIO/UFRJ

Kurt Wüthrich

Instituto Federal de Tecnologia/ETH de Zurique, Zurique, Suíça, e Instituto de Pesquisa Scripps, La Jolla, CA, EUA

Marcia Attias

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho e CENABIO/UFRJ

Marcus da Silva Almeida (autoria e revisão)

Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis e CENABIO/UFRJ

Martha Meriwether Sorenson (tradução e revisão)

Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis

Mônica Santos de Freitas

Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis e CENABIO/UFRJ

Paula Almeida Daros (autoria e projeto gráfico)

Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ)

Renata Travassos de Lima

CENABIO/UFRJ

Rodrigo Jorge Vianna Barbosa

CENABIO/UFRJ

Tais Hanae Kasai Brunswick

CENABIO/UFRJ

Triciana Gonçalves da Silva

CENABIO/UFRJ

Tula Celeste Wilmart Gonçalves

CENABIO/UFRJ

SUMÁRIO

001 PREFÁCIO / PRESENTATION

000 Denise Pires - Reitora da UFRJ
Denise Pires - Rector of UFRJ

000 Adalberto Vieyra - Diretor do Cenabio
Adalbert Vieyra - Director do Cenabio

000 Kurt Wüthrich – Pesquisador visitante da UFRJ
Kurt Wüthrich - Visiting researcher at UFRJ

002 INTRODUÇÃO / FOREWORD

2.1 CRIAÇÃO
Creation

2.2 LOCALIZAÇÃO/
Localization

2.2 LINHA DO TEMPO
Timeline

003 EQUIPE DO CENABIO *CENABIO/UFRJ Team*

004 UNIDADES / UNITS

4.1 UNIDADE DE IMAGEAMENTO DE PEQUENOS ANIMAIS
Small Animals Imaging Unit

4.2 UNIDADE DE MICROSCOPIA AVANÇADA
Advanced Microscopy Unit

4.3 UNIDADE DE BIOLOGIA ESTRUTURAL
Structural Biology Unit

4.3.1 PLATAFORMA AVANÇADA DE BIOMOLÉCULAS
Protein Advanced Biochemistry (PAB)

005 EXTENSÃO E DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA
CENABIO OUTREACH & EDUCATION

**006 O PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO PROFISSIONAL
MESTRADO E DOUTORADO**
THE PROFESSIONAL POST-GRADUATE PROGRAM-M.SC. AND PH.D.

007 BIOSSEGURANÇA
BIO SAFETY

**008 INSTITUTOS NACIONAIS DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANCORADOS
NO CENABIO/**
*NATIONAL INSTITUTES OF SCIENCE AND TECHNOLOGY ANCHORED IN
CENABIO*

009 CAPAS PUBLICADAS
PUBLISHED COVERS

010 ANEXOS
SUPPLEMENTS

Instituições e pesquisadores usuários do CENABIO/ *Institutions and
researchers associated to CENABIO*



1. PREFÁCIO

PRESENTATION

Denise Pires - Reitora da UFRJ
Denise Pires - Rector of UFRJ

O convite para escrever o prefácio do livro comemorativo dos 10 anos do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO) tem significado muito especial, principalmente porque estudei no Centro de Ciências da Saúde (CCS) desde a graduação na década de 1980, até o doutorado concluído em 1994. Portanto, sou testemunha da excelência das atividades de ensino, pesquisa e extensão que acontecem no CCS da UFRJ, um dos berços da nossa pós-graduação. A criação deste importante Centro significou inequívoca mudança de paradigma na UFRJ, não apenas no CCS. Uma das missões do CENABIO refere-se à disponibilização de infraestrutura de caráter nacional para pesquisa e desenvolvimento científico e tecnológico na modalidade de Centro Multiusuário. No entanto, a sua atuação ultrapassa o limite nacional.

Até 2013, havia na universidade poucas estruturas que funcionavam como “multiusuárias”, movimento ampliado no CCS neste século XXI. No mundo desenvolvido, o fenômeno das instalações e plataformas de equipamentos de médio e grande porte para uso múltiplo vinha acontecendo há algumas décadas. Os equipamentos que compõem o CENABIO se caracterizam pela alta tecnologia e complexidade. Neste ambiente do CCS, com elevada produção científica e alto grau de internacionalização, marcado pela presença de vários Programas de Pós-graduação

The invitation to write the preface to the book commemorating the 10th anniversary of the National Center for Structural Biology and Bioimaging (CENABIO) has a very special meaning, mainly because I studied at the Health Sciences Center (CCS) from undergraduate in the 1980s until doctorate completed in 1994. Therefore, I am a witness of the excellence of the teaching, research and outreach activities that take place at the UFRJ CCS, one of the cradles of our graduate studies. The creation of this important Center meant an unequivocal paradigm shift at UFRJ, not just at CCS. One of Cenabio's missions refers to providing infrastructure of a national nature for research and scientific and technological development as a Multi-User Center. However, its performance goes beyond the national limit.

Until 2013, there were few structures at the university that worked as “multi-users”, a movement that was amplified in the CCS in this 21st century. In the developed world, the phenomenon of infrastructure construction and the presence of platforms of equipment for multiple use had already occurred for some decades. The equipments that belong to CENABIO are characterized by high technology and complexity. In this CCS environment, with a high scientific production and a high degree of internationalization, marked by the presence of several excellent Graduate Programs, this ambitious, modern and fundamental project was born for the promotion of competitive science at an international level.

During the event celebrating the bicentennial of Brazil's independence, we had the honor of launching the idea of this book that tells the story of CENABIO and masterfully describes the challenges it has overcome. At the same time, UFRJ launched another disruptive and even more transversal project: the “Instituto de Futuros”, which intends to discuss and implement

de excelência, nasceu esse projeto ambicioso, moderno e fundamental para a promoção da ciência competitiva em nível internacional.

Durante o evento de comemoração do bicentenário da independência do Brasil, tivemos a honra de lançar a idéia deste livro que conta a história do CENABIO e descreve com maestria os desafios vencidos. Nesta mesma época, a UFRJ lançou outro projeto disruptivo e ainda mais transversal: o Instituto de Futuros, que pretende discutir e implantar projetos e programas para além das fronteiras do conhecimento. Neste século, a ciência se caracteriza pela interdisciplinaridade e transversalidade, o que depende da reunião de pesquisadores especializados em diferentes áreas, para responder às demandas da sociedade de maneira articulada. Houve inúmeros avanços tecnológicos que vêm desafiando cada vez mais a comunidade científica. Os equipamentos mais avançados, necessários para a geração de conhecimento de ponta, têm elevado custo de aquisição e manutenção, ou seja, devem ser operados por especialistas e atender a grupos diversos de pesquisadores com inúmeros interesses. As unidades ou plataformas, ou centros multiusuários, permitem a interação de pesquisadores de diferentes áreas e unidades acadêmicas em torno de tecnologias avançadas que dependem de alto investimento. A infraestrutura

projects and programs beyond the frontiers of knowledge.

In this century, science is characterized by interdisciplinarity and transversality, which depends on the gathering of researchers specialized in different areas, to respond to society's demands in an articulated way. There have been numerous technological advances that have increasingly challenged the scientific community. The most advanced equipment, necessary for the generation of cutting-edge knowledge, has a high acquisition and maintenance cost, that is, it must be operated by specialists and serve different groups of researchers with numerous interests. The units or platforms, or multi-user centers, allow the interaction of researchers from different areas and academic units around advanced technologies that depend on high investment. The adequate infrastructure for these multi-user equipments that are present in universities provides the provision of services with quality and high efficiency, in addition to serving as a gear for the scientific development associated with the production of theses and dissertations and innovation activities, with the generation of patents and interaction of the university with companies.

We have been instigated even more in recent times, with the advancement of artificial intelligence and the necessary human-machine interaction that is becoming more pressing every day. In the new era, humanity has a lot to learn from these new methodologies and activities that transform society. We live in



adequada para esses equipamentos multiusuários presentes nas universidades propicia a prestação de serviços com qualidade e alta eficiência, além de servir de engrenagem para o desenvolvimento científico associado à produção de teses e dissertações e às atividades de inovação, com geração de patentes e interação da universidade com empresas.

Temos sido instigados ainda mais nos últimos tempos, com o avanço da inteligência artificial e a necessária interação homem-máquina que se faz cada dia mais premente. São novos tempos e a humanidade tem muito a aprender com essas novas metodologias e atividades transformadoras da sociedade. Vivemos em plena revolução social e ainda enfrentamos as ameaças constantes de pandemias por doenças emergentes e reemergentes. As redes sociais, a infodemia, as big data, os supercomputadores, e a produção científica sem qualidade desafiam e tensionam a sociedade moderna. Enquanto precisamos enfrentar as mudanças climáticas e evoluir com as necessárias transições energéticas e sociais, não podemos deixar de lado os problemas cotidianos de enfrentamento da fome, da desigualdade social e da revolução no mundo do trabalho. Por outro lado, as doenças crônico-degenerativas continuam desafiando os cientistas e a medicina personalizada ganha espaço na modernidade, com relevos altamente complexos. Urge cada vez mais a presença de estruturas como as do CENABIO, que nos indicam um horizonte de sucesso para as futuras gerações, pois garantem a formação científica e a educação de qualidade, que dependem de instituições com elevado grau de adaptabilidade.

O corpo social do CENABIO é atualmente composto por profissionais altamente qualificados, com projeção nacional e internacional e os estudos desenvolvidos neste Centro exemplar vão desde moléculas, células, até organismos vivos íntegros. A descoberta de novos mecanismos básicos na área biomédica depende de Centros Nacionais com as características do CENABIO. Parabeno a todos os envolvidos. Tanto os visionários que participaram da criação do Centro Nacional há 10 anos, quanto aqueles que chegaram a posteriori e têm atuado na gestão e elaboração de projetos que perpetuarão a existência desta estrutura dinâmica e moderna que muito orgulha a Universidade Federal do Rio de Janeiro. Vida longa ao CENABIO.

the midst of a social revolution and still face the constant threat of pandemics from emerging and reemerging diseases. Social networks, the infodemic, big data, supercomputers, and poor-quality scientific production challenges and stresses of modern society While we need to face climate change and evolve with the necessary energy and social transitions, we cannot leave aside the daily problems of facing hunger, social inequality and the revolution in the world of work. On the other hand, chronic degenerative diseases continue to challenge scientists and personalized medicine is gaining ground in modernity, with highly complex reliefs. The presence of structures such as those of CENABIO is increasingly urgent, which indicate a horizon of success for future generations, as they guarantee scientific training and quality education, which depend on institutions with a high degree of adaptability.

CENABIO's faculty is currently made up of highly qualified professionals, with national and international projection and the studies carried out in this exemplary Center range from molecules, cells, to complete living organisms. The discovery of new basic mechanisms in the biomedical area depends on National Centers with the characteristics of CENABIO. I congratulate everyone involved. Both the visionaries who participated in the creation of the National Center 10 years ago, and those who came later and have worked in the management and development of projects that will perpetuate the existence of this dynamic and modern structure that the Federal University of Rio de Janeiro is very proud of. Long live CENABIO.

Adalberto Vieyra - Diretor do Cenabio
Adalbert Vieyra - Director do Cenabio

O ano de 1974, ano da criação do Laboratório Europeu de Biologia Molecular, marca o início de um novo tempo em termos da concepção de Centros de Equipamentos Multiusuários com grandes equipamentos e plataformas diversificados – em geral de alto custo – se integrando e se complementando em amplos campos do conhecimento. Essa cultura de grandes Centros Multiusuários passou a se desenvolver no Brasil no final do século XX, com a inauguração do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) em 1997, precedida pela abertura, uma década atrás, do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS). Impulso adicional para o fortalecimento dessa cultura de ampliação e de abertura para grandes projetos foram os investimentos crescentes em ciência e tecnologia no Brasil na primeira década do século XXI. No vasto campo das ciências da vida, a biologia estrutural e o imageamento em diferentes escalas e dimensões passaram a crescer no Rio de Janeiro com a criação do Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear e o Centro Nacional de Bioimagens, precursores do que hoje é o Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO), completado poucos anos depois com uma Unidade de Microscopia nucleada a partir do Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho.

No início da segunda década do século XXI, a ideia da criação de um Centro Nacional Multiusuários no campo das ciências da vida – mais precisamente no campo da biologia estrutural e do imageamento – passou a se corporizar para, finalmente, o Conselho Universitário da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) criar por aclamação, em 28 de fevereiro de 2013, o Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem da Universidade Federal do Rio de Janeiro (CENABIO). Dez anos depois, o vemos hoje consolidado como um Centro Multiusuário de caráter multidisciplinar com característica única na América Latina por reunir, no mesmo espaço acadêmico e geográfico, um parque de equipamentos de excelência – com capacidade de imageamento que abrange desde pequenas moléculas até



The year of 1974, the European Molecular Biology Laboratory was created, marking the beginning of a new era in terms of the design of Multi User Equipment Centers, holding large equipments and diversified platforms – in general of high cost – integrating and complementing each other in broad fields of knowledge. This culture of large multiuser centers began to develop in Brazil at the end of the 20th century, with the inauguration of the National Center for Research in Energy and Materials (CNPEM) in 1997, preceded by the opening, a decade before, of the National Laboratory of Synchrotron Light (LNLS). An additional impulse to strengthen this culture of expansion and openness to large projects was Brazil's growing investment in science and technology during the first decade of the 21st century. In the vast field of life sciences, structural biology and imaging – at different scales and dimensions – began to grow in Rio de Janeiro with the creation of the National Center for Nuclear Magnetic Resonance and the National Center for Bioimaging, precursors of what is now the National Center of Structural Biology and Bioimaging (CENABIO), completed a few years later with an Advanced Microscopy Unit originated from the Hertha Meyer Cellular Ultrastructure Laboratory of the Carlos Chagas Filho Institute of Biophysics at UFRJ.

At the beginning of the second decade of the 21st century, the idea of creating a National Multi User Center in the field of life sciences – more precisely in the field of structural biology and imaging – began to be embodied, finally, by the University Council of the Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ) that approved by acclamation on February 28, 2013, the creation of the National Center for Structural Biology and Bioimaging of

o animal inteiro – aliado ao apoio técnico-científico altamente qualificado, composto pelos tecnólogos e pesquisadores com grande destaque no cenário científico nacional e internacional que fazem parte do seu pequeno corpo social.

O CENABIO está e continuará associado a diversas outras Unidades acadêmicas da UFRJ, exercendo papel fundamental no desenvolvimento de teses, dissertações e monografias para conclusão de curso, de estudantes de diversos cursos de graduação e pós-graduação, além de artigos científicos e patentes principalmente na área da saúde, encontrando-se envolvido diretamente com o trabalho experimental de centenas de usuários. Ele tem, como direcionamento estratégico institucional, fortalecer, modernizar e manter uma infraestrutura multiusuário, multidisciplinar e integrada, propiciando excelência no campo da biologia estrutural e da bioimagem em escala mesoscópica ao garantir acesso plural de usuários do país e do exterior ao que há de mais avançado em ferramentas de visualização e caracterização de estruturas e funções em sistemas complexos em diferentes campos de saberes. Por ser um grande conjunto de plataformas integradas para estudos que transitam da molécula ao pequeno animal inteiro, passando pela célula e pelo tecido, possibilita a realização de ensaios pré-clínicos em ambientes certificados de medicamentos com novos princípios ativos para doenças infecciosas e crônicas (sintéticos, biológicos ou oriundos da biodiversidade), descobertos ou desenvolvidos no país. Dez anos depois de sua criação, o CENABIO se apresenta organizado em

the Federal University of Rio de Janeiro (CENABIO). Ten years later, we see it consolidated today as a multiuser center with a multidisciplinary character, unique in Latin America for bringing together a park of excellent equipment in the same academic and geographic space – with imaging capacity that covers everything from small molecules to animals – allied to highly qualified technical and scientific support given by technologists and researchers with great prominence in the national and international scientific scenario, which compose its social body.

CENABIO is and will continue to be associated with several other academic units at UFRJ, playing a fundamental role in the development of theses, dissertations, and monographs for completion of the course, by students from different undergraduate and graduate courses, in addition to scientific articles and patents mainly in the area of health, being directly involved with the experimental work of hundreds of users. It has, as an institutional strategic direction, to strengthen, modernize and maintain a multiuser, multidisciplinary and integrated infrastructure, providing excellence in the field of structural biology and bioimaging on a mesoscopic scale by guaranteeing plural access of users from the country and abroad to the most advanced in visualization tools and characterization of structures and functions in complex systems in different fields of knowledge. As it is a large set of integrated platforms for studies that move from the molecule to the whole small animal, passing through the cell and tissue, it makes it possible to carry out pre-clinical trials in certified environments for drugs with new active principles for infectious and chronic diseases (synthetic, biological or derived from biodiversity), discovered or developed in the



três grandes unidades: a Unidade de Biologia Estrutural de Macromoléculas (UBEM) acoplada a uma Plataforma Avançada de Biomoléculas (PAB), a Unidade de Imageamento de Pequenos Animais (UIPA) e a Unidade de Microscopia Avançada (UMA).

No início da segunda década de presença na vida acadêmica da UFRJ, o CENABIO destaca que é necessário – como em outros Centros do Mundo – constituir grupos de pesquisa/ ensino próprios liderados por um(a) cientista, nas diferentes vertentes do imageamento na biologia celular, na biologia estrutural e na biologia molecular, cobrindo aspectos teóricos e experimentais. Grupos pequenos e integrados, caminhando na direção de uma ciência cada vez mais molecular, possibilitada pela junção da criomicroscopia eletrônica com a ressonância magnética nuclear, a difração de raios X e a modelagem molecular. Para tornar possível na UFRJ a determinação da estrutura tridimensional de moléculas e de complexos supramoleculares. Para compreender o que hoje se denomina de “sociologia das moléculas dentro da célula”, e suas aplicações no desenvolvimento de vacinas – como demonstrado recentemente nas vacinas contra o SARS-CoV-2 – e no desenho de novos fármacos para doenças prevalentes que requerem uma abordagem de medicina de precisão, como é o caso dos diversos tipos de câncer. Estes são os horizontes do CENABIO.

country. Ten years later, CENABIO is organized into three major units: the Macromolecule Structural Biology Unit (UBEM) coupled with an Advanced Biomolecule Platform (PAB), the Small Animal Imaging Unit (UIPA), and the Microscopy Unit Advanced (UMA).

At the beginning of the second decade of presence in the academic life of UFRJ, CENABIO emphasizes that it is necessary – as in other centers of the world – to constitute its own research groups led by a scientist in the different aspects of imaging in cell biology, in structural biology and molecular biology, covering theoretical and experimental aspects. Small and integrated groups, moving towards an increasingly molecular science, made possible by combining electronic cryo-electron microscopy with nuclear magnetic resonance, X-ray diffraction, and molecular modeling. To make it possible at UFRJ to determine the three-dimensional structure of molecules and supra-molecular complexes. In order to understand what is now called the “sociology of molecules inside the cell” and its applications in vaccine development – as recently demonstrated in vaccines against SARS-CoV-2 – and in the design of new drugs for prevalent diseases that require a precision medicine approach, as is the case with different types of cancer. These are the horizons of CENABIO.



Kurt Wüthrich
Instituto Federal de Tecnologia/ETH de Zurique, Zurique, Suíça, e
Instituto de Pesquisa Scripps, La Jolla, CA, EUA
*Federal Institute of Technology/ETH Zürich, Zürich, Switzerland, and
Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA*

Reminiscências do Brasil por ocasião do Centenário da UFRJ / *Reminiscences of Brazil on the Occasion of the UFRJ Centennial*

Das profundezas do meu coração, parablenzo a UFRJ pelo seu centésimo aniversário! A UFRJ sobreviveu a períodos turbulentos, sob uma ampla gama de diferentes regimes políticos e se mantém forte durante a atual pandemia de Covid-19 em todo o mundo. Por mais de três décadas durante os 100 anos de história da UFRJ, minha esposa e eu passamos muitos dias felizes com amigos e colegas na UFRJ. O Rio de Janeiro tornou-se, assim, um lar para nós, no Brasil, de onde visitamos muitos outros locais nesse lindo país.

Experiência de Infância

Um dos meus diplomas universitários é em educação esportiva, e por vários anos minha renda veio da prática e ensino de esportes. Essa vocação resultou de um grande interesse por esportes desde cedo. Foi, portanto, uma grande experiência quando a seleção brasileira de futebol ficou na Escola Federal Suíça de Esportes, em Magglingen/Macolin, durante a Copa do Mundo FIFA de 1954, realizada na Suíça. O prédio "Brésil" tinha sido recém-construído para os convidados ilustres. A Escola Federal de Suíça de Esportes está localizada perto da nossa escola (Städtisches Gymnasium Biel/Bienne), meus colegas de classe e eu passamos nosso tempo livre durante as semanas da Copa do Mundo em Magglingen, assistindo aos treinos da seleção brasileira. A equipe suíça residia ao lado de "Brésil" no "Swiss Building" (Schweizerhaus), que também havia sido recém-construído para a ocasião. Os arranjos para hospedagem e campo de treinamento para as duas equipes possibilitaram



From the depths of my heart, I congratulate UFRJ for its 100th anniversary. UFRJ has survived many steep ups and steep downs under a wide range of different political regimes, and it stands strong also during the current world-wide Covid-19 pandemic. For more than three decades during the 100-year history of the UFRJ, my wife and I spent many happy days with friends and colleagues at UFRJ. Rio thus became a home for us in Brazil, from where we visited many other sites in this beautiful country.

Boyhood Experience

One of my University degrees is in sports education, and for several years my income came from pursuing and teaching sports. This vocation resulted from keen interest in sports at an early age. It was therefore a great experience when the Brazilian national football team stayed in the Swiss Federal School of

comparações diretas, que naturalmente foram muito favoráveis para o lado brasileiro. Ambas as equipes acabaram perdendo seus jogos de quartas de final no Torneio da Copa do Mundo, o Brasil foi superado pela equipe húngara em um jogo muito violento em Berna. Até o final da década de 1970, o Brasil existia no meu mapa geográfico através de sonhos sobre sua arte no futebol.

Primeiros Contatos Científicos com o Brasil

Meus contatos iniciais com a ciência brasileira datam do período entre 1978 e 1984, quando fui Secretário-Geral da International Union of Pure and Applied Biophysics (IUPAB). Os contatos oficiais no Brasil foram o Professor Leopoldo de Meis, da UFRJ, e um ex-aluno da UFRJ, o Professor Sérgio Mascarenhas de Oliveira, da Universidade Federal de São Carlos. Ambos foram os principais mediadores de programas educacionais organizados na América Latina pelos International Unions of Biophysics and of Biochemistry e pelo Centro Internacional de Física Teórica (ICTP) em Trieste, Itália. Na minha função de Secretário-Geral do IUPAB também me encontrei com um jovem, Jerson Lima da Silva, que participou como aluno no sétimo Congresso Internacional de Biofísica, na Cidade do México, em 1981, tendo sido premiado com uma bolsa da IUPAB.

A primeira visita ao Rio de Janeiro foi organizada para minha esposa Marianne e eu, em fevereiro de 1988, por um colega da ETH Zurique, Professor Walter Baltensperger, um físico teórico que era um parente distante da minha esposa. Casado com uma mulher brasileira, Walter era dono de um apartamento no Rio de Janeiro e trabalhava meio período no renomado Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas. O Dr. George Bemski, um colega da minha época nos Laboratórios Bell Phone, nos EUA, trabalhou no mesmo instituto e guiou nossas primeiras visitas às atrações turísticas do Rio de Janeiro. Na UFRJ, o Professor Leopoldo de Meis organizou minha primeira palestra no Departamento de Bioquímica Médica da UFRJ. Nossa próxima visita à cidade foi em fevereiro de 1999, quando participei de um workshop sobre “Investigações de Estrutura Macromolecular por NMR”. O encontro organizado pelo Professor Jerson Lima da Silva, no Hotel Marina Palace, no Leblon, foi, como percebi no século XXI,

Sports in Magglingen/Macolin during the 1954 FIFA World Cup in Switzerland. The building “Brésil” had been newly constructed for the illustrious guests. The Federal Sports School being located near our high school (“Städtisches Gymnasium Biel/Bienne”), my classmates and I spent our free time during the weeks of the World Cup in Magglingen, watching training sessions of the Brazilian team. The Swiss team resided next door to “Brésil” in the “Swiss Building” (“Schweizerhaus”), which had also been newly constructed for the occasion. The arrangements for lodging and practice fields for the two teams enabled direct comparisons, which were of course very favorable for the Brazilian side. Both teams ended up losing their quarter-final games in the World Cup Tournament, whereby Brazil was overcome by the Hungarian team in a very violent game in Bern. Until the late 1970s, Brazil existed on my geographic map through dreams about its football artistry.

Early Scientific Contacts with Brazil

My initial contacts with Brazilian science date from the years 1978 to 1984, when I was Secretary General of the International Union of Pure and Applied Biophysics (IUPAB). The official contacts in Brazil were Professor Leopoldo de Meis at UFRJ, and an alumnus of UFRJ, Professor Sérgio Mascarenhas de Oliveira of UF São Carlos. They both were key mediators of educational programs organized in Latin America by the International Unions of Biophysics and of Biochemistry, and by the International Center of Theoretical Physics (ICTP) in Trieste, Italy. In my function as Secretary General of IUPAB I also met with a very young Jerson Lima da Silva, who participated as a student in the 7th International Biophysics Congress in Mexico City in 1981, having been awarded an IUPAB fellowship. The first visit to Rio de Janeiro was arranged for my wife Marianne and myself in February 1988 by a colleague at the ETH Zürich, Professor Walter Baltensperger, a theoretical physicist who was a distant relative of my wife. Being married to a Brazilian wife, Walter owned an apartment in Rio and worked part-time at the internationally renowned “Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas”. Dr. George Bemski, a colleague from my time at the Bell Telephone Laboratories in the USA, worked in the same institute, and he guided our first visits to Rio’s tourist attractions. At UFRJ, Professor Leopoldo de Meis arranged for my first lecture at the Medical Biochemistry Department of UFRJ.

um passo importante no desenvolvimento da biologia estrutural na UFRJ. Para minha esposa e eu, o Marina Palace tornou-se por muitos anos nossa “casa no Rio de Janeiro”.

Colaborações Iniciais com a UFRJ

A participação no já citado workshop de 1999 foi o início de colaborações ainda em curso com cientistas da UFRJ. No início, compartilhei interesses comuns e intensos com os Professores Jerson Lima da Silva e Débora Foguel em biologia estrutural da proteína do príon e encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSEs). De 2003 a 2006, o Professor Marcius da Silva Almeida foi cientista visitante em meu laboratório no The Scripps Research Institute, em La Jolla, CA, EUA, onde fez importantes contribuições para um projeto “quente” de estudos sobre proteínas não estruturais do Coronavírus SARS. Em 2007 tive o privilégio de participar de outro evento chave no desenvolvimento da biologia estrutural na UFRJ: no dia 3 de setembro desse ano foi inaugurado o edifício de RMN de alto campo, que hoje abriga o Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear Macromolecular Jiri Jonas (CNRMN).

Brasil Além do Rio de Janeiro

No século XXI, o Rio de Janeiro continuou sendo o foco principal de nossas relações com o Brasil, e regularmente iniciamos viagens para participação em congressos e visitas a instituições científicas de outras partes do Brasil a partir dessa nossa base doméstica. Ao longo dos anos, me deram oportunidades de dirigir-me a audiências em congressos nacionais de biologia, bioquímica, química e física, para que eu conhecesse uma ampla comunidade de cientistas brasileiros e seus projetos. Esses encontros nacionais e vários congressos internacionais proporcionaram uma sucessão de visitas a São Paulo, Campinas, Angra dos Reis e Foz do Iguaçu, e também passamos um tempo em Búzios, São Pedro da Aldeia, Teresópolis, Araraquara, Campos de Jordão e Goiânia, desfrutando de



Faculdade Nacional de Medicina - UFRJ - Universidade do Brasil - Por Santa Rosa OLD SKOOL - <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=18159378>

Our next visit was in February 1999, when I participated in a workshop on “Macromolecular Structure Investigations by NMR”. The meeting organized by Professor Jerson Lima da Silva at the Hotel Marina Palace in Leblon was, as I realized in the 21st century, an important step in the development of structural biology at UFRJ. For my wife and myself, the Marina Palace became for many years our home in Rio.

Initial Collaborations with UFRJ

Participation in the aforementioned 1999 workshop was the beginning of still ongoing collaborations with scientists at UFRJ. Early on, I shared common intense interests with Professors Jerson Lima da Silva and Debora Foguel in prion protein structural biology and transmissible spongiform encephalopathies (TSEs). From 2003 to 2006, Professor Marcius da Silva Almeida was a visiting scientist in my laboratory at the Scripps Research Institute in La Jolla, CA, USA, where he made important contributions to a “hot” project of studies on non-structural proteins of the SARS-Corona virus. In 2007 I had the privilege of participating in another key event in the development of structural biology at UFRJ: on September 3 of that year the high-field NMR building was inaugurated, which now houses the National Center for Nuclear Magnetic Resonance of Macromolecules (CNRMN).

Brazil Beyond Rio de Janeiro

In the 21st century, Rio continued to be the main focus of our relations with Brazil, and we regularly started trips for participation in congresses and visits to scientific institutions in other parts of Brazil from this home base. Over the years,

paisagens brasileiras amplamente diferentes.

Os contatos estabelecidos durante essas diversas viagens ao Brasil resultaram em colaborações científicas com cientistas brasileiros de fora do Rio de Janeiro. Por exemplo, o Professor Valmir Fadel, da Universidade Estadual Paulista (UNESP), passou um ano sabático em meu laboratório na ETH Zurique, em 2001/2002, sendo que uma publicação resultante é também de autoria do Dr. Tetsuo Yamane, do Instituto Butantan, em São Paulo.

Ciência sem Fronteiras – Pesquisador Visitante Especial na UFRJ 2012-2016

Sob os auspícios do programa “Ciência sem Fronteiras”, estive de 2012 a 2016 formalmente associado à UFRJ como docente visitante no Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO). Meus principais contatos foram e continuam sendo com o Diretor do CENABIO/UFRJ, Professor Adalberto Vieyra, Professor Jerson Lima da Silva e Professor Marcius da Silva Almeida. Durante esse período de cinco anos, minha esposa e eu visitamos o Rio de Janeiro de duas a três vezes ao ano, e assim desfrutamos de vários meses de vida carioca no Leblon. Uma honraria especial foi concedida a mim em 2013 com a eleição como Membro Correspondente da Academia Brasileira de Ciências, distinção que agora compartilho com Albert Einstein e muitos outros grandes cientistas. Foi especialmente gratificante que, além de nossos amigos da UFRJ, Walter Baltensperger, que mediou nossa primeira visita ao Rio de Janeiro em 1988, se juntou a nós para minha indução à Academia. Embora o contrato formal com o CENABIO/UFRJ tenha terminado em 2016, continuamos com as visitas mensais ao Rio de Janeiro, e na minha mais recente estadia na UFRJ, em novembro de 2018, meu nome ainda estava na porta do meu escritório. É com profundo pesar que tivemos que cancelar as visitas previstas para 2020 e 2021, que teriam sido dedicadas ao Centenário da UFRJ, e Marianne e eu esperamos compensar essas oportunidades perdidas em breve.

I was given opportunities to address audiences at national congresses in biology, biochemistry, chemistry and physics, so that I became acquainted with a wide community of Brazilian scientists and their projects. These national meetings and several international congresses provided for a succession of visits to São Paulo, Campinas, Angra dos Reis and Foz do Iguaçu, and we also spent time in Búzios, São Pedro, Teresópolis, Araraquara, Campos do Jordão and Goiânia, enjoying widely different Brazilian landscapes. The contacts established during these various trips to Brazil resulted in scientific collaborations with Brazilian scientists outside of Rio de Janeiro. For example, Professor Valmir Fadel of the Universidade Estadual Paulista (UNESP) spent a sabbatical in my laboratory at the ETH Zürich in 2001/2002, and a resulting publication is authored also by Dr. Tetsuo Yamane of the Instituto Butantan in São Paulo.

Ciência sem Fronteiras – Pesquisador Visitante Especial at UFRJ 2012--2016

Under the auspices of the program “Science without Borders”, I was from 2012 to 2016 formally associated with UFRJ as a visiting faculty member in the National Center for Structural Biology and Bioimaging (CENABIO). My principal contacts were and continue to be with the Director of the CENABIO/UFRJ, Professor Adalberto Ramon Vieyra, Professor Jerson Lima da Silva and Professor Marcius da Silva Almeida. During this five-year period, my wife and I visited Rio two to three times per year, and we thus enjoyed several months of Rio life in Leblon. A special honor was bestowed on me in 2013 with the election as a Corresponding Member of the Academia Brasileira de Ciências, a distinction that I now share with Albert Einstein and many other great scientists. It was especially gratifying that, in addition to our friends at UFRJ, Walter Baltensperger, who mediated our first visit to Rio in 1988, joined us for my induction into the Academy. Although the formal contract with CENABIO/UFRJ ended in 2016, we continued yearly visits to Rio, and on my most recent stay at UFRJ in November 2018, my name was still on the door of my office. It was with deep regret that we had to cancel visits planned in 2020 and 2021, which would have been dedicated to the UFRJ Centennial, and Marianne and I hope to make up for these missed opportunities before long.

2. INTRODUÇÃO

PRESENTATION

2.1 Criação

No início de 2006, a Ciência e a Tecnologia no Brasil começaram a perceber que em 2010-2014 seria umas de suas melhores épocas de financiamento. Na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) não foi diferente. Desse modo, um grupo de Pesquisadores liderado pelos Professores Antonio Carlos Campos de Carvalho, Jerson Lima da Silva e Wanderley de Souza se uniram visando concretizar o sonho de montar uma plataforma multiusuário que, mais tarde, viria a ser o Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO). Liderado pelo Professor Jerson Lima da Silva, localizado no então “corredor atrás do Centro de Ciências da Saúde (CCS), ao lado da agência dos Correios”. A ideia original dos prestigiosos pesquisadores era a de poder concentrar em uma área física próxima ao Centro de Ciências da Saúde, um centro que fosse muito além de ser um mero conjunto de equipamentos de alto valor e sim que reunisse tecnologias de ponta para responder a perguntas instigantes dentro das diferentes áreas do saber — desde o átomo, passando pelas moléculas e células, chegando ao estudo de animais inteiros. A plataforma contaria, ainda, com uma ponte translacional por meio de parcerias genuínas com o Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, da UFRJ, e por meio de uma Parceria Público-Privada com pesquisadores da Rede D’Or de hospitais, o que se tornaria depois o Instituto D’Or de Pesquisa e Ensino (IDOR).

O nascimento do CENABIO contou com a incorporação de uma plataforma tecnológica já estabelecida, que iniciou sua trajetória em 1998, o Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear Jiri Jonas (CNRMN). O CNRMN foi idealizado pelo Professor Jerson Lima da Silva e teve como co-fundadores os Professores Fábio Geneviva Lacerda de Almeida e Ana Paula Valente, pesquisadores que coordenam os instrumentos de ressonância magnética nuclear (RMN) e treinam novos usuários,

2.1 Creation

At the beginning of 2006, science and technology in Brazil began to enjoy what would become in 2010-2014 one of its best funding periods. At the Federal University of Rio de Janeiro, this opening led a group of scientists headed by Professors Antonio Carlos Campos de Carvalho, Jerson Lima da Silva and Wanderley de Souza to start implementing the dream of setting up a multi-user platform, which would be named National Center for Structural Biology and Bioimaging (CENABIO), and located alongside the Center for Health Sciences (CCS), along the east side of the Center for Health Sciences. They proposed to concentrate within a single physical area a platform that went far beyond a collection of high-value equipment, one that would bring together cutting-edge technologies to solve problems from different areas of knowledge in the health sciences - from atoms to molecules and from cells to the study of whole animals. They conceived of this platform as a translational bridge that would benefit from partnership with research groups at UFRJ’s Clementino Fraga Filho University Hospital as well as a public/private partnership with clinicians and researchers from the D’Or Network of Hospitals, which would become the D’Or Institute for Research and Teaching (IDOR).

CENABIO’s birth included the incorporation of an established technological platform, which began its trajectory in 1998 as the Jiri Jonas National Magnetic Resonance Center (CNRMN). The CNRMN was conceived by Professor Jerson Lima Silva and had as co-founders Professors Fabio Geneviva Lacerda de Almeida and Ana Paula Valente, who oversee the NMR instruments and train new users, as well as directing their own laboratory groups.

In 2003, due to the need to install an 800 MHz spectrometer that uses extremely advanced technology to keep its high magnetic field stable, it was necessary to create a dedicated space for this instrument. Together with FAPERJ, UFRJ provided financial aid to construct a building totally dedicated to NMR apparatus. This building not only provided for the

além de coordenarem seus próprios laboratórios.

Em 2003, devido à necessidade de instalação de um espectrômetro de 800 MHz que utiliza tecnologia extremamente avançada para manter seu elevado campo magnético estável, foi necessária a criação de um espaço dedicado a ele. Para tal finalidade, a UFRJ junto com a FAPERJ disponibilizaram contrapartida financeira para construir um prédio totalmente dedicado aos aparelhos de RMN. O prédio não só previa a ampliação do parque de espectrômetros de RMN, mas representou o marco físico do CENABIO, sendo o primeiro prédio construído dessa unidade multiusuária e, por isso, também denominado de Unidade de Biologia Estrutural (UBE).

Em seguida, a Unidade de Imageamento de Pequenos Animais (UIPA) foi criada, somando-se à UBE e dando continuidade ao sonho de compor uma plataforma diferenciada, que deveria contar não apenas com equipamentos de ponta, mas também com um amplo espaço de biotérios que pudessem apoiar os projetos de pesquisadores tanto do Estado do Rio de Janeiro, quanto de outros Estados e de países vizinhos.

Sob coordenação do Professor Antonio Carlos Campos de Carvalho, com amplo apoio de pesquisadores do Centro de Ciências da Saúde (CCS), foi obtido financiamento pela Agência Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) no Edital CT-INFRA, 2007. Os recursos obtidos neste Edital permitiram a construção do que hoje é a UIPA. A Unidade, uma vez concluída a obra física, foi recebendo equipamentos, alguns previamente adquiridos em projetos de pesquisadores, principalmente daqueles liderados pelo Professor Antonio Carlos Campos de Carvalho, tais como o equipamento de ultrassonografia Vevo 770, o de bioluminescência e fluorescência IVIS-Lumina, o citômetro de fluxo FACSAria II e mesmo o equipamento de Ressonância Magnética 7 Tesla para pequenos animais - esse último era o único equipamento na época na América do Sul. Além desses equipamentos, estantes para pequenos animais foram gentilmente doadas pela Professora Rosália Mendez-Otero para completar a primeira etapa da consolidação do primeiro pavimento da UIPA.

No final do ano de 2009, o Professor Antonio Carlos Campos de Carvalho convidou os Professores Fernanda Freire Tovar Moll

expansion of the NMR spectrometer park, but represented the physical beginning of CENABIO: the Structural Biology Unit, the first of what became this multi-user facility.

The Imaging Unit for Small Animals was created to provide CNRMN with specialized animal-care facilities to support the projects of researchers from the state of Rio de Janeiro and its neighbors in Brazil, as well as other Latin American countries.

Under the coordination of Professor Campos de Carvalho, and with broad support from researchers working in UFRJ's Center for Health Sciences-CCS, funding was obtained from the Funding Agency for Studies and Projects (FINEP) in 2007. These resources allowed the construction of what is now known the Small Animals Imaging Unit (UIPA) of CENABIO. Once built, this Unit received equipment from various sources, some of it previously acquired by individual researchers, such as Dr. Campos de Carvalho, who ceded the Vevo 770 ultrasound equipment, the bioluminescence and fluorescence IVIS-Lumina, the FACSAria II flow cytometer and especially the seven-tesla magnetic resonance equipment for small animals, at the time the only equipment of its kind in South America. Additionally, shelves for small animals were kindly donated by Professor Rosália Mendez Otero in order to complete the first stage of UIPA.

At the end of 2009 Dr. Campos de Carvalho invited Professors Fernanda Freire Tovar-Moll and Emiliano Medei, both from UFRJ, to consolidate the installation of UIPA of CENABIO, and in early 2010 the physical structure was ready for occupancy. It was the beginning of a fruitful public/private partnership with what is now the D'OR Institute of Research and Teaching (IDOR). Dr. Fernanda Tovar-Moll, together with Dr. Jorge Moll-Neto, founded this Research and Teaching Institution as the first of its kind in Rio de Janeiro in 2010.

An important point to be highlighted in the consolidation of this UIPA is the fact that it anchored, even before its inauguration, the National Institute of Science and Technology in Structural Biology and Bioimaging (INBEB), coordinated by Dr. Silva.

Small Animal Imaging (UIPA) of CENABIO was inaugurated on May 5, 2010, as shown in the following image.

Other distinguished personalities who participated in this inauguration were Professor Carlos Aragão de Carvalho, President of the National Council for Scientific and



Inauguração da Unidade de Imageamento de Pequenos Animais em 5 de maio de 2010. A cerimônia contou com a presença do então Ministro de Ciência e Tecnologia, Professor Sergio Machado Rezende, e conduzida pelo Decano do CCS/UFRJ à época, o Professor Almir Fraga Valladares. Crédito: Arquivo CENABIO. Inauguration of the Small Animal Imaging Unit on May 5, 2010. This ceremony was attended by the then Minister of Science and Technology Professor Sérgio Machado Rezende and conducted by the Dean of CCS /UFRJ at the time, Professor Almir Fraga Valladares. Credit: CENABIO archive.

e Emiliano Medei, ambos da UFRJ, para consolidar a instalação dessa Unidade. No início de 2010 a estrutura física foi entregue. A estruturação da UIPA seria o começo de uma profícua Parceria Público-Privada com o que hoje é o Instituto D'Or de Pesquisa e Ensino (IDOR). A Professora Fernanda Freire Tovar Moll e Jorge Moll Neto fundaram essa Instituição de Pesquisa e Ensino, sendo a primeira do tipo no Rio de Janeiro, também no ano de 2010. Vale ressaltar que a Instituição é parte da Rede D'Or de hospitais, o que se mostrou fundamental por já no momento inicial de instalação da UIPA poder contar com o apoio técnico e intelectual aportado nesta parceria público-privada.

Outro ponto importante a ser ressaltado na consolidação da Unidade foi o fato de ela ter ancorado, mesmo antes de sua inauguração, o Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Biologia Estrutural e Bioimagem (INBEB), coordenado pelo Professor Jerson Lima da Silva.

Assim, a UIPA do CENABIO foi inaugurada em 5 de maio de 2010.

Outras personalidades ilustres também participaram da inauguração, tais como o Presidente do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Professor

Technological Development (CNPq); Professor Jorge Almeida Guimarães, President of the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES); Professor Ruy Garcia Marques, President of the Rio de Janeiro State Research Support Foundation (FAPERJ), and Luiz Edmundo Horta Barbosa da Costa Leite, Secretary of Science and Technology of the State of Rio de Janeiro.

Early in 2011, an area for cell cultivation was inaugurated on the second floor of UIPA. This addition was fundamental for integrating other areas of knowledge such as Plant Biology and Natural Products.

At the end of 2010, CENABIO began a program for the Outreach & Education of Science that continues to this day, a collaboration with the José Martins da Costa middle school in São Pedro da Serra, Nova Friburgo. Students and teachers at this school were invited to spend a full day at CENABIO interacting with researchers and getting a feeling for what a research center is like and how scientists work. This was a fundamental milestone in the history of CENABIO with regard to the Outreach & Education of Science.

The Small Animal Imaging Unit continued to increase its capacity for advanced research by incorporating a PET-SPECT-MicroCT at the end of 2011. This process was coordinated by Professors Alysson Roncally and Walter Araújo Zin. Acquisition

Carlos Aragão de Carvalho; o Presidente da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Professor Jorge Almeida Guimarães; o Presidente da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Professor Ruy Garcia Marques; e o Secretário de Ciência e Tecnologia do Estado do Rio de Janeiro, Luiz Edmundo Horta Barbosa da Costa Leite.

No final de 2010, o CENABIO iniciou sua trajetória na divulgação científica e extensão universitária, que será relatada em capítulo específico.

No início de 2011, foi inaugurada uma área para cultivo celular no segundo andar da UIPA. Fato fundamental para integrar outras áreas do conhecimento ao CENABIO, tal como Biologia Vegetal e Produtos Naturais.

A UIPA seguiu crescendo incorporando outro equipamento de grande porte, um PET/SPECT/MicroCT no final de 2011. Processo esse coordenado pelos Professores Alysson Roncally e Walter Araujo Zin. A aquisição do equipamento contou com apoio da FAPERJ. De fato, como observado na foto no dia de inauguração, também estiveram presentes o Diretor Científico da FAPERJ à época, Professor Jerson Lima da Silva, assim como o Professor Adalberto Vieyra, eleito o primeiro diretor do CENABIO.

Após a consolidação das Unidades de Biologia Estrutural e de Imageamento de Pequenos Animais do CENABIO em 2013, o sonho dos seus fundadores se expandiu com a inauguração da Unidade de Microscopia Avançada (UMA) também em 2013. Vários dos equipamentos ali disponíveis estavam antes instalados no Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer (LUCHM), do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho. Para a UMA foram então transferidos os microscópios eletrônicos de transmissão JEOL 1200, ZEISS 900, e os microscópios eletrônicos de varredura JEOL 5310S e JEOL 6340. Aquisições já primariamente destinadas à UMA foram os microscópios eletrônicos de transmissão FEI Tecnai Spirit Bio Twin, FEI Tecnai T20 e, mais recentemente, o Hitachi HT7800. Na microscopia de varredura, se destaca o microscópio de varredura de alta resolução ZEISS AURIGA 40, além dos microscópios de varredura FEI QUANTA 250 e ZEISS EVO 10,

of this equipment was supported by FAPERJ. In fact, as noted in the photo on inauguration day the Scientific Director of FAPERJ at the time, Dr. Silva was present, as well as Dr. Adalberto Vieyra, later elected the first director of CENABIO.

After consolidation of the NMR and Small Animal Imaging Units of CENABIO in 2013, its new Director, Dr. Adalberto Vieyra, organized the acquisition of its Advanced Microscopy Unit-UMA. Several instruments that were previously installed in the Hertha Meyer Cell Ultrastructure Laboratory of the Carlos Chagas Filho Biophysics Institute were transferred to Building 3 of CENABIO, including transmission electron microscopes JEOL 1200 and ZEISS 900, and the scanning electron microscopes JEOL 5310S and JEOL 6340, creating the nucleus of the Advanced Microscopy Unit (UMA). Subsequent additions specifically acquired for the UMA were the electronic transmission microscopes FEI- Tecnai Spirit Bio Twin, FEI Tecnai T20 and, more recently, the Hitachi HT7800. For scanning microscopy, the UMA houses the ZEISS AURIGA 40 high-resolution scanning microscope, in addition to the FEI QUANTA 250 and ZEISS EVO10 scanning microscopes, with low-vacuum observation modes and elemental microanalysis. For optical microscopy, the ZEISS AXIOZOOM V.16 stereomicroscope and the ZEISS ELYRA PS.1 microscope were acquired.

In addition to optical and electron microscopy, the Advanced Microscopy Unit also houses instruments for atomic force microscopy, X-ray diffraction and an optical tweezer platform. The most recent advancement of CENABIO in this Unit is represented by the Electron Cryo-Microscopy Platform, recently inaugurated in November 2023, with the Titan Kryos G4, 300 kv from Thermo Scientific, a high-resolution transmission cryo-microscope and a cryo FIB-SEM Aquilos 2 plus, also from Thermo Scientific, a scanning cryo-microscope equipped with a scanning system for cryosectioning of lamellae to resolve macromolecular cellular structures.

In addition to its robust technological park, CENABIO has been able to attract outstanding researchers, not only from Brazil, but also from other states and countries. In this context, it is highlighted the presence and contributions of Dr. Kurt Wüthrich, pioneer in NMR and Nobel Prize in Chemistry in 2002.



Inauguração do equipamento de PET/SPECT/MicroCT no final de 2011. Em primeiro plano, da esquerda para a direita, estão os Professores Julio Scharfstein (jaqueta marrom), Mario A. C. da Silva Neto (centro), Adalberto Vieyra (de camisa social) e Claudia Gallo (à frente). Crédito: Arquivo CENABIO. - Inauguration of PET-SPECT-microCT equipment at the end of 2011, with its future Director Adalberto Vieyra in the audience. In the foreground from left to right are Professors Julio Scharfstein (brown jacket), Mario A. C. da Silva Neto (center), Adalberto Vieyra (in shirtsleeves) and Claudia Gallo (in first plan). Credit: CENABIO archive.

dispondo de modos de observação em baixo vácuo e microanálise de elementos. Na área da microscopia óptica, foram adquiridos o estereomicroscópio ZEISS AXIO ZOOM V.16 e o microscópio ZEISS ELYRA PS.1.

Além da microscopia óptica e eletrônica, a UMA abriga ainda a microscopia de força atômica, o difratômetro de raios X e uma plataforma de pinças ópticas. O avanço mais recente do CENABIO relativo à microscopia eletrônica refere-se à Plataforma de Criomicroscopia Eletrônica, recém-inaugurada em novembro de 2023. Esta conta com um crio-microscópio de transmissão de alta resolução, o Titan Krios G4, 300 kV (Thermo Fisher Scientific) e um Aquilos 2 plus, crio-microscópio de varredura dotado de um sistema de crio-corte de lamelas para resolução de estruturas celulares .

Além do vasto parque tecnológico com que conta o CENABIO, o Centro se caracteriza por agregar pesquisadores de ponta, não apenas do Brasil, mas também de outros países. Nesse sentido, destaca-se a presença e o sólido apoio do Prêmio Nobel

CENABIO's avant-garde spirit went beyond the search for top equipments and fruitful international partnerships. Led by its Director, the technologist career was created at UFRJ in 2018. CENABIO now not only brought together high-tech equipment and great science leaders, but also strengthened its social core with the arrival of researchers with highly specialized technical training. These professionals offer technical-scientific support to extract robust, high-quality data on the Multi-User Platforms to which they are allocated, allowing us to continue to carry out competitive and quality science across the country.

In 2019, following the growing development of the center, the first professor of this Unit took office, expanding the scope of CENABIO's activities beyond technical-scientific production, but now also in the area of human resources training. Four years later, in July 2023, the innovative initiative from CENABIO to create the Professional Postgraduate Program in Bioimaging Technologies and Biostructure (PPGP-TBB) was consolidated with the approval of the Foundation for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES). The country's first professional doctorate in bioimaging will be multicenter, proposed by six CCS units: the Carlos Chagas Filho Institute of Biophysics (IBCCF), the Faculty of Pharmacy (FF), the Leopoldo De Meis Institute of Medical Biochemistry (IBqM), the Institute of Biomedical Sciences (ICB), the Paulo de Goés Institute of Microbiology (IMPG) at UFRJ, in addition to CENABIO; receiving support from the Brazilian Society of Microscopy and Microanalysis.

What began with the idea of bringing together high-tech equipment to a single physical location and making it available on a multi-user basis has blossomed into a reference center in the country, strengthened by the constant arrival of new equipment, researchers, technologists and professors. Now, aiming to maximize the use of investments already made in the country and increase interaction and rapprochement between academia and the productive sector, CENABIO supports the nascent Postgraduate Program, encouraging the joint formulation of technological projects and increasing the potential creation of startups or spinoffs. CENABIO, a multi-user center in constant transformation!

de Química de 2002, o Professor Kurt Wüthrich. O envolvimento do destacado pesquisador, incluindo orientação de jovens pesquisadores, demandou a construção de uma sala exclusiva para uso do Professor Kurt Wüthrich e seus estudantes da área de Biologia Estrutural, em julho de 2013.

O espírito de vanguarda do CENABIO foi além de buscar grandes equipamentos e parcerias internacionais profícuas, mas liderados por seu Diretor, a carreira de tecnólogo foi criada na UFRJ em 2018. O CENABIO agora não só congregava equipamentos de alta tecnologia e grandes líderes da ciência, mas fortalecia seu núcleo social com a chegada de pesquisadores com formação técnica altamente especializada. Tais profissionais oferecem suporte técnico-científico para extrair dados robustos de alta qualidade nas Plataformas Multiusuários em que atuam, permitindo com que continuemos a realizar ciência competitiva e de qualidade em território nacional.

Em 2019, acompanhando o crescente desenvolvimento do centro, a primeira docente desta Unidade tomou posse, ampliando o escopo de atuação do CENABIO para além da produção técnico-científica, mas agora também na área de formação de recursos humanos. Quatro anos mais tarde, em julho de 2023, consolida-se com a aprovação da Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) a iniciativa inovadora, semeada no CENABIO, de criação do Programa de Pós-Graduação Profissional em Tecnologias de Bioimagem e Bioestrutura (PPGP-TBB). O primeiro doutorado profissional em bioimagens do país será multicêntrico, proposto por seis unidades do CCS: o Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF), a Faculdade de Farmácia (FF), o Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo De Meis (IBqM), o Instituto de Ciências Biomédicas (ICB), o Instituto de Microbiologia Paulo de



Inauguração da sala do Professor Kurt Wüthrich, Prêmio Nobel de Química em 2002, estabelecido como professor visitante da UFRJ em 2013. Crédito: Arquivo CENABIO. *Inauguration of the office of Professor Kurt Wüthrich, Nobel Prize in Chemistry in 2002, established as a visiting professor at UFRJ in 2013. Credit: Arquivo CENABIO.*



Legenda

Goés (IMPG) da UFRJ, além do CENABIO; recebendo o apoio da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise.

O que teve início com a ideia de reunir equipamentos de alta tecnologia em um único local físico e disponibilizá-los de forma multiusuária, floresceu. Tornou-se um pólo de referência no país, fortalecido pela constante chegada de novos equipamentos, pesquisadores, tecnólogos e docentes. Agora, visando maximizar o aproveitamento de investimentos já realizados no país e aumentar a interação e aproximação entre a academia e o setor produtivo, o CENABIO apoia o nascente Programa de Pós Graduação incentivando a formulação conjunta de projetos tecnológicos e aumentando a potencial criação de startups e spin offs. CENABIO, um centro multiusuário em constante transformação!

2.2 Localização

O CENABIO está sediado no Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro e atualmente também ocupa quatro prédios anexos construídos para abrigar todos os aparelhos e a central de computadores para análise de dados.

Situado na Avenida Carlos Chagas Filho, nº 373 – Bloco M – Cidade Universitária – Rio de Janeiro/RJ – CEP 21941-902, para chegar ao CENABIO basta acessar o prédio do CCS por qualquer uma das entradas, como esquematizado na imagem a seguir.

2.3 Linha do Tempo

A linha do tempo do CENABIO inicia com a incorporação de uma plataforma tecnológica estabelecida em 1998, o Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear Jiri Jonas (CNRMN). A partir daí aconteceram diversos marcos que aprimoraram o atendimento aos usuários, conforme apresentado na figura a seguir.

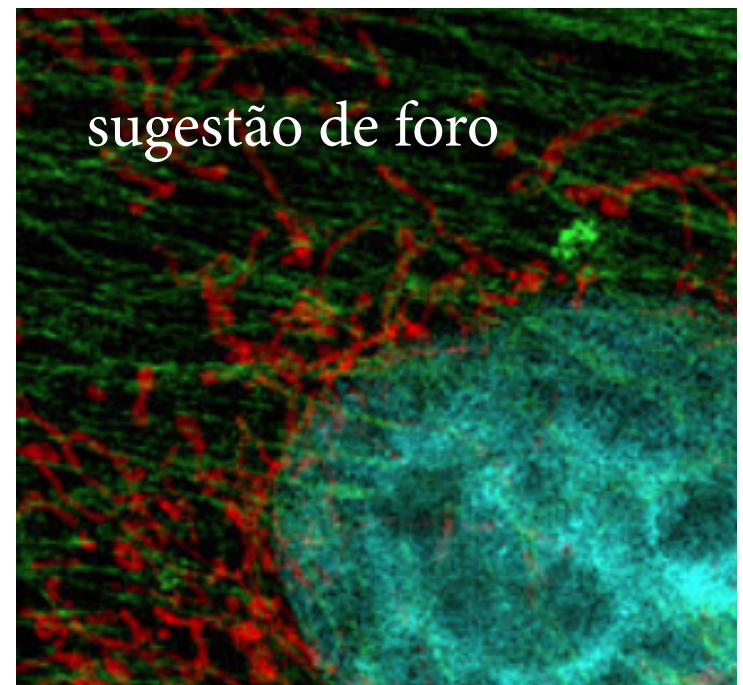
2.2 Localization

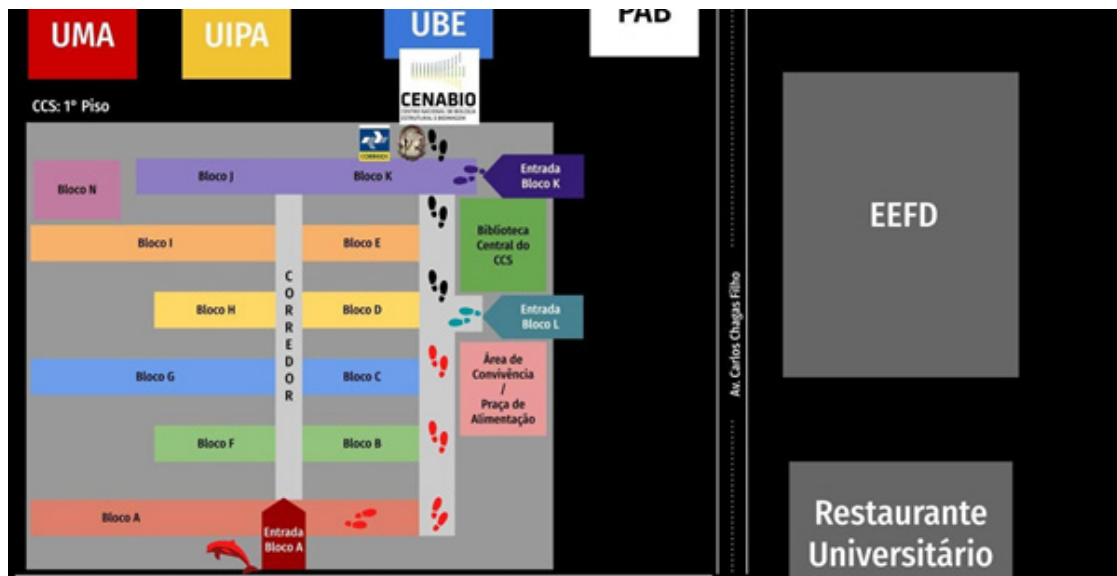
CENABIO is located at the Health Sciences Center (CCS) of the Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ) and currently also occupies four buildings that house all the devices and the computer center for data analysis.

Located at Avenida Carlos Chagas Filho, nº 373 – Bloco M – Cidade Universitária – Rio de Janeiro/RJ – CEP 21941-902, to get to CENABIO just access the CCS building through any of the entrances, as shown in the image below.

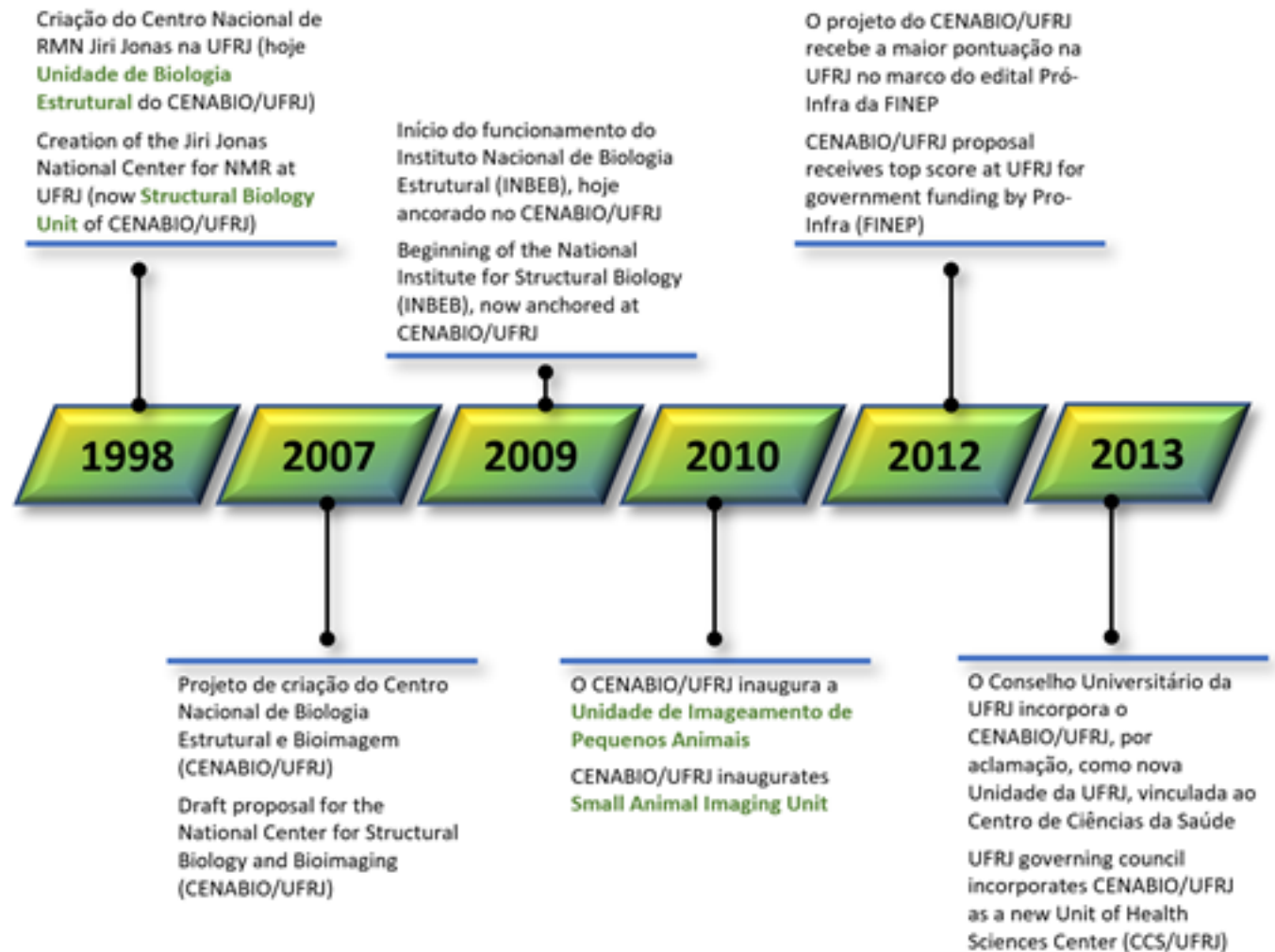
2.3 Timeline

The CENABIO timeline begins with the incorporation of a technological platform established in 1998, the Jiri Jonas National Center for Nuclear Magnetic Resonance (CNRMN). Since then, several milestones have taken place that have improved service to users, as shown in the figure below.





Mapa esquemático dos caminhos para chegar ao CENABIO no prédio do Centro de Ciências da Saúde/UFRJ. Créditos: Vitoria Melo Fernandes Cerqueira, Danielle Ferreira Silva Ferraz e Isalira Peroba Rezende Ramos. *Schematic map of the ways to get to CENABIO in the building of the Health Sciences Center/ UFRJ. Credits: Vitoria Melo Fernandes Cerqueira, Danielle Ferreira Silva Ferraz and Isalira Peroba Rezende Ramos.*



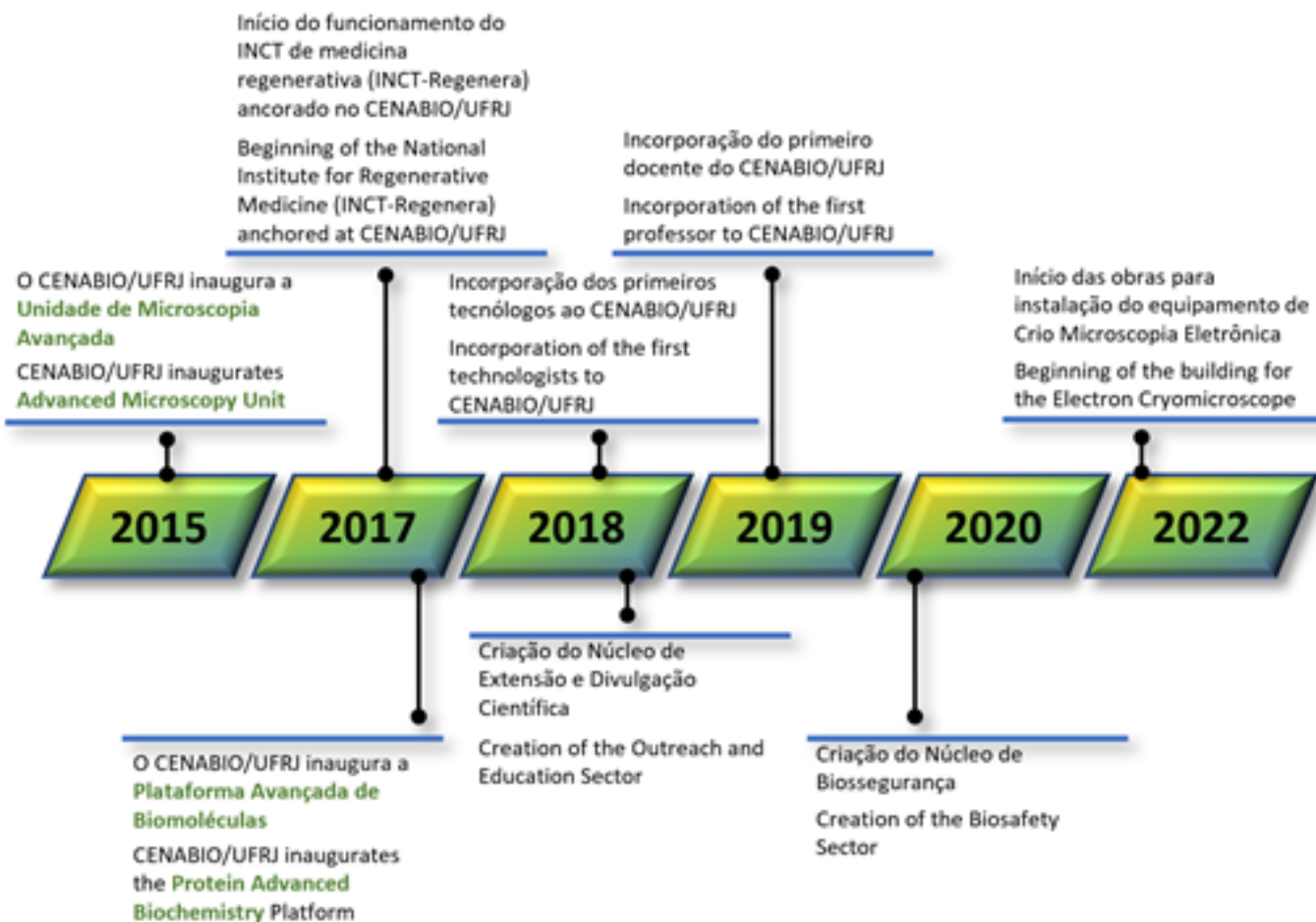
Gostaria de Refazer essas imagens (original)

Linha do tempo da criação e desenvolvimento do CENABIO.

Crédito: Arquivo CENABIO.

Timeline of the creation and development of CENABIO.

Credit: Archive CENABIO.





3. EQUIPE DO CENABIO

CENABIO TEAM

Conselho Gestor/Management Board

Diretor/ Director

- Adalberto Vieyra – avieyra@biof.ufrj.br

Vice-Diretor/ Vice-Director

- Kildare Rocha de Miranda – kmiranda@biof.ufrj.br

Fundadores/ Founders

- Antonio Carlos Campos de Carvalho – acarlos@biof.ufrj.br
- Jerson Lima da Silva – jerson@bioqmed.ufrj.br
- Wanderley de Souza – wsouza@biof.ufrj.br

Membros/ Members

- Ana Paula Valente - Diretora da Unidade de Biologia Estrutural - anapval@bioqmed.ufrj.br
- Emiliano Horacio Medei - Diretor Adjunto de Administração – emedei70@hotmail.com
- Isalira Peroba Rezende Ramos – Diretora Adjunta de Extensão - isaliramos@gmail.com
- Marcia Attias – Diretora associada da Unidade de Microscopia Avançada – mattias@biof.ufrj.br
- Marcius da Silva Almeida – Diretor Adjunto de Ensino e Pesquisa – msalmeida@bioqmed.ufrj.br
- Mônica Santos de Freitas – Diretora Adjunta de Relações Internacionais – msfreitas@bioqmed.ufrj.br
- Tais Hanae Kasai Brunswick – Diretora da Unidade Imageamento de Pequenos Animais– tais@cenabio.ufrj.br

Setor Administrativo/ Administrative Sector

- Edna Aleixo dos Santos – Contadora – edna@histo.ufrj.br
- Leonardo Ferreira Barros – Assistente em Administração – leonardobarros@cenabio.ufrj.br
- Paula Almeida Daros – Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pcarvalhodaros@gmail.com
- Priscila Magalhães Ribeiro – Seção de Apoio à Direção e de Relações Institucionais – prismaga@hotmail.com
- Tatiana Martins Cavalcanti – Secretária Executiva – tatiana@cenabio.ufrj.br

Núcleo de Educação e Divulgação Científica /Outreach and Science Education Sector

- Daniel Meira dos Anjos – Técnico em Farmácia – daniel.meira.anjos@gmail.com
- Isalira Peroba Rezende Ramos – Coordenadora – isaliramos@gmail.com
- Renata Travassos de Lima – Técnica – retravassos@gmail.com

Setor de Biossegurança/ Biosafety

- Tula Celeste Wilmart Gonçalves – Coordenadora – tulacwg@gmail.com

UNIDADE DE IMAGEAMENTO DE PEQUENOS ANIMAIS/SMALL ANIMAL IMAGING UNIT

Diretora/ Director

- Tais Hanae Kasai Brunswick (tais@cenabio.ufrj.br)

Professores/ Professors

- Antonio Carlos Campos de Carvalho (acarlos@biof.ufrj.br)
- Emiliano Horacio Medei (emedei70@hotmail.com)
- Fernanda Freire Tovar Moll (tovarmollf@gmail.com)
- Sérgio Augusto Lopes de Souza (FM) (sergioalsouza@gmail.com)
- Taís Kasai Brunswick (kasaitais@yahoo.com.br)

Plataformas e Tecnólogos Responsáveis/ Platforms and managers

- Ressonância Magnética 7 Tesla - plataformamri@cenabio.ufrj.br
Rodrigo Jorge Vianna e Tula Celeste Wilmart Gonçalves
- Luminescência e Fluorescência in vivo (IVIS-Lumina) - plataformaivis@cenabio.ufrj.br
Isalira Peroba Rezende Ramos
- Ultrassonografia - plataformaus@cenabio.ufrj.br
Debora B. Mello
- PET/SPECT/microCT - plataforma.pet.spect.ct@cenabio.ufrj.br
Tula Celeste Wilmart Gonçalves
- High Content/throughput Analysis - plataformahca@cenabio.ufrj.br
Renata Travassos de Lima
- Citometria de Fluxo e Cell Sorting - citometria@cenabio.ufrj.br
Triciana Gonçalves Silva

UNIDADE DE MICROSCOPIA AVANÇADA/ ADVANCED MICROSCOPY UNIT

Diretor/ Director

- Kildare Miranda- kmiranda@biof.ufrj.br
- Diretora Associada/ Associated Director
- Marcia Attias – mattias@biof.ufrj.br

Professores/ Professors

- Andre Gomes- amog@bioqmed.ufrj.br
- Claudia Mermelstein – mermelstein@ufrj.br

- Gilberto Weissmüller – gweissmuller@gmail.com
- Kildare Rocha de Miranda – kmiranda@biof.ufrj.br
- Luis Maurício Lima – mauricio@pharma.ufrj.br
- Marcia Attias – mattias@biof.ufrj.br
- Nathan Bessa Viana – nathan@if.ufrj.br
- Ricardo Louro – rplouro.cenabio@gmail.com
- Bruno Pontes – brunoaccpontes@gmail.com
- Diney Soares Ether– dether78@gmail.com
- Silvana Allodi – sallodi@biof.ufrj.br

Plataformas e Responsáveis/ *Platform managers*

- Microscopia Eletrônica de Varredura/ Scanning Electron Microscopy
Ricardo Louro rplouro.cenabio@gmail.com
- Microscopia Eletrônica de Transmissão/ Transmission Electron Microscopy
Marcia Attias mattias@biof.ufrj.br
- Microscopia Óptica/ Light Microscopy
Fernando Pereira de Almeida fepealmeida@micro.ufrj.br
- Pinças Ópticas/ Optical Tweezers
Nathan Bessa Viana nathan@if.ufrj.br
- Microscopia de Força Atômica/ Atomic Force Microscopy
Gilberto Weissmüller gweissmuller@gmail.com
- Difração de Raios-X/ X-Ray diffraction
Luis Maurício Lima mauricio@pharma.ufrj.br

Tecnólogos, Técnicos e Colaboradores/ *Technologists, Technicians and collaborators*

- Adélia Mara Belém Lima – adelia.belem@cenabio.ufrj.br
- Camila Gonçalves – camilabiof@gmail.com
- Carla Brandão Woyames – carlaw@cenabio.ufrj.br
- Daniel Gonçalves Lucif Vieira – danieliucif@gmail.com
- Fernando Pereira de Almeida – fepealmeida@micro.ufrj.br
- Henrique Coelho da Veiga – hcveiga1@gmail.com
- Jean Pierre dos Santos – jean.fonsecafs32@gmail.com
- Lorian Cobra Straker – strakerl@ufrj.br
- Noemia Rodrigues Gonçalves – noemiaalves@gmail.com
- Sara Teixeira – sara.cenabio@gmail.com
- Vânia Vieira – vaniavieiracenabio@gmail.com

UNIDADE DE BIOLOGIA ESTRUTURAL/ *STRUCTURAL BIOLOGY UNIT*

Diretora/ *Director*

- Ana Paula Valente - anapval@bioqmed.ufrj.br

Professores/ *Professors*

- Fabio C. L. Almeida - falmeida@bioqmed.ufrj.br
- Mônica Santos Freitas - msfreitas@bioqmed.ufrj.br
- Marcius S. Almeida - msalmeida@bioqmed.ufrj.br

Tecnólogos, Técnicos e Colaboradores/ *Technologists, Technicians and collaborators*

- Karen Santos - karensantos@bioqmed.ufrj.br
- Lucas Fortaleza - lucas.silva@bioqmed.ufrj.br
- Vitor Almeida - vitor.almeida@bioqmed.ufrj.br

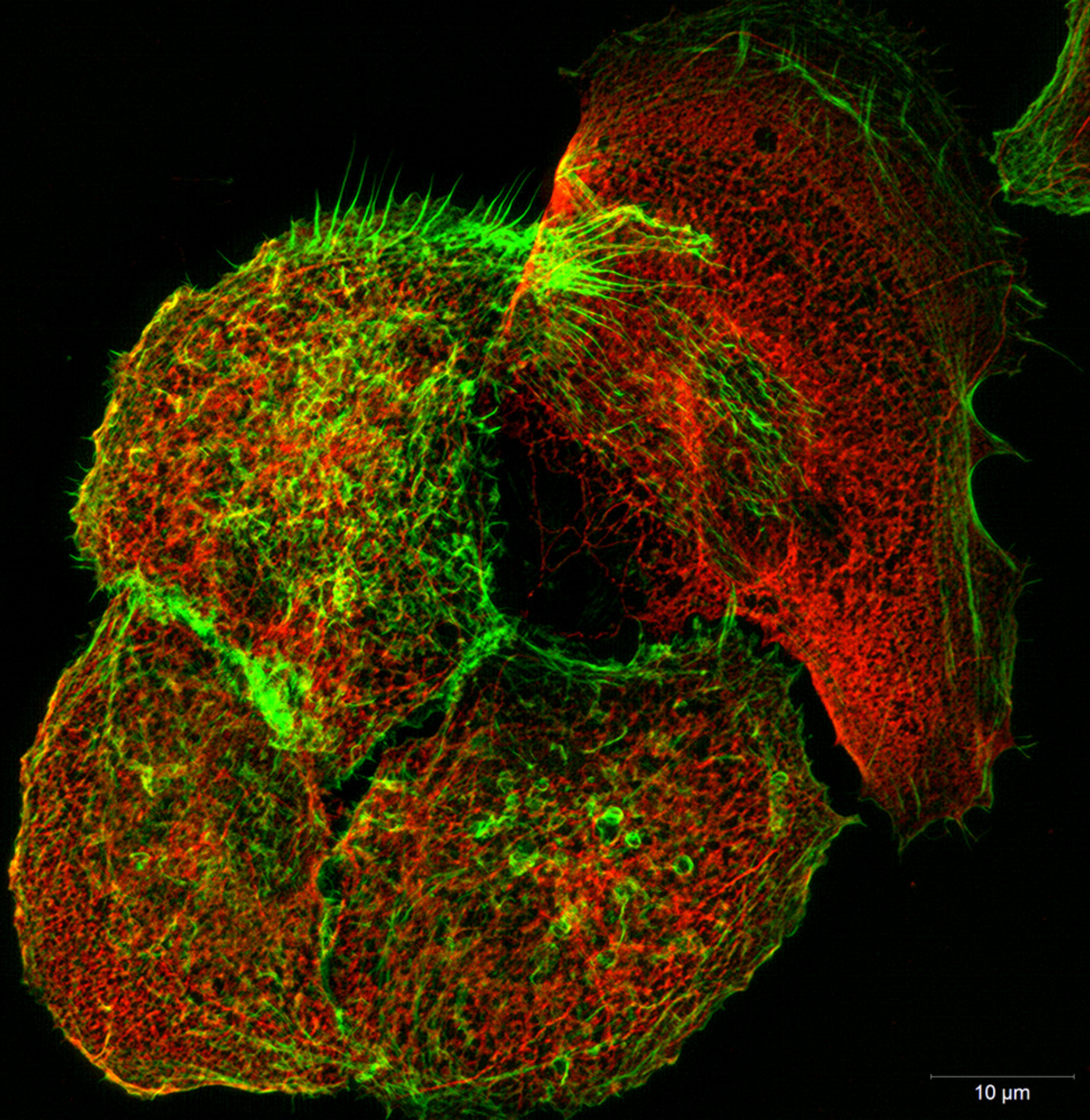
PLATAFORMA AVANÇADA DE BIOMOLÉCULAS/ *PROTEIN ADVANCED BIOCHEMISTRY LABORATORY*

Diretor/ *Director*

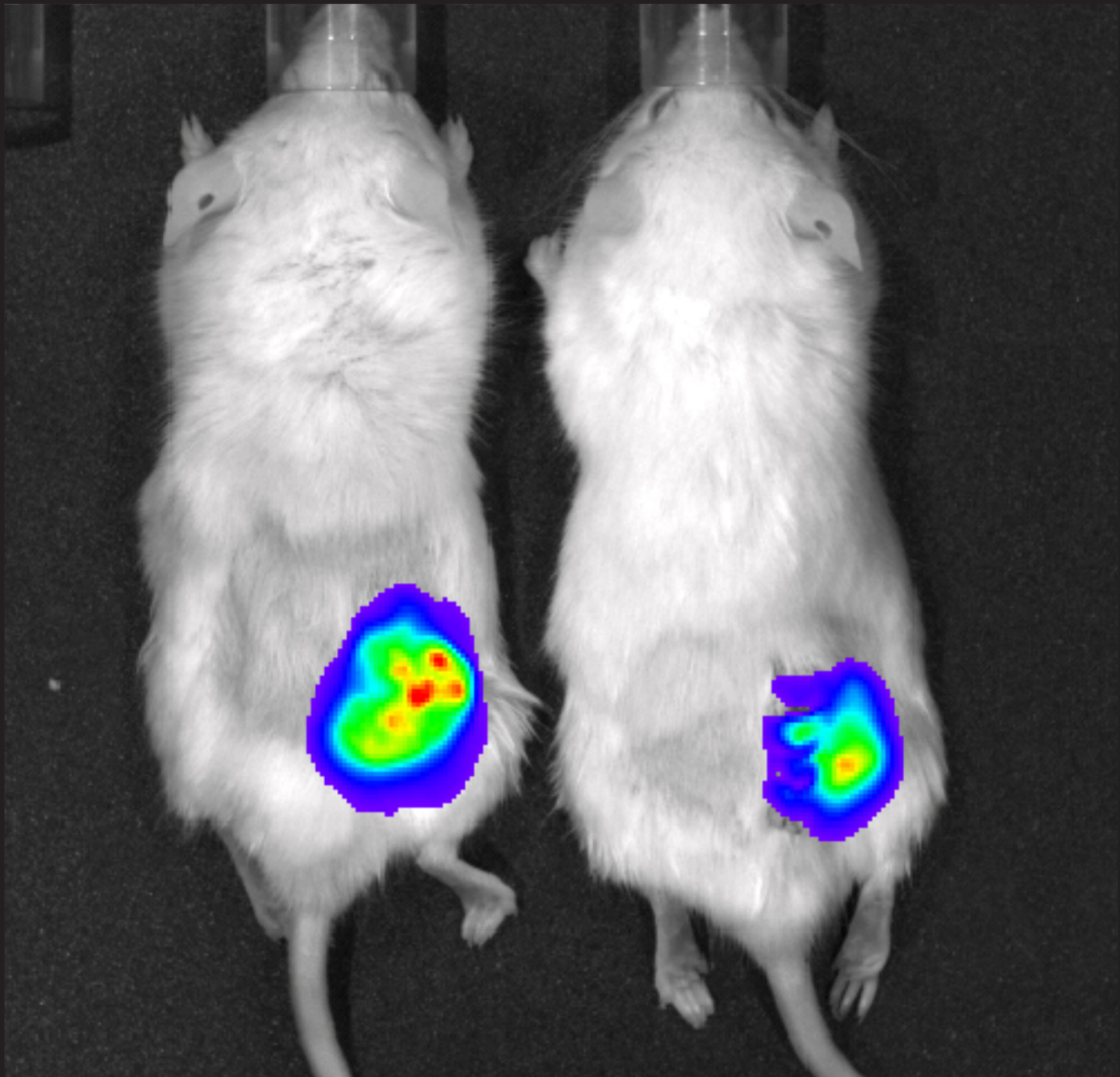
- Marcius da Silva Almeida – msalmeida@bioqmed.ufrj.br

Tecnólogos, Técnicos e Colaboradores/ *Technologists, Technicians and collaborators*

- Jéssica Moreira de Azevedo – jessymoreira@hotmail.com
- Rafael Alves de Andrade – rafael.andrade@bioqmed.ufrj.br
- Talita Stelling de Araújo – tsaraujo@bioqmed.ufrj.br



10 μm



4. UNIDADES

UNITS

O Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem está organizado em três unidades que correspondem a grandes áreas: biologia molecular estrutural, microscopia e imageamento de pequenos animais. Além dessas áreas gerais, o CENABIO também inclui, dentro da Unidade de Biologia Estrutural, a Plataforma Avançada de Biomoléculas, focada na produção e análise de biomoléculas. Cada uma delas é apresentada a seguir:

4.1 Unidade de Imageamento de Pequenos Animais

A Unidade de Imageamento de Pequenos Animais (UIPA) do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem reúne características únicas no país permitindo o imageamento desde células até organismos inteiros - sejam eles pequenos animais ou espécimes.

CENABIO is organized into three units that correspond to the major areas: structural and molecular biology, microscopy, and animal imaging. In addition to these general areas, CENABIO also includes the Advanced Biomolecules Platform for the production and analysis of biomolecules. These are presented below.

4.1 - SMALL ANIMAL IMAGING UNIT

The Small Animal Imaging Unit (UIPA) of the National Center for Structural Biology and Bioimaging brings together unique characteristics in the country, allowing the imaging of cells and entire organisms.

The teaching staff has extensive experience with cell and animal imaging and, together with specialized technologists dedicated to each of the Multi-User Platforms, they provide technical-scientific advice to users across the country. The UIPA

Foto UNIDADE 2 HORIZONTAL



O corpo docente possui vasta experiência com imageamento de células e animais e em conjunto com os tecnólogos especializados e dedicados a cada uma das Plataformas Multiusuários prestam assessoria técnico-científica à usuários em todo o país. Nas dependências da UIPA o pesquisador conta com biotérios de ratos, camundongos e animais transgênicos para hospedagem dos animais durante todo o período de experimentação, além de salas de cirurgia e comportamento. As técnicas desenvolvidas na UIPA utilizam equipamentos específicos para imageamento de pequenos animais de forma que as técnicas desenvolvidas nesta Unidade do CENABIO são: ultrassonografia, imageamento por bioluminescência e biofluorescência, por ressonância magnética, por emissão de pósitron oriundo de um radionuclídeo (PET) ou fóton (SPECT), por tomografia computadorizada (micro-CT), além do imageamento celular por citometria de fluxo, cell sorting e high content analysis.

PLATAFORMA DE ULTRASSONOGRAFIA

Coordenadora: Débora Bastos Mello
(plataformaus@cenabio.ufrj.br)

A ultrassonografia (US), ou ecografia, é uma técnica de bioimagem não invasiva que utiliza os princípios físicos de propagação de ondas sonoras através dos tecidos biológicos. Ondas de som de alta frequência emitidas pelo aparelho de US são direcionadas ao órgão alvo, sofre refração e reflexão e, ao retornar ao equipamento, são transformadas em sinal digital para a formação da imagem ultrassonográfica.

Essa tecnologia produz imagens de tecidos biológicos com radiação não ionizante, podendo ser realizada repetidamente com mínimo prejuízo ao órgão avaliado, além de apresentar resolução espacial e temporal com qualidade satisfatória. Aparelhos de US modernos são, em sua maioria, compactos, portáteis e de baixo custo, o que traz versatilidade aos exames médicos e faz da ultrassonografia um dos principais métodos de exame de imagem, possibilitando o acompanhamento evolutivo do paciente por longos períodos nos inquéritos diagnósticos.

has specific animal research facilities designed to house rats, mice and transgenic animals throughout the entire experimentation period, in addition to surgery and behavior rooms. The techniques developed at UIPA use specific equipment for the imaging of small animals. Some examples of such techniques at this CENABIO Unit are: ultrasound, bioluminescence and biofluorescence imaging, magnetic resonance, positron emission from a radionuclide (PET) or photon (SPECT), by computed tomography (micro-CT), in addition to cell imaging by flow cytometry, cell sorting and high content analysis.

ULTRASOUND PLATFORM

Coordinator: Débora Bastos Mello
(plataformaus@cenabio.ufrj.br)

Ultrasonography (US), or ultrasound, is a non-invasive bioimaging technique that uses the physical principles of sound-wave propagation through biological tissues. High-frequency sound waves emitted by the US device are directed to the target organ, undergo refraction and reflection and, upon returning to the equipment, are transformed into a digital signal for the formation of the ultrasound image.

This technology produces images of biological tissues with non-ionizing radiation, which can be performed repeatedly with minimal damage to the organ being evaluated, in addition to presenting spatial and temporal resolution with satisfactory quality. Modern US devices are, for the most part, compact, portable and low cost, which brings versatility to medical examinations and makes ultrasound one of the main methods of imaging examination, allowing for long-term follow-up of the patient in diagnostic investigations.

Through ultrasound bioimaging, performed in real time, the evaluation of the anatomical architecture, function, movement of organs in the body and the passage of blood within the vessels can be done quickly, safely and accurately.

To perform the exam, the technically qualified operator places the ultrasound transducer next to the patient's skin, over a layer of gel, through which the sound waves travel towards the target organ. The measurements obtained from the generated images are associated with mathematical calculations in order to establish "standards of normality", when they come from

Através da bioimagem ultrassonográfica, realizada em tempo real, a avaliação da arquitetura anatômica, da função, da movimentação dos órgãos no corpo e da passagem do sangue dentro dos vasos pode ser feita de forma rápida, segura e precisa.

Para a realização do exame, o operador tecnicamente qualificado posiciona o transdutor ultrassonográfico junto à pele do paciente, sobre uma camada de gel, por onde as ondas de som atravessam em direção ao órgão alvo. As medições obtidas a partir das imagens geradas são associadas a cálculos matemáticos com o objetivo de estabelecer "padrões de normalidade", quando oriundos de indivíduos normais. O diagnóstico é estabelecido comparativamente entre os parâmetros de normalidade e os dados dos pacientes em investigação.

A Plataforma de Ultrassonografia do CENABIO no desenvolvimento de modelos pré-clínicos

O histórico do CENABIO na ultrassonografia teve início com o pioneirismo do Professor Antônio Carlos Campos de Carvalho e sua equipe no Laboratório de Cardiologia Celular e Molecular. À época, cada vez mais a avaliação da função cardíaca in vivo era exigida em trabalhos na área cardiovascular. A expertise do grupo resultou na publicação de inúmeros trabalhos robustos e inovadores no Brasil. E a avaliação funcional do Sistema Cardiovascular ainda é o principal ramo de trabalhos desenvolvidos no CENABIO desde então.

Atualmente a Plataforma de Ultrassonografia do CENABIO é formada por 2 equipamentos de alta resolução, o Vevo 770 e o Vevo 2100, ambos fabricados pela empresa Visual Sonics®. Esses equipamentos possuem configurações altamente especializadas para aquisição de imagens de pequenas estruturas, permitindo a execução dos mais diversos trabalhos. Os equipamentos permitem a para aquisição de imagens nas seguintes configurações:

Vevo 770: 2 transdutores, com pacotes de aquisição de imagens em Modo de brilho, Modo de movimento, Power Doppler e Doppler tecidual;

Vevo 2100: 3 transdutores, com pacotes de aquisição de

normal individuals. The diagnosis is established comparatively between the parameters of normality and the data of the patients under investigation.

The CENABIO Ultrasound Platform in the development of pre-clinical models

The history of CENABIO in ultrasound began with the pioneering work of Professor Antonio Carlos Campos de Carvalho and his team at the Laboratory of Cellular and Molecular Cardiology. At the time, the assessment of cardiac function in vivo was increasingly required for cardiovascular work. The group's expertise resulted in the publication of numerous robust and innovative studies in Brazil. Functional assessment of the cardiovascular system is still the main field of work developed at CENABIO.

The CENABIO Ultrasound Platform is located on the ground floor of UIPA. It is currently made up of 2 high-resolution devices, Vevo 770 and Vevo 2100, both manufactured by the company Visual Sonics®. These instruments have highly specialized configurations for the acquisition of images of small anatomical structures, allowing the execution of the most diverse experimental repertory. This equipment is set up for image acquisition in the following configurations:

Vevo 770: 2 transducers, with image acquisition packages in Brightness Mode, Motion Mode, Power Doppler and Tissue Doppler;

Vevo 2100: 3 transducers, with image acquisition packages in Brightness Mode, Motion Mode, Power Doppler and Color Doppler, in addition to the cardiac mobility assessment package (Strain). This equipment can, in the future, be updated through the acquisition of new tissue Doppler packages, image acquisition in contrast enhancement mode, 3D image acquisition module and laser.

imagens em Modo de brilho, Modo de movimento, Power Doppler e Doppler colorido, além do pacote de avaliação da mobilidade cardíaca (Strain). Esse equipamento pode, futuramente, ser atualizado com a aquisição de novos pacotes de doppler tecidual, aquisição de imagem em modo de intensificação de contraste, módulo de aquisição de imagens em 3D e laser.



Plataforma de ultrassonografia do CENABIO. Crédito: Arquivo CENABIO. *CENABIO ultrasound platform. Credit: CENABIO archive.*

Atualmente, a plataforma conta com 2 tecnólogas altamente capacitadas para manipular os equipamentos e prestar assessoria científica aos pesquisadores em seus projetos. Além dos tecnólogos do CENABIO, usuários de outros laboratórios com conhecimento da técnica também estão habilitados para operar as máquinas do CENABIO.

A plataforma de Ultrassonografia do CENABIO já deu suporte a 38 pesquisadores internos e externos à UFRJ, incluindo parcerias com empresas. Todo esse esforço resultou em 90 projetos desenvolvidos utilizando os equipamentos e, desses, mais de 60 artigos em revistas científicas nacionais e internacionais foram publicados, além de 34 dissertações/teses defendidas.

O rol de projetos desenvolvidos na Plataforma de Ultrassonografia é bastante extenso, avaliando os mais diferentes sistemas do corpo, além de modelos inovadores para estudos de bioimagem.

Currently, the platform has two people technically qualified to operate the equipment and available to help researchers in their projects. In addition to CENABIO technologists, users from other laboratories with knowledge about the technique are also qualified to operate CENABIO machines.

The CENABIO Ultrasound platform has already supported 38 internal and external researchers at UFRJ, including partnerships with companies. All this effort resulted in 90 projects developed using this equipment and, of these, more than 60 articles in national and international scientific journals were published and 34 dissertations or PhD theses have been defended. A list of projects and theses already carried out at CENABIO can be found at the end of the chapter.

The list of projects developed in the Ultrasonography Platform is quite extensive, and it includes evaluations of almost every system of the body, in addition to innovative models for bioimaging studies.

Lines of research developed on the platform Cardiovascular system

Echocardiography is the specific name for ultrasound applied to the cardiovascular system. As previously mentioned, this system is the one most studied in the CENABIO ultrasound platform. This equipment has the appropriate configuration for studies ranging from the most fundamental analyses of cardiac function such as M Mode and Simpson's Method [9] to more modern and complex analyses, such as the "STRAIN" analysis, which is a modality more recently used in clinical medicine and assesses the mobility of myocardial walls [10].

*The evaluation of the function and anatomy of the heart performed by ultrasound is used at CENABIO to experimentally study the consequences on the cardiovascular system after injuries caused by: (1) Myocardial infarction, (2) Diabetes, Obesity, (3) Hypertension, (4) Use of anabolic steroids, (5) Aging, (6) Pulmonary arterial hypertension, (7) Pulmonary emphysema, (8) Hepatic fibrosis and steatosis, (9) Chagas' disease, an infectious disease caused by the parasite *Trypanosoma cruzi* and (10) Menopause.*

Linhas de pesquisas desenvolvidas na plataforma Sistema cardiovascular

A Ecocardiografia é a denominação específica da ultrassonografia aplicada ao sistema cardiovascular. Como dito anteriormente, esse sistema é o mais estudado na plataforma de ultrassonografia do CENABIO. Os equipamentos têm configuração suficiente para realizar desde as análises mais fundamentais de função cardíaca como o Modo M e o Método de Simpson até análises mais modernas e complexas, como a análise de Strain, que é uma modalidade mais utilizada recentemente na clínica médica e avalia a mobilidade das paredes miocárdicas (Sperlongano et al., 2021).

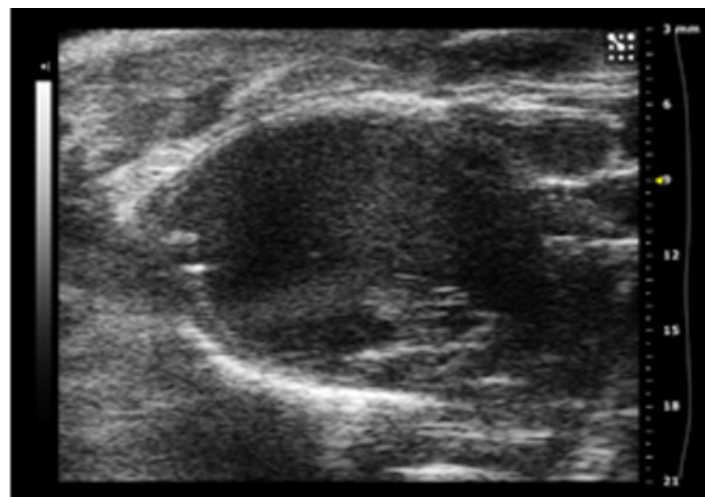
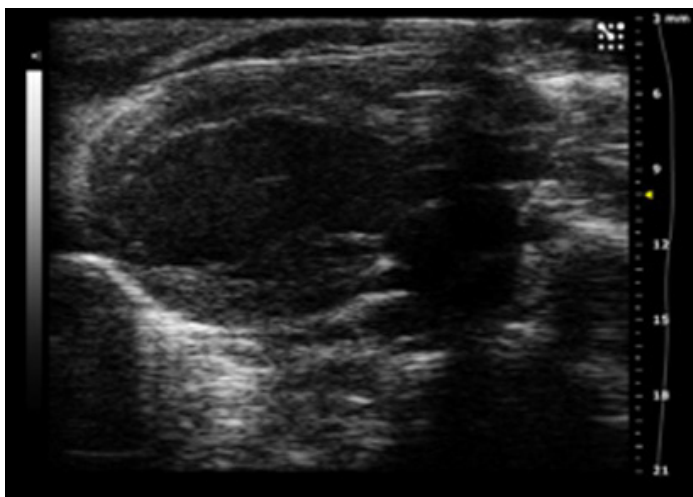
A avaliação da função e da anatomia do coração realizada por ultrassonografia é utilizada no CENABIO para estudar, experimentalmente, as consequências no sistema cardiovascular após injúrias causadas por: (1) Infarto agudo do miocárdio, (2) Diabetes, Obesidade, (3) Hipertensão Arterial, (4) Uso de esteroides anabolizantes, (5) Envelhecimento, (6) Hipertensão Arterial Pulmonar, (7) Enfisema pulmonar, (8) Fibrose e Esteatose hepática, (9) doença de Chagas, uma doença infectocontagiosa causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi* e a (10) Menopausa.

Digestive system

The ultrasound evaluation of the liver to obtain clinical parameters established for humans is also used at CENABIO in order to find a methodology for staging diseases in experimental models of different etiologies. Currently, CENABIO has projects that investigate the hepatic consequences in experimental models of: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, Steatosis and Hepatic Fibrosis.

Male reproductive system

Inguinal hernia surgery has significant side effects on the male reproductive system. Thus, researchers seek to evaluate different methodologies and surgical approaches focusing on postoperative changes in blood perfusion and testicular volume. One of the projects currently developed at CENABIO addresses this issue using the resource of anatomical evaluation by brightness mode and testicular perfusion of experimental animals through color doppler.



Imagens em modo bidimensional do coração de rato. À esquerda está representada a cavidade do coração de um animal selvagem, sem nenhuma injúria, à direita, o coração de um animal em que o infarto do miocárdio foi induzido por ligadura permanente da artéria descendente anterior. Crédito: Arquivo CENABIO. *Two-dimensional images of the mouse heart. On the left, the heart cavity of a wild animal is represented, without any injury. On the right, the heart of an animal in which myocardial infarction was induced by permanent ligation of the anterior descending artery. Credit: CENABIO archive.*

Sistema digestório

A avaliação ultrassonográfica do fígado para obtenção de parâmetros clínicos estabelecidos para humanos também é utilizada no CENABIO com finalidade de buscar uma metodologia de estadiamento de doenças em modelos experimentais de diferentes etiologias. Atualmente, o CENABIO tem em execução projetos que investigam as consequências hepáticas em modelos experimentais de: Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica, Esteatose e Fibrose Hepática.

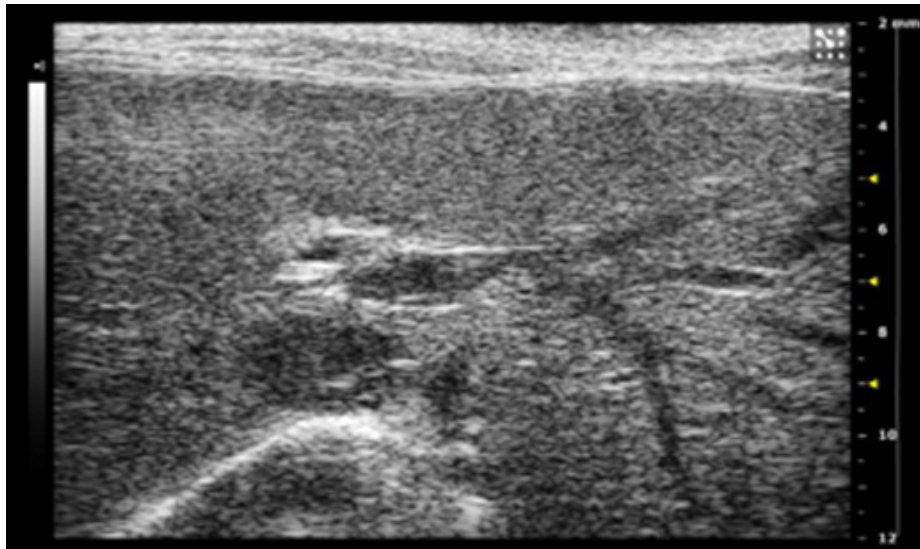


Imagem ultrassonográfica do fígado de um camundongo selvagem, no qual se observa na parte central a veia porta e sua ramificação, à direita. Crédito: Arquivo CENABIO. *Ultrasonographic image of the liver of a wild mouse, where the portal vein and its branch in the central part, can be observed on the right. Credit: CENABIO archive.*

Sistema reprodutor masculino

A cirurgia de hérnia inguinal apresenta efeitos colaterais de importante repercussão no sistema reprodutor masculino. Por essa razão, pesquisadores buscam avaliar diferentes metodologias e abordagens cirúrgicas com foco nas alterações pós-operatórias da perfusão sanguínea e do volume testicular. Um dos projetos atualmente desenvolvidos no CENABIO aborda esse tema utilizando o recurso da avaliação anatômica por modo de brilho e a perfusão dos testículos de animais de experimentação através do doppler colorido.

Central Nervous System (CNS)

The CNS ultrasound visualization at CENABIO has very different perspectives, from the morphological assessment of the brain of newborn animals infected with the Zika virus, the monitoring of changes in the development of the mouse brain during congenital infection by Toxoplasma gondii, the study of the interaction of cell types present in the CNS through the ultrasound-guided injection of a cell marker in the subcortical region of neonatal mice and as a diagnostic resource for the identification of stroke.

Musculoskeletal system

Similar to the staging of fibrotic liver injury, skeletal striated muscle ultrasound is used at CENABIO for evaluation after mechanically induced crush injury in experimental models.

Experimental Methodology

In all projects, the animals are subjected to the appropriate experimental conditions by the responsible researchers (studying acute myocardial infarction (AMI), diabetes, and hepatic steatosis, among others) and, on pre-established dates for the functional assessment, the animals are safely transported to the CENABIO facilities.

Following guidelines authorized by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) for each project, the animals are anesthetized and the non-invasive ultrasound examination is performed under a pre-established anesthetic plan. The approval of the anesthesia protocol and the execution of the exam with the CEUA is the responsibility of the researcher. During the procedure, with the animals anesthetized, warmed and oxygenated, images and videos of the organs of interest are acquired for later analysis. No animal is sacrificed and the comfort and individual well-being of the animal are valued.

3D Image Reconstruction

The CENABIO ultrasound platform is currently collaborating on a project that aims to compare the ultrasound resolution to assess the progression of the tumorigenesis process

Sistema Nervoso Central (SNC)

A visualização ultrassonográfica do SNC no CENABIO tem perspectivas bastante distintas, desde a avaliação morfológica do cérebro dos animais neonatos infectados com o Zika vírus, o acompanhamento das alterações no desenvolvimento do cérebro de camundongos durante infecção congênita por *Toxoplasma gondii*, o estudo da interação de tipos celulares presentes no SNC através da injeção guiada por ultrassonografia de um marcador celular na região subcortical de camundongos neonatos e até como recurso diagnóstico para identificação de acidente vascular encefálico.

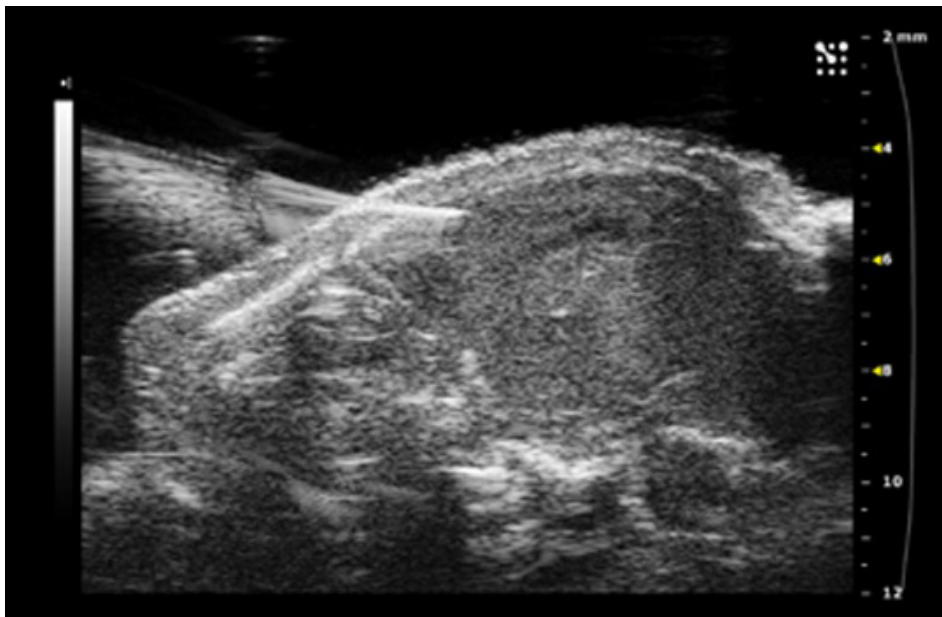


Imagem representativa da injeção guiada por ultrassonografia de células na região subcortical do cérebro de ratos neonatos. Pode-se visualizar o crânio do animal, na parte mais externa, com o focinho voltado para a esquerda. A agulha está representada pela linha reta partindo da esquerda em direção ao animal. Crédito: Arquivo CENABIO. *Representative image of ultrasound-guided injection of cells into the subcortical region of a living neonatal rat brain. The skull of the animal can be visualized, in the most external part, with the snout turned to the left. The injecting needle is represented by the straight line starting from the left towards the animal. Credit: CENABIO archive.*

in 2D images and its sequential compilation for mathematical reconstruction of the organ in 3D images. In this way, the project seeks a new way of volumetric comparison between pathological and normal tissue.

Technology for the future of animal imaging

CENABIO maintaining its leading role in the area of Ultrasonography

The ultrasound platform has modern equipment, with sufficient resolution to allow the execution of several studies, given the amount of work already performed in CENABIO. However, monitoring the evolution of this technology is essential for CENABIO to continue providing its users with access to equipment that allows progress in cutting edge areas of science. Thus, the possibility of combining ultrasound with other techniques, expanding the methods for observing experimental animals, is a top priority [3].

The technological advance of ultrasound is quite dynamic. More modern equipment that provides images in 3 and 4 dimensions (3D and 4D), providing more reliable characteristics of a given structure, is available on the market, both for medical clinics and for scientific inquiry. Neonatal ultrasound is the area of clinical medicine that applies this resource most assiduously for reconstruction of physical characteristics of the fetus [11, 12]. This tool makes it possible to obtain very high-quality images, with MRI-like results.

In addition to 3D and 4D images, ultrasound is also currently associated with the use of image contrast agents, in particular microscopic gaseous microbubbles that are inert to the human body [13]. This methodology helps in the acquisition of images with better accuracy in terms of blood perfusion, by making it possible to evaluate the flow of blood containing the microbubbles.

A new technology associated with ultrasound is elastography. This new imaging modality assesses tissue elasticity and stiffness [14]. In general, tissue stiffening is associated with pathological phenomena and, therefore, the use of elastography is of great relevance, helping to achieve a better clinical diagnosis. In this modality, tissue stiffness is evaluated

Sistema musculoesquelético

De forma semelhante ao estadiamento da lesão fibrótica do fígado, a ultrassonografia do músculo estriado esquelético é utilizada no CENABIO para avaliação após injúria induzida mecanicamente por esmagamento em modelos experimentais.

Metodologia de Execução dos experimentos

Em todos os projetos, os animais submetidos às devidas condições experimentais pelos pesquisadores responsáveis (Infarto agudo do Miocárdio, Diabetes, Esteatose hepática, entre outros) e, nas datas preestabelecidas da avaliação funcional, os animais são transportados em segurança até as instalações do CENABIO.

Nas instalações do CENABIO, seguindo orientações preestabelecidas e autorizadas pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA/UFRJ) de cada projeto, os animais são anestesiados e o exame ultrassonográfico não invasivo é realizado sob plano anestésico preestabelecido. A aprovação do protocolo de anestesia e execução do exame junto à CEUA/UFRJ é de responsabilidade do pesquisador. Durante o procedimento, com os animais anestesiados, aquecidos e oxigenados, são feitas aquisições de imagens e vídeos dos órgãos de interesse para análise posterior.

Reconstrução de Imagem em 3D

A plataforma de ultrassonografia do CENABIO colabora atualmente em um projeto que almeja comparar a resolução do ultrassom para avaliar a progressão do processo de tumorigênese em imagens 2D e sua compilação sequencial para reconstrução matemática do órgão em imagem em 3D. Dessa forma, o projeto busca uma nova forma de comparação volumétrica da patologia.

Visão da técnica para o futuro do imageamento de animais

CENABIO mantendo seu protagonismo na área de Ultrassonografia

A plataforma de ultrassonografia possui equipamentos modernos, com resolução suficiente para permitir a execução de diversos estudos, haja vista a quantidade de trabalhos já executados no Centro. No entanto, o acompanhamento da

by the passage of sound waves emitted by the device through the tissues. The lower the speed of sound wave propagation, the lower the stiffness of the target organ. This measurement is calculated in m/s or kpa.

Another advance in the application of ultrasonography is photoacoustic imaging [15], still in a pre-clinical testing phase. This application associates US detection with laser illumination to assess blood oxygenation. The laser light pulse is used to illuminate the biological sample and the light energy is absorbed by the tissues, increasing the temperature in a specific location. This increase induces a slight modification in the size of the structures by the heat generated and this movement due to change in size is detected by ultrasound. In the case of oxygen, the laser source illuminates this molecule and the vibration detected by the ultrasound results in the formation of an image combining the morphology visualized by the US and the concentration of oxygen molecules at that location, in order to make it possible to compare the amount of oxygen between different tissues. Not only can oxygen be evaluated, but also the different molecules that make up the tissues, such as melanin, lipid, collagen and water, absorb different wavelengths, allowing for evaluation, in systems with more than one laser source, of the presence of these different molecules. In this way, an ultrasound image can be formed for the observation of different molecules in the region of interest.

IMAGEM
OU
COR

evolução dessa tecnologia é fundamental para que o CENABIO possa continuar propiciando aos seus usuários acesso a equipamentos que permitam avançar nas áreas fronteiriças da ciência. Assim, a possibilidade de conjugar a ultrassonografia a outras técnicas, ampliando os métodos para observar os animais de experimentação é uma perspectiva premente.

O avanço tecnológico da ultrassonografia é bastante dinâmico. Equipamentos mais modernos que realizam imagens em 3 e 4 dimensões (3D e 4D), fornecendo características mais fidedignas da estrutura avaliada, estão disponíveis no mercado, tanto para a clínica médica quanto para trabalhos científicos. A ultrassonografia neonatal é a área da clínica médica que mais utiliza esse recurso para reconstrução de características físicas do feto (Nelson and Pretorius, 1998; Chaoui et al., 2020). Essa ferramenta permite a obtenção de imagens de altíssima qualidade, com resultados semelhantes ao imageamento por ressonância magnética.

Além das imagens em 3D e 4D, a ultrassonografia também está atualmente associada à utilização de agentes de contraste de imagem, com microscópicas microbolhas gasosas inertes ao organismo humano (Chong et al., 2018). Essa metodologia auxilia na aquisição de imagens de melhor acurácia quanto à perfusão sanguínea, através da avaliação da passagem do fluxo sanguíneo contendo as microbolhas.

Também uma nova tecnologia associada à ultrassonografia é a elastografia. Essa nova modalidade de imagem avalia a elasticidade e rigidez dos tecidos. Em geral, o enrijecimento dos tecidos está associado a fenômenos patológicos e, dessa forma, a utilização da elastografia é de grande relevância, auxiliando em um melhor diagnóstico clínico. Nessa modalidade a rigidez do tecido é avaliada pela passagem das ondas de som emitidas pelo aparelho através dos tecidos. Quanto menor a velocidade de passagem da onda, menor a rigidez do órgão alvo. Essa medida é calculada em m/s ou kpa.

Outra modernidade da aplicação da ultrassonografia ainda em experimentação pré-clínica associa a detecção do USà iluminação por laser para avaliar a oxigenação sanguínea, a imagem fotoacústica (Attia et al., 2019). O pulso de luz laser utilizado para iluminar a amostra biológica, a energia da luz é

References

- Aldrich, J.E. *Basic physics of ultrasound imaging*. *Crit. Care Med.* v. 35, p. S131-7, 2007.
- Thornton, K.L., *Principles of ultrasound*. *J. Reprod. Med.* v. 37, p. 27-32, 1992.
- Wang, S. et al. *From Anatomy to Functional and Molecular Biomarker Imaging and Therapy: Ultrasound Is Safe, Ultrafast, Portable, and Inexpensive*. *Invest Radiol*, v. 55, p. 559-572, 2020.
- Cootney, R.W. *Ultrasound Imaging: Principles and Applications in Rodent Research*. *ILAR Journal*, v. 42, p. 233-247, 2001.
- Winter, T.C. et al. *Hinshaw, Ultrasound-guided biopsies in the abdomen and pelvis*. *Ultrasound Q*, v. 24, p. 45-68, 2008.
- Li, Z., et al. *The “Visible” Muscles on Ultrasound Imaging Make Botulinum Toxin Injection More Precise: A Systematic Review*. *Aesthetic Plast. Surg.* v. 46, p. 406-418, 2021.
- Duncan, R.F. et al. *A study of the 16-Segment Regional Wall Motion Scoring Index and biplane Simpson’s rule for the calculation of left ventricular ejection fraction: a comparison with cardiac magnetic resonance imaging*. *Echocardiography*, v. 28, p. 597-604, 2011.
- Sperlongano, S. et al. *Left Ventricular Deformation and Vortex Analysis in Heart Failure: From Ultrasound Technique to Current Clinical Application*. *Diagnostics*, v. 11, p. 892, 2021.
- Nelson, T.R. and D.H. Pretorius. *Three-dimensional ultrasound imaging*. *Ultrasound Med. Biol.* v. 24, p. 1243-70, 1998.
- Chaoui, R. et al. *Recent Development in Three and Four Dimension Fetal Echocardiography*. *Fetal Diagnosis and Therapy*, v. 47, p. 345-353, 2020.
- Chong, W.K. et al. *Imaging with ultrasound contrast agents: current status and future*. *Abdom Radiol (NY)*, v. 43, p. 762-772, 2018.
- Ophir, J. et al. *Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues*. *Ultrason Imaging*, v. 13, p. 111-34, 1991.
- Attia, A.B.E. et al. *A review of clinical photoacoustic imaging: Current and future trends*. *Photoacoustics*, v. 16, p. 100144, 2019.

absorvida pelos tecidos, aumentando a temperatura em um local específico. Esse aumento induz ligeira modificação no tamanho das estruturas pelo calor gerado e esse movimento de alteração de tamanho é detectado pelo ultrassom. No caso do oxigênio, a fonte de laser ilumina essa molécula e a vibração detectada pelo ultrassom resulta na formação de uma imagem conjugando a morfologia visualizada pelo US e a quantidade de moléculas de oxigênio naquele local, de forma a possibilitar a comparação da quantidade de oxigênio entre diferentes tecidos. Não só o oxigênio pode ser avaliado, as diferentes moléculas que compõem os tecidos, como melanina, lipídio, colágeno e água, absorvem diferentes comprimentos de onda, permitindo a avaliação, em sistemas com mais de uma fonte de laser, da presença dessas diferentes moléculas. Dessa forma, uma imagem ultrassonográfica pode ser formada para a observação de diferentes moléculas na região de interesse.

Referências:

- ATTIA, A.B.E. et al. *A review of clinical photoacoustic imaging: Current and future trends. Photoacoustics*, v. 16, p. 100144, 2019.
- CHAOUI, R. et al. *Recent Development in Three and Four Dimension Fetal Echocardiography. Fetal Diagnosis and Therapy*, v. 47, p. 345-353, 2020.
- CHONG, W.K. et al. *Imaging with ultrasound contrast agents: current status and future. Abdom Radiol (NY)*, v. 43, p. 762-772, 2018.
- NELSON, T.R. and D.H. Pretorius. *Three-dimensional ultrasound imaging. Ultrasound Med. Biol.* v. 24, p. 1243-70, 1998.
- OPHIR, J. et al. *Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. Ultrason Imaging*, v. 13, p. 111-34, 1991.
- SPERLONGANO, S. et al. *Left Ventricular Deformation and Vortex Analysis in Heart Failure: From Ultrasound Technique to Current Clinical Application. Diagnostics*, v. 11, p. 892, 2021.

BIOLUMINESCENCE AND BIOFLUORESCENCE PLATFORM

coordinator: Isalira Peroba Rezende Ramos
(plataformaivis@cenabio.ufrj.br)

Bioluminescence and fluorescence screening are performed by a non-invasive in-vivo detection system. This technique allows the visualization of luminescent cells, particles, molecules, antibodies and parasites marked with an enzyme (luciferase) or fluorescent tracers (such as green fluorescent protein, GFP), by means of a photo (2D systems) or tomography (3D systems) performed in real time. It allows the evaluation of the biodistribution (pathway), quantity and concentration of the marked target in cells or when injected into animals, throughout their body, as many times and for as long as necessary or as long as possible according to the marker used, including in isolated organs after euthanasia. These tools allow for monitoring progression or regression of diseases or treatments in vivo, providing the best use of the experimental animals available and guaranteeing the ethical principles of the 3R's – Replacement, Reduction and Refinement.

This imaging modality uses different wavelengths (λ) of visible light ranging from ultraviolet to infrared for an optimal imaging range, requiring the use of a substrate or an excitatory agent. Currently, CENABIO has the IVIS® Lumina device (In Vivo Imaging System, Perkin Elmer USA), located on the Bioluminescence and Fluorescence Platform of the Small Animal Imaging Unit at CENABIO. It is capable of acquiring and quantifying images in two dimensions, both luminescent and fluorescent. Both techniques are important and the more appropriate one should be chosen after analyzing the factors mentioned above in order to more effectively meet the objective of the study in question.

Bioluminescence

The production and emission of light by a living organism when releasing energy is known as bioluminescence. It occurs when the luciferase enzyme encounters its substrate, which occurs naturally in certain bacteria, algae and insects.

PLATAFORMA DE BIOLUMINESCÊNCIA E BIOFLUORESCÊNCIA

Coordenadora: Isalira Peroba Rezende Ramos
(plataformaivis@cenabio.ufrj.br)

O rastreamento por bioluminescência e fluorescência é realizado por um sistema de detecção in vivo não invasivo. Essa técnica permite a visualização de células, partículas, moléculas, anticorpos e parasitos marcados com uma enzima (luciferase) luminescente ou traçadores fluorescentes (como o GFP), por meio de uma foto (sistemas 2D) ou uma tomografia (sistemas 3D) realizadas em tempo real. Permite a avaliação da biodistribuição (trajeta), quantidade e concentração do alvo marcado em células ou quando injetado em animais, por todo seu corpo, quantas vezes e por quanto tempo for necessário e possível de acordo com o marcador utilizado, inclusive em órgãos isolados após eutanásia. Permitindo o acompanhamento e progressão ou regressão de doenças ou tratamentos in vivo, proporcionando o maior aproveitamento dos animais experimentais utilizados, garantindo os princípios éticos dos 3R's (do inglês replacement, reduction and refinement).

Essa modalidade de imageamento utiliza diferentes comprimentos de onda (λ) de luz visível que vão do ultravioleta ao infravermelho para uma faixa de imageamento ótima, sendo necessária a utilização de um substrato ou de um agente excitatório.

Bioluminescência

O fenômeno de produção e emissão de luz por um organismo vivo ao liberar energia é conhecido como bioluminescência. Ele ocorre pela reação da enzima luciferase e, quando necessário, seu substrato, de forma natural no organismo desses seres vivos, como bactérias, algas e insetos.

A enzima luciferase mais utilizada e conhecida no mundo é a do vaga-lume, que apresenta faixa de imageamento próximo ao comprimento de onda do infravermelho (520-630nm), apresenta baixo ruído de fundo, alta sensibilidade, alto rendimento e diferentes cores, porém depende de ATP, oxigênio e do substrato D-luciferina; além disso, seu rendimento e cor são afetados por alterações de pH.

For scientific work, the most used and best known luciferase enzyme belongs to the firefly, which has an imaging range close to the infrared wavelength (520-630 nm), has very little low background, high sensitivity, high yield and different colors, but depends on ATP, oxygen and the substrate D-luciferin; in addition, its yield and color are affected by changes in pH.

For animal studies, D-luciferin can be administered by different routes – intraperitoneal, intravenous or subcutaneous – the intraperitoneal being the most common due to the ease of execution and because it generates less stress in the animal. It presents a plateau of activity between 10 and 20 minutes after application and is excreted by the kidneys after 3 or 4 hours. Because it is widely used, its dosage is already well established, being recommended the use of 150 mg/kg in vivo.

The bioluminescence reaction occurs when the luciferase enzyme - in the presence of ATP, oxygen and magnesium - oxidizes the substrate D-luciferin, converting it into highly energized oxyluciferin, which consists of electrically excited molecules that emit light photons when they decay. These photons are detected by the equipment's ultrasensitive camera, allowing topographical or anatomical localization and quantification of this released energy signal. As long as there is expression of the enzyme and presence of the substrate, which in the case of animal experimentation is injected at the time of the experiment, there will be a signal to be captured by the equipment, thus enabling the monitoring of the same animal over time.

The main advantage of this technique is the almost complete lack of background noise, providing a cleaner and simpler evaluation. Among its disadvantages for use in research laboratories is the need for a genetic modification to attach it to the target (cells, parasites, antibodies, etc.) by means of a lentiviral vector, a complex and costly procedure; and also, the need for a substrate (D-luciferin) that has a high cost.

A D-Luciferina é a molécula responsável pela bioluminescência em alguns animais, como vaga-lume, conseqüentemente é o substrato mais utilizado no mundo. Ela pode ser administrada por diferentes vias (intraperitoneal, intravenosa ou subcutânea), sendo a intraperitoneal a mais usada devido à facilidade de execução e por gerar menos estresse ao animal. Apresenta platô de ação entre 10 e 20 minutos após a aplicação e é excretada pelos rins após 3 ou 4 horas. Por ser bastante utilizada, sua dosagem já é bem estabelecida, sendo recomendado o uso de 150 mg/kg in vivo.

A reação da bioluminescência ocorre quando a enzima luciferase — na presença de ATP, oxigênio e magnésio — oxida o substrato D-Luciferina, o que converte essa luciferina em oxiluciferina altamente energizada, apresentando moléculas eletricamente excitadas, que emitem fótons de luz quando decaem. Esses fótons são detectados pela câmera ultrasensível do equipamento, permitindo localização topográfica ou anatômica e a quantificação desse sinal de energia liberada, pois essa oxiluciferina, que é altamente instável, busca por estabilidade, liberando essa energia extra em forma de fótons, que são detectados pelo aparelho. Ou seja, enquanto houver expressão da enzima e presença do substrato, que no caso da experimentação animal é injetado na hora do experimento, haverá sinal a ser captado pelo equipamento, possibilitando o acompanhamento dos mesmos animais por tempo indeterminado.

A principal vantagem dessa técnica é a quase inexistência de ruído de fundo, proporcionando uma avaliação mais limpa e simples; porém entre suas desvantagens estão: necessitar de uma modificação genética para ser usada em laboratórios de pesquisa, sequência genética responsável pela tradução da enzima é inserida no DNA do organismo-alvo (células, parasitos etc.) por meio de um vetor lentiviral, procedimento complexo e custoso; e necessitar de um substrato (D-Luciferina) que também apresenta alto custo.

Fluorescência

A fluorescência é um caso especial de luminescência, pois há emissão da luz absorvida em forma de luz visível, ou seja, é a capacidade de uma substância de emitir luz quando excitada por

Fluorescence

Fluorescence is a special case of luminescence. It consists of emission of absorbed light in the form of visible light when a substance is excited by radiation at a shorter wavelength, that is, it is the ability of a substance to emit light when excited by radiation. This excitation source (light/radiation) is invisible to the human eye, but when absorbed, it is transformed into visible light, which has a longer wavelength than the incident radiation.

A fluorescent agent (fluorophore or fluorochrome) can repeatedly fluoresce – in theory, indefinitely. This is extremely useful, because it means that the same molecule can generate a signal multiple times. However, the structural instability of a fluorochrome during imaging makes it susceptible to degradation. Thus, all the characteristics of the fluorochrome must be carefully evaluated before choosing it, according to the purpose of the study. Fluorescent agents can be organic or inorganic. Organic agents can be specific or not; and may have a limited half-life, low photodegradation and low intensity emission. Inorganic agents, on the other hand, are conductive nanoparticles, with superior sensitivity to organic ones, but they can be conjugated to an organic agent to further optimize their quantum yield, which is already high. These agents have high resistance to structural changes caused by high-intensity lighting/excitation (i.e. they have a high photobleaching threshold), and thus can be excited several times. Some of these agents are produced with heavy metals or in large size for renal filtration, resulting in increased noise and the potential for in-vivo poisoning.

Among the advantages of fluorescence screening is the fact that it is easily applied to the target (cells, parasites, antibodies, etc.); in most cases direct contact for only a short time is sufficient. However, one of the biggest disadvantages of using fluorescence for in-vivo imaging is the high background noise generated by structures present in the biological organism. Examples are collagen and the feed offered to rodents (which often contains alfalfa). These molecules have a similar wavelength to green fluorescent protein (GFP), a molecule widely used in fluorescence assays.

The following is a summary of the main differences between bioluminescence and fluorescence imaging.

uma radiação. Essa fonte de excitação (luz/radiação) é invisível ao olho humano, mas quando absorvida transforma-se em luz visível que apresenta comprimento de onda maior que o da radiação incidente.

Um agente fluorescente ou fluorocromo pode sofrer repetidamente o processo de fluorescência (em teoria, indefinidamente), o que é extremamente útil, porque significa que uma mesma molécula pode gerar sinal várias vezes. Entretanto, a instabilidade estrutural do fluorocromo durante o imageamento faz com que ele esteja suscetível à degradação. Assim, todas as características do fluorocromo utilizado devem ser bem avaliadas antes da sua escolha, de acordo com o objetivo do estudo.

Os agentes fluorescentes podem ser basicamente de dois tipos: orgânicos e inorgânicos. Os agentes orgânicos podem ter várias subclassificações, sendo específicos ou não, com meia vida limitada, baixa fotodegradação e fraca emissão. Já os agentes inorgânicos são nanopartículas condutoras, com sensibilidade superior aos orgânicos, mas que podem ser conjugadas a esses para otimizar ainda mais seu rendimento quântico, que já é alto. Esses agentes possuem alta resistência a alterações estruturais causadas pela iluminação/excitação de alta intensidade (alto limiar de photobleaching), podendo ser excitados diversas vezes. Alguns desses agentes ainda são produzidos com metais pesados ou em tamanho grande para filtração renal, resultando em aumento no ruído e do potencial de intoxicação in vivo. Todos os fatores citados estão sendo estudados e aprimorados a cada dia.

Entre as vantagens do rastreamento por fluorescência, pode-se citar o fato de ser facilmente aplicada ao alvo (células, parasitos, anticorpos etc.), somente o contato direto por curto espaço de tempo é suficiente na maioria dos casos. Entretanto, uma das maiores desvantagens ou dificuldades em se usar a fluorescência para imageamento in vivo é o alto ruído gerado por estruturas presentes no organismo biológico, como colágeno e a ração oferecida aos roedores (quando contém alfafa), que possui comprimento de onda semelhante a proteína fluorescente verde (GFP, do inglês green fluorescent protein), molécula bastante utilizada em ensaios com fluorescência.

Applications

The application of these in-vivo imaging systems, the choice of technique and use of these modalities must take into account the needs and objectives of the proposed study. As mentioned earlier, there are two-dimensional (2D) and three-dimensional (3D) image acquisition systems.

In the scientific matrix, composed of pixels, each one of these pixels is assigned a different value, corresponding to the number of photons captured by the high-resolution camera of the equipment. In the graphic image, which is the photograph itself, a color is given to each pixel, corresponding to the numerical value previously assigned to it. In the pseudocolor image, the scientific matrix is used to assign a different color to each pixel with different numerical value. This type of image helps to better visualize the differences in signal strength in the different regions of the sample to be analyzed.

These images are superimposed and the final image is generated. This signal can be quantified using ROI (Region Of Interest), which is a user-specified area within the data set in an optical image, enabling the relationship between the detected signal and its topographical location. Quantification of the signal is not total, because in the 2D system, the signal detected is the one present only on the surface of the animal's body.

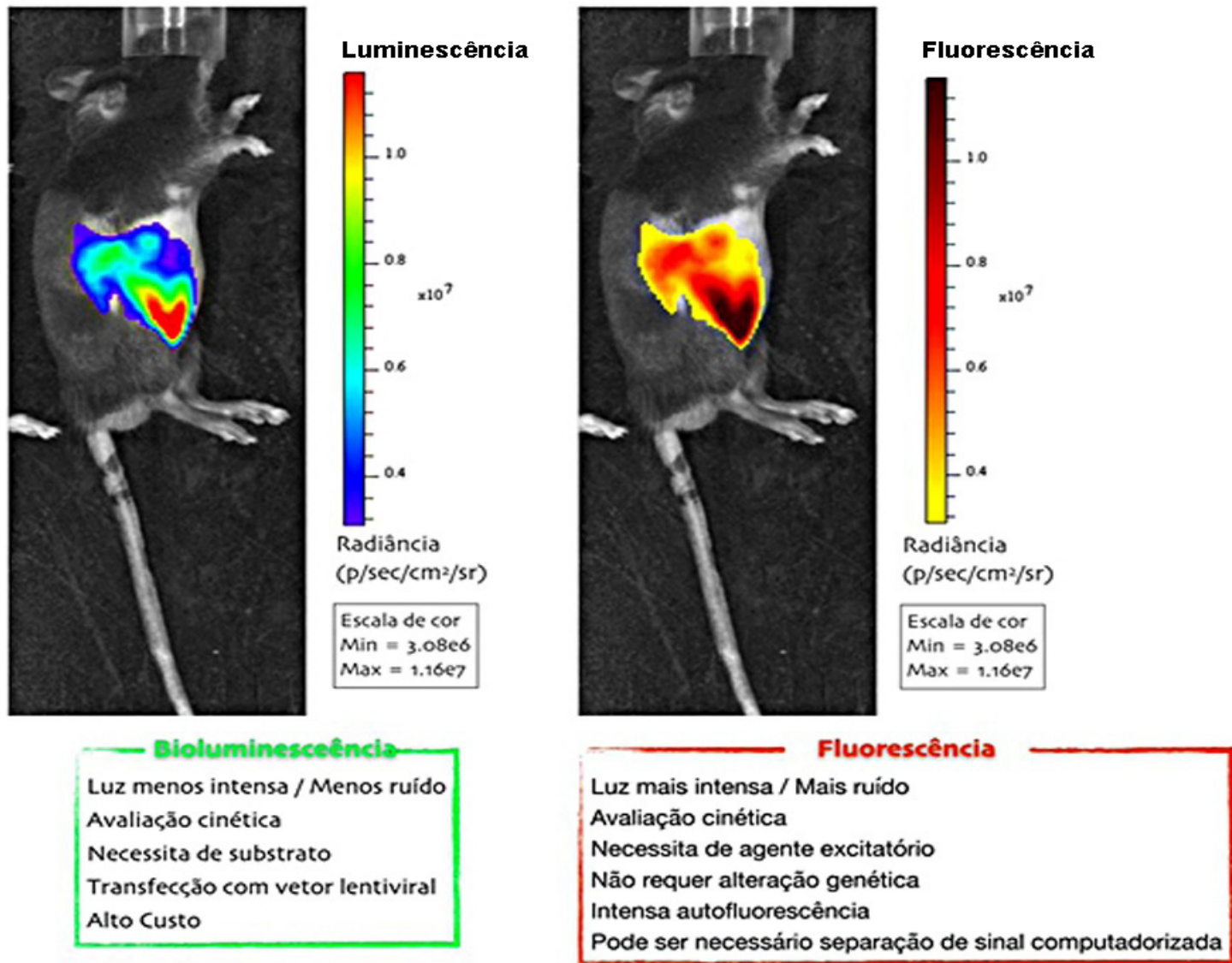
For 3D images, bioluminescence or fluorescence tracking is associated with computed tomography for image acquisition. This image acquisition methodology is not limited by depth, as it uses radiation to locate the signal in the three anatomical axes (coronal, sagittal and axial); allowing reconstruction of the animal's image by evaluating the anatomical context of bones and tissues. This system uses ROIs in three dimensions as well, which makes it possible to evaluate and quantify the signal.

Bioluminescence and fluorescence at CENABIO

Currently, CENABIO has the IVIS® Lumina device (In Vivo Imaging System, Perkin Elmer USA), located on the Bioluminescence and Fluorescence Platform of the Small Animal Imaging Unit at CENABIO. It is capable of acquiring and quantifying images in two dimensions, both luminescent and fluorescent, for which it has a set of filters ranging from approximately 400 nm to 900 nm.

Ambas as técnicas são importantes e devem ser escolhidas após análises dos fatores mencionados para atender de forma mais eficaz o objetivo do estudo em questão.

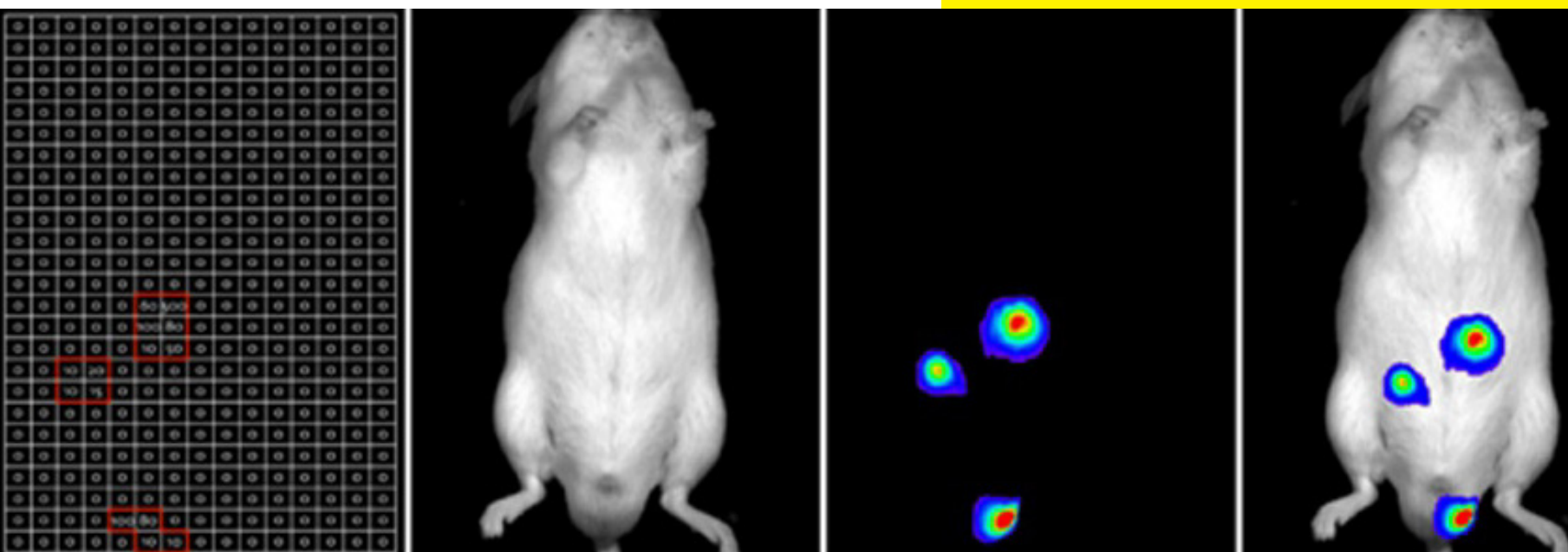
A seguir, um resumo das principais diferenças entre o imageamento por bioluminescência e fluorescência:



Principais diferenças entre o imageamento de bioluminescência e fluorescência. Crédito: Arquivo CENABIO e autora. *Main differences between bioluminescence and fluorescence imaging. Credit: CENABIO archive. Credits: CENABIO archive and author.*

Aplicação

A aplicação desses sistemas de imageamento in vivo, a escolha da técnica e uso dessas modalidades devem levar em consideração as necessidades e objetivos do estudo em questão. Como mencionado, há sistema de aquisição de imagens em duas (2D) ou três dimensões (3D).



Formação da Imagem 2D. As imagens 2D são formadas por: uma matriz científica bidimensional (A), por uma imagem gráfica (B), uma imagem de pseudo cor (C) e uma sobreposição das imagens gráficas e de pseudo cor. Crédito: Arquivo CENABIO e autora. *2D Image Formation. The 2D images are formed by: a two-dimensional scientific matrix (A), by a graphic image (B), a pseudo color image (C) and a superposition of the graphic image and pseudo color images (D). Credits: CENABIO archive and author.*

Na matriz científica, composta por pixels, é atribuído a cada um desses pixels um valor diferente, correspondente à quantidade de fótons captados pela câmera de alta resolução do equipamento. Na imagem gráfica, que é a fotografia propriamente dita, uma cor é conferida a cada pixel, correspondente ao valor numérico atribuído anteriormente a ele. Na imagem de pseudo cor é usada a matriz científica para atribuir uma cor diferente a cada pixel com valor numérico diferente. Esse tipo de imagem ajuda a uma melhor visualização das diferenças de intensidade de sinal nas diferentes regiões da amostra a ser analisada.

Essas imagens são sobrepostas e a imagem final é gerada. Esse sinal pode ser quantificado com a utilização de ROI (do inglês region of interest), que é a área especificada pelo usuário, dentro do conjunto de dados em uma imagem óptica, possibilitando a relação do sinal detectado com a sua localização topográfica. Ressaltando que a quantificação do sinal não é total, pois no sistema 2D o sinal detectado é aquele presente somente na superfície do corpo do animal.

As imagens 3D utilizam a associação do rastreamento por bioluminescência ou fluorescência com a tomografia computadorizada para aquisição da imagem. Essa metodologia de aquisição da imagem não é limitada pela profundidade, por usar a radiação para localizar o sinal nos três eixos anatômicos (coronal, sagital e axial); permitindo a reconstrução da imagem do animal, por avaliar o contexto anatômico de ossos e tecidos. Esse sistema utiliza ROI em três dimensões também, o que possibilita a avaliação e quantificação do sinal.

Bioluminescência e fluorescência no CENABIO

Atualmente o CENABIO dispõe do aparelho IVIS® Lumina (In Vivo Imaging System, Perkin Elmer, EUA), localizado na Plataforma de Imageamento in vivo por Bioluminescência e Fluorescência do CENABIO. Está habilitado para aquisição e quantificação de imagens em duas dimensões, tanto luminescentes quanto fluorescentes, para as quais possui um jogo de filtros que vão de 400 nm a 900 nm.

Nessa plataforma foram realizados mais de 60 projetos e mais de 10 artigos, entre os quais podemos destacar o uso de parasitos luminescentes para acompanhamento da disseminação de doenças como a Doença de Chagas, Leishmaniose e Toxoplasmose; rastreamento de nanopartículas fluorescentes para vitrificação cerebral; Acompanhamento de células-tronco ou microvesículas de células mesenquimais que expressam luciferase em animais com lesão renal, hepática ou cardíaca; Avaliação da biodistribuição de nanofármacos; Monitorização do impacto do aumento de glicocorticóides sobre a capacidade metastática de melanoma murino; Avaliação dinâmica da colonização do trato digestivo do *Rhodnius prolixus* infectado com *T. cruzi*, entre outros.

*More than 60 projects and dozens of articles have been completed using this platform, including the use of luminescent parasites to monitor the spread of diseases such as Chagas disease, leishmaniasis and toxoplasmosis; Tracking fluorescent nanoparticles for brain vitrification; Monitoring of stem cells or microvesicles of mesenchymal cells that express luciferase in animals with kidney, liver or heart damage; Evaluation of the biodistribution of nanopharmaceuticals; Monitoring the impact of increased glucocorticoids on the metastatic capacity of murine melanoma; Dynamic evaluation of the colonization of the digestive tract of *Rhodnius prolixus* infected with *T. cruzi*, among others.*

Technology for the future of Bioluminescence

In the near future, CENABIO expects to acquire an in-vivo imaging equipment to measure bioluminescence and fluorescence coupled with computed tomography, so that the platform is updated and modernized, and thus images can be captured in three dimensions.

References

- Medei, E.H. e Carvalho, A.B. Bioluminescência in: Campos-De-Carvalho A.C.; Goldenberg, R.C.S. Células-tronco Mesenquimais: conceitos, métodos de obtenção e aplicações. Rio de Janeiro: Atheneu; 2012.*
- Brovko, Lubov. Bioluminescence and Fluorescence for In Vivo Imaging. Spie Press Book. 2010.*
- Ghoroghchian, P.P. et al. In vivo fluorescence imaging: a personal perspective. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. v. 1, p156-167, 2009.*

IMAGEM
OU
COR

Visão técnica para o Futuro de Bioluminescência

Como perspectivas para o futuro, desejavelmente próximo, o CENABIO pretende adquirir um equipamento de imageamento in vivo por Bioluminescência e Fluorescência acoplados à tomografia computadorizada, para que assim a plataforma esteja atualizada e modernizada, e possam ser realizadas as imagens em três dimensões.

Referências:

- BROVKO, L. *Bioluminescence and Fluorescence for In Vivo Imaging*. Spie Press Book; 2010.
- GHOROGHCHIAN, P.P. et al. *In vivo fluorescence imaging: a personal perspective*. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. v. 1, p156-167, 2009.
- MEDEI, E.H. e CARVALHO, A.B. *Bioluminescência in: Campos-De-Carvalho A.C., Goldenberg, R.C.S. Células-tronco Mesenquimais: conceitos, métodos de obtenção e aplicações*. Rio de Janeiro: Atheneu; 2012.

PLATAFORMA DE IMAGEAMENTO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

Coordenador: Rodrigo Jorge Vianna Barbosa
(plataformamri@cenabio.ufrj.br)

O imageamento por ressonância magnética (IRM) é uma metodologia não invasiva que permite estudos in vivo em modelos animais ou humanos em estado normal ou patológico. O princípio fundamental do IRM se baseia nas propriedades magnéticas do núcleo atômico que apresentam movimento em volta do seu próprio eixo, denominado spin. Devido à carga elétrica desses núcleos atômicos, esse movimento gera um pequeno campo magnético na direção do seu eixo de rotação que interage com o campo magnético gerado por uma bobina supercondutora acoplada ao equipamento de IRM. A partir dessa interação, sinais de radiofrequência são utilizados para alterar a direção do campo magnético resultante da soma vetorial de todos os spins e gerar imagens de alta resolução.

MAGNETIC RESONANCE IMAGING PLATFORM

Coordinator: Rodrigo Jorge Vianna Barbosa
(plataformamri@cenabio.ufrj.br)

Magnetic resonance imaging (MRI) is a non-invasive methodology that allows in-vivo studies in animal and human models in a normal or pathological state. The fundamental principle of MRI is based on the magnetic properties of the atomic nucleus, which rotates around its own axis, called spin. Due to the electrical charge of these nuclei, this movement generates a small magnetic field in the direction of their rotation axis that interacts with the magnetic field generated by a superconducting coil coupled to the MRI equipment. From this interaction, radiofrequency signals are used to change the direction of the magnetic field resulting from the vector sum of all spins and generate high-resolution images.

This methodology has the advantages of not using ionizing radiation and having a high spatial resolution. In addition, magnetic resonance imaging has complementary techniques that make it especially important in the study of the nervous system: such methodologies explore, in addition to anatomical aspects, functional characteristics that allow to demonstrate, in a non-invasive way, the functioning of complex organs such as the brain.

Applications at CENABIO

Considering the numerous morphological and functional characteristics that can be observed through different magnetic resonance techniques, a huge range of studies can be performed using MRI. Allied to this, there has been recently a significant increase in the number of studies using magnetic resonance techniques in humans. This fact reveals the importance of using this methodology in different animal models, so that the findings of studies carried out on animals can be extrapolated and correlated with what is known about human physiology. Therefore, it is extremely important that a methodology with as many academic applications as magnetic resonance imaging be available in a Multiuser Center focused on scientific research.

CENABIO has a 7.0-Tesla (T) Varian/Agilent MRI platform equipped with a high-performance gradient system, allowing the establishment of protocols for acquiring high-resolution anatomical images of small animals. Its main

Essa metodologia apresenta as vantagens de não utilizar radiação ionizante e possuir uma alta resolução espacial. Além disso, o imageamento por ressonância magnética possui técnicas complementares que o tornam especialmente importante no estudo do sistema nervoso, tais metodologias exploram além de aspectos anatômicos, características funcionais que permitam evidenciar, de modo não invasivo, o funcionamento de órgãos complexos como cérebro.

Aplicações do IRM no CENABIO

Considerando as inúmeras características morfológicas e funcionais que podem ser observadas por meio das diferentes técnicas de ressonância magnética, sabe-se que uma enorme gama de estudos pode ser realizada com a utilização da IRM. Aliado a isso, existe um expressivo aumento no número de trabalhos utilizando técnicas de ressonância magnética em seres humanos. Tal fato revela a importância do uso dessa metodologia nos diferentes modelos animais, para que cada vez mais os achados dos estudos realizados em animais possam ser extrapolados e correlacionados com o que é sabido sobre a fisiologia humana. Assim sendo, é de extrema importância que uma metodologia com tantas aplicações acadêmicas como o imageamento por ressonância magnética esteja disponível em um Centro Multiusuário voltado para pesquisa científica.

O CENABIO possui uma plataforma de IRM Varian/Agilent de 7 Tesla (T) equipada com um sistema de gradientes de alto desempenho, permitindo o estabelecimento de protocolos de aquisição de imagens anatômicas de alta resolução de pequenos animais. Suas principais aplicações estão relacionadas à morfologia e função do sistema nervoso central, função cardíaca ou abdominal e estudos angiográficos, além de possibilitar a caracterização de biomarcadores anatômicos e funcionais de diversas patologias a esses sistemas relacionados.

Linhas de pesquisas desenvolvidas na plataforma

Um dos importantes pilares do CENABIO é a sua utilização multiusuária, sendo assim, a plataforma de IRM é amplamente utilizada por grupos de pesquisa de diferentes regiões do Brasil e do exterior. Trabalhos que desafiam a fronteira do

applications are related to the morphology and function of the central, cardiac or abdominal nervous system and angiographic studies, in addition to enabling the characterization of anatomical and functional biomarkers of various pathologies related to these systems.

Research developed on the platform

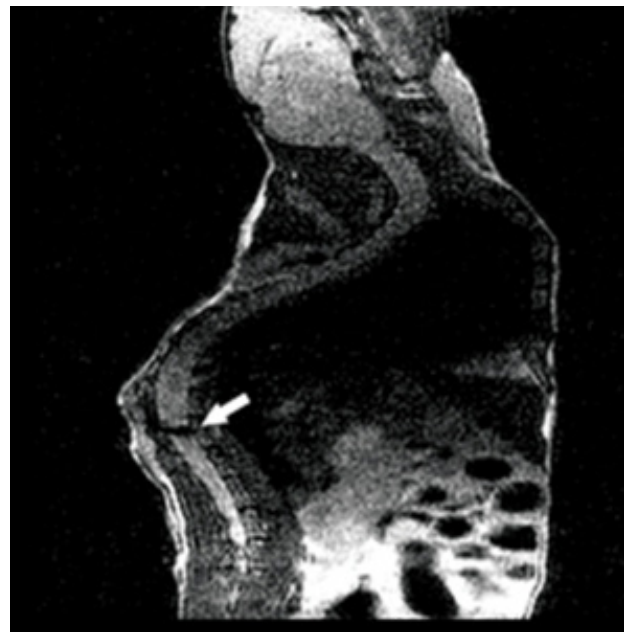
One of the important pillars of CENABIO is its availability to multiple users., and indeed the MRI platform is widely used by research groups from different regions of Brazil and abroad. Studies that challenge the frontier of knowledge are developed daily at CENABIO, an achievement that can be exemplified by citing the originality of the discovery by Szczupak et al. – a result of the collaboration between the MRI Platform of CENABIO and researchers from the National Institutes of Health (NIH). In this project it was possible to identify anomalous brain bundles, hitherto seen only in humans, in Balb/c mice, which allowed the establishment of this mouse strain as an animal model for the study of a malformation called Dysgenesis of the Corpus Callosum that affects human beings and causes different forms of brain development failure.

Another important work resulting from an international collaboration between researchers from the Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), University of Pretoria – South Africa, University of Kisangani – Democratic Republic of Congo and Free University of Brussels – Belgium has led to a better understanding of the evolution of the mammalian brain. In this work, cellular quantification techniques were allied with morphometric analyses of anatomical magnetic resonance images of the brain of different mammalian species. Different groups of mammals were found to have the same neuronal scaling rule while the neuronal distribution along the cerebral cortex and the degree of cortical gyrification varied among different groups of mammals. This fact indicates that the neuronal scaling rule found in current mammals derives directly from a common ancestor of mammals, while the distribution of neurons within the cerebral cortex was modified as a result of the emergence of each new group.

conhecimento são diariamente desenvolvidos no CENABIO. Dentre esses, podemos exemplificar citando o ineditismo da descoberta de Szczupak et al. — resultado da colaboração entre a Plataforma de IMR do CENABIO e pesquisadores do National Institute of Health (NIH), no qual pôde-se identificar feixes cerebrais anômalos, até então vistos apenas em humanos, em camundongos do tipo Balb/c, o que permitiu o estabelecimento dessa cepa de camundongo como modelo animal de estudo de uma má formação denominada Disgenesia do Corpo Caloso, que acomete seres humanos e causa diferentes formas de falha de desenvolvimento cerebral. Outro importante trabalho, fruto de uma colaboração internacional entre pesquisadores da UFRJ, Universidade de Pretória – África do Sul, Universidade de Kisangani – República Democrática do Congo e Universidade Livre de Bruxelas – Bélgica, permitiu uma melhor compreensão sobre a evolução do cérebro de mamíferos. Nesse trabalho, os pesquisadores associaram técnicas de quantificação celular a análises morfométricas de imagens anatômicas de ressonância magnética do cérebro de diferentes espécies de mamíferos e identificaram que diferentes grupos de mamíferos possuem a mesma regra de escala neuronal enquanto a distribuição neuronal ao longo do córtex cerebral e o grau de girificação cortical variam entre os diferentes grupos de mamíferos, tal fato indica que a regra de escala neuronal encontrada nos mamíferos atuais deriva diretamente de um ancestral em comum dos mamíferos, enquanto a distribuição de neurônios dentro do córtex cerebral foi modificada conforme o surgimento de cada novo grupo.

Estudos com IRM de pequenos animais também são utilizados para o desenvolvimento de pesquisas com o objetivo translacional, de forma que são voltados para a compreensão dos mecanismos em torno do tratamento de algumas doenças. Seguindo essa abordagem, uma importante patologia já foi alvo de estudo de projetos envolvendo a IRM do CENABIO e gerou relevante publicação em revista internacional. A esclerose lateral amiotrófica, também conhecida como ELA, é uma doença neurodegenerativa que afeta neurônios motores, o que causa paralisia progressiva de músculos voluntários e pode acarretar perda da capacidade de andar, falar ou mastigar. Como não possui

Studies involving MRI of small animals have also been useful in research at CENABIO with a translational objective, aimed at understanding the mechanisms involved in the treatment of certain diseases. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease that affects motor neurons, causing progressive paralysis of voluntary muscles. This can lead to loss of ability to walk, speak or chew. As there is no known effective treatment, the researchers investigated the mechanisms and efficacy of a possible therapy with bone marrow cells, for which they injected bone marrow mononuclear cells into the lumbar portion of the spinal cord of ALS model mice and analyzed their recovery. At the end of the study, they were able to verify that the injection of such cells, if performed in the pre-symptomatic phase, causes a transient deceleration in the progression of the disease; through the use of MRI, they were able to track the injected cells and verify that only a few cells remained in the bone marrow after injection, which causes the treatment effect to be transient, shown in the following figure. This work was an important step towards a possible initial development of a treatment for this pathology.



Longitudinal image of the spinal cord of a live ALS mouse model. Arrow indicates the region of bone marrow mononuclear cell injection. Credit: adapted from GUBERT et al., 2016.

tratamento eficaz conhecido, os pesquisadores investigaram os mecanismos e eficácia de uma possível terapia com células de medula óssea, para isso injetaram células mononucleares de medula óssea na porção lombar da medula espinhal de camundongos modelo de ELA e analisaram sua recuperação. Ao final do estudo puderam constatar que a injeção de tais células, se realizada na fase pré-sintomática, causa uma desaceleração transitória na progressão da doença e, por meio da utilização de IRM, puderam rastrear as células injetadas e verificaram que apenas poucas células se mantêm na medula óssea após a injeção, o que causa a transitoriedade do efeito do tratamento, conforme apresentado na figura a seguir. Esse trabalho foi um importante passo para um possível desenvolvimento inicial de um tratamento para essa patologia.

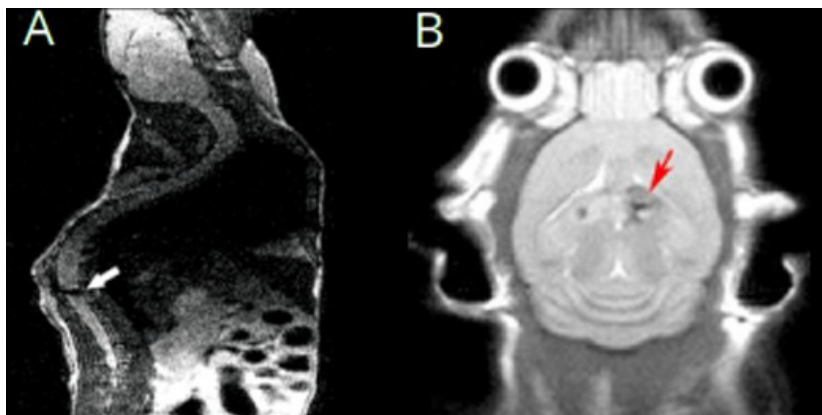


Figura (A) Imagem da medula espinhal de camundongo vivo. Seta mostra a região da injeção das células mononucleares de medula óssea. Crédito: Adaptada de GUBERT et al., 2016. Figura (B) Imagem de cérebro de camundongo vivo. Seta mostra a região da injeção das células marcadas. Crédito: Adaptada de AZEVEDO-PEREIRA et al., 2019. *Figure (A) Image of the spinal cord of a live mouse. Arrow shows the region of injection of bone marrow mononuclear cells. Credit: Adapted from GUBERT et al., 2016. Figure (B) Live mouse brain image. Arrow shows the injection region of the labeled cells. Credit: Adapted from AZEVEDO-PEREIRA et al., 2019.*

Outra vertente de estudo fundamental em qualquer técnica de bioimageamento é a pesquisa metodológica, a partir dela pode-se desenvolver novas metodologias que auxiliem no avanço da ciência, sendo assim é importante pontuar que a plataforma de IRM do CENABIO também é utilizada

An important aspect of progress with any bioimaging technique is a constant effort to develop new applications, so it is important to point out that the CENABIO MRI platform is also used with this purpose. One multidisciplinary study carried out at CENABIO was able to validate a new method of cell marking and tracking through magnetic resonance imaging. Researchers injected neuronal stem cells labeled with superparamagnetic iron oxide nanoparticles into mouse brains and were able to track them up to 51 days after injection using magnetic resonance imaging, as exemplified in the following image. This cell tracking methodology makes it possible to study numerous pathologies in vivo that affect different regions of the body.

Another study carried out on the MRI platform involves methodological validation, but this time focuses on understanding the mechanism of development of a disease of great clinical relevance. glioblastoma is the most common and aggressive type of malignant brain tumor that affects humans. Through analysis of magnetic resonance images (one of them presented here), the researchers were able to follow the development of a human glioblastoma tumor in mouse brain after 2-14 days of implantation and show that it develops with the same morphological characteristics as those observed in humans. Thus, they were able to demonstrate that xenotransplantation can be used to model glioblastoma in animals. This suggests possibilities for future work such as studies aimed at better understanding the biology of this disease or even testing potential therapies (GARCIA et al., 2014).

*In addition to projects aimed at understanding the biology of cosmopolitan diseases, CENABIO is also involved in studies of the so-called neglected tropical diseases, which are those caused by infectious or parasitic agents endemic in low-income populations, considered neglected because they do not receive due attention in medical care, in the development of medicines or diagnostic methods and in the social conditions of populations where they are endemic. Among the neglected diseases prevalent in Brazil, Chagas disease, caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), stands out. This disease can cause cardiac or digestive complications, generating arrhythmias and other disorders. A relevant study with the*

com esse intuito. Um trabalho multidisciplinar realizado no CENABIO foi capaz de validar um novo método de marcação e rastreamento celular considerando a imagem por ressonância magnética. Nesse estudo, pesquisadores injetaram células-tronco neuronais marcadas com nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas no cérebro de camundongos e conseguiram rastreá-las até 51 dias após a injeção por meio de imageamento por ressonância magnética, como na imagem a seguir. Essa metodologia de rastreamento celular torna possível o estudo de in vivo de inúmeras patologias que acometem diferentes regiões do corpo.

Outro estudo que envolve validação metodológica, mas dessa vez mesclada à compreensão do mecanismo de desenvolvimento de uma doença de grande relevância clínica, também realizado na plataforma de IRM do CENABIO, foi o transplante de glioblastoma humano em camundongos, glioblastoma é o tipo mais comum e agressivo de tumor maligno cerebral que acomete humanos. Por meio da análise de imagens de ressonância magnética (uma delas apresentada aqui), os pesquisadores conseguiram acompanhar o desenvolvimento do tumor no cérebro dos camundongos e constataram que ele se desenvolve com as mesmas características morfológicas observadas em humanos. Sendo assim, puderam demonstrar que o xenotransplante pode ser utilizado para modelar o glioblastoma em animais, tal fato traz inúmeras possibilidades de trabalhos futuros, como estudos que visam à melhor compreensão da biologia dessa doença ou até mesmo testes de potenciais terapias.

Além de trabalhos voltados para a compreensão da biologia de doenças cosmopolitas, o CENABIO também está envolvido em estudos das chamadas doenças tropicais negligenciadas, que são aquelas causadas por agentes infecciosos ou parasitários endêmicas em populações de baixa renda, são consideradas negligenciadas por não receberem a devida atenção no atendimento médico, no desenvolvimento de medicamentos, de métodos diagnósticos e nas condições sociais de vida das populações. Entre as doenças negligenciadas prevalentes no Brasil destaca-se a doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, essa doença pode causar complicações cardíacas ou digestivas, gerando arritmias e

objective of evaluating whether an intervention with adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells (ASC) can attenuate the effects of Chagas disease was carried out at CENABIO: researchers injected ASC into mice infected with T. cruzi and monitored , through analysis of magnetic resonance images (example in the next figure), cardiac remodeling and found a decrease in inflammation of the cardiac tissue, as well as a prevention of ventricular dilation, which allowed to conclude that the injection of mesenchymal stromal cells derived from adipose tissue may protect the heart from some damage caused by Chagas disease. This work demonstrates the importance of the CENABIO MRI platform in the world scenario of research on historically neglected diseases.

Technology for the future of MRI

The importance of the CENABIO magnetic resonance imaging platform in national and international science can be evidenced through the analysis of the history of studies developed through its use, exemplified in the previous paragraphs. However, new technologies appear in all fields of science, and in the area of bioimaging, methodologies that involve multimodal images, which have more than one imaging modality, are increasingly relevant. Among the most prominent multimodal methodologies in the realm of bioimaging, the combination of magnetic resonance imaging with positron emission tomography (PET) is the one that stands out. With this combination it is possible to obtain images with high spatial resolution from MRI combined with high-definition functional data from PET. In order to remain at the forefront of the production of scientific knowledge, CENABIO is implementing an improvement in its MRI platform that will allow a PET module to be attached, so that future projects can be carried out with the most modern multimodal imaging techniques.

References

Azevedo-Pereira, R. L. et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles as a tool to track mouse neural stem cells in vivo. Mol. Biol. Rep. v. 46, p. 191–198, 2019.
GARCIA, C. et al. The orthotopic xenotransplant of human glioblastoma successfully recapitulates glioblastoma-microenvironment interactions in a non-immunosuppressed mouse model. BMC Cancer, v. 14,

outros transtornos. Um relevante estudo com o objetivo de avaliar se uma intervenção com células estromais mesenquimais derivadas de tecido adiposo (CEMA) pode atenuar os efeitos da doença de Chagas foi realizado no CENABIO, nesse trabalho pesquisadores injetaram CEMA em camundongos infectados pelo *Trypanosoma cruzi* e acompanharam, realizando análises de imagens de ressonância magnética (como na figura a seguir), o remodelamento cardíaco e constataram uma diminuição da inflamação do tecido cardíaco, assim como uma prevenção da dilatação ventricular, o que permitiu concluir que a injeção de células estromais mesenquimais derivadas de tecido adiposo pode proteger o coração de alguns danos causados pela doença de Chagas. Esse trabalho demonstra a importância da plataforma de IRM do CENABIO no cenário mundial da pesquisa em doenças historicamente negligenciadas.

Visão da técnica para o futuro em IRM

A importância da plataforma de imageamento por ressonância magnética do CENABIO na ciência nacional e internacional pode ser evidenciada por meio da análise do histórico de estudos desenvolvidos com a sua utilização, exemplificados nos parágrafos anteriores. Contudo novas tecnologias surgem em todos os campos da ciência, e na área de bioimageamento as metodologias que envolvem imagens multimodais (que possui mais de uma modalidade de imageamento) demonstram-se cada vez mais relevantes. Dentre as metodologias multimodais mais proeminentes na grande área de bioimageamento, a combinação de imagens por ressonância magnética com as de tomografia por emissão de pósitrons (PET) é a que mais se destaca, pois por meio dela pode-se obter imagens com alta resolução espacial provenientes do IRM aliadas a dados funcionais de grande definição vindos do PET. Com o intuito de se manter na vanguarda da produção do conhecimento científico, o CENABIO está realizando um processo de aprimoramento de sua plataforma de IRM no qual um módulo de PET será acoplado, o que permitirá a realização de futuros projetos com as mais modernas técnicas de imageamento multimodal.

Referências:

2014.

GUBERT, F. et al. *Intraspinal bone-marrow cell therapy at pre- and symptomatic phases in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. Stem Cell Research and Therapy*, v. 7, 2016.

HAMILTON, J. et al. *Recent advances in parallel imaging for MRI. Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy*, v. 101, p. 71-95, 2017.

MELLO, D. B. et al. *Adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells protect mice infected with Trypanosoma cruzi from cardiac damage through modulation of anti-parasite immunity. PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 9, 2015.

NEVES, K. et al. *Cellular scaling rules for the brain of afrotherians. Frontiers in Neuroanatomy*, v. 8, 2014.

SZCZUPAK, D. et al. *Long-distance aberrant heterotopic connectivity in a mouse strain with a high incidence of callosal anomalies. NeuroImage*, v. 217, 2020.

PET/SPECT/CT PLATFORM

coordinator: Tula Celeste Wilmart Gonçalves
(plataforma.pet.spect.ct@cenabio.ufrrj.br)

Research in the area of pre-clinical imaging has evolved substantially in recent decades, consolidating itself as an important tool to complement the traditional techniques of in vivo and ex vivo studies, filling the gap between the promising concepts observed in vitro and their practical application in the clinical sphere. Recently, there have been significant advances in computer hardware and software capabilities, making it possible to obtain 3-dimensional (3D) images of full-body animals.

The miniaturization of imaging equipment components such as positron emission tomography (PET), single photon emission computed tomography (SPECT), and computed tomography (CT) has revolutionized translational research.

Preclinical imaging enables more personalized therapeutic approaches, including the discovery of specific targets for therapeutic and diagnostic purposes and well-defined model systems. The combination of anatomical and functional

- AZEVEDO-PEREIRA, R.L. et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles as a tool to track mouse neural stem cells in vivo. *Mol. Biol. Rep.* v. 46, p. 191–198, 2019.
- GARCIA, C. et al. The orthotopic xenotransplant of human glioblastoma successfully recapitulates glioblastoma-microenvironment interactions in a non-immunosuppressed mouse model. *BMC Cancer*, v. 14, 2014.
- GUBERT, F. et al. Intraspinal bone-marrow cell therapy at pre- and symptomatic phases in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Stem Cell Research and Therapy*, v. 7, 2016.
- HAMILTON, J. et al. Recent advances in parallel imaging for MRI. *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy*, v. 101, p. 71–95, 2017.
- MELLO, D.B. et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells protect mice infected with *Trypanosoma cruzi* from cardiac damage through modulation of anti-parasite immunity. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 9, 2015.
- NEVES, K. et al. Cellular scaling rules for the brain of afrotherians. *Frontiers in Neuroanatomy*, v. 8, 2014.
- SZCZUPAK, D. et al. Long-distance aberrant heterotopic connectivity in a mouse strain with a high incidence of callosal anomalies. *NeuroImage*, v. 217, 2020.

PLATAFORMA DE PET/SPECT/CT

Coordenadora: Tula Celeste Wilmart Gonçalves
(plataforma.pet.spect.ct@cenabio.ufrj.br)

A pesquisa na área de imageamento pré-clínico evoluiu substancialmente nas últimas décadas, consolidando-se como importante ferramenta para complementação das técnicas tradicionais de estudos in vivo e ex vivo, preenchendo a lacuna existente entre os conceitos promissores observados in vitro e sua aplicação prática na esfera clínica. Recentemente, houve um expressivo avanço nas capacidades de hardware e software de computador, possibilitando a obtenção de imagens em 3 dimensões (3D) de animais de corpo inteiro.

A miniaturização dos componentes dos equipamentos de imageamento, tais como a tomografia por emissão de pósitrons

(PET\SPECT\CT) is of great convenience in a translational study, as it provides quantitative and qualitative information regarding the various biological processes in a non-invasive way. CT is an imaging technique that exploits the difference in tissue radiodensity when exposed to X-rays (attenuation properties inherent to each type of material), providing 3D images (projections) with a high degree of spatial resolution that is suitable for viewing anatomical (morphological) details, especially the bony part of the specimens. However, for less dense tissues, the so-called soft tissues, such as viscera and lungs, the contrast is quite low, and depending on the level of resolution required for the study, the use of contrast agents is indicated to improve the resolution of the image obtained. Despite being an excellent methodology for the structural visualization of the specimen, CT lacks molecular specificity, a characteristic present in molecular imaging techniques PET and SPECT. Molecular (functional) imaging enables the investigation of molecular signatures of diseases, through in-vivo characterization and measurements of biological processes at the cellular and molecular level by analysis of the spatial distribution of biologically active molecules in the body of the specimen under study.

In functional imaging, radionuclides (unstable atoms that emit radiation in the chemical decay process) are used as tracers of metabolic processes. Addressing tracers can be performed at the genomic, transcriptome, proteomic and metabolomic levels, either in subcellular structures, at the cellular, tissue or organ level, making it possible to access the most diverse types of biological processes, such as glycolysis, synthesis of DNA, lipid and amino acid metabolism, apoptosis, angiogenesis, hypoxia, perfusion, among others.

The imaging principle is based on the detection of gamma radiation from radiotracers (the conjugation of a radioisotope to an addresser molecule), which can be administered in picomolar concentrations, providing exclusively quantitative and functional information on the studied specimen. The pharmacokinetics (distribution of radioactive material in time and space) of the tracers and the selective uptake by the tissues form the basis of the information and data resulting from the image analysis.

(PET), a tomografia computadorizada de emissão de fóton único (SPECT), e a tomografia computadorizada (CT), revolucionou a pesquisa translacional.

O imageamento pré-clínico viabiliza abordagens terapêuticas mais personalizadas, incluindo a descoberta de alvos específicos para fins terapêuticos e de diagnóstico e sistemas de modelos bem definidos. A combinação de modalidades de imageamento anatômico e funcional (PET\SPECT\CT) é de grande conveniência no estudo translacional, pois permite a obtenção de informações quantitativas e qualitativas referentes aos diversos processos biológicos de forma não invasiva. A CT é uma técnica de imageamento que explora a diferença de radiodensidade dos tecidos frente à exposição aos raios X (propriedades de atenuação inerente a cada tipo de material), fornecendo imagens em 3D (projeções) com um alto grau de resolução espacial que é suficientemente adequada para visualização de detalhes anatômicos (morfológicos), principalmente da parte óssea dos espécimes. No entanto, para tecidos pouco densos, os chamados tecidos moles, tais como vísceras e pulmões, o contraste é bastante baixo, e dependendo do nível de resolução requerida ao estudo, é indicado o uso de agentes de contraste para melhorar a resolução da imagem obtida. Apesar de ser uma excelente metodologia para a visualização estrutural do espécime, a CT carece de especificidade molecular, característica presente nas técnicas de imageamento molecular: PET e SPECT. O Imageamento molecular (funcional) possibilita a investigação das assinaturas moleculares das doenças, por meio da caracterização in vivo e medidas de processos biológicos em nível celular e molecular pela análise da distribuição espacial de moléculas biologicamente ativas no corpo do espécime em estudo.

No imageamento funcional são utilizados radionuclídeos (átomos instáveis que emitem radiação no processo de decaimento químico) como traçadores dos processos metabólicos. O endereçamento de traçadores pode ser realizado em nível genômico, de transcriptoma, proteômico e metabolômico, tanto em estruturas subcelulares, em nível celular, tecidual ou em órgãos, tornando possível o acesso aos mais diversos tipos de processos biológicos, tais como: glicólise, síntese de DNA,

Notably, functional imaging plays an extremely important role in the field of oncology, as it is used for the identification of the tumor (staging, definition of the tumor volume and observation of possible metastases), as well as for treatment (theragnostic) and is still essential for monitoring the effectiveness of therapy.

In clinical practice, PET technology is widely used for the diagnosis and treatment of various types of tumors. The most common radiotracer used in humans is 18F-2-deoxy-2-fluoro-D-glucose (FDG) because of its analogous behavior to the glucose molecule. This property allows FDG to increase specificity in the evaluation of a wide variety of aggressive glycolytic cancers, due to the generalized overexpression of glucose 1 and hexokinase transporters, causing FDG-phosphate to be kept confined within cells.

SPECT technology is also widely used in clinical practice, and a wide variety of radiotracers are available for various biological processes such as bone structure investigation, myocardial perfusion, pulmonary ventilation and perfusion, hepatobiliary, renal, and neurological investigation, among others. The radioactive tracers used in the clinic can also be used for imaging small animals in vivo, as they have the same physiological pathways and capture mechanisms as humans. The combination of functional and anatomical imaging methodologies is the great asset for its application in the diagnosis and treatment of numerous diseases. The morphological and metabolic information inherent to such technologies is achieved by superimposing different types of images, such as those from CT, PET and SPECT. The overlapping of images is known as co-registration, which is performed through software that aligns the images that were obtained separately on different equipment. The fusion of the images makes it possible to obtain very accurate 3D anatomical and functional information from the specimen under study with high sensitivity and specificity. More recently, hybrid instruments such as PET/SPECT/CT have become available for small-animal studies, eliminating the limitations that plague imaging taken separately on different devices. CENABIO have a trimodal instrument (LabPET8-Gamma Medica), that integrates the 3 imaging modalities in a single device, allowing the acquisition of anatomical and functional images in a faster

metabolismo lipídico, e de aminoácidos, apoptose, angiogênese, hipóxia, perfusão, entre outros.

O princípio de formação da imagem baseia-se na detecção da radiação gama proveniente dos radiotraçadores (a conjugação de um radioisótopo a uma molécula endereçadora), que podem ser administrados em concentrações picomolares, fornecendo informações exclusivamente quantitativas e funcionais do espécime estudado. A farmacocinética (distribuição do material radioativo no tempo e no espaço) dos traçadores e a captação seletiva pelos tecidos formam as bases das informações e dados resultantes da análise da imagem.

Notadamente, o imageamento funcional tem um papel de extrema relevância na área oncológica, pois é utilizado desde a identificação do tumor (estadiamento, definição do volume tumoral e observação de possíveis metástases), bem como para o tratamento (teragnóstico) e ainda é imprescindível para o monitoramento da eficácia da terapia.

Na prática clínica, a tecnologia PET é muito usada para o diagnóstico e tratamento de diversos tipos de tumores. O radiotraçador mais comum usado em humanos é a 18F-2-desoxi-2-fluoro-D-glicose (FDG) devido ao seu comportamento análogo à molécula de glicose. Essa propriedade permite que a FDG aumente a especificidade na avaliação de uma grande variedade de cânceres glicolíticos agressivos, devido à superexpressão generalizada de transportadores de glicose 1 e de hexoquinase, fazendo com que a FDG-fosfato seja mantida confinada no interior das células.

A tecnologia SPECT também é amplamente utilizada na prática clínica, e está disponível uma grande variedade de radiotraçadores para diversos processos biológicos, como investigação na estrutura óssea, perfusão miocárdica, ventilação e perfusão pulmonar, investigação hepatobiliar, renal, neurológica, dentre outros.

Os traçadores radioativos utilizados na clínica também o podem ser para imageamento de pequenos animais in vivo, pois possuem as mesmas vias fisiológicas e mecanismos de captação de humanos. A combinação de metodologias de imageamento funcional e anatômico é o grande trunfo para sua aplicação no diagnóstico e tratamento de inúmeras doenças. A

and more efficient way, facilitating the fusion of information inherent to each procedure. Furthermore, in this equipment it is possible to carry out studies with more than one radioisotope simultaneously, expanding the field of analyzed observations, increasing the information that can be extracted from the data obtained.

Currently, due to the wide diversity of applications in the biomedical area, currently, studies involving PET\SPECT\CT imaging technologies reach a unique dimension in innovation in translational research. At CENABIO, they are linked to the most diverse categories of projects covering such technologies. Studies are developed to evaluate the effect of stem cells in the therapy of neurodegenerative diseases, restoration of the optic nerve, dietary modulation and obesity, development of new radiotracers (molecules that act as addressers) for tumor identification, evaluation of innovative therapy for silicosis, diagnosis of diseases, assessment of renal ischemia and reperfusion, dosimetry, characterization of lung injury, assessment of lung ventilation, assessment of pulmonary bacterial infection, characterization of lung trauma, lung ischemia and reperfusion, assessment of hepatectomy, and development of new protocols for acquisition of images, among others.

The possibility of imaging live animals offers significant advantages in the biomedical field. The animals under study act as their own controls, thus reducing the number of animals sacrificed, generating a direct impact on the statistical analysis of the data generated, and refining the reproducibility factor. Live-animal studies can be performed longitudinally, allowing dynamic assessments of disease progression or verification of the effectiveness of new treatments. Preclinical functional imaging is very interesting for the identification of drug biodistribution, evaluation of pharmacodynamics and kinetics in a non-invasive way, being very useful to the pharmaceutical industry in the screening of new drugs, reducing costs and time spent during research.

informação morfológica e metabólica inerente a tais tecnologias é alcançada com sobreposição de diferentes tipos de imagens, como as provenientes da CT, PET e SPECT. A sobreposição das imagens é conhecida como corregristo, que é realizado por um software que alinha as imagens que foram obtidas separadamente em equipamentos distintos. A fusão das imagens possibilita a obtenção bastante precisa de informações anatômicas e funcionais em 3D do espécime em estudo com elevada sensibilidade e especificidade. Mais recentemente, instrumentos híbridos como o PET/SPECT/CT tornaram-se disponíveis para estudos com pequenos animais, suprimindo as limitações quando a imagem é obtida separadamente em diferentes dispositivos. No CENABIO dispomos de um equipamento trimodal (LabPET8 – Gamma Medica), ou seja, que integra as 3 modalidades de imageamento num único dispositivo, permitindo a aquisição de imagens anatômicas e funcionais de forma mais rápida e eficiente, facilitando a fusão das informações inerentes a cada procedimento. Além disso, nesse equipamento é possível realizar estudos com mais de um radioisótopo simultaneamente, ampliando o campo de observações analisadas, aumentando a informação proveniente dos dados obtidos.

Em virtude da ampla diversidade de aplicações na área biomédica, atualmente os estudos envolvendo as tecnologias de imageamento PET\SPECT\CT atingem dimensão ímpar na inovação em pesquisa translacional. No CENABIO, estão vinculadas às mais diversas categorias de projetos abrangendo tais tecnologias. Desenvolvemos estudos em avaliação do efeito de células-tronco na terapia de doenças neurodegenerativas, restauração do nervo óptico, modulação dietética e obesidade, desenvolvimento de novos radiotraçadores (moléculas que atuam como endereçadoras) para identificação de tumores, avaliação de terapia inovadora para a silicose, diagnóstico de doenças, avaliação de isquemia e reperfusão renal, dosimetria, caracterização de lesão pulmonar, avaliação de ventilação pulmonar, avaliação de infecção bacteriana pulmonar, caracterização de trauma pulmonar, isquemia e reperfusão pulmonar, avaliação de hepatectomia, desenvolvimento de novos protocolos de aquisição de imagem, dentre outros.

Technology for the future – PET/SPECT/CT beyond metabolic-anatomical observation, a promising therapeutic approach.

PET/SPECT/CT technologies have significant relevance for diagnosis, management, therapeutic monitoring and prognosis in several diseases, mainly in oncology. The development of these technologies for animal studies was fundamental in translational medicine, enabling the discovery of new therapeutic targets, expanding knowledge about cellular processes, monitoring the efficacy and safety of new drugs and enabling the innovation of current treatments.

Currently, great progress is being made in the development of highly specific radiotracers. The evolution of radiotracers and studies of new drugs are important factors in accelerating the process of approving new drugs for clinical use. With advances in antibody engineering, the development and characterization of new tumor-specific molecular targets are at the forefront of this “revolution” (immuno-PET) for diagnosis.

In addition, hybrid imaging has grown substantially in recent years. Equipment that combines magnetic resonance imaging (MRI) technology with the PET molecular imaging technique is now available for pre-clinical use (recently added to the CENABIO equipment park) and represents a revolution in terms of the combination of contrast enhancement and obtaining functional information. MRI imaging allows for better soft tissue contrast without the undesired effects of ionizing radiation, as occurs in CT. Additionally, it is possible to obtain images by diffusion and perfusion, adding even more functional information to the studies.

The imaging area is in full development and, more and more, new possibilities of action arise, whether in the field of drug development, diagnosis of the most diverse pathologies, monitoring of therapies and certainly the most promising one, which is the theragnostic (use of a biomarker capable of selectively identifying the characteristics of a tumor and also acting as a therapeutic substance).

A possibilidade de imageamento de animais vivos oferece vantagens significativas na área biomédica. Os animais em estudo atuam como seus próprios controles, reduzindo assim o quantitativo de animais sacrificados, gerando um impacto direto nas análises estatísticas dos dados gerados, refinando o fator reprodutibilidade. Os estudos com animais vivos são passíveis de serem executados de forma longitudinal, permitindo avaliações dinâmicas da progressão de doenças ou verificação da eficácia de novos tratamentos. O imageamento funcional pré-clínico é muito interessante para a identificação da biodistribuição de drogas, avaliação da farmacodinâmica e farmacocinética de forma não invasiva, sendo muito útil à indústria farmacêutica na triagem de novos fármacos, diminuindo os custos e tempo despendidos durante a pesquisa.

Visão técnica para o futuro – PET/SPECT/CT além da observação metabólico-anatômica, uma promissora abordagem terapêutica

As tecnologias PET/SPECT/CT têm expressiva relevância para o diagnóstico, gestão, monitoramento terapêutico e prognóstico em diversas doenças, principalmente na oncologia. O desenvolvimento dessas tecnologias para estudos com animais foi fundamental na medicina translacional, possibilitando a descoberta de novos alvos terapêuticos, ampliação do conhecimento sobre os processos celulares, o monitoramento da eficácia e segurança de novas drogas e possibilita a inovação dos tratamentos vigentes.

Atualmente, grandes progressos estão sendo feitos no desenvolvimento de radiotraçadores altamente específicos. A evolução de radiotraçadores e estudos de novos medicamentos são fatores importantes na aceleração do processo de aprovação de novas drogas para o uso clínico. Com o avanço na engenharia de anticorpos, o desenvolvimento e a caracterização de novos alvos moleculares específicos de tumores estão na vanguarda dessa “revolução” (imuno-PET) para diagnóstico.

Além disso, a imagenologia híbrida vem crescendo substancialmente nos últimos anos. Equipamentos que associam a tecnologia de imagem por ressonância magnética (MRI) à técnica de imagem molecular PET, já estão disponíveis para uso

The possibility of combining imaging methodologies has become an important tool for theragnostics. In one of the projects developed in the multimodal platform PET/SPECT/microCT of CENABIO, this specific potential of such methodologies was explored to develop a promising therapeutic molecule for metastatic melanoma. Metastatic melanoma is a very aggressive neoplasm that is resistant to current therapeutic interventions. Previous studies have shown that the expression levels of tissue factor (TF), an initiating protein of blood clotting, are associated with the histological degree of malignancy and vascularization of tumors, and that they also play a key role in invasiveness, tumor growth, angiogenesis and metastasis. Ixolaris is a non-immunogenic molecule that specifically binds to TF and suppresses the growth of metastatic tumor nodules. Thus, this promising therapeutic target in tumor remission was explored and a new radiotracer was developed using the ixolaris molecule labeled with the gamma-emitting radionuclide, ^{99m}Tc (metastable Technetium 99), thus constituting the ^{99m}Tc -Ixolaris. Using CT and SPECT methodologies, it was possible to evaluate its biodistribution and tumor uptake in mice. In this way, through the administration of the newly developed radiotracer and imaging by SPECT and CT, it was possible to perform the diagnosis of metastatic melanoma using mice as a model organism, as shown in the next figure.

Images showing the uptake of ixolaris. It is possible to identify the metastatic nodule (M) in the topography of the lungs of induced animals as well as the normal uptake in the liver (F) (metabolism) and the primary site of the tumor induced by the subcutaneous route. Credit: Barboza, 2018.

Finally, it should be noted that for clinical practice, animal studies have high relevance and applicability, as they provide adjustments for a more personalized care for patients, improve decision-making regarding disease treatments and also contribute to cost reduction.

pré-clínico (recente incorporação ao parque de equipamentos do CENABIO) e são a revolução em termos da união entre aumento do contraste e obtenção de informações funcionais. O imageamento por RMI permite um melhor contraste de tecidos moles sem os efeitos indesejados da radiação ionizante, como ocorre na CT. Adicionalmente, é possível realizar imagens por difusão e perfusão, agregando ainda mais informações funcionais aos estudos.

A área de imageamento está em franco desenvolvimento e, cada vez mais, novas possibilidades de atuação surgem, seja no campo de desenvolvimento de fármacos, diagnóstico das mais diversas patologias, acompanhamento de terapias e certamente a mais promissora que é o teragnóstico (utilização de um biomarcador capaz de identificar seletivamente as características de um tumor e atuar também como substância terapêutica).

A possibilidade de se combinar as metodologias de imageamento tornou-se uma importante ferramenta para o teragnóstico. Em um dos trabalhos desenvolvidos na plataforma multimodal PET/SPECT/microCT do CENABIO explorou-se esse potencial específico a tais metodologias para se desenvolver uma promissora molécula teragnóstica para o melanoma metastático. O melanoma metastático é uma neoplasia bastante agressiva que apresenta resistência às atuais intervenções terapêuticas existentes. Estudos prévios evidenciaram que os níveis de expressão do fator tecidual (TF, do inglês tissue factor), uma proteína iniciadora da coagulação sanguínea, são associados com o grau histológico de malignidade e vascularização de tumores e que também desempenham um papel fundamental na invasividade, crescimento tumoral, angiogênese e metástase. O ixolaris é uma molécula não imunogênica que se liga especificamente ao TF e suprime o crescimento de nódulos metastáticos tumorais. Dessa forma, explorou-se esse alvo terapêutico promissor na remissão tumoral e desenvolveu-se um novo radiotraçador utilizando-se a molécula de ixolaris marcada com o radionuclídeo emissor gama, ^{99m}Tc (Tecnécio 99 metaestável), constituindo o ^{99m}Tc-Ixolaris. Utilizando-se as metodologias CT e SPECT foi possível avaliar sua biodistribuição e captação pelo tumor em camundongos. Por meio da administração do novo radiotraçador

MULTIPARAMETRIC CELL-SCREENING PLATFORM

*Coordinator: Renata Travassos de Lima
(plataformahca@cenabio.ufrj.br)*

Multiparametric cell screening is a technique capable of interpreting cell characteristics through the acquisition of digital images and subsequent analysis using software capable of extracting data from the images. The equipment consists of an automated fluorescence microscope associated with a high-performance computer. Conjugated to the microscope are a CMOS camera, stage for slides or culture plates capable of moving automatically in the X, Y and Z axes, autofocus system and automated fluorescence filter cubes. Together, they are able to acquire thousands of images of cell samples in a short time, thus optimizing the experimental demand and generating a huge amount of experimental data.

In contrast to traditional cell-sorting methods, such as absorbance techniques, which measure the biological response of thousands of cells together, multiparametric cell sorting acquires functional and morphometric information from each cell individually. In this way, it is possible to obtain information on a cellular response that would be unexplained by joint analysis techniques. Obtaining information from the acquired images occurs in four categories: change in fluorescence intensity, fluorescence distribution, cell morphology and cell movement, with the technique being able to simultaneously monitor all of these. The measurement of multiple parameters integrated at the cell level facilitates complex tasks such as predicting drug candidate targets, studying protein function, identifying molecules involved in biological processes, and even clarifying new signaling pathways.

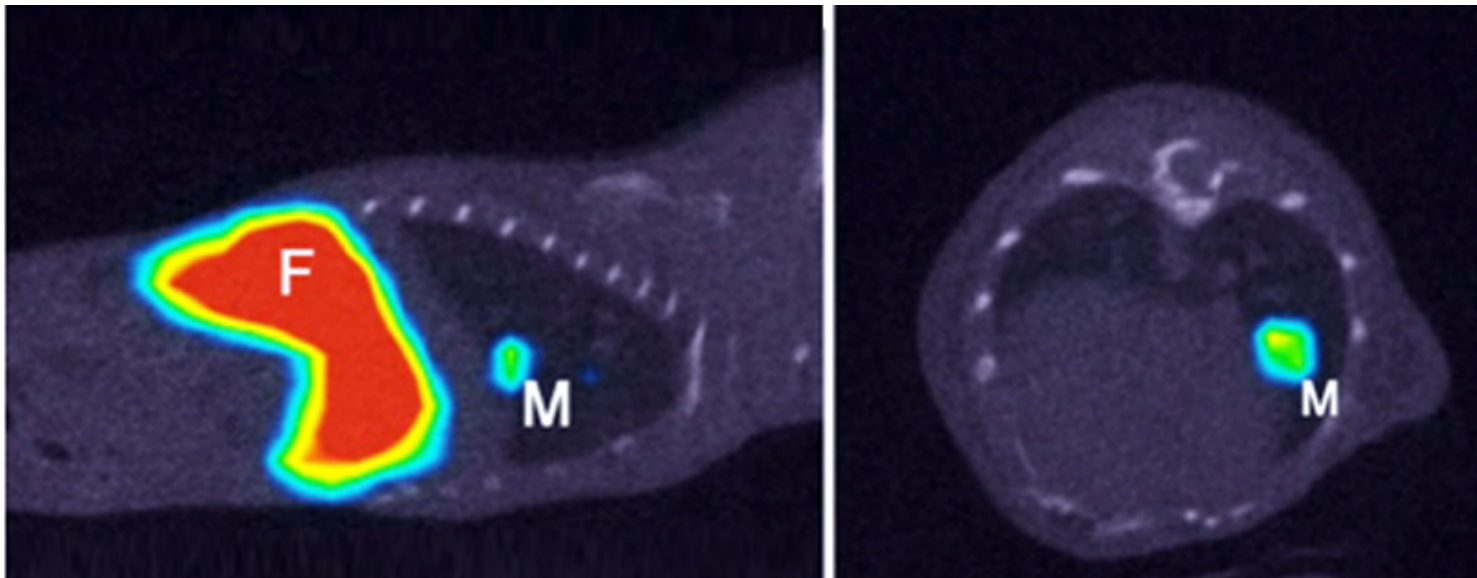
Computational techniques have been used to extract information from photographs, x-ray films and images of biological slides since the 1950s. In 1976, a detailed description of this technique appeared, although still in a very rudimentary form and with low quality. From the 1990s onwards, with the rapid development of computational technology, there was a great leap in the ability to obtain images and process data. Microscope automation, higher-resolution objectives, an increased spectrum of fluorescent probes, pipetting robots, greater processing and storage capacity of computers have taken

desenvolvido e imageamento por SPECT e CT, foi possível realizar o diagnóstico do melanoma metastático utilizando camundongos como organismo modelo, conforme mostrado na figura a seguir.

Por fim, cabe ressaltar que para a prática clínica, os

multiparametric cell sorting to a high throughput level.

In order to carry out high-throughput experiments, in addition to cell-sorting platforms, miniaturized cultivation in multiwell plates is necessary. The use of these plates in cell and



Imagens mostrando a captação do ixolaris. É possível identificar o nódulo metastático (M) em topografia de pulmões de animais induzidos e a captação normal em fígado (F) (metabolismo) e a identificação do sítio primário do tumor induzido por via subcutânea. Crédito: Barboza, 2018. *Images showing the uptake of ixolaris. It is possible to identify the metastatic nodule (M) in the topography of the lungs of induced animals as well as the normal uptake in the liver (F) (metabolism) and the primary site of the tumor induced by the subcutaneous route. Credit: Barboza, 2018.*

estudos em animais têm alta relevância e aplicabilidade, pois propiciam adequações para um atendimento mais personalizado aos pacientes, melhora a tomada de decisões relativa aos tratamentos de doenças e contribui ainda para a redução de custos.

Referências:

- BADEA, V.T. et al. *In Vivo Small Animal Imaging using Micro-CT and Digital Subtraction Angiography, PhysMed Biol. 53(19): R319-R350, 2008.*
- BARBOZA, Thiago. *Melanoma: do diagnóstico ao tratamento utilizando Ixolaris marcado em um modelo pré-*

molecular biology experiments made it possible to test different conditions using much smaller amounts of cells, reagents, culture media and supplements in general, thus reducing the cost per sample. However, the greater the number of wells in each plate, the longer the time spent by the operator to prepare it and in some cases, such as in 384 and 1536-well plates, it becomes unfeasible to prepare large amounts of it. From there, it is necessary to associate pipetting robots with the cell-sorting platform. These robots are large automated pipettors, containing modular 96-well heads or individual moving heads, where multiwell plates can be prepared in a matter of minutes. In addition to the marked decrease in plate preparation time, there is also the advantage of increased precision in the arrangement of reagents, reduced errors, increased yield and reproducibility.

clínico, 2018, Tese (Doutorado em Radiologia – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2018).

- CHRISTOPHE, M. et al. *Multimodality Imaging of Tumor Xenografts and Metastases in Mice with Combined Small-Animal PET, Small-Animal CT, and Bioluminescence Imaging*, *J Nucl Med* 48:295–303, 2007.

- DIMASTROMATTEO, J. e cols I. *Molecular imaging of pulmonary diseases*, *Respiratory Research*, 19:17 DOI 10.1186/s12931-018-0716-0, 2018.

- HARKI, D. et al. *In vivo imaging of pyrrole-imidazole polyamides with positron emission tomography*, *PNAS*, vol. 105, n. 35 13039–13044, 2008.

PLATAFORMA DE TRIAGEM CELULAR MULTIPARAMÉTRICA

Coordenadora: Renata Travassos de Lima
(plataformahca@cenabio.ufrj.br)

A triagem celular multiparamétrica é uma técnica capaz de interpretar características celulares por meio da aquisição de imagens digitais e posterior análise utilizando um software apto a extrair dados a partir das imagens. O equipamento é composto por um microscópio de fluorescência automatizado associado a um computador de alta performance. Conjugado ao microscópio estão uma câmera CMOS, estágio para lâminas ou placas de cultura capaz de se movimentar automaticamente nos eixos X, Y e Z, sistema de autofoco e cubos de filtros de fluorescência automatizados. Em conjunto, são capazes de adquirir milhares de imagens de amostras celulares em um curto espaço de tempo, otimizando dessa forma a demanda experimental e gerando uma enorme quantidade de dados experimentais.

Em contraste com métodos tradicionais de triagem celular, como técnicas de absorvância, que mede a resposta biológica de milhares de células em conjunto, a triagem celular multiparamétrica adquire informações funcionais e morfométricas de cada célula individualmente. Dessa forma, é possível obter informações sobre resposta celular que ficariam implícitas pelas técnicas de análise em conjunto.

Applications for Cell Screening in CENABIO

CENABIO has a multiparametric cell-sorting platform that is composed of an automated fluorescence microscope and two automated pipetting robots. These tools have the ability to process thousands of samples per day and associated with the computer processing system, one can analyze and extract millions of data points from these samples. CENABIO has an ImageXpress micro XL (Molecular Devices), which is an epifluorescence microscope illuminated from an LED source, fully automated and with an autofocus system and a CMOS camera. Fluorescence filters span a range from 350nm to 780nm and objectives range from 4x to 40x. Images can be acquired on both slides and microplates, from 24 to 1536 wells. CENABIO also have two automated pipettors, Janus MDT and Janus Varispan, from PerkinElmer. Both have the ability to pipet liquids into culture plates ranging from 96 to 1536 wells, with high precision and high speed.

Projects developed on the platform

Several projects are carried out on the platform's premises, generating results with great relevance in the area of biological sciences. Results include projects in the area of development of new drugs against protozoan parasites such as *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii* and *Leishmania spp.*, in oncology with the evaluation of the mechanism of action of chemotherapeutic agents, in the study of autophagy signaling pathways in leprosy infection, in molecular changes in liver and skeletal muscle lipid metabolism, and in the use of new cardiokines to reduce reticulum stress in cardiomyocytes, among others. Reinforcing the multi-user character of CENABIO, the entire academic community, not only from UFRJ, but from public and private institutions across the country, develop their projects on this Platform.

Technology for the future of cellular screening

CENABIO is committed to providing its users with the best existing technology in several areas of knowledge. The Cell Triage platform has followed the evolution of morphological/morphometric assays, in order to remain on the frontier of knowledge. New approaches such as screening of chemotherapeutic or RNAi libraries have given ways of

A obtenção de informações das imagens adquiridas se dá em quatro categorias: alteração na intensidade da fluorescência, distribuição da fluorescência, morfologia celular e movimento celular, sendo a técnica capaz de monitorar simultaneamente todos esses referentes. A medição de múltiplos parâmetros integrados no nível de cada célula facilita tarefas complexas como predição de alvos de um fármaco candidato, estudo da função de proteínas, identificação de moléculas envolvidas em processos biológicos e até mesmo no esclarecimento de novas vias de sinalização.

A utilização de técnicas computacionais para extrair informações a partir de fotografias, filmes de raios X e imagens de lâminas biológicas já era utilizada desde os anos 1950. Em 1976 foi realizada a descrição detalhada desta técnica, embora ainda de uma forma bem rudimentar e com baixa qualidade. A partir dos anos 1990, com o rápido desenvolvimento tecnológico computacional, houve um grande salto na capacidade de obtenção de imagens e de processamento de dados. Automatização do microscópio, objetivas com maior resolução, aumento do espectro de sondas fluorescentes, robôs de pipetagem, maior capacidade de processamento e armazenamento dos computadores fizeram com que a triagem celular multiparamétrica passasse a um nível de alto rendimento.

Para a realização de experimentos com alto rendimento, é necessário, além de plataformas de triagem celular, o cultivo miniaturizado em placas multipoços. A utilização dessas placas em experimentos de biologia celular e molecular tornou possível testar diversas condições utilizando quantidades muito menores de células, reagentes, meios de cultura e suplementos, em geral, com isso diminuindo o custo por amostra. Entretanto, quanto maior o número de poços em cada placa, maior é o tempo despendido pelo operador para prepará-la e em alguns casos, como em placas de 384 e 1.536 poços, torna-se inviável o preparo de grandes quantidades. A partir daí, se faz necessária a associação de robôs de pipetagem à plataforma de triagem celular. Esses robôs são grandes pipetadores automatizados, contendo cabeças modulares de 96 poços ou cabeças móveis individuais, com as quais é possível preparar placas multipoços em questão de poucos minutos. Além da diminuição acentuada

studying different pathways, both in the discovery of new drugs in the treatment of various pathologies, and in the clarification of cellular pathways. A number of approaches have been developed to maximize biological responses and improve tracking of conditions closer to those found for in-vivo biological systems. One of them is the development of 3D cultures, where there is greater complexity in the relationships between cells and the microenvironment. Certainly, the analysis of these models is differentiated and more complex than in two-dimensional models. The cell-sorting technique presents high robustness and great capacity for analysis of 3D models, being able to extract information with fidelity from the analyzed microenvironment. The field of biomaterials development has grown a lot in recent years, which leads to the need to improve the techniques available for further analysis. At this point, data analysis software obtained from images has evolved, and machine-learning technologies, which are based on the idea that systems can learn from data, identify patterns and make decisions with little human intervention, are making more accurate extractions and faster data collection.

Our platform, with the automated pipetting robot, is able to receive, prepare and analyze test samples from chemotherapeutic or RNAi libraries. The management of large databases is undoubtedly a challenge, the ability to extract data and analyze them within the context of the sample is a barrier that needs to be overcome through constant training of the team involved and the monitoring of technological evolution.

References

- BRENNER, J. F. et al. An automated microscope for cytologic research: a preliminary evaluation. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, v. 24, p. 100-111, 1976.
- ENTZEROTH, M. et al. Overview of high-throughput screening. *Current Protocols in Pharmacology*, v. Supp 44, p. 9.4.1-9.4.24, 2009.
- HANEY, S. A. et al. An introduction to high content screening: Imaging technology, assay development, and data analysis in biology and drug discovery. [s.l.] John Wiley & Sons, Inc., 2015.
- KETTELER, R.; KRISTON-VIZI, J. *High-Content*

no tempo de preparo das placas, também há a vantagem do aumento da precisão na disposição dos reagentes, diminuição de erros, aumento do rendimento e da reprodutibilidade.

Aplicações da triagem celular no CENABIO

O CENABIO possui uma plataforma de triagem celular multiparamétrica que é composta por um equipamento de microscopia de fluorescência automatizada e dois robôs de pipetagem automatizada. Esses equipamentos associados possuem a capacidade de processar milhares de amostras por dia e, associados ao sistema de processamento computacional, analisar e extrair milhões de dados a partir dessas amostras. A Plataforma conta com um ImageXpress micro XL (molecular Devices), que é um microscópio de epifluorescência que possui iluminação a partir de uma fonte LED, totalmente automatizado e contando com sistema de autofoco e uma câmera CMOS. Os filtros de fluorescência abrangem um intervalo entre 350 nm até 780nm e objetivas que vão de 4x a 40x. Podem ser adquiridas imagens tanto em lâminas como em microplacas, desde 24 até 1.536 poços. Há também dois pipetadores automatizados Janus MDT e Janus Varispan, da empresa Perkin Elmer. Ambos possuem capacidade de realizar a pipetagem de líquidos para placas de cultura que variam de 96 até 1.536 poços, com alta precisão e grande velocidade.

Linhas de pesquisas desenvolvidas na plataforma

Diversos projetos são realizados nas dependências da plataforma, gerando resultados com grande relevância na área das ciências biológicas. Dentre eles podemos citar projetos na área de desenvolvimento de novos fármacos contra protozoários parasitas como *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii* e *Leishmania spp.*; na oncologia com a avaliação do mecanismo de ação de quimioterápicos; no estudo de vias de sinalização de autofagia em infecção por hanseníase; em alterações moleculares no metabolismo lipídico do fígado e músculo esquelético; no emprego de novas cardioquinas na redução do estresse de retículo em cardiomiócitos, dentre outros. Reforçando o caráter multiusuário do CENABIO, toda a comunidade acadêmica, não só da UFRJ, mas de instituições

Screening in Cell Biology. In: Encyclopedia of Cell Biology. [s.l.] Elsevier Inc., v. 4p. 234–244, 2016.

LI, Z.; CVIJIC, M. E.; ZHANG, L. *Cellular imaging in drug discovery: Imaging and informatics for complex cell biology. In: Comprehensive Medicinal Chemistry III. [s.l.] Elsevier Inc., v. 2–8p. 362–387, 2017.*

MOTA, C.; MORONI, L. *High throughput screening with biofabrication platforms. In: Essentials of 3D Biofabrication and Translation. [s.l.] Elsevier Inc., p. 187–213, 2015.*

POTYRAILO, R. A. *Combinatorial Screening. In: Encyclopedia of Materials: Science and Technology. [s.l.] Elsevier, p. 1329–1343, 2001.*

RAJWA, B. *Effect-size measures as descriptors of assay quality in high-content screening: A brief review of some available methodologies* *Assay and Drug Development Technologies* Mary Ann Liebert Inc., 1 jan. 2017. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/adt.2016.740>>. Acesso em: 17 maio. 2021.

ZANELLA, F. et al. *High content screening: Seeing is believing* *Trends in Biotechnology*, 2010. Disponível em: <www.oracle.com>. Acesso em: 17 maio. 2021.

públicas e privadas de todo o país desenvolvem seus projetos no Centro.

Visão da técnica para o futuro na triagem celular

O CENABIO mantém o compromisso de fornecer a seus usuários a melhor tecnologia existente em diversas áreas do conhecimento. A plataforma de Triagem Celular tem acompanhado a evolução dos ensaios morfológicos/morfométricos no intuito de se manter na fronteira do conhecimento. Novas abordagens como a Triagem de bibliotecas de quimioterápicos ou de RNAi têm sido uma forma de estudo de diversas vias, tanto na descoberta de novas drogas no tratamento de diversas patologias, como no esclarecimento de vias celulares. Inúmeras abordagens têm sido desenvolvidas no intuito de maximizar as respostas biológicas e melhorar o rastreamento de condições mais próximas às encontradas nos sistemas biológicos in vivo. Uma delas é o desenvolvimento de culturas 3D, em que há uma maior complexidade nas relações entre as células e o microambiente. Certamente, a análise desses modelos é diferenciada e mais complexa do que em modelos bidimensionais. A técnica de triagem celular apresenta alta robustez e grande capacidade para análise de modelos 3D, sendo capaz de extrair informações com fidelidade do microambiente analisado. O campo de desenvolvimento de biomateriais tem crescido bastante nos últimos anos, o que leva à necessidade de aperfeiçoamentos das técnicas disponíveis para sua posterior análise. Nesse ponto, os softwares de análise de dados obtidos a partir de imagens têm evoluído, e tecnologias de machine learning, que se baseiam na ideia de que sistemas podem aprender com dados, identificar padrões e tomar decisões com pouca intervenção humana, vêm tornando a extração de dados mais precisa e rápida.

A plataforma, contando com o robô de pipetagem automatizada, está apta a receber, preparar e analisar amostras de testagem de bibliotecas de quimioterápicos ou de RNAi. O manejo de grandes bancos de dados é, sem dúvida, um desafio, a capacidade de extrair dados e analisá-los dentro do contexto da amostra é uma barreira que necessita ser transposta com treinamento constante da equipe envolvida e do acompanhamento da evolução tecnológica.

IMAGEM
OU
COR

Referências:

- BRENNER, J.F. et al. An automated microscope for cytologic research: a preliminary evaluation. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, v. 24, p. 100–111, 1976.
- ENTZEROTH, M. et al. Overview of high-throughput screening. *Current Protocols in Pharmacology*, v. Supp 44, p. 9.4.1-9.4.24, 2009.
- HANEY, S.A. et al. An introduction to high content screening: Imaging technology, assay development, and data analysis in biology and drug discovery. [s.l.] John Wiley & Sons, Inc., 2015.
- KETTELER, R.; KRISTON-VIZI, J. High-Content Screening in Cell Biology. In: *Encyclopedia of Cell Biology*. [s.l.] Elsevier Inc., v. 4p. 234–244, 2016.
- LI, Z.; CVIJIC, M.E.; ZHANG, L. Cellular imaging in drug discovery: Imaging and informatics for complex cell biology. In: *Comprehensive Medicinal Chemistry III*. [s.l.] Elsevier Inc., v. 2–8p. 362–387, 2017.
- MOTA, C.; MORONI, L. High throughput screening with biofabrication platforms. In: *Essentials of 3D Biofabrication and Translation*. [s.l.] Elsevier Inc., p. 187–213, 2015.
- POTYRAILO, R.A. Combinatorial Screening. In: *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*. [s.l.] Elsevier, p. 1329–1343, 2001.
- RAJWA, B. Effect-size measures as descriptors of assay quality in high-content screening: A brief review of some available methodologies. *Assay and Drug Development Technologies* Mary Ann Liebert Inc., 1 jan. 2017. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/adt.2016.740>>. Acesso em: 17 maio. 2021.
- ZANELLA, F. et al. High content screening: Seeing is believing. *Trends in Biotechnology*, 2010. Disponível em: <www.oracle.com>. Acesso em: 17 maio. 2021.

IMAGEM
OU
COR

PLATAFORMA CITOMETRIA DE FLUXO

Coordenadora: Triciana Gonçalves da Silva
(citometria@cenabio.ufrj.br)

Citometria de Fluxo é uma técnica que permite avaliar qualitativa e quantitativamente múltiplas propriedades de forma rápida e simultânea de partículas em suspensão, incluindo células (animais e vegetais, de diferentes tecidos), plaquetas, bactérias, microvesículas, pólen, sedimentos, entre outros. Essa técnica se baseia nas informações obtidas a partir da interação de um ou mais lasers com cada partícula de forma individual com altíssima sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade estatística. A interceptação da partícula pelo laser gera sinais correspondentes tanto a características intrínsecas de cada partícula (como tamanho, granulosidade, pigmentação, conteúdo de DNA e autofluorescência), quanto características extrínsecas (como apoptose, estrutura de membrana celular e citoesqueleto, receptores internos e externos, parâmetros fisiológicos como atividade enzimática, cinética de metabolização de drogas, produção de intermediários metabólicos, ativação celular e eficiência de transfecção/infecção). A essas análises podem ser ainda acrescentadas avaliação de respostas em relação ao tempo e à quantidade de partículas. Essas avaliações são possíveis por meio do uso de anticorpos monoclonais acoplados a fluorocromos que possibilitam a identificação/avaliação de múltiplas moléculas-alvo simultaneamente.

Além dessa ampla capacidade de caracterização, ainda é possível realizar a separação/isolamento de alta precisão de uma única partícula ou grupos de partículas (ex.: células) com características específicas a partir de uma população heterogênea, procedimento conhecido como cell sorting.

Plataforma de citometria de fluxo no CENABIO

Durante a criação do CENABIO, um dos primeiros equipamentos que veio a compor o parque multiusuário do nascente Centro foi o BD FACS ARIA — citômetro de fluxo com capacidade de caracterização multiparamétrica de células ou partículas em suspensão que possibilita ainda o isolamento das células de interesse, sendo possível realizar esse processo com

FLOW CYTOMETRY PLATFORM

*coordinator: Triciana Gonçalves da Silva
(citometria@cenabio.ufrj.br)*

Flow cytometry is a technique that allows the rapid and simultaneous qualitative and quantitative assessment of multiple properties of suspended particles, including cells (animals and plants, from different tissues), platelets, bacteria, microvesicles, pollen and sediments, among others. This technique is based on information obtained from the interaction of one or more lasers with each individual particle with very high sensitivity, specificity and statistical reproducibility. The interception of the particle by the laser generates signals corresponding to both intrinsic characteristics of each particle (such as size, granularity, pigmentation, DNA content and autofluorescence), and extrinsic characteristics (such as apoptosis, cell membrane and cytoskeleton structure, internal and external receptors, physiological parameters such as enzymatic activity, drug metabolism kinetics, production of metabolic intermediates, cell activation and transfection/infection efficiency). To these analyses can be added the evaluation of responses in relation to time and quantity of particles. These evaluations are possible through the use of monoclonal antibodies coupled to fluorochromes that allow the identification/evaluation of multiple target molecules simultaneously.

In addition to this broad characterization capability, it is still possible to perform high-precision separation/isolation of a single particle or groups of particles (eg. cells) with specific characteristics from a heterogeneous population, a procedure known as cell sorting.

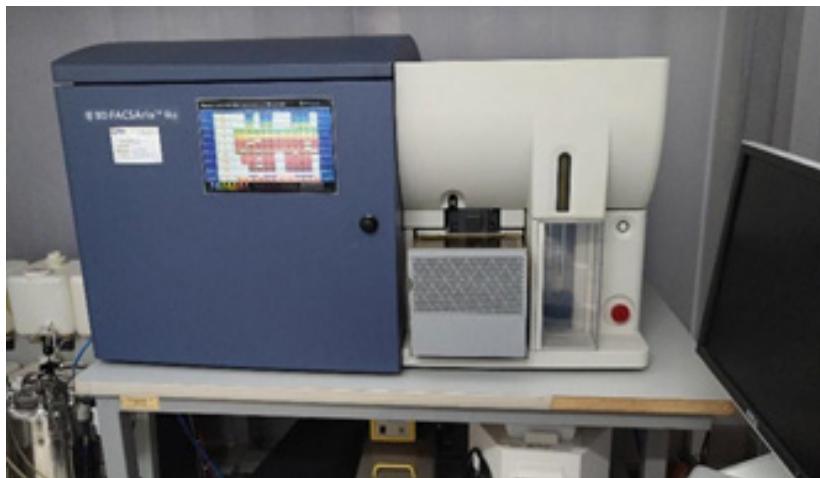
Flow cytometry platform at CENABIO

During the creation of CENABIO, the BD FACS ARIA - flow cytometer was one of the first pieces of equipment that came to compose this multi-user park. This equipment is capable of multiparametric characterization of cells or particles in suspension that also allows the isolation of cells of interest, being possible to carry out this process with single-cell-sorting precision. The BD FACS ARIA was acquired with funds obtained from the Millennium Institute and was generously and visionarily made available to users across the country.

The platform has a flow cytometer model FACS Aria

precisão de uma única célula (single cell sorting). O BD FACS ARIA foi adquirido com recursos obtidos do Instituto do Milênio e foi colocado de forma generosa e visionária à disposição de usuários de todo o país.

A plataforma conta com um citômetro de fluxo modelo FACS Aria II configurado com 3 lasers (405 nm, 488 nm e 633 nm) e uma gama de filtros ópticos que possibilitam a avaliação simultânea de 11 parâmetros (2 físicos + 9 fluorescências). O sistema de cell sorting permite isolamento de uma única célula com características específicas a partir de uma mistura heterogênea — single cell sorting — com capacidade de ser realizado em diferentes suportes, tanto em tubos de polipropileno, quanto em placas de cultura de até 384 poços, oferecendo uma grande flexibilidade para o usuário.



Plataforma de citometria de fluxo e cell sorting do CENABIO. Crédito: Arquivo CENABIO. *Flow cytometry and cell sorting platform at CENABIO. Credit: Archive CENABIO.*

Tamãha versatilidade permitiu que a técnica se difundisse rapidamente na comunidade científica e conquistasse um espaço importante, sendo utilizada tanto para alicerçar o conhecimento produzido em diversas áreas da pesquisa básica como para alavancar e consolidar a investigação clínica. O CENABIO pôde acompanhar esse crescimento, o que resultou no desenvolvimento de centenas de projetos de pesquisa, monografias, teses, dissertações, avaliações de ensaios

II configured with 3 lasers (405 nm, 488 nm and 633 nm) and a range of optical filters that allow the simultaneous evaluation of 11 parameters (2 physical + 9 fluorescence). The cell sorting system allows isolation of a single cell with specific characteristics from a heterogeneous mixture – single-cell sorting – with the ability to be carried out in different supports, either in polypropylene tubes or in culture plates of up to 384 wells, offering great flexibility for the user.

Such versatility has allowed the technique to spread quickly in the scientific community and to conquer an important space, being used both to support the knowledge produced in several areas of basic research and to leverage and consolidate clinical research. CENABIO has been able to accompany this growth, which resulted in the development of hundreds of research projects, monographs, theses, dissertations, clinical trial evaluations, in addition to providing support for research and development in consolidated national companies and nascent startups. To illustrate the plurality of applications, some areas where knowledge is being built in partnership with this Platform are highlighted.

Clinical research

The classic use of flow-cytometer equipment for the diagnosis of hematological diseases is taken to its limits with research developed at the Martagão Gesteira Institute for Childcare and Pediatrics (IPPMG) regarding hematological disorders. Professor Elaine Sobral coordinates projects related to the search for predictive markers for mastocytosis.

Cell and stem-cell therapy

One of the major endeavors in the field of Regenerative Medicine is the development of cell therapies based on stem cells and their derivatives. The possibility of using specific markers for functional and phenotypic characterization makes the flow cytometry technique very attractive in this field. In addition, with cell sorting it becomes a tool for isolation/purification of these cells in a way that opens new horizons for functional evaluation of these cells.

clínicos, além de dar suporte para pesquisa e desenvolvimento em empresas nacionais consolidadas e nascentes startups. Para ilustrar a pluralidade de aplicações, destacamos algumas áreas em que o conhecimento vem sendo construído em parceria com a plataforma.

Pesquisa clínica

A utilização clássica do equipamento citômetro de fluxo para diagnóstico de doenças hematológicas é levada às suas fronteiras com pesquisas desenvolvidas no Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG) a respeito de distúrbios hematológicos. Professora Elaine Sobral coordena projetos relacionados à busca de marcadores preditivos para mastocitose.

Terapia celular e célula-tronco

Um dos grandes focos atuais no campo da Medicina Regenerativa é o desenvolvimento de terapias celulares baseadas em células-tronco e seus derivados. A possibilidade de usar marcadores específicos para caracterização funcional e fenotípica faz da citometria de fluxo técnica de grande utilidade nesse campo. Além disso, com o cell sorting torna-se uma ferramenta para isolamento/purificação dessas células de forma que abre novos horizontes para avaliação funcional delas.

Mecanismo de ação de drogas

Por meio da análise multiparamétrica de alta velocidade, a citometria de fluxo contribui para a análise acurada de mecanismos de ação e efeitos colaterais de drogas candidatas ou já aprovadas, como antineoplásicos, antivirais e contra doenças crônicas, como a diabetes.

Imunologia Básica

A plataforma tem trabalhado de forma a garantir o suporte técnico-científico para investigações acerca da resposta imunológica inata e adaptativa em diferentes condições e modelos, como nas infecções parasitárias (leishmanioses, tripanossomíases), virais (febre amarela, Zika vírus, dengue) e septicemias; nos modelos de cardiopatias, de artrite reumatoide,

Mechanisms of drug action

Through high-speed multiparametric analysis, flow cytometry contributes to the accurate analysis of mechanisms of action and side effects of candidate or already approved drugs, such as antineoplastic and antiviral drugs, as well as drugs against chronic diseases such as diabetes.

Basic immunology

This platform has worked to ensure technical-scientific support for investigations into the innate and adaptive immune response in different conditions and models, such as parasitic infections (leishmaniasis, trypanosomiasis), viral infections (yellow fever, Zika virus, dengue) and septicemia; in models of heart disease, rheumatoid arthritis, diabetes and in site-specific metastases derived from different types of primary tumors. In addition, CENABIO also collaborates technically with projects focused on investigations of homeostatic physiology and embryonic development.

de diabetes e em metástases sítio-específicas derivadas de diferentes tipos de tumores primários. Além disso, também há colaboração técnica com projetos focados nas investigações da fisiologia homeostática e do desenvolvimento embrionário.

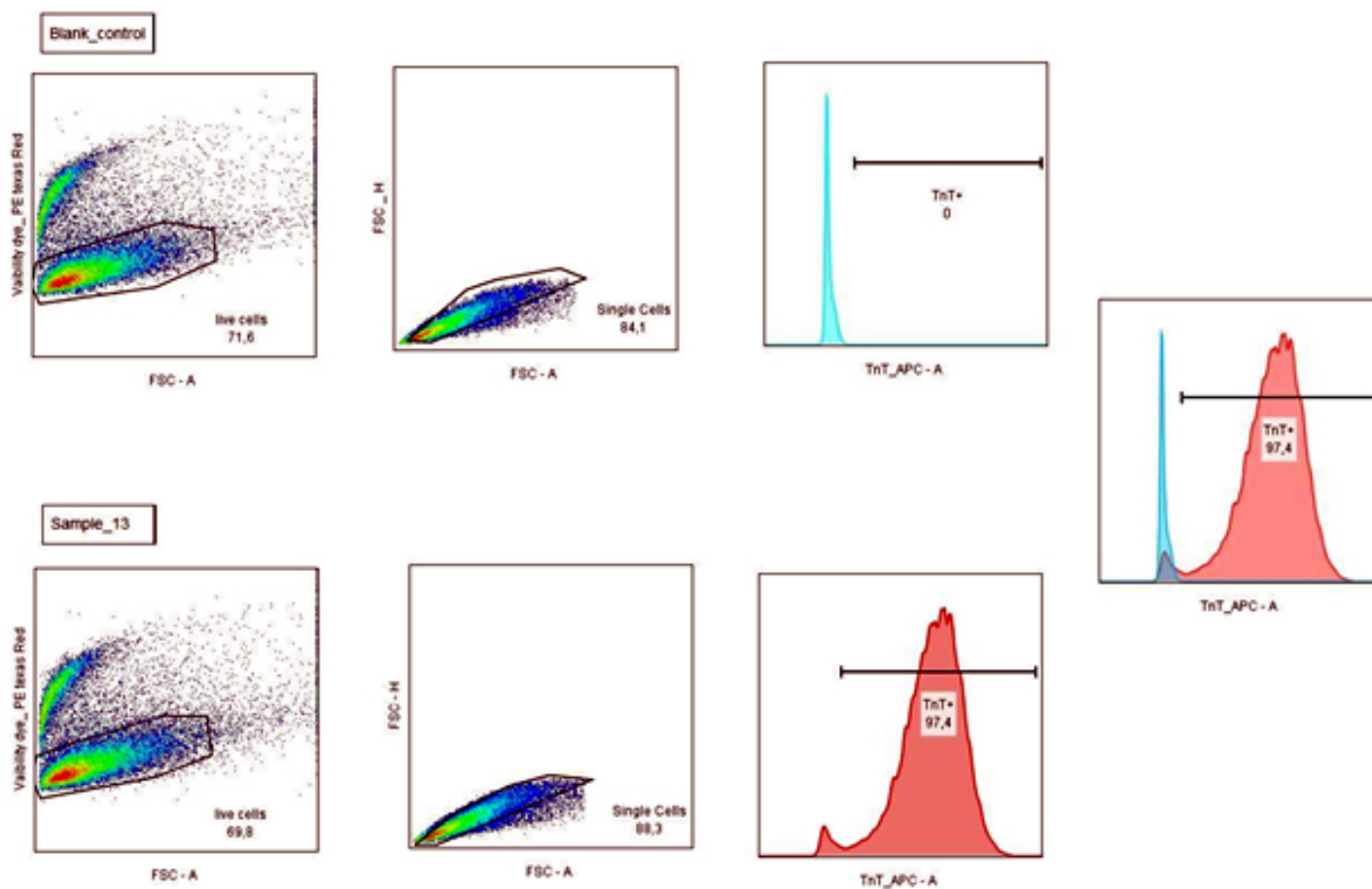


Imagem representativa da avaliação da eficácia de diferenciação de cardiomiócitos a partir de iPS. Crédito: Raiana Andrade e Tais Hanae. *Representative image of the evaluation of the effectiveness of cardiomyocyte differentiation from iPS. Credit: Raiana Andrade and Tais Hanae.*

Covid-19

Recentemente, com o advento da pandemia provocada pelo vírus SARS-CoV 2, a plataforma tem atuado intensamente dando suporte ao desenvolvimento de projetos que buscam maior

entendimento da fisiopatologia da Covid-19 e dos mecanismos envolvidos em sua resposta imunológica. Além disso, por meio do uso de cell sorting, também é realizado o desenvolvimento de vacinas contra Covid-19 em um projeto coordenado pela Professora Leda dos Reis Castilho.

Referências:

- ADAN, A. et al. *Flow cytometry: basic principles and applications. Crit Rev Biotechnol. v. 37, p. 163-176, 2017.*
- GIVAN, A.L. *Flow Cytometry: First Principles, 2nd Ed. John Wiley & sons, INC., Publication. 2001.*
- McKINNON, K.M. *Flow Cytometry: An Overview. Curr Protoc Immunol. v. 120, p. 1-5, 2018.*
- SHAPIRO, H.M. *Practical Flow Cytometry, 4th Ed. John Wiley & sons, INC., Publication, 2003.*
- VEMBADI, A. et al. *Cell Cytometry: Review and Perspective on Biotechnological Advances. Front Bioeng Biotechnol. v. 7, p. 147., 2019.*

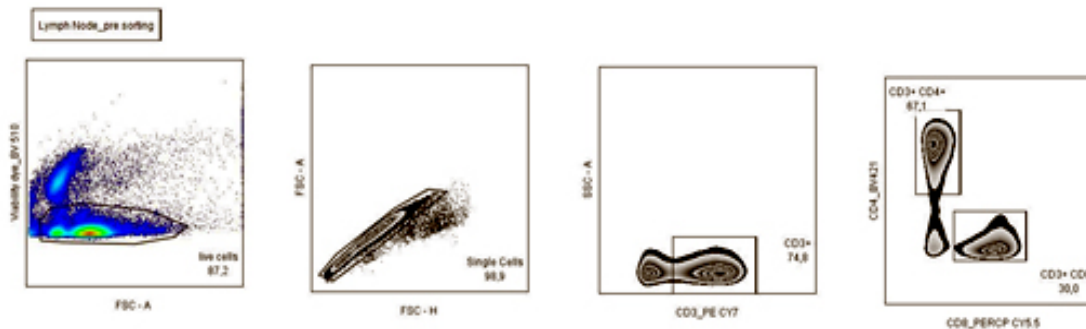
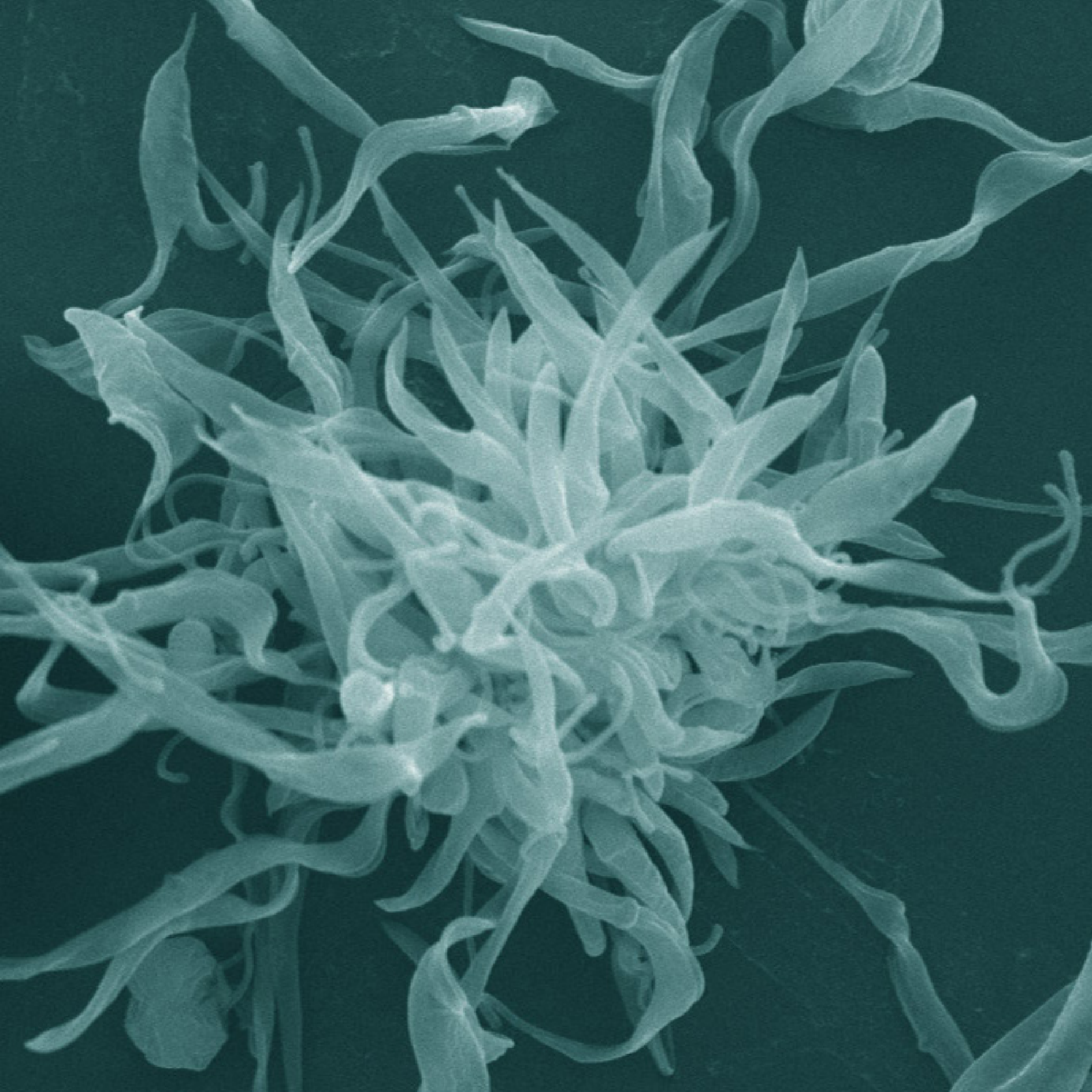


Imagem representativa de imunofenotipagem e separação celular (cell sorting) de amostra proveniente de linfonodos de camundongos. Crédito: Marina Agostinho. *Representative image of immunophenotyping and cell sorting of a sample from mouse lymph nodes. Credit: Marina Agostinho.*

COVID-19

Recently, with the advent of the pandemic caused by the SARS-CoV 2 virus, the flow cytometry platform has been actively supporting the development of projects that seek greater understanding of the pathophysiology of COVID-19 and the mechanisms involved in its immune response. In addition, through the use of cell sorting, CENABIO also contributed to the development of vaccines against COVID19 in a project coordinated by Professor Leda dos Reis Castilho.





4.2 Unidade de Microscopia Avançada

A obtenção de imagens, desde a estrutura molecular até o imageamento de organismos inteiros, vem assumindo importância crescente na área biomédica, com importantes reflexos em vários campos da atividade econômica, industrial, de saúde e ensino, cobrindo desde o diagnóstico de doenças até o desenho de novas drogas. O elevado custo de determinados equipamentos mais complexos levou à criação em todo o mundo de unidades de caráter multiusuário que atendessem a uma parcela maior da comunidade científica.

A Unidade de Microscopia Avançada (UMA) do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO) consiste na mais completa plataforma multiusuária de microscopia da

4.2 - ADVANCED MICROSCOPY UNIT

The acquisition of images, from the molecular structure to the imaging of whole organisms, has acquired increasing importance in the biomedical area, with important reflexes in several fields of economic, industrial, health and teaching activities, covering from the diagnosis of diseases to the design of new drugs. The high cost of certain more complex equipment has led to the creation of multi-user units around the world that serve a larger portion of the scientific community.

The Advanced Microscopy Unit of the National Center for Structural Biology and Bioimaging-CENABIO is the most complete multi-user microscopy platform in Latin America, providing the academic community and the private sector with a wide variety of advanced instruments in the areas of light microscopy, electron microscopy and atomic force microscopy;



Equipe de Tecnólogos e Pesquisadores da Unidade de Microscopia Avançada. Da esquerda para a direita: Carla Woyames, Jean Pierre Fonseca, Vania Vieira, Adelia Belém, Marcia Attias, Lorian C. Straker, Kildare Miranda, Fernando Pereira de Almeida, Ricardo P. Louro e Camila Gonçalves. / *Advanced Microscopy team of technologists and Researchers. From Left to right: Carla Woyames, Jean Pierre Fonseca, Vania Vieira, Adelia Belém, Marcia Attias, Lorian C. Straker, Kildare Miranda, Fernando Pereira de Almeida, Ricardo P. Louro and Camila Gonçalves.*

América Latina, disponibilizando à comunidade acadêmica e à iniciativa privada uma grande variedade de instrumentos avançados nas áreas de microscopia de luz, microscopia eletrônica e microscopia de força atômica; além de contar com duas pinças ópticas e um difratômetro de raios X.

A UMA possui um corpo docente com grande experiência em imageamento de espécimes biológicos por variadas técnicas de microscopia e dispõe de tecnólogos altamente capacitados para auxiliar os usuários na aquisição de micrografias de elevada qualidade técnica. Dentre as técnicas oferecidas pelo centro, destacam-se: a microscopia confocal com detecção espectral simultânea em 32 canais, microscopia óptica de super-resolução (por iluminação estruturada, microscopia por localização de moléculas fotoativadas (PALM, do inglês Photoactivated Localization Microscopy) e Microscopia Estocástica de Reconstrução Óptica (STORM, do inglês Stochastic Optical Reconstruction Microscopy), microscopia multifotônica, microscopia por reflexão interna total, pinças ópticas, microscopia de força atômica, microscopia eletrônica de varredura de alta resolução com crio estágio (Cryo-SEM, do inglês Cryogenic Scanning Electron Microscopy), análise por difração de raios X e perda de energia de elétrons, além de microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução equipada com crio estágio (Cryo-TEM, do inglês Cryogenic Transmission Electron Microscopy) e sistema automatizado para crio-eletrontomografia.

Advanced Microscopy team of technologists and Researchers. From Left to right: Carla Woyames, Jean Pierre Fonseca, Vania Vieira, Adelia Belém, Marcia Attias, Lorian C. Straker, Kildare Miranda, Fernando Pereira de Almeida, Ricardo P. Louro and Camila Gonçalves.

PLATAFORMA DE MICROSCOPIA DE LUZ

Coordenador: Fernando Pereira de Almeida
(fepealmeida@micro.ufrj.br)

ZEISS AXIO ZOOM V.16

Estereomicroscópio de fluorescência com sistema de iluminação estruturada Apotome 2 que permite a aquisição de

in addition to having two optical tweezers and an X-ray diffractometer.

The Unit has a faculty with extensive experience in imaging biological specimens using various microscopy techniques and has highly trained technologists to assist users in acquiring micrographs of high technical quality. Among the techniques offered by the Center, the following stand out: confocal microscopy with simultaneous spectral detection in 32 channels, super-resolution optical microscopy (by structured lighting, PALM and STORM), multiphoton microscopy, total internal reflection microscopy, optical tweezers, atomic force, high-resolution scanning electron microscopy with cryostage, analysis by X-ray diffraction and electron energy loss, in addition to high-resolution transmission electron microscopy equipped with cryostage and automated system for cryo electron tomography.

LIGHT MICROSCOPY PLATFORM

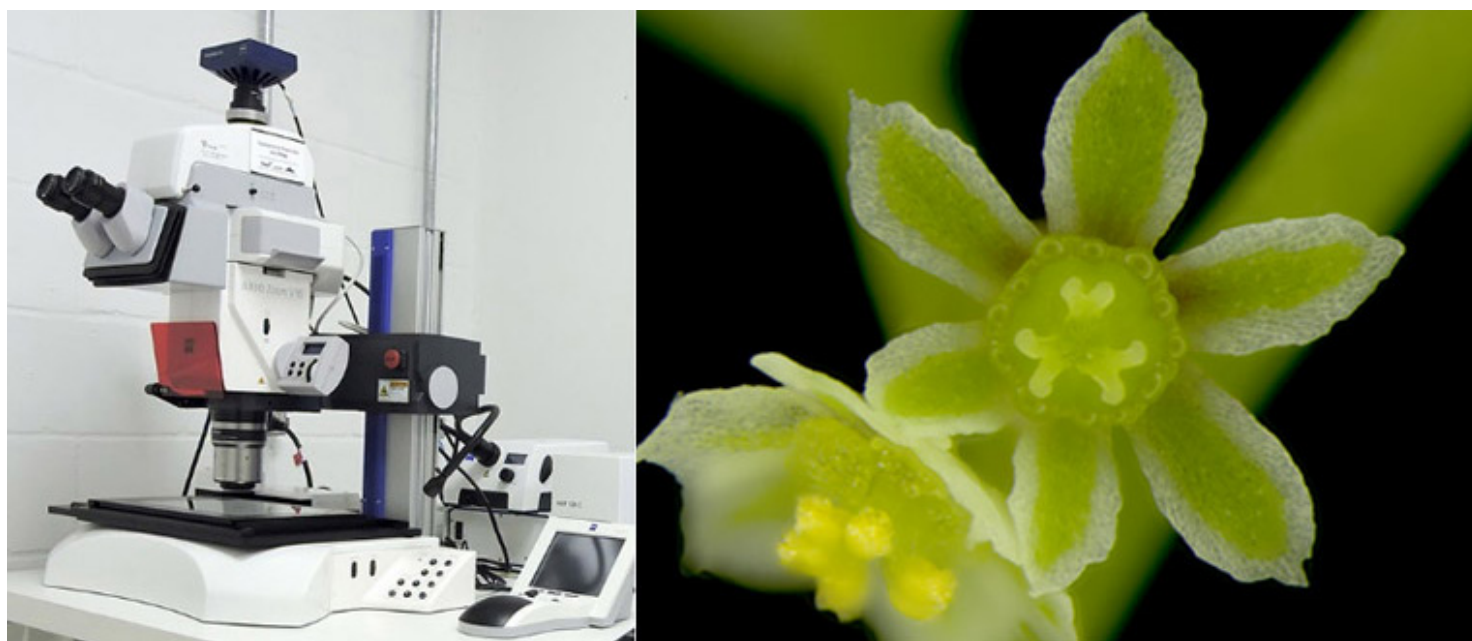
Coordinator: Fernando Pereira de Almeida
(fepealmeida@micro.ufrj.br)

ZEISS AXIO ZOOM V.16

This is a fluorescence stereo microscope with Apotome 2 structured illumination system that allows the acquisition of optical sections of the specimen by wide-field fluorescence microscopy. The fluorescence system has a 200 W HXP source and a set of filters for DAPI (BP 335-383 / BS 395 / BP 420-470), GFP (BP 450-490 / BS 495 / BP 500-550), HE FURA (BP 340/30 / BS 409 / BP 510/90) and Texas Red (BP 540-580 / BS 585 / BP 593-668). The stereomicroscope features Plan-Neofluar Z 1x / NA 0.25 / FWD 56 mm and Plan-Neofluar Z 2.3x / NA 0.57 / FWD 10.6 mm objective lenses), Axiocam MRc (RGB / 1.4 MP / 12-Bits) and HRm (mono) cameras. / 13 MP / 14-Bits) and transmitted light and LED epi-illumination system. In addition to brightfield illumination, darkfield contrast, polarization, and oblique illumination methods are available. The stereomicroscope has a motorized stage and focus, controlled by a Sycop 3 joystick/touchpad interface. The system is controlled through the Zeiss ZEN 2 software, with licenses for Multi Channel, Measurement, Z-Stack, 3D VisArt, Tiles & Stitching, Image Analysis, Extended Focus and Experiment Designer. The microscope's HP Z820 Workstation

secções ópticas do espécime por microscopia de fluorescência de campo amplo. O sistema de fluorescência conta com fonte HXP de 200W e conjunto de filtros para DAPI (BP 335-383 / BS 395 / BP 420-470), GFP (BP 450-490 / BS 495 / BP 500-550), HE FURA (BP 340/30 / BS 409 / BP 510/90) e Texas Red (BP 540-580 / BS 585 / BP 593-668).

features two Intel Xeon E5-2643 (3.30GHz) processors, 32 GB of RAM, 4 TB of HD storage, and 960 GB of SSD and AMD FirePro V5900 graphics with 2 GB of VRAM, enabling high-speed image processing and rendering.

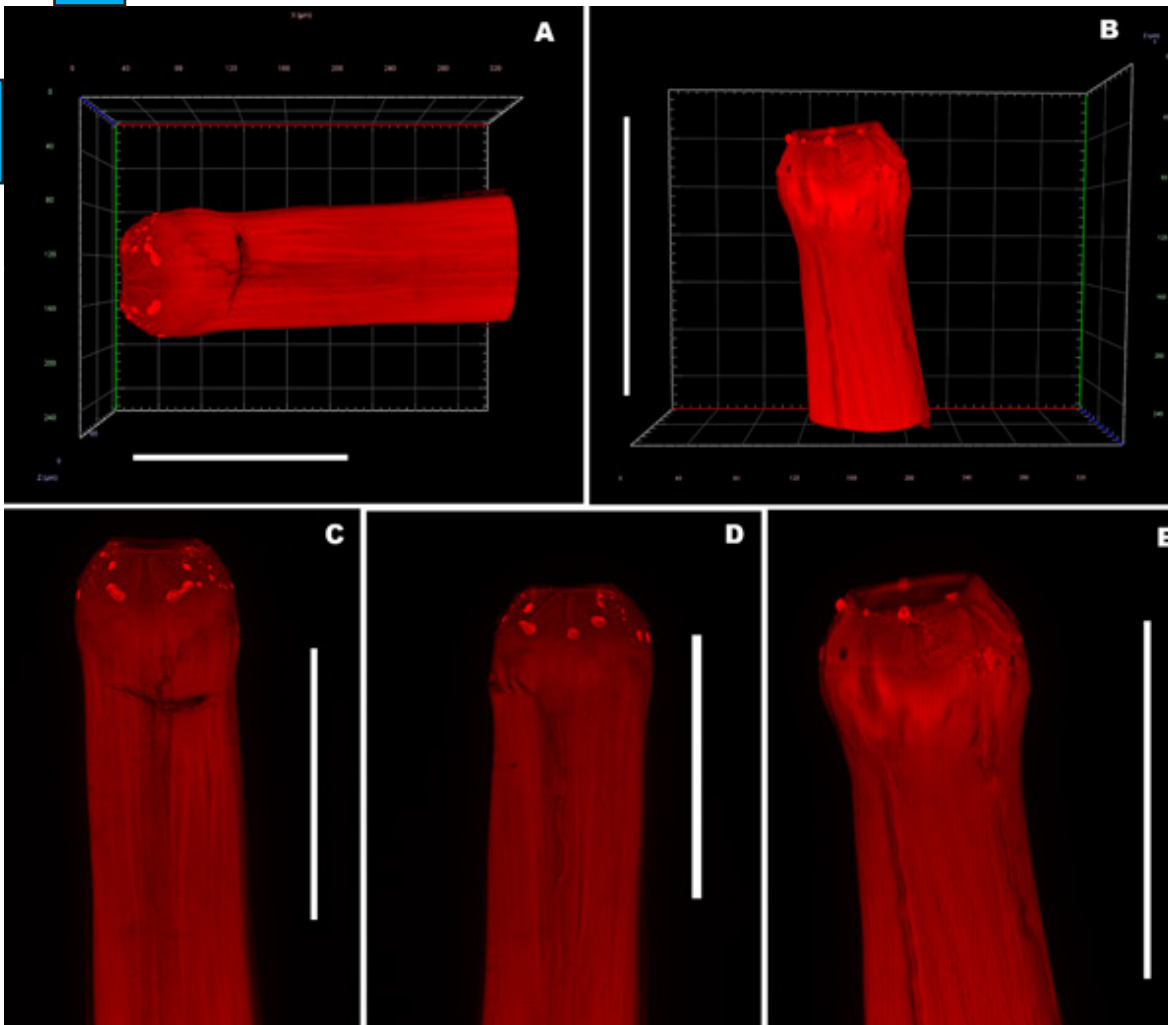


À esquerda: Estereomicroscópio Zeiss Axiozoom 1.6. À direita: *Phyllanthus* sp. Broto floral observado com o estereomicroscópio ZEISS AXIO ZOOM V.1. Cortesia Dr. Ricardo P. Louro. / *Left: Zeiss Axiozoom 1.6 stereomicroscope. Right: Phyllanthus* sp. Flower bud observed with the ZEISS AXIO ZOOM V.1 stereomicroscope. *Courtesy, Dr. Ricardo P. Louro.*

O estereomicroscópio possui lentes objetivas Plan-Neofluar Z 1x / NA 0.25 / FWD 56 mm e Plan-Neofluar Z 2.3x / NA 0.57 / FWD 10.6 mm), câmeras Axiocam MRc (RGB / 1.4 MP / 12-Bits) e HRm (mono / 13 MP / 14-Bits) e sistema de iluminação transmitida e de epi-iluminação por LED. Além da iluminação por campo claro, estão disponíveis métodos de contraste por campo escuro, polarização e iluminação oblíqua. O estereomicroscópio dispõe de platina e foco motorizados, controlados por interface joystick/touchpad Sycop 3. O sistema é controlado através do software Zeiss ZEN 2, com licenças para os módulos Multi Channel, Measurement, Z-Stack, 3D

ZEISS ELYRA PS.1

This instrument provides access to Super-resolution Structured Illumination Microscopy (SIM) and Single-Molecule Localization Microscopy (SMLM) techniques, including Photoactivated Localization Microscopy (PALM) and Microscopy Direct Stochastic Optical Reconstruction Microscopy (dSTORM). The system also has an LSM 710 confocal microscopy unit with four photomultipliers (one of which is spectral type with 32 channels and the other for transmitted light). The microscope has EC Plan-Neofluar 10x/0.30, Plan-Apochromat 63x/1.4 DIC and Alpha Plan-Apochromat 100x/1.46x DIC objective lenses; and 405 nm,



Porção anterior do nematóide *Globocephalus marsupialis* em estereomicroscópio de fluorescência ZEISS axio zoom. (A-B) modelo 3-D mostrando detalhes da extremidade cefálica e a cápsula bucal com dentes. (C-E) Estereomicroscopia de fluorescência com o corante cloreto de carmin. Barras: 200 μm . Cortesia Dr. Eduardo Lopes Torres. / *Anterior portion of the nematode *Globocephalus marsupialis* in a ZEISS axio zoom fluorescence stereomicroscope. (A-B) 3-D model showing details of the cephalic end and the buccal capsule with teeth. (C-E) Fluorescence stereomicroscopy with carmine chloride dye. Bars: 200 μm . Courtesy Dr. Eduardo Lopes Torres.*

VisArt, Tiles & Stitching, Image Analysis, Extended Focus e Experiment Designer. A workstation HP Z820 do microscópio possui dois processadores Intel Xeon E5-2643 (3.30GHz), 32 GB de memória RAM, 4 TB de armazenamento em HD e 960 GB em SSD e placa gráfica AMD FirePro V5900 com 2GB de RAM, possibilitando alta velocidade de processamento e renderização de imagens.

ZEISS ELYRA PS. 1

Microscópio de super-resolução por iluminação estruturada (SIM, do inglês Structured Illumination Microscopy) e por técnicas baseadas em localização de moléculas individuais (SMLM, do inglês Single-Molecule Localization Microscopy), incluindo microscopia por localização de moléculas fotoativadas (PALM) e Microscopia Estocástica de Reconstrução Óptica direta

488 nm, 561 nm and 642 nm lasers for the super-resolution modalities and 405 nm, 488 nm, 514 nm, 458 nm, 543 nm and 633 nm for confocal microscopy. The emission filters BP 420 - 480 + LP 750, 495 - 575 + LP 750, 570 - 650 + LP 750 and LP 655 are available in the super resolution module. The system is controlled through the Zeiss ZEN 2 Black software and has SIM, PALM and Deconvolution modules. The HP Z820 Microscope Workstation features two Intel Xeon E5-2643 (3.30GHz) processors, 64 GB of RAM, 4 TB of HD storage, and AMD Fire Pro V5900 graphics card with 2GB of VRAM, enabling high processing and rendering speed of images.

ZEISS LASER TIRF 3

Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy (TIRF) makes it possible to obtain high-contrast, high-resolution images at the specimen adhesion interface. This microscope has EC

(dSTORM, do inglês direct Stochastic Optical Reconstruction Microscopy). O sistema conta ainda com uma unidade de microscopia confocal LSM 710 com quatro fotomultiplicadoras (sendo uma delas do tipo espectral com 32 canais e outra para luz transmitida).



Microscópio óptico de superresolução ZEISS Elyra PS1. / *ZEISS Elyra PS1 Super Resolution Optical Microscope.*

O microscópio possui lentes objetivas EC Plan-Neofluar 10x/0.30, Plan-Apochromat 63x/1.4 DIC e Alpha Plan-Apochromat 100x/1.46x DIC; e lasers 405 nm, 488 nm, 561 nm e 642 nm para as modalidades de super-resolução e 405 nm, 488 nm, 514 nm, 458 nm, 543 nm e 633 nm para microscopia confocal. No módulo de super-resolução, estão disponíveis os filtros de emissão BP 420 - 480 + LP 750, 495 - 575 + LP 750, 570 - 650 + LP 750 e LP 655. O sistema é controlado por meio do software Zeiss ZEN 2 Black e possui os módulos SIM, PALM e Deconvolução. A workstation do microscópio HP Z820 possui dois processadores Intel Xeon E5-2643 (3.30GHz), 64 GB de memória RAM, 4 TB de armazenamento em HD e placa gráfica AMD Fire Pro V5900 com 2GB de RAM, possibilitando elevada velocidade de processamento e renderização de imagens.

Plan-Neofluar 10x/0.3 Ph1, EC Plan-Neofluar 40x/0.75 Ph2 and Alpha Plan-Apochromat 100x/1.46/DIC objective lenses. It also has an incubation chamber with temperature, humidity and carbon dioxide concentration control, in addition to a focus stabilization system (Definite Focus). Such characteristics allow the performance of long-term live cell imaging experiments. The microscope has filter sets for Alexa Fluor 488 (BP 488/10 / FT 500 / BP 525/50), Alexa Fluor 532 (BP 514/10 / FT 540 / BP 575/50) and two triple filter sets (TBP 406 + 489 + 561 / TFT 427 + 503 + 578 / TBP 459 + 525 + 608) and (TBP 483 + 564 + 642 / TFT 506 + 582 + 659 / TBP 526 + 601 + 688). The epi-illumination source for wide-field fluorescence microscopy is HXP 120W type and the lasers for total internal reflection illumination include 405 nm, 488 nm, 532 nm, 561 nm and 639 nm lines.

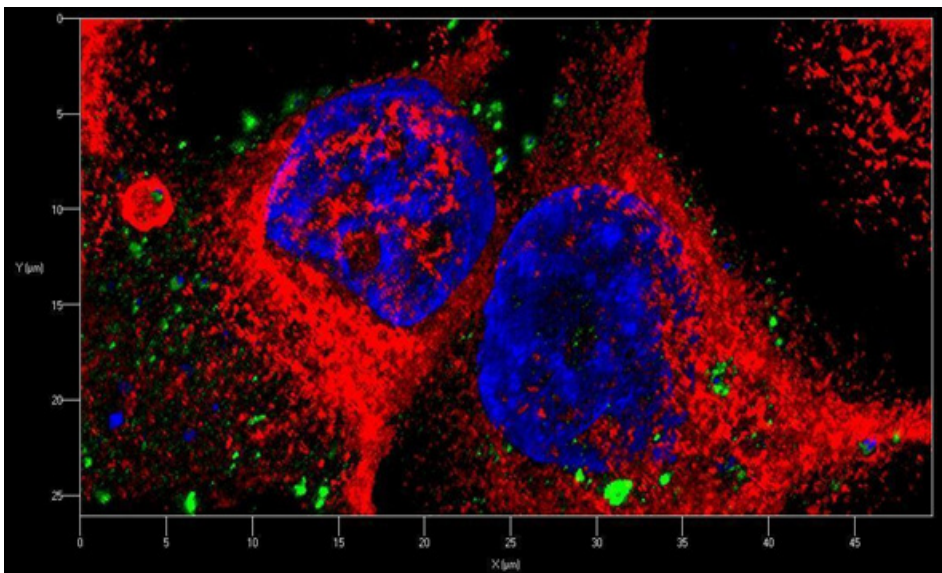


Imagem obtida no Microscópio ZEISS Elyra PS1: Zika vírus (verde) em células LLCMK2. Imagem de microscopia de superresolução por iluminação estruturada. Nucleo (azul). Cortesia Dr. Lucio Ayres Caldas / *Imagem obtida no Microscópio ZEISS Elyra PS1: Zika vírus (verde) em células LLCMK2. Imagem de microscopia de superresolução por iluminação estruturada. Nucleo (azul). Cortesia Dr. Lucio Ayres Caldas*

ZEISS LASER TIRF 3

Microscópio de fluorescência por reflexão interna total (TIRF, do inglês Total Internal Reflection Microscopy), que possibilita a obtenção de imagens com elevado contraste e alta resolução na interface de adesão do espécime. O microscópio possui lentes objetivas EC Plan-Neofluar 10x/0.3 Ph1, EC Plan-Neofluar 40x/0.75 Ph2 e Alpha Plan-Apochromat 100x/1.46/DIC. Possui também câmara de incubação com controle de temperatura, umidade e concentração de gás carbônico, além de um sistema de estabilização de foco (Definite Focus). Tais características permitem a realização de experimentos de imageamento de células vivas de longa duração.

O microscópio conta com conjuntos de filtros para Alexa Fluor 488 (BP 488/10 / FT 500 / BP 525/50), Alexa Fluor 532 (BP 514/10 / FT 540 / BP 575/50) e dois conjuntos de filtros triplos (TBP 406 + 489 + 561 / TFT 427 + 503 + 578 / TBP 459 + 525 + 608) e (TBP 483 + 564 + 642 / TFT 506 + 582 + 659 / TBP 526 + 601 + 688). A fonte de epi-iluminação para microscopia de fluorescência de campo amplo é do tipo HXP 120W e os lasers para iluminação por reflexão interna total incluem as linhas 405 nm, 488 nm, 532 nm, 561 nm e 639 nm.

TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY PLATFORM

Coordinator: Marcia Attias
(mattias@biof.ufrj.br)

FEI Tecnai T20

Transmission electron microscope, with a lanthanum hexaboride electron source, operating at an accelerating voltage of 200 kV, capable of image acquisition by transmission mode (TEM), by transmission-scan mode (STEM - Scanning Transmission Electron Microscopy), CryoTEM, CryoSTEM (Cryomicroscopy in TEM and STEM modes) and Electronic Tomography in TEM, STEM, CryoTEM and CryoSTEM modes; it is equipped with selected area aperture (SAD) for electron diffraction.

FEI TECNAI G20

High resolution transmission electron microscope with FEG type electron source and image acquisition capability by TEM, STEM, CryoTEM, CryoSTEM and Electronic Tomography in TEM, STEM, CryoTEM and CryoSTEM modes.

FEI TECNAI SPIRIT BIO-TWIN

This is a transmission electron microscope that operates with electron acceleration voltage between 20-120 kV, and can operate with tungsten or LaB6 electron source. It is equipped with an iCorr module for correlative microscopy analysis (fluorescence/transmission) and three-dimensional imaging software that automatically collects tomographic series.

FEI TECNAI T20

Transmission electron microscope with lanthanum hexaboride electron source and capacity for Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM) image acquisition and three-dimensional reconstruction of the specimen by electron-tomography.

HITACHI HT 7800

Transmission electron microscope with lanthanum hexaboride electron source, high-contrast, 8 K resolution camera, and capable of performing electron-tomography.

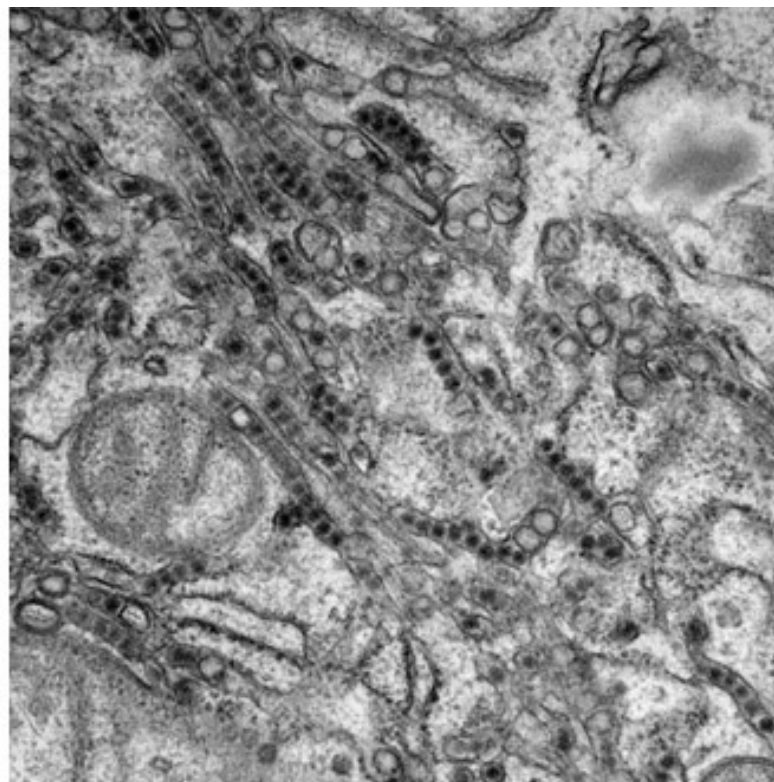
PLATAFORMA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

Coordenadora: Marcia Attias
(mattias@biof.ufrj.br)

FEI Tecnai T20

Microscópio eletrônico de transmissão, com fonte de elétrons de hexaboreto de lantânio, que opera em voltagem de aceleração de 200 kV, com capacidade de aquisição de imagens por modo transmissão (TEM, do inglês Transmission Electron Microscopy), por modo transmissão-varredura (STEM, do inglês Scanning Transmission Electron Microscopy), Criomicroscopia Eletrônica em modos TEM e STEM (CryoTEM e CryoSTEM) e Tomografia Eletrônica nos modos TEM, STEM, CryoTEM e CryoSTEM; está equipado com abertura de área selecionada (SAD, do inglês Selected Area Diffraction) para difração de elétrons.

À esquerda: Microscópio Eletrônico de Transmissão Thermo Fisher/FEI TECNAI G20. À direita: Fábrica viral de Zika vírus. Imagem FEI TECNAI Spirit. Cortesia Dr. Lucio Ayres Caldas. / *À esquerda: Microscópio Eletrônico de Transmissão Thermo Fisher/FEI TECNAI G20. À direita: Fábrica viral de Zika vírus. Imagem FEI TECNAI Spirit. Cortesia Dr. Lucio Ayres Caldas*



FEI TECNAI G20

Microscópio eletrônico de transmissão de alta resolução com fonte de elétrons do tipo FEG e capacidade de aquisição de imagens por TEM, STEM, CryoTEM, CryoSTEM e Tomografia Eletrônica nos modos TEM, STEM, CryoTEM e CryoSTEM.

FEI TECNAI SPIRIT BIO-TWIN

Microscópio eletrônico de transmissão que opera com voltagem de aceleração de elétrons entre 20-120 kV, podendo operar com fonte de elétrons de tungstênio ou LaB6. Equipado com módulo iCorr para análises por microscopia correlativa (fluorescência/transmissão) e software de imageamento tridimensional que coleta automaticamente séries tomográficas.

HITACHI HT 7800

Microscópio eletrônico de transmissão com fonte de elétrons de hexaboreto de lantânio, câmera com resolução 8K de alto-contraste, sendo, inclusive, capaz de realizar elétron-tomografia.

JEOL 1200 EX

Microscópio eletrônico de transmissão com fonte de elétrons de tungstênio, opera de 80 até 120Kv, com capacidade de aquisição de imagens nos modos TEM e STEM equipado para CryoTEM e para microanálise por energia dispersiva de raios X, possui câmera digital Megaview G2 1K.

ZEISS EM 900

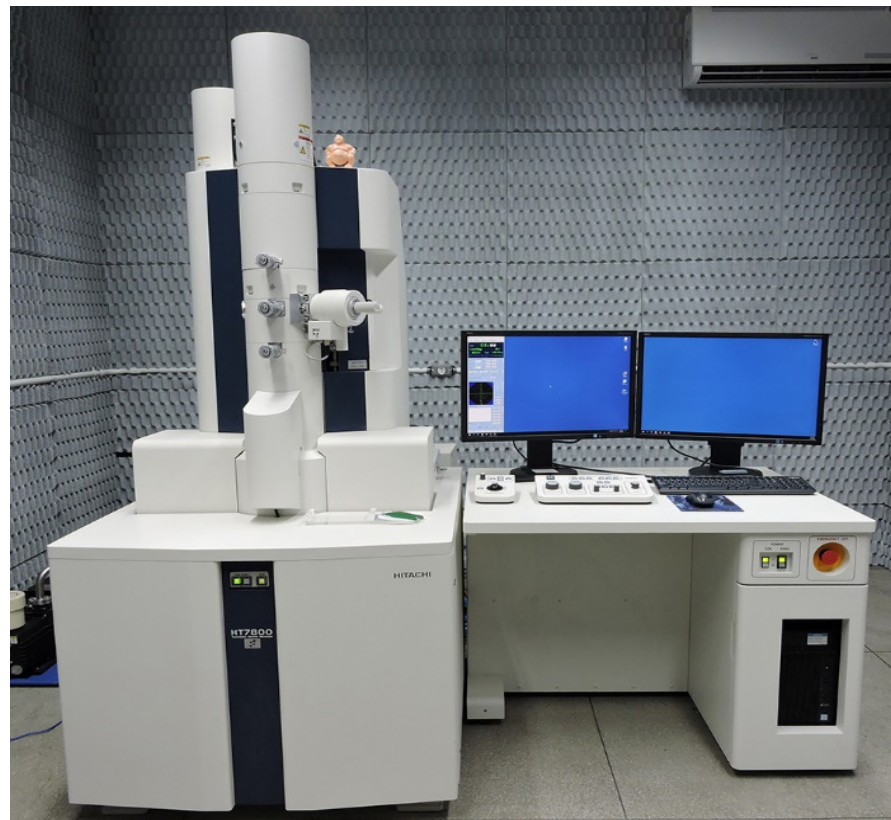
Microscópio Eletrônico de Transmissão com fonte de elétrons de tungstênio para análises de rotina no modo TEM. Equipado com câmera digital Megaview 1K.

JEOL 1200 EX

Transmission electron microscope with tungsten electron source, operating from 80 to 120 Kv, capable of acquiring images in TEM (Transmission Electron Microscopy) and STEM (Scanning Transmission Electron Microscopy) modes, equipped for Transmission electron cryomicroscopy (Cryo-TEM) and for energy dispersive X-ray microanalysis, it has a 1K Megaview G2 digital camera.

ZEISS EM 900

Transmission electron microscope with tungsten electron source, capable of acquiring images in TEM (Transmission Electron Microscopy), equipped with a 1K Megaview digital camera.



Microscópio Eletrônico de Transmissão Hitachi HT 7800. / *Transmission Electron Microscope Hitachi HT 7800.*

PLATAFORMA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Coordenador: Ricardo Pereira Louro
(rplouro.cenabio@gmail.com)

FEI QUANTA 250

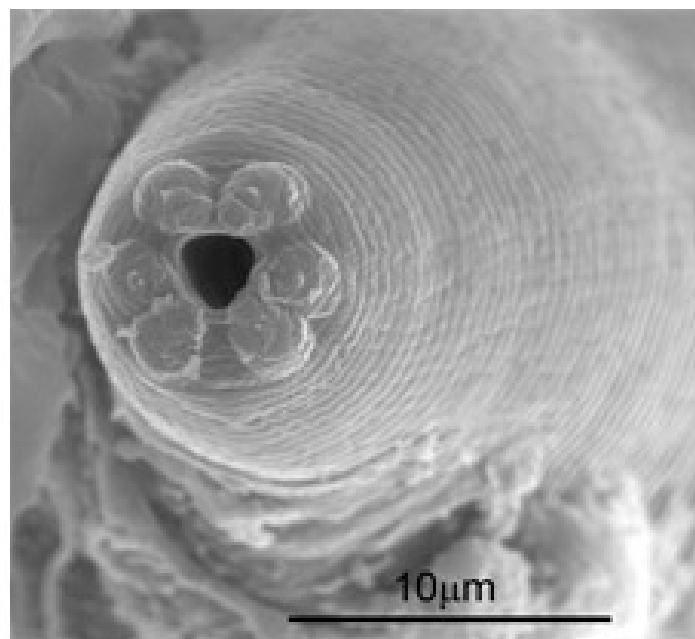
Microscópio eletrônico de varredura com voltagem de aceleração de elétrons entre 1 e 30 kV e detectores de elétrons secundários e retroespalhados. Equipado com módulo para microscopia eletrônica de varredura ambiental que inclui um estágio com Peltier para o resfriamento de amostra. Capaz de trabalhar em alto vácuo (10^{-2} a 10^{-4} Pa), em baixo vácuo (10 a 130 Pa) e em modo ambiental (10 a 400 Pa), permite, assim, a observação de materiais não condutores e/ou hidratados e minimiza os procedimentos de preparo de amostras. Possui um detector de raios X EDS (EDAX) para microanálise e mapeamento de elementos.

SCANNING ELECTRON MICROSCOPY PLATFORM

Coordinator: Ricardo Pereira Louro
(rplouro.cenabio@gmail.com)

FEI QUANTA 250

Scanning electron microscope with acceleration of electrons between 1 and 30 kV and detectors for secondary and back-scattered electrons. Equipped with a module for environmental scanning that includes a stage with a Peltier unit for cooling the sample. It is capable of working at very high vacuum (10^{-2} a 10^{-4} Pa) or at low vacuum (10 a 130 Pa), thereby allowing for observation of non-conducting and/or hydrated materials and simplifying procedures required for preparing samples. Equipped with an EDS X-ray detector (EDAX) for microanalysis and mapping of elements.



À esquerda: Microscópio eletrônico de varredura FEIQuanta 250. À direita: Extremidade anterior do nematoide *Metarhabditis costae*, associado à otite bovina. Imagem obtida no Microscópio FEI Quanta250. Cortesia Dr. Eduardo J. L. Torres / *Left: FEIQuanta 250 scanning electron microscope. Right: Anterior end of the nematode Metarhabditis costae, associated with bovine otitis. Image obtained in the FEI Quanta250 Microscope. Courtesy Dr. Eduardo J.L. Torres*

JEOL JSM 6340F

Microscópio eletrônico de varredura de alta resolução possui uma fonte de elétrons cold-FEG (do inglês Field Emission Gun) e está equipado com um detector de elétrons secundários Everhart-Thornley e um detector anular para elétrons retroespalhados (back-scattered). Aplicação preferencial em materiais que demandem alta resolução (citoesqueleto e detalhes de superfície celulares).

ZEISS Auriga 40

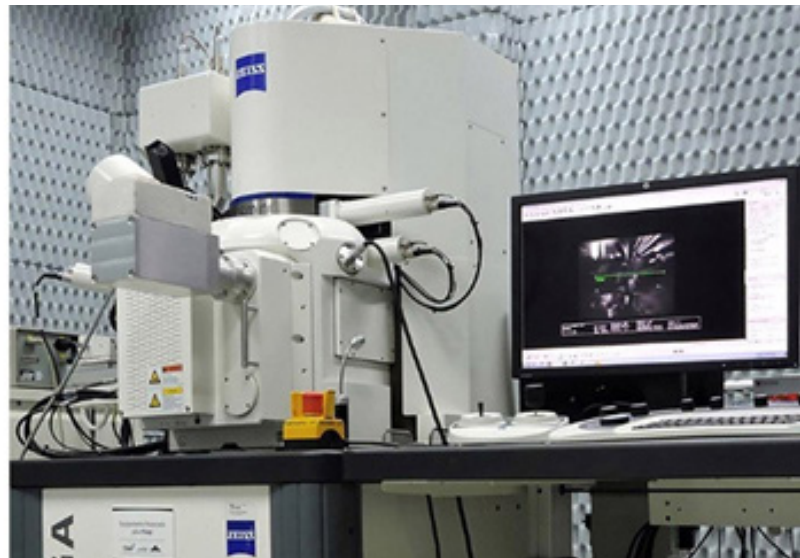
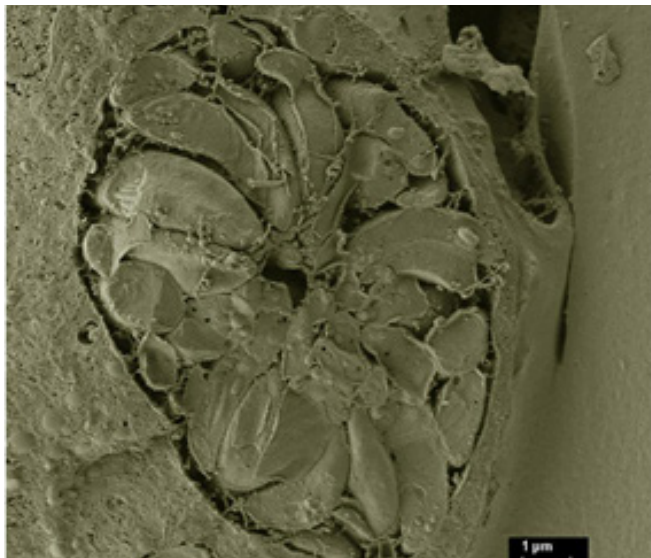
Microscópio eletrônico de varredura de ultra-alta resolução e duplo feixe (FIB-SEM, do inglês Focused Ion Beam - Scanning Transmission Electron Microscopy), sua fonte de elétrons é de filamento FEG e a coluna de íons possui uma fonte de gálio (FIB). O equipamento está equipado com 2 detectores de elétrons secundários (Everhart-Thornley e In-lens); 2 detectores para elétrons retroespalhados (1 detector retrátil e 1 In-lens); e 1 detector para visualização em modo STEM. A funcionalidade de aquisição de imagens seriadas em FIB-SEM permite a realização de séries tomográficas. Adicionalmente, o sistema Atlas 3D (FIBICS) permite a aquisição de tomografias em grandes volumes

JEOL JSM 6340F

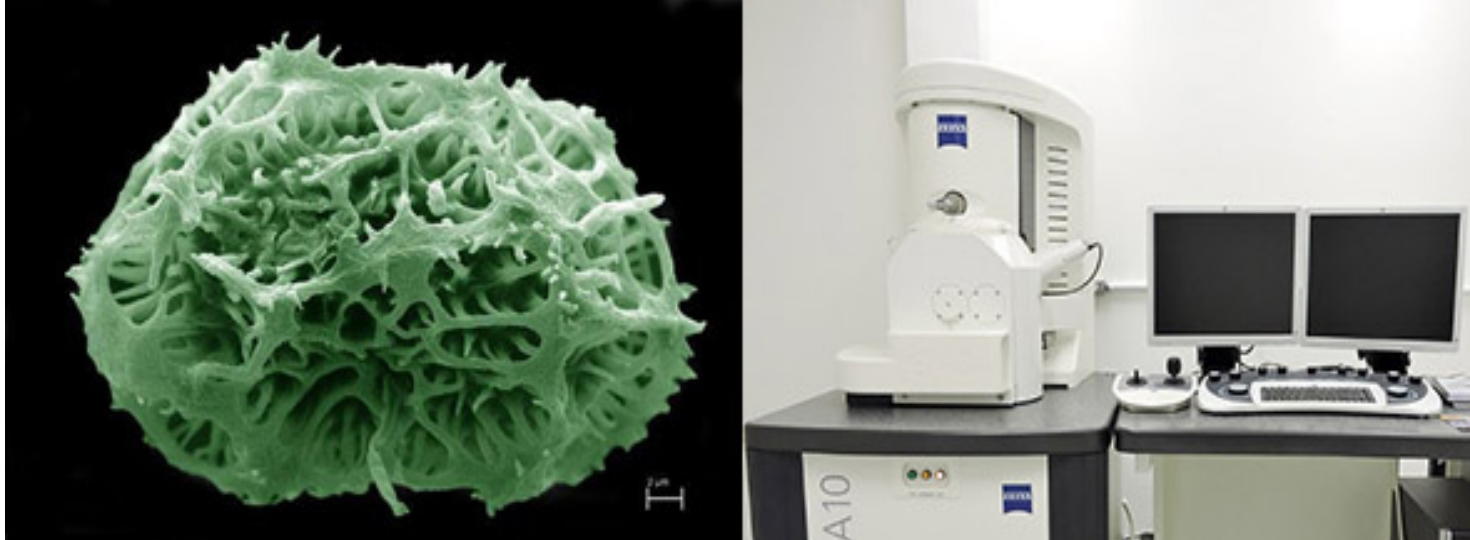
Scanning electron microscope of high resolution that has a cold-field emission gun and an Everhart-Thornley detector of secondary electrons, as well as an annular detector for back-scattered electrons. Especially suitable for analysis of material that requires high resolution, such as cytoskeleton and cell surfaces.

ZEISS AURIGA 40

Ultra-high resolution, dual-beam scanning electron microscope (FIB-SEM), with an electron source consisting of an FEG filament (Field Emission Gun) and for the ion column, a gallium source (FIB). The instrument is equipped with 2 secondary electron detectors (Everhart-Thornley and In-lens); 2 detectors for back-scattered electrons, a retractable detector and an In-lens; and 1 detector for viewing in STEM mode. The serial image acquisition functionality in FIB-SEM allows the realization of tomographic series. Additionally, the Atlas 3D system (FIBICS) allows acquisition of tomography in large volumes by FIB-SEM slice and view. It also has a cryostage for cryo-SEM, a gas injection system and nanomanipulators for the preparation of slides.



À esquerda: Uma roseta de parasitos *Toxoplasma gondii* no interior de uma célula de cultura observado em microscopia de varredura de alta resolução no Microscópio eletrônico de Varredura ZEISS Auriga 40 (à direita). Créditos da imagem: Prof. Márcia Attias. / *Left: A rosette of *Toxoplasma gondii* parasites inside a cultured cell observed in high-resolution scanning microscopy on the ZEISS Auriga 40 Scanning Electron Microscope (right). Image credits: Prof. Marcia Attias.*



À esquerda: Esporo de *Asplenium* sp. Imagem de microscopia eletrônica de varredura obtida no Microscópio ZEISS EVO10 (à direita). Cortesia: Joana Carolina F. Sandes / *Left: Asplenium sp. Scanning electron microscopy image obtained on the ZEISS EVO10 Microscope (right). Courtesy: Joana Carolina F. Sandes*

por FIB-SEM slice and view. Possui, ainda, um criostágio para crio-MEV, um sistema de injeção de gases e nanomanipuladores para preparo de lamelas.

ZEISS EVO 10

Microscópio eletrônico de varredura com voltagem de aceleração de elétrons entre 1 - 30 Kv e detectores de elétrons secundários e retroespalhados. É capaz de trabalhar em alto vácuo (10-2 a 10-5 Pa) e modo pressão variada (VP, do inglês varied pressure, 10 a 400 Pa). O modo VP permite a observação de alguns tipos de materiais não condutores e/ou parcialmente hidratados, minimizando os procedimentos de preparo de amostras. Conta também com um detector do tipo LFD (do inglês Large Field Detector) para a operação no modo VP.

PLATAFORMA DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Coordenador: Luis Mauricio Trambaioli da Rocha e Lima (mauricio@pharma.ufrj.br)

BRUKER D8 VENTURE

Com microfona de CuK α , gerador μ S 3.0 (possibilidade de 2ª fonte), óptica HELIOS, detector Photon II, CryoStream 800 (de 100 K até 400 K). Sistema apto a coleta completa de mono e policristais de proteína, macromoléculas, pequenas moléculas e materiais diversos.

ZEISS EVO 10

Scanning electron microscope with electron acceleration voltage between 1 - 30 kV and secondary and back-scattered electron detectors. It is capable of working in high vacuum (10-2 to 10-5 Pa) and variable-pressure (VP) mode (10 to 400 Pa). The VP mode allows the observation of some types of non-conducting and/or partially hydrated materials, minimizing sample preparation procedures. It also has a Large Field Detector (LFD) for operation in VP mode.

X-RAY DIFFRACTION PLATFORM

Coordinator: Luis Mauricio Trambaioli da Rocha e Lima (mauricio@pharma.ufrj.br)

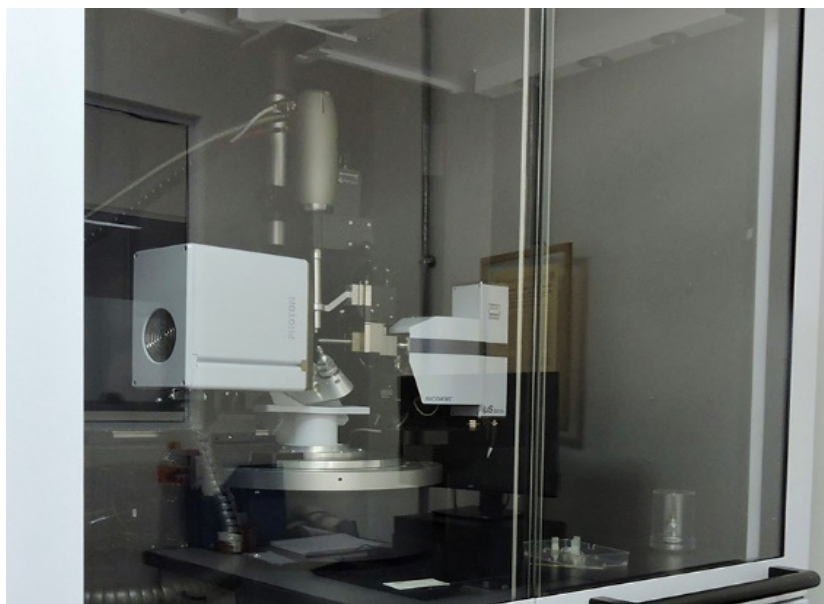
BRUKER D8 VENTURE

X-ray diffractometer with CuK α microsource, μ S 3.0 generator (2nd source possible), HELIOS optics, Photon II detector, CryoStream 800 (from 100 K to 400 K). System suitable for the complete collection of mono and polycrystals of protein, macromolecules, small molecules and diverse materials.

OPTICAL TWEEZER PLATFORM

Coordinator: Nathan Bessa Viana (nathan@if.ufrj.br)

Optical tweezers (OT) are tools that use highly focused laser light to produce three-dimensional traps, allowing for manipulation of micrometric particles and force measurements



Difratômetro de Raios-X Bruker D8 Venture / X-Ray Diffractometer Bruker D8 Venture

PLATAFORMA DE PINÇAS ÓPTICAS

Coordenador: Nathan Bessa Viana
(nathan@if.ufrj.br)

Pinças ópticas (PO) são ferramentas que usam luz laser altamente focada para produzir armadilhas tridimensionais, permitindo a manipulação de partículas micrométricas e medições de forças que variam de alguns femtonewtons ($1\text{fN} = 10^{-15}\text{ N}$) a centenas de piconewtons ($1\text{pN} = 10^{-12}\text{ N}$). Dois sistemas de PO estão disponíveis na UMA do CENABIO.

No sistema PO-1, uma PO extremamente sensível é empregada para estudar fenômenos que requerem medições de força na escala de femtonewton, por exemplo, interações coloidais. Além disso, o PO-1 desenvolve perfis de feixes especiais para várias aplicações, incluindo PO holográfica, que permite várias armadilhas e torques ópticos controláveis em objetos presos.

No sistema PO-2, três configurações experimentais são usadas para aplicações em mecanobiologia celular. Microscópios equipados com câmaras especiais que controlam a temperatura

in the range from femtonewtons (to hundreds of piconewtons Two OT systems are available at the Advanced Microscopy Unit of CENABIO.

In OT-1, a highly sensitive OT is employed to study phenomena that require force measurements in the femtonewton scale, for instance colloidal interactions. In addition, OT-1 develops special beam profiles for several applications, including holographic OT allowing for multiple traps and controllable optical torques on trapped objects.

In OT-2, three microscope setups are used for cell mechanobiology applications. Equipped with special chambers that control temperature ($37.0\text{ }^{\circ}\text{C}$) and carbon dioxide pressure (5%), they are employed to study biological phenomena of living cells, for instance the mechanical properties of cell membranes and the microrheology characterization of soft materials. In addition, other applications range from videomicroscopy analysis of biological events to the effect of static magnetic fields (field intensity $B \sim 0.05\text{ T}$) on cell samples.

OT-1 – Holographic OT and femtonewton dynamometer

Femtonewton dynamometer

In order to achieve femtonewton resolution, several protocols are employed to reduce systematic effects and non-thermal noises. Key elements include the use of a water-immersion objective and mitigation of the microscope stage drift with the help of a feedback loop. This system is currently employed to measure femtonewton colloidal interactions, as shown in the following figure. Applications in molecular biology involving single-molecule experiments can also be developed.

Holographic OT

OT-1 is equipped with a spatial light modulation (SLM) that allows for tailoring the transverse profile of the trapping laser beam. Applications include holographic optical tweezers and optical torques with laser beams carrying orbital angular momentum. The former allows for multiple traps, whereas the latter is employed in the characterization and enantioselective manipulation of single chiral particles.

OT-2 – Cell mechanobiology applications Cell membrane physical properties

(37 °C) e a pressão do dióxido de carbono (5%) são empregados para estudar fenômenos biológicos de células vivas, por exemplo, as propriedades mecânicas da membrana de células e a caracterização microrreológica de materiais moles. Além disso, análises quantitativas por videomicroscopia de eventos biológicos, bem como estudos do efeito de campos magnéticos estáticos (intensidade de campo $B \sim 0,05T$) em amostras de células também são realizados.

Sistema PO-1 – Dinamômetro femtonewton e PO Holográfica

Dinamômetro Femtonewton

Para medir forças na escala de femtonewton, diversos protocolos são empregados para reduzir os efeitos sistemáticos e os ruídos não térmicos. Alguns fatores cruciais incluem o uso de uma objetiva de imersão em água e a mitigação do desvio do estágio do microscópio com a ajuda de um controle de feedback. O sistema usado é atualmente empregado para medir interações coloidais, como exemplificado na figura a seguir. Aplicações em biologia molecular envolvendo experimentos de molécula única também podem ser desenvolvidas futuramente.

PO holográfica

O Sistema PO-1 também é equipado com um modulador espacial de luz que permite ajustar o perfil transversal do feixe de laser da PO. As aplicações incluem pinças ópticas holográficas e torques ópticos com feixes de laser carregando o momento angular orbital. O primeiro permite múltiplas armadilhas, enquanto o último é empregado na caracterização e manipulação enantiosseletiva de partículas quirais individuais.

Sistema PO-2 - Aplicações em mecanobiologia celular

Propriedades físicas da membrana de células

O Sistema PO-2 é empregado para extrair amarras de membranas de células. Uma amarra é um tubo de membrana extraído da superfície da célula com uma PO e possui diâmetros que variam de dezenas a centenas de nanômetros. As medidas da força para extração da amarra juntamente com o seu raio permitem a determinação de propriedades mecânicas da

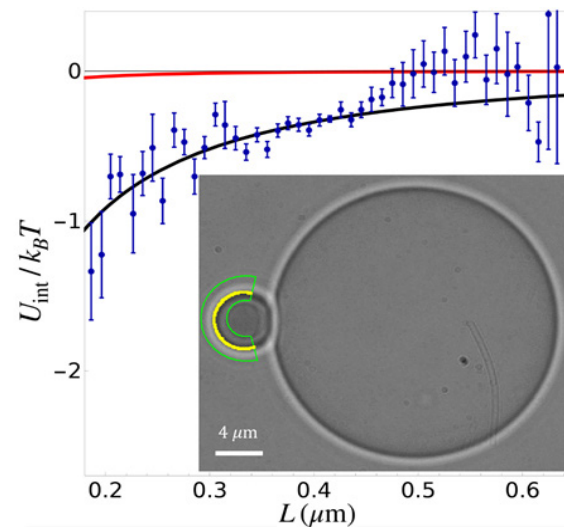
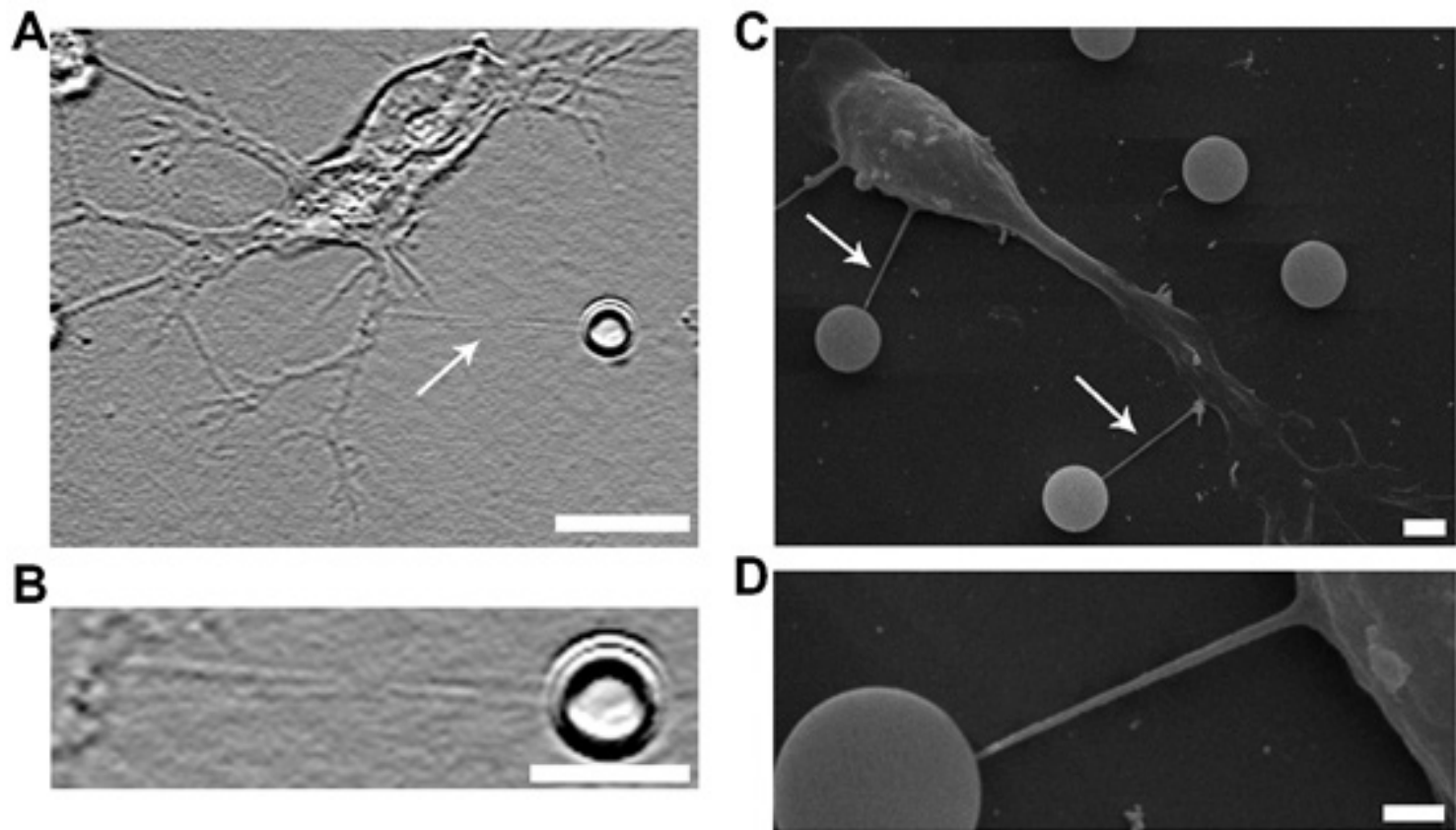


Gráfico da energia de interação de Casimir (em unidades de kBT) em função da distância (L em micrômetros) entre duas microesferas de sílica, e na situação de alta concentração salina (0.22 M). Uma imagem óptica típica das microesferas é mostrada. Crédito: Adaptada de Pires et al. 2021./ *Plot of the Casimir interaction energy (kBT units) as a function of the distance (L in microns) between two silica microspheres in a situation of high salt concentration (0.22 M). A typical optical image of the microspheres is shown. Credit: Adapted from Pires et al. 2021.*

The OT-2 is used to extract tethers from cell membranes. A tether is a membrane tube extracted from the cell surface with diameters ranging from tens to hundreds of nanometers. Measurements of tether extraction force together with the tether radius allow the determination of the cell membrane surface tension and bending modulus. For such, the application of a correlative microscopy (optical microscopy-OT-scanning electron microscopy) is essential. The cell membrane physical properties reflect the interaction between the phospholipid bilayer, the F-actin cytoskeleton, the myosin motors and focal adhesions. Their characterization is used to investigate the influence of physical cues and chemical signals in cell development and function. Representative images of membrane tethers are shown (arrows).

Membrane tethers extracted with OT and visualized in an optical microscope (A and B) or in a scanning electron microscope (C and D). Scale bars are 5 μm in A and B and 1 μm in C and D. Credit: Adapted from Soares et al. 2020.

superfície de células vivas, como a tensão superficial da membrana celular e seu módulo de flexão. Para tanto, a aplicação de uma microscopia correlativa (microscopia óptica-PO-microscopia eletrônica de varredura) é essencial. As propriedades físicas da membrana de células refletem a interação entre a bicamada fosfolipídica, o citoesqueleto de F-actina, os motores de miosina e as adesões focais. Sua caracterização é usada para investigar



a influência de sinais físicos e químicos no desenvolvimento e função das células. Imagens representativas de amarras de membrana podem ser observadas na figura a seguir (setas).

Microrreologia celular

Experimentos de microrreologia são realizados para caracterizar propriedades viscoelásticas de materiais moles.

Amarras de membrana extraídas com PO e visualizadas em microscópio óptico (A e B) e em microscópio eletrônico de varredura (C e D). As barras de escala são 5 μm em A e B e 1 μm em C e D. Crédito: Adaptada de Soares et al. 2020. / *Membrane tethers extracted with OT and visualized in an optical microscope (A and B) or in a scanning electron microscope (C and D). Scale bars are 5 μm in A and B and 1 μm in C and D. Credit: Adapted from Soares et al. 2020.*

No Sistema PO-2, deslocamentos sinusoidais controlados, variando a frequência do estímulo, são usados para avaliar os componentes elásticos e viscosos do material. O citoesqueleto pode ser modelado como um gel que apresenta comportamento vítreo mole, semelhante a emulsões, espumas, suspensões e pastas.

Filmes de eventos celulares

Dois configurações experimentais no Sistema PO-2 são equipadas com uma câmara especial que permite condições ideais de cultura de células vivas (5% de pressão de CO₂ e temperatura de 37 °C). Portanto, filmes de células em cultura podem ser gravados por até 72 horas.

Microscopia Correlativa: Microscopia Ótica – PO Microscopia de Fluorescência – Microscopia Eletrônica de Varredura

No Sistema PO-2, existe também um laser 488 nm acoplado e capaz de gerar imagens fluorescentes de células vivas. As imagens de microscopia ótica correlativa em tempo real-PO- microscopia de fluorescência de fenômenos celulares podem,

Cell microrheology

Microrheology experiments are performed to characterize viscoelastic properties of soft materials. In OT-2, controlled sinusoidal displacements, varying the frequency of the stimulus, are used to evaluate the storage and viscous components of the complex viscoelastic response. The cytoskeleton can be modeled as a gel that presents soft glassy behaviors similar to emulsions, foams, suspensions, and pastes.

Time-lapse movies

Two microscope setups at OT-2 are equipped with a special chamber that allows optimal cell culture conditions under the microscope (5% CO₂ pressure and 37 °C temperature). Time-lapse movies of cells in culture can be recorded for up to 72 hours.

Correlative microscopy: Optical Microscopy – OT Fluorescence Microscopy – Scanning Electron Microscopy

In OT-2, connected to the OT- optical microscope system, there is also a 488-nm laser system capable of generating fluorescent images of living cells. Real-time correlative optical microscopy-OT-fluorescence microscopy images of cellular phenomena can thus be produced. It is also possible to associate

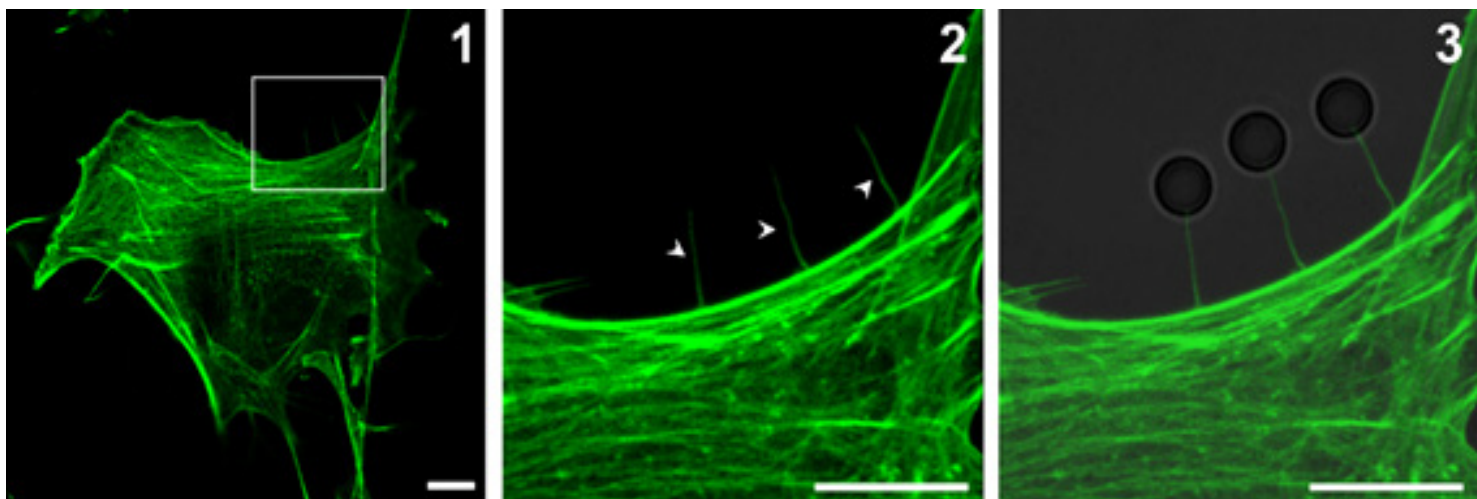


Imagem de microscopia correlativa PO-fluorescência de amarras de membrana extraídas de um fibroblasto em cultura. 1 – Imagem de fluorescência de F-actina em verde; 2 – zoom; 3 – sobreposição entre as imagens de campo claro e fluorescência. Todas as barras de escala correspondem a 10 μm. Setas indicam tethers. Crédito: Adaptada de Pontes et al. 2011. / *Correlative OT-fluorescence microscopy image of membrane tethers extracted from a fibroblast cell. 1 – F-actin fluorescence image in green, 2 – zoom, 3 – merge between the brightfield and fluorescence images. Scale bars are all 10 μm. Arrowheads in panel 2 indicate tethers. Credit: Adapted from Pontes et al. 2011.*

assim, ser realizadas. Por fim, também é possível associar a microscopia de fase e a microscopia eletrônica de varredura à sequência de medidas correlativas. Uma imagem representativa PO-Microscopia de Fluorescência é mostrada a seguir.

Efeito de campos magnéticos estáticos nas células

Tem sido relatado que campos magnéticos estáticos moderados são capazes de interagir e influenciar células em culturas. No Sistema PO-2, videomicroscopias correlativas podem ser usadas em conjunto com campos magnéticos estáticos para investigar fenômenos biomecânicos celulares, como proliferação, migração e propriedades mecânicas de membrana.

Referências:

- Pireas, L.B. et al. Probing the screening of the Casimir interaction with optical tweezers *Phys. Rev. Research*. v. 3, p. 033037, 2021.
- Pontes, B. et al. Cell cytoskeleton and tether extraction. *Biophys J*. v. 101, p. 43-52. 2011.
- Soares, J. et al. Membrane Elastic Properties During Neural Precursor Cell Differentiation. *Cells*. v. 9, p. 1323, 2020.

PLATAFORMA DE MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA

Coordenador: Gilberto Weissmüller
(gweissmuller@gmail.com)

BRUKER FASTSCAN

Microscópio de Força Atômica com modos de varredura: Contato; Contato intermitente; Fase; Não-contato; Força lateral; PeakForce, Mapeamento Nanomecânico; Lift Mode, Force Volume, MFM, EFM, Espectroscopia de Força e Piezo-resposta.

Projetos e Instituições usuárias das Plataformas da Unidade de Microscopia Avançada

Cerca de 200 pesquisadores e um número ainda maior de projetos usufruíram dos equipamentos da UMA. Existe uma

phase microscopy and scanning electron microscopy to the sequence of correlated measurements. A representative image of the correlative OT-Fluorescence Microscopy experiment is shown below.

Effect of static magnetic fields in cells

Moderate static magnetic fields have been reported to interact with cells. At OT-2, the OT, time-lapse movies, correlative microscopy, and culture conditions at the microscope can be used together with applied static magnetic fields to investigate cell biomechanical phenomena such as proliferation, migration and membrane mechanical properties.

References

- Pires, L.B. et al. Probing the screening of the Casimir interaction with optical tweezers *Phys. Rev. Research*. v. 3, 033037, 2021.
- Pontes, B. et al. Cell cytoskeleton and tether extraction. *Biophys J*. v. 101, p. 43-52. 2011.
- Soares, J. et al. Membrane Elastic Properties During Neural Precursor Cell Differentiation. *Cells*. v. 9, p.323, 2020.

ATOMIC FORCE MICROSCOPY PLATFORM

Coordinator: Gilberto Weissmüller
(gweissmuller@gmail.com)

BRUKER FASTSCAN

Atomic Force Microscope with scan modes: Contact; Intermittent contact; Phase; Non-contact; Side force; “PeakForce”, Nanomechanical Mapping; “Lift Mode”, “Force Volume”, Magnetic Force Microscopy (MFM), Electric Force Microscopy (EFM), Force Spectroscopy and Piezo-response.

Projects and User Institutions of the Platforms of the Advanced Microscopy Unit

About 200 researchers and an even greater number of projects have been able to take advantage of access to equipment in the Advanced Microscopy Unit. There is an enormous diversity of areas and interests, covering topics from

enorme diversidade de áreas e interesses, abarcando temas da área médica e biológica, incluindo virologia (ZIKA, SARS-COV19, pox-virus); parasitologia, com ênfase especial em doenças negligenciadas endêmicas no Brasil, como a doença de Chagas, as leishmanioses e outras. Aspectos básicos e da patologia dessas doenças são abordados sob a ótica de sua morfologia complementando de modo correlativo as técnicas de biologia molecular e bioquímica. Além disso, são desenvolvidos projetos na área da biotecnologia, como a produção e o encapsulamento de fármacos, a prospecção de novas drogas, assim como estudos de neurociência, incluindo estudos a respeito do desenvolvimento do sistema nervoso, o estudo de doenças neurodegenerativas e novas estratégias para seu tratamento. Outra área que desfruta dessas plataformas é a da bioengenharia, para a qual são inseridos projetos sobre células-tronco e engenharia tecidual. Pesquisadores que possuem projetos em ciências naturais, aí incluídas a zoologia, a botânica, as ciências ambientais, a paleontologia e a geologia, também têm requisitado e feito uso dos equipamentos. Embora o nome (CENABIO) indique que a plataforma é voltada para a obtenção de imagens em Biologia, projetos em outras áreas do conhecimento, como a pesquisa de novos materiais, a química de polímeros e a metalurgia, também são atendidos na unidade. Este breve relato já nos dá a ideia do enorme impacto que as atividades desenvolvidas na UMA têm sobre a sociedade, estendendo seus benefícios muito além da Comunidade Acadêmica.

A seguir são apresentados alguns projetos realizados com apoio da infraestrutura da UMA:

Pesquisa Translacional utilizando terapia com células-tronco mesenquimais em modelo de cardiomiopatia chagásica crônica em cães

Pesquisadora: Adriana Bastos de Carvalho

A cardiomiopatia chagásica crônica é a mais comum manifestação da Doença de Chagas e uma importante causa de insuficiência cardíaca (IC) nos países da América Latina. Durante a fase crônica da doença, aproximadamente 30% dos acometidos evoluem para uma forma sintomática com acometimento cardíaco. Clinicamente, os pacientes que desenvolvem a forma

the medical and biological areas, including virology (ZIKA, SARS-COV19, pox-virus); parasitology, with special emphasis on neglected diseases endemic in Brazil, such as Chagas disease, leishmaniasis and others. Basic and pathological aspects of these diseases are approached from the perspective of their morphology, complementing in a correlative way the techniques of molecular biology and biochemistry. Also in progress are projects in the field of biotechnology, such as the production and encapsulation of drugs, the prospection of new drugs, as well as neuroscience studies, including the development of the nervous system and the study of neurodegenerative diseases and new strategies for their treatment. Another area that benefits from these platforms is bioengineering, where projects on stem cells and tissue engineering are inserted. Researchers who have projects in natural sciences, including zoology, botany, environmental sciences, paleontology and geology, have also requested and made use of the equipment. Although the name itself (CENABIO) indicates that the platform is geared towards obtaining images in Biology, projects in other areas of knowledge, such as research into new materials, polymer chemistry and metallurgy are also attended at the unit. This brief report already gives an idea of the impact that the activities developed in the Advanced Microscopy Unit have on society, extending its benefits far beyond the academic community.

Still in this context, the Advanced Microscopy Unit has an important role in the education of young people and in extension projects. Students from undergraduate and graduate courses at UFRJ and other centers benefit from hands-on training and courses at various levels. In addition, guided tours for elementary and high school students awaken future talents who will be able to choose a career linked to life sciences.

Some projects carried out with the support of the Advanced Microscopy Unit's infrastructure are presented below.

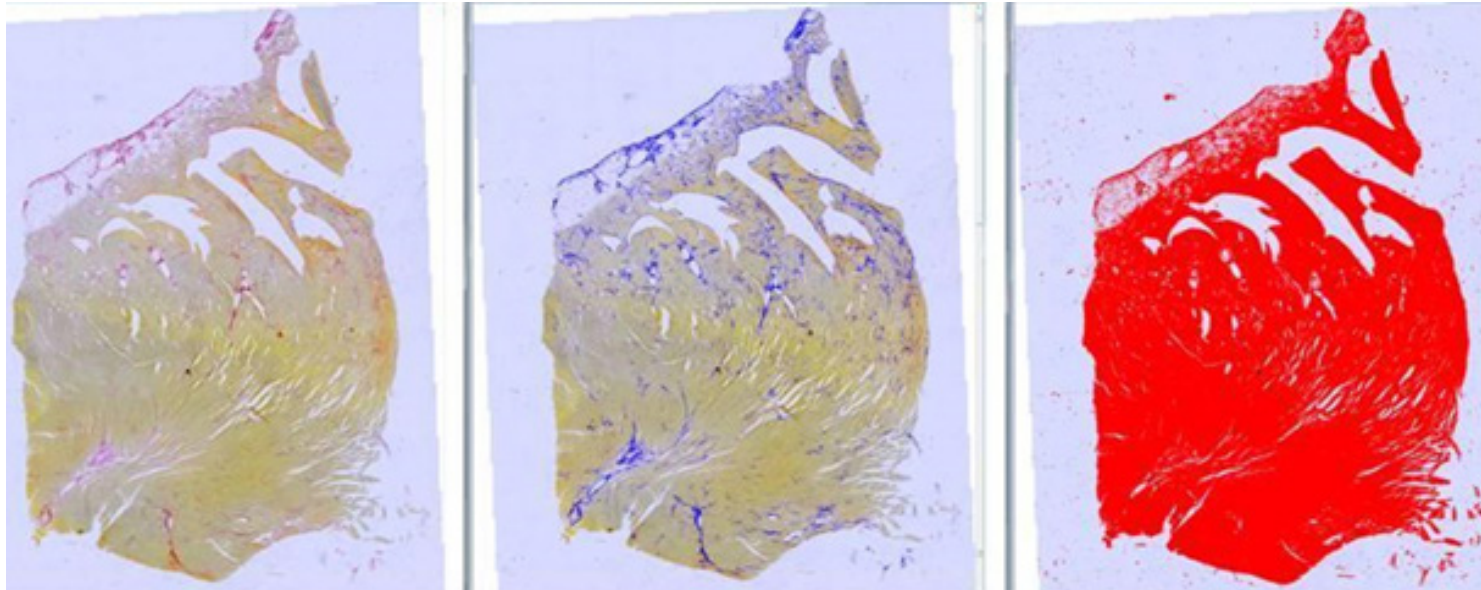
Translational research using mesenchymal stem cell therapy in a model of chronic Chagas cardiomyopathy in dogs

Principal Investigator: Adriana Bastos de Carvalho

Chronic Chagas' cardiomyopathy is the most common manifestation of Chagas disease and an important cause of heart failure (HF) in Latin American countries. During the

cardíaca da Doença de Chagas apresentarão um quadro de resposta inflamatória persistente, além do remodelamento estrutural do coração. O principal achado histológico dessa fase é a presença de infiltrado inflamatório (predominantemente linfócitos), acompanhado de fibrose intersticial difusa e

chronic phase of the disease, approximately 30% of those affected progress to a symptomatic form with cardiac involvement. Clinically, patients who develop the cardiac form of Chagas disease will present a persistent inflammatory response, in addition to structural remodeling of the heart. The main



Músculo cardíaco. Avaliação de área de fibrose. Imagem obtida no esteromicroscópio Axiozoom. Cortesia da Dra. Adriana Bastos de Carvalho. / *Cardiac muscle. Fibrotic area evaluation. Image obtained using the Axiozoom stereomicroscope. Courtesy of Dr. Adriana Bastos de Carvalho.*

hipertrofia de células miocárdicas.

No Laboratório de Cardiologia Celular e Molecular (LCCM) vêm sendo desenvolvidos, ao longo dos últimos anos, estudos com diversos tipos de células-tronco em modelos murinos de doenças cardíacas. Infelizmente, no caso específico da cardiomiopatia chagásica, a translação do modelo murino para a clínica revelou-se inválida. Isso indica a necessidade de desenvolver modelos mais fidedignos de doença humana em animais de médio porte, antes de tentar a translação para o cenário clínico.

Esse projeto é parte de um ensaio pré-clínico utilizando o modelo em cães de cardiomiopatia chagásica, que vem sendo realizado pelo LCCM em conjunto com a Universidade Federal de

histological finding of this phase is the presence of inflammatory infiltration (predominantly lymphocytes), accompanied by diffuse interstitial fibrosis and hypertrophy of myocardial cells.

Over the last few years, studies have been developed with different types of stem cells in murine models of heart disease. Unfortunately, in the specific case of Chagas cardiomyopathy, translation of the murine model to the clinic proved to be invalid. This indicates the need to develop more reliable models of human disease in medium-sized animals, before attempting to translate it into the clinical setting.

This project is part of a pre-clinical trial using dogs with Chagas cardiomyopathy as a model, which has been carried out in conjunction with the Federal University of Ouro Preto. The aim of the preclinical trial is to evaluate the efficacy of bone-marrow mesenchymal stem cell (MSC) therapy in an animal model of Chagas cardiomyopathy in dogs.

Ouro Preto. O objetivo do ensaio pré-clínico é avaliar a eficácia da terapia com células-tronco mesenquimais (MSC) de medula óssea em um modelo animal de cardiomiopatia chagásica em cães.

Modificação da resina epoxídica com híbridos orgânico inorgânicos e acrilatos

Pesquisadora: Bluma Guenter Soares

O objetivo do presente projeto é a obtenção de nanocompósitos à base de resina epoxídica modificada com copolímeros acrílicos contendo grupos carboxílicos. A inserção de grupos carboxílicos ao longo das cadeias do copolímero aumenta a polaridade da matriz polimérica. Por outro lado, a presença desses grupos carboxílicos contribui para maior interação interfacial entre a porção inorgânica da argila e a matriz polimérica. A avaliação morfológica dos nanocompósitos foi realizada pela técnica de espalhamento de raios X a baixos ângulos (SAXS), no LNLS, em Campinas. A avaliação das propriedades mecânicas mostrou o aumento do módulo e das propriedades de impacto dos nanocompósitos em relação à matriz pura e também aos sistemas epoxídicos modificados com os polímeros acrílicos.

A avaliação do grau de dispersão da argila nos nanocompósitos realizada pela técnica de SAXS mostrou uma média do grau de intercalação das lamelas nos nanocompósitos a partir do ajuste matemático das curvas de espalhamento. No entanto, para avaliação dos tactoides de argila é necessário a avaliação da morfologia por meio da técnica de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) para confirmar o grau de dispersão da argila, bem como correlacionar e confirmar o aumento das propriedades termodinâmicas mecânicas.

BX-795 inibe a replicação de poxvírus

Pesquisadora: Clarissa Damaso

Poxvírus são vírus complexos de genoma DNA dupla fita com capacidade de modular diferentes vias de sinalização celular, dentre estas, destacam-se as vias de produção de Interferon tipo I, que possui uma importante ação antiviral na célula. O

Modification of epoxy resin with organic-inorganic hybrids and acrylates

Principal Investigator: Bluma Soares Guenter

The objective of this project is to obtain nanocomposites based on epoxy resin modified with acrylic copolymers containing carboxylic groups. The insertion of carboxylic groups along the copolymer chains increases the polarity of the polymer matrix. On the other hand, the presence of these carboxylic groups contributes to a greater interfacial interaction between the inorganic portion of the clay and the polymer matrix. Morphological evaluation of the nanocomposites was carried out by the technique of small-angle X-ray scattering (SAXS), at the National Synchrotron Light Laboratory (LNLS) in Campinas. The evaluation of the mechanical properties showed an increase in the modulus and impact properties of the nanocomposites in relation to the pure matrix and also to the epoxy systems modified with acrylic polymers.

The evaluation of the degree of dispersion of the clay in the nanocomposites carried out by the SAXS technique showed an average of the degree of intercalation of the lamellae in the nanocomposites from the mathematical adjustment of the scattering curves. However, for the evaluation of clay tactoids, it is necessary to evaluate the morphology through the technique of Transmission Electron Microscopy (TEM) to confirm the degree of dispersion of the clay, as well as to correlate and confirm the increase of the thermodynamic mechanical properties.

BX-795 inhibits poxvirus replication

Principal Investigator: Clarissa Damaso

Poxviruses are complex double-stranded DNA genome viruses with the ability to modulate different cell signaling pathways, among which the production pathways of type I Interferon stand out for the importance of its antiviral action in the cell. The general objective of this project is to investigate the involvement of the serine/threonine protein kinase TBK1 during the infection of cells by the COTV and VACV viruses (IOC and WR strains) using the commercial inhibitor of TBK1 activation, BX-795. Western-blot analysis detected TBK1 activation in infected cells, which in turn was strongly inhibited in the presence of BX-795. BX-795 inhibited the production of infectious viral progeny of COTV and VACV (WR and IOC).

objetivo geral desse projeto é investigar o envolvimento da proteína serina/treonina quinase TBK1 durante a infecção de células pelos vírus COTV e VACV (cepas IOC e WR) utilizando o inibidor comercial de ativação de TBK1, BX-795. Análises por Western Blot detectaram a ativação de TBK1 em células infectadas, que por sua vez foi fortemente inibido na presença de BX-795. BX-795 inibiu a produção de progênie infecciosa viral de COTV e VACV (WR e IOC). Ensaios de citotoxicidade com MTT mostraram pouca toxicidade do inibidor nas concentrações utilizadas. Para mapear as fases gerais do ciclo replicativo afetadas por BX-795 e que TBK1 possa atuar, as fases pré e pós-replicativas foram analisadas por meio da imunodeteção de proteínas iniciais e tardias, enquanto a replicação do DNA viral foi analisada pela imunofluorescência. Não foi observada inibição ou atraso do acúmulo dessas proteínas que justificasse a inibição no título viral, sugerindo que uma etapa posterior, ou seja, a morfogênese viral esteja sendo alvo de BX-795. Para averiguar a etapa de morfogênese viral, uma das maneiras é pelo estudo da formação, bem como da morfologia das partículas virais, na presença do inibidor BX-795 por meio de microscopia eletrônica de transmissão. Além disso, para caracterizar a autofagia induzida nas células infectadas por VACV-IOC, a microscopia confocal é extremamente útil para analisar a co-localização de proteínas da via clássica de autofagia com outras proteínas de interesse.

Produção de VLPs de Zika e Febre Amarela a partir de linhagem celular HEK 293

Pesquisadora: Leda dos Reis Castillo

Nos últimos anos, o interesse no desenvolvimento de partículas semelhantes a vírus (VLP, do inglês virus-like particles) tem aumentado exponencialmente na área biomédica, tanto como possíveis candidatas vacinais, quanto para a aplicação em terapia gênica. Independentemente do genoma viral, as VLPs são bio-nanopartículas não infecciosas compostas por proteínas estruturais capazes de automontagem em capsídeo

Cytotoxicity assays with MTT showed little inhibitor toxicity at the concentrations used. To map the general phases of the replicative cycle affected by BX-795 on which TBK1 may be acting, the pre- and post-replicative phases were analyzed by immunodetection of early and late proteins, while viral DNA replication was analyzed by immunofluorescence. No inhibition or delay in the accumulation of these proteins was observed to justify the inhibition in the viral titer, suggesting that a later step, that is, viral morphogenesis, is being targeted by BX-795. To investigate the viral morphogenesis step, one way is through the study of the formation as well as the morphology of viral particles in the presence of the inhibitor BX-795, through transmission electron microscopy. Furthermore, to characterize the autophagy induced in VACV-IOC infected cells, confocal microscopy is extremely useful to analyze the co-localization of proteins of the classic autophagy pathway with other proteins of interest.

Production of Zika and Yellow Fever VLPs from HEK 293 cell line

Principal Investigator: Leda dos Reis Castillo

In recent years, interest in the development of virus-like particles (VLPs) has increased exponentially in the biomedical field, both for the development of possible vaccine candidates and for application in gene therapy. Regardless of the viral genome, VLPs are non-infectious bio-nanoparticles composed of structural proteins capable of self-assembly into viral capsids, mimicking epitopes of antigens present in tumor cells or external pathogens. VLPs are characterized by the combination of biochemical methods to identify structural proteins (Western Blot or mass spectrometry) and biophysical methods used to measure the morphology and size of the viral particle (transmission electron microscopy - TEM). Thus, the transient expression of recombinant plasmids transfected into human embryonic kidney (HEK 293) cell lines has been evaluated by immunobiological assays. To visualize the viral particles by TEM, the purified samples of flavivirus VLPs (Zika and Yellow Fever) will be negatively contrasted for further analysis, justifying the inclusion of this method in the study of VLP production technology.

viral mimetizando epitopos de antígenos presentes em células tumorais ou patógenos externos. As VLPs são caracterizadas pela combinação de métodos bioquímicos na identificação de proteínas estruturais (Western Blot ou espectrometria de massa) e métodos biofísicos usados para mensurar a morfologia e tamanho da partícula viral (MET). Assim, a expressão transitória de plasmídeos recombinantes transfectados em linhagens celulares HEK 293 (Human Embryonic Kidney) têm sido avaliados por ensaios imunobiológicos. Para visualização das partículas virais por MET as amostras purificadas de VLPs de flavivírus (Zika e Febre-Amarela) serão contrastadas negativamente para posterior análise justificando a alta relevância de inclusão desse método no estudo de produção de VLPs.

Neurobiologia celular da esquizofrenia: análise ultraestrutural de células de pluripotência induzidas (iPSc) e neurônios derivados de pacientes esquizofrênicos

Pesquisador: Stevens Kastrup Rehen

A esquizofrenia é uma desordem mental ligada ao desenvolvimento e que causa sérias alterações comportamentais. Seus mecanismos moleculares ainda permanecem obscuros e seu estudo atualmente baseia-se em análises de ressonância magnética post-mortem de cérebros e análises genômicas. A geração de neurônios derivados de células iPS de pacientes esquizofrênicos abriu caminho para estudos sobre as primeiras etapas de desenvolvimento dessa desordem. Resultados de MET mostram que o tratamento dessas células com o antipsicótico ácido valproico (VPA) causa expressiva alteração na organização das cristas mitocondriais. Diversos trabalhos mostram que alterações ultraestruturais nas cristas mitocondriais, especialmente nas regiões de crista junctions, podem determinar o estado metabólico e funcional das mitocôndrias e como consequência do desenvolvimento, maturação e plasticidade neuronal. O objetivo desse projeto é utilizar técnicas de microscopia eletrônica de transmissão e reconstrução tridimensional por meio de séries tomográficas especialmente das regiões de crista junctions para entender

Cell neurobiology of schizophrenia: ultrastructural analysis of induced pluripotency cells (iPSc) and neurons derived from schizophrenic patients

Principal Investigator: Stevens Kastrup Rehen

Schizophrenia is a developmental mental disorder that causes serious behavioral changes. Its molecular mechanisms still remain unclear and its study is currently based on MRI, post-mortem brain and genomic analyses. The generation of neurons derived from iPS cells of schizophrenic patients paved the way for studies on the early stages of development of this disorder. Transmission electron microscopy results show that the treatment of these cells with the antipsychotic valproic acid (VPA) causes a significant change in the organization of mitochondrial cristae. Several studies show that ultrastructural alterations in mitochondrial cristae, especially in regions of crista junctions, can determine the metabolic and functional state of mitochondria and as a consequence of neuronal development, maturation and plasticity. The objective of this project is to use transmission electron microscopy and three-dimensional reconstruction techniques through tomographic series especially of the regions of crista junctions to understand the relationships between mitochondrial form and function in neurons derived from schizophrenic patients and the effects of VPA. As it is an organelle of considerable morphological complexity, there are a number of considerations regarding the interpretation of ultra-thin sections. The transmission electron microscopy coupled to tomography will help to elucidate issues related to cristae organization with more certainty and precision.

as relações entre forma e função mitocondrial em neurônios derivados de pacientes esquizofrênicos e os efeitos do VPA. Por ser uma organela de complexidade morfológica considerável, há uma série de considerações a respeito da interpretação de cortes ultrafinos. Acreditamos que a microscopia eletrônica de transmissão acoplada à tomografia nos ajudará a elucidar questões relacionadas à organização das cristas com mais certeza e precisão.

Investigação in vitro da atividade do artesunato: alterações morfológicas em larvas recém-desencistadas de *Echinostoma paraensei* (Trematoda: Digenea)

Pesquisador: Eduardo José Lopes Torres

A necessidade de fontes consistentes e confiáveis de material biológico vivo é importante para a pesquisa continuada sobre equinostomas e equinostomíase. As trematodíases são doenças emergentes significativas de saúde pública, para as quais têm-se como tratamento duas drogas: o praziquantel (PZQ) e o tricabendazol (TCZ), constituindo presentes estratégias de controle. No entanto, existe uma enorme preocupação no desenvolvimento de novas drogas com potencial anti-helmíntico devido à possibilidade de existência de helmintos parasitos resistentes e emergentes. Derivados da artemisinina têm demonstrado ser drogas com amplo espectro de atividade não só contra protozoários, bem como contra trematódeos. Associado a isso, modelos in vitro utilizando metacercárias desencistadas têm ajudado na obtenção de um grande número de formas juvenis, evitando o sacrifício de hospedeiros definitivos como o hamster. Nesse estudo, a atividade trematocida de artesunato em metacercárias recém-desencistadas de *E. paraensei* foi investigada e as alterações na superfície do tegumento do helminto induzidas por essa droga foram observadas por microscopia de luz de campo claro e microscopia eletrônica de varredura. Os helmintos recém-desencistados serão incubados com 1 µg/ml, 10 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/mL e 100 µg/mL de artesunato (ATS) e analisados 4, 12, 24, 48 e 72h após a incubação. As taxas de mortalidade

In-vitro investigation of artesunate activity: morphological changes in newly decysted larvae of *Echinostoma paraensei* (Trematoda: Digenea)

Principal Investigator: Eduardo José Lopes Torres

*A supply of consistent and reliable sources of living biological material is important for continued research on Echinostomas and echinostomiasis. Trematodiasis are significant emerging public- health diseases, for which there are two drugs in the current treatment arsenal: praziquantel (PZQ) and tricabendazole (TCZ), constituting present control strategies. However, there is great concern about the development of new drugs with anti-helminthic potential due to the possible existence of resistant and/or emerging helminth parasites. In this context, artemisinin derivatives have demonstrated a broad spectrum of activity not only against protozoa but also against trematodes. Associated with this, in-vitro models using excysted metacercariae have helped to obtain a large number of juvenile forms, avoiding the sacrifice of definitive hosts such as the hamster. In this study, the trematocidal activity of artesunate in newly excysted metacercariae of *E. paraensei* was investigated and changes in the helminth integument surface induced by this drug were observed by brightfield light microscopy and scanning electron microscopy. The newly decysted helminths will be incubated with 1 µg/ml, 10 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/mL and 100 µg/mL artesunate (ATS) and analyzed 4, 12, 24, 48 and 72 h post-incubation. Mortality rates will be calculated and changes in the tegument analyzed by scanning electron microscopy (SEM).*

Arbovirus morphogenesis

Principal Investigator: Lucio Ayres Caldas

Arboviruses are a serious international public health issue. Chikungunya viruses (CHIKV) and Zika virus (ZIKV) have a very complex morphogenesis. The present project aims to investigate the formation of the viral factory by ZIKV and the stages of the CHIKV cell cycle in vertebrate and invertebrate cells infected with them.

serão calculadas e as alterações no tegumento analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Morfogênese de arbovírus

Pesquisador: Lucio Ayres Caldas

Os arbovírus são uma grave questão de saúde pública internacional. Os vírus Chikungunya (CHIKV) e o vírus Zika (ZIKV) apresentam uma morfogênese bastante complexa. O presente projeto destina-se à investigação da formação da fábrica viral pelo ZIKV e das etapas do ciclo celular do CHIKV nas células de vertebrado e invertebrado infectadas.

Effect of pomolic acid on three-dimensional culture of glioblastoma

Principal Investigator: Cristina Maeda Takiya

Glioblastoma (GBM) is the highly malignant tumor with the highest mortality rate worldwide and presents a complex tumoral heterogeneity. The treatment of GBM consists of surgical resection followed by radiotherapy and chemotherapy. However, patient survival is only 15 months. The emergence of studies of the tumor microenvironment for the validation of antineoplastic agents is of paramount importance. Thus, three-dimensional cell-culture models (spheroids) have been developed to better simulate the in-vivo conditions of cell

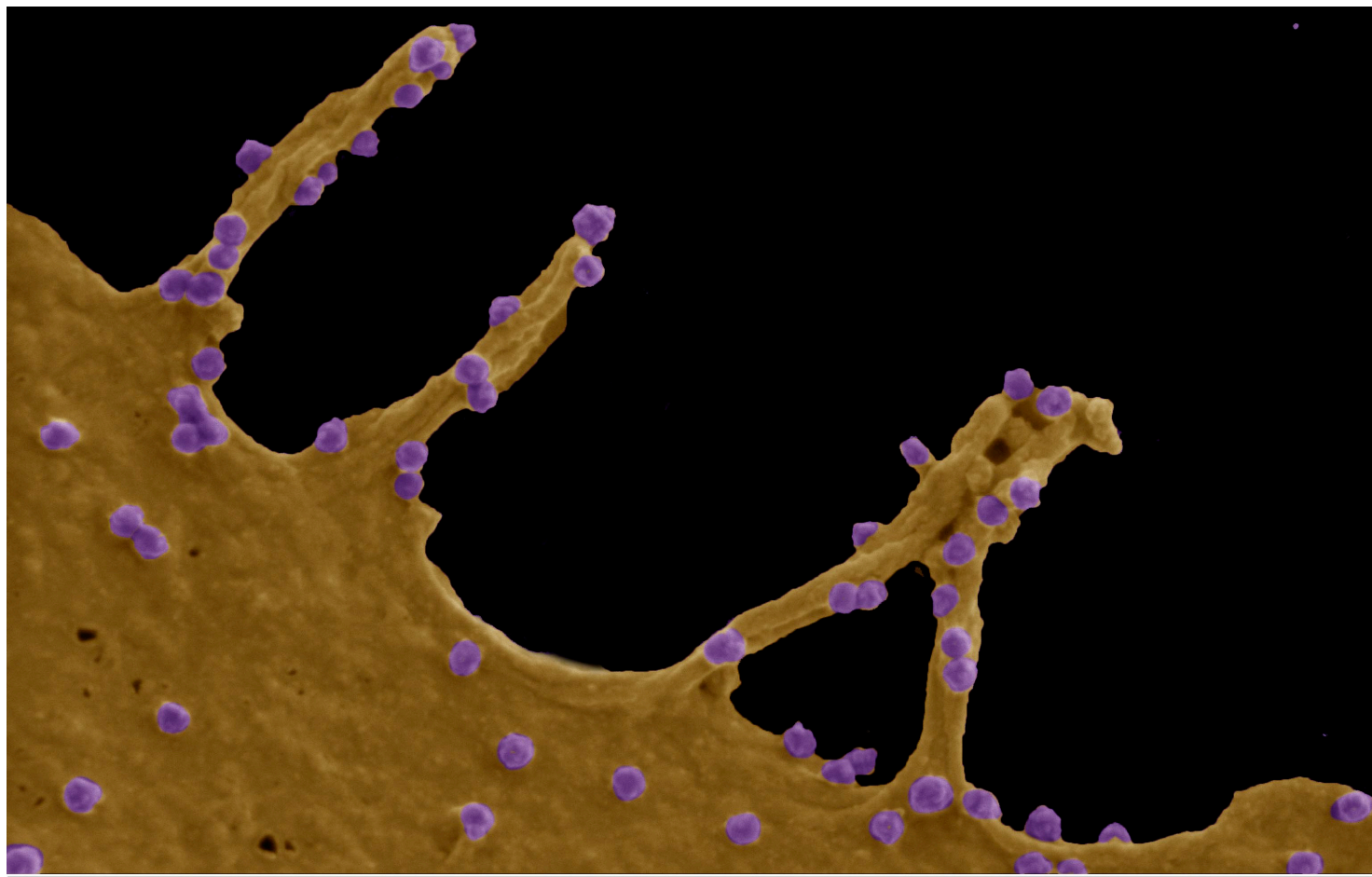


Imagem obtida no Microscópio Auriga 40 de vírus SarsCov2 (lilás) aderidos a uma célula (amarelo). Colorido digitalmente. Cortesia Dr. Lucio Ayres Caldas./ [XXXXXXXXXXXXXX](#)

Efeito do ácido pomólico no cultivo tridimensional de glioblastoma

Pesquisadora: Christina Maeda Takiya

O glioblastoma (GBM) é o tumor com maior taxa de mortalidade mundial, é altamente maligno e apresenta uma heterogeneidade intratumoral complexa. O tratamento do GBM consiste na ressecção cirúrgica, seguida de radioterapia e quimioterapia. Porém, a sobrevida dos pacientes é de somente 15 meses. É de suma importância o surgimento de estudos do microambiente tumoral para validação de agentes antineoplásicos. Assim, os modelos de cultivo celular tridimensional (esferóides) têm sido desenvolvidos para promover melhor simulação das condições in vivo de interações celulares e expressões fenotípicas. Trabalhos realizados mostraram que o triterpeno ácido pomólico (AP) é citotóxico para células de GBM e o objetivo é caracterizar os esferóides obtidos a partir da linhagem celular de GBM humano A172 e avaliar a ação do AP.

Avaliação do potencial antimicrobiano e antitumoral de nanopartículas metálicas sintetizadas via rota verde

Pesquisador: Celso Sant'Anna

Os objetivos desse projeto são obter por um método ecologicamente correto e altamente produtivo nanopartículas metálicas com ação antimicrobiana e antitumoral que possam ter no futuro uma aplicação clínica no tratamento de doenças infecciosas, assim como cânceres agressivos e resistentes.

Ultraestrutura da Interação Parasito – Vetor

Pesquisador: Fábio Mendonça Gomes

O principal objetivo desse projeto é a compreensão dos mecanismos de interação do parasito com as células do vetor, principalmente com subestruturas celulares associadas com a evasão imune ou replicação celular. As amostras poderão ter sido previamente manipuladas por silenciamento gênico ou transgênese. O material será fixado por criofixação ou fixadores químicos e preparado para microscopia eletrônica de transmissão, de duplo feixe. Alternativamente, realizaremos análise de microscopia por fluorescência de super-resolução em material não fixado.

interactions and phenotypic expressions. This work showed that the triterpene pomolic acid (PA) is cytotoxic to GBM cells and the objective is to characterize the spheroids obtained from the A172 human GBM cell line and evaluate the action of PA.

Evaluation of the antimicrobial and antitumor potential of metallic nanoparticles synthesized via the green route

Principal Investigator: Celso Sant'Anna

The objectives of this project are to obtain, by an ecologically correct and highly productive method, metallic nanoparticles with antimicrobial and antitumor action that may have a clinical application in the future in the treatment of infectious diseases, as well as aggressive and resistant cancers.

Ultrastructure of the parasite - vector interaction

Principal Investigator: Fabio Mendonça Gomes

Our main objective is to understand the mechanisms of interaction of the parasite with the vector cells, mainly with cellular substructures associated with immune evasion or cell replication. The samples may have been previously manipulated by gene silencing or transgenesis. The material will be fixed by cryofixation or chemical fixatives and prepared for double-beam transmission electron microscopy. Alternatively, super-resolution fluorescence microscopy analysis on unfixed material will be performed.

Application of atomic force microscopy (AFM) for the design of solid pharmaceutical dosage forms

Principal Investigators:

Beatriz Ferreira de Carvalho Patricio - Micro and Nanotechnology Laboratory, Institute of Technology in Pharmaceuticals, Farmanguinhos, Fiocruz

Gabriel Almeida Zarpelon - Biological Physics Laboratory, Carlos Chagas Filho Biophysical Institute

Gilberto Weissmüller - Biological Physics Laboratory, Carlos Chagas Filho Biophysical Institute

Wellington Silva Ferreira - Biological Physics Laboratory, Carlos Chagas Filho Biophysical Institute

Aplicação da microscopia de força atômica para o delineamento de formas farmacêuticas sólidas

Pesquisadores:

Beatriz Ferreira de Carvalho Patricio – Laboratório de Micro e Nanotecnologia, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos, Fiocruz.

Gabriel Almeida Zarpelon – Laboratório de Física Biológica, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho/UFRJ.

Gilberto Weissmüller – Laboratório de Física Biológica, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho/UFRJ.

Wellington Silva Ferreira – Laboratório de Física Biológica, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho/UFRJ.

O delineamento de formas farmacêuticas está associado às etapas de desenvolvimento de um medicamento. Independentemente da formulação farmacêutica, essas são constituídas basicamente por dois tipos de compostos, os insumos farmacêuticos ativos (IFA) e os excipientes. O entendimento das interações entre esses compostos é de suma importância para o desenvolvimento de formulações, já que tais interações impactam diretamente a processabilidade do medicamento. O AFM, além da caracterização de topográfica de superfície, permite avaliar os parâmetros físico-químicos de superfície desses materiais, bem como analisar a interação entre esses componentes, podendo ser aplicado no delineamento de formas farmacêuticas sólidas na etapa de escolha dos componentes da formulação, otimizando o tempo e o custo no desenvolvimento.

Caracterização de partículas semelhantes a nucleocapsídeo de Flavivírus por microscopia de força atômica

Pesquisadoras:

Andrea Thompson Da Poian – Laboratório Bioquímica de vírus, Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis – IBqM.

Nathane Cunha Mebus – Laboratório Bioquímica de vírus, Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis – IBqM.

Esse projeto apresenta interesse em estudar a formação e as características estruturais de partículas semelhantes a

The design of pharmaceutical forms is associated with the stages of drug development. Regardless of the pharmaceutical formulation, these are basically constituted by two types of compounds, active pharmaceutical ingredients (API) and excipients. Understanding the interactions between these compounds is of paramount importance for the development of formulations, since such interactions directly impact the processability of the drug. In addition to the surface topographic characterization, AFM allows evaluation of the physical-chemical parameters of the surface of these materials, as well as allowing an analysis of the interactions between these components, and it can be applied to the design of solid dosage forms during the stage of choosing the components of the formulation, optimizing development time and cost.

Characterization of Flavivirus nucleocapsid-like particles by atomic force microscopy

Principal Investigators:

Andrea Thompson Da Poian - Virus Biochemistry Laboratory, Institute of Medical Biochemistry Leopoldo de Meis - IBqM

Nathane Cunha Mebus - Virus Biochemistry Laboratory, Institute of Medical Biochemistry Leopoldo de Meis - IBqM

This project is directed at the formation and structural characteristics of nucleocapsid-like particles (NCLPs) from Dengue (DENV) and Zika (ZIKV) viruses. To obtain the NCLPs, the recombinant capsid protein (C) of DENV or ZIKV is incubated with different DNA oligonucleotides, ranging from 5 to 25 base pairs. The first images of NCLPs were obtained by atomic force microscopy (AFM) and transmission electron microscopy (TEM), showing particles from 20 to 40 nm, depending on the oligonucleotide used for their formation.

nucleocapsídeo (nucleocapsid-like particles, NCLPs) dos vírus Dengue (DENV) e Zika (ZIKV). Para a obtenção das NCLPs, a proteína recombinante do capsídeo (C) de DENV ou ZIKV é incubada com diferentes oligonucleotídeos de DNA, que variam de 5 a 25 pares de base. As primeiras imagens de NCLPs foram obtidas por microscopia de força atômica (AFM) e microscopia de transmissão eletrônica (MET), mostrando partículas de 20 a 40 nm, dependendo do oligonucleotídeo usado para sua formação.

Caracterização da estrutura e função de proteínas de coronavírus

Pesquisador: Marcius da Silva Almeida – CENABIO

Nesse projeto se trabalha em rede para caracterizar a estrutura e função de proteínas de cinco coronavírus (SARS2, SARS1, MERS, OC43, HKU1). Em especial temos focado no estudo da proteína nucleocapsídica (N), que está envolvida no empacotamento e replicação do RNA viral, além de apresentar imunogenicidade. A proteína N é um importante alvo de estudo para compreensão da biologia dos coronavírus e o desenvolvimento de terapias. As proteínas são produzidas de forma recombinante em *Escherichia coli* e purificadas para as análises de estrutura e atividade.

Cosmecêuticos para animais de estimação

Pesquisadores:

Fábio Moysés – Instituto Nacional de Tecnologia.

Lins Dantas – Instituto Nacional de Tecnologia.

O projeto visa ao encapsulamento de material biológico, além de fármacos diversos para a produção de cosmecêuticos para animais de estimação. Os materiais estudados estarão sempre em escala nanométrica e duas das principais técnicas de caracterização ao longo de todo o projeto serão a microscopia eletrônica de transmissão e a microscopia de força atômica, pois elas permitirão visualizar a integridade dos compostos biológicos antes e após os processos de encapsulamento.

Structure and function of coronavirus proteins

Principal Investigator: Marcius da Silva Almeida – CENABIO

*This is a network to characterize the structure and function of proteins from five coronaviruses (SARS2, SARS1, MERS, OC43, HKU1). In particular, this project have focused on the study of the nucleocapsid protein (N). This protein is involved in the packaging and replication of viral RNA, in addition to presenting immunogenicity. Thus, the N protein is an important target for understanding the biology of coronaviruses and the development of therapies. The proteins are produced recombinantly in *Escherichia coli* and purified for structure and activity analysis.*

Cosmeceuticals for pets

Principal Investigators:

Fábio Moysés - National Institute of Technology

Lins Dantas - National Institute of Technology

This project aims at the encapsulation of biological material, in addition to various drugs for the production of cosmeceuticals for pets. The materials studied will always be in the nanometer scale and two of the main characterization techniques throughout the project will be transmission electron microscopy and atomic force microscopy, as they will allow to visualize the integrity of biological compounds before and after the processes of encapsulation.

Ultrastructural analysis of the flagellar adhesion zone in *Trypanosoma cruzi*

Principal Investigator: Wanderley de Souza - Carlos Chagas Filho Institute of Biophysics – UFRJ

The present project aims to deepen the studies related to the region of flagellum-cell body adhesion. For this, using the CRISPR technique, protozoa are developed in the absence of any specific gene that expresses any of the proteins belonging to the formation of the flagellum-body adhesion set. For this, analysis tools in high- resolution microscopy will be used, among them, SEM and AFM.

Análise ultraestrutural da Zona de Adesão Flagelar em Trypanosoma cruzi.

Pesquisador: Wanderley de Souza – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho/UFRJ

O presente projeto visa aprofundar os estudos relativos à região da adesão flagelo-corpo celular. Para isso, pela técnica de CRISPR, estão sendo desenvolvidos que com a ausência de algum gene expressa alguma das proteínas pertencentes à formação do conjunto de adesão flagelo-corpo. Para tal, iremos utilizar algumas ferramentas de análise em microscopia de alta resolução, dentre elas, MEV e AFM.

Síntese e caracterização de nanocelulose obtida de fibras de coco

Pesquisador: Marco Cesar Cunegundes Guimarães – Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)

O presente trabalho espera estabelecer um método confiável, reprodutível e verde para geração de nanocelulose a partir de um resíduo orgânico, a fibra de coco verde. O nanomaterial produzido será utilizado na geração de produtos com elevado valor tecnológico agregado.

Análise ultraestrutural de isolados diferentes de SARS CoV-2

Pesquisador: Wanderley de Souza – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho/UFRJ

O presente projeto visa analisar a estrutura de diferentes isolados de SARS-CoV-2 obtidos em diferentes regiões do país. Para isso, iremos utilizar algumas ferramentas de análise em microscopia de alta resolução, como o AFM.

Visão da técnica para o futuro da microscopia

A microscopia eletrônica é um campo em permanente desenvolvimento. A cada ano são lançados equipamentos não apenas mais aperfeiçoados, como também inovadores em vários aspectos, como é o caso da criomicroscopia, cuja implementação

Synthesis and characterization of nanocellulose obtained from coconut fibers

Principal Investigator: Marco Cesar Cunegundes Guimarães - Federal University of Espírito Santo (UFES)

The present work will establish a reliable, reproducible and green method for generating nanocellulose from an organic residue, the green coconut fiber. The nanomaterial produced will be used in the generation of products with high added technological value.

Ultrastructural analysis of different SARS-CoV-2 isolates

Principal Investigator: Wanderley de Souza - Institute of Biophysics Carlos Chagas Filho /UFRJ

The present project aims to analyze the structure of different SARS-CoV-2 isolates obtained in different regions of Brazil. For this, analysis tools from high-resolution microscopy will be used, including AFM.

TECHNOLOGY FOR THE FUTURE OF MICROSCOPY

Electron microscopy is a field in permanent development. Each year, equipment is not only improved, but also frequently advanced in concepts is the case of cryomicroscopy, whose implementation is already underway thanks to the approval of FAPERJ resources for the acquisition and installation of a 200 kV cryomicroscope that will be used for observation and imaging of macromolecules, cells and tissues in the ultra-fast freezing state, without interference from chemical agents, that is, as close as possible to their in-vivo state.

A constant concern is the acquisition of state-of-the-art equipment with characteristics that can open new vistas for research and the development of knowledge in different research groups. This includes equipment that acts on the mesoscale and encompasses both optical and electron microscopy equipment. The light-sheet equipment and the scanning microscope built for the serial block face technique are important additions to CENABIO technological portfolio.

já se encontra em andamento graças à aprovação de recursos da FAPERJ para aquisição e instalação de um criomicroscópio de 200 kV, o qual será utilizado para observação e imageamento de macromoléculas, células e tecidos no estado de congelamento ultrarrápido, sem interferência de agentes químicos, ou seja, o mais próximo possível do seu estado in vivo.

Uma constante do propósito da UMA é a aquisição de equipamentos de ponta com diferentes características e que possam abrir frentes para a pesquisa e o desenvolvimento do conhecimento de diversos grupos de pesquisa. Isso inclui equipamentos que atuem em mesoescala e abarca tanto equipamentos de microscopia óptica quanto microscopia eletrônica. Podem-se citar, a fim de tornar mais claro o propósito e visão do futuro da Unidade, os equipamentos de light-sheet e o microscópio de varredura construído para a técnica de serial block face.

O light sheet é um microscópio de fluorescência que divide a fluorescência de excitação e a de detecção em dois caminhos ópticos separados, sendo o eixo de iluminação perpendicular ao de detecção. Esse equipamento proporciona a visualização e reconstrução tridimensional de amostras na escala milimétrica. Como exemplo, podemos mencionar vermes e outros invertebrados, organismos em diferentes estágios de desenvolvimento embrionário e órgãos isolados e clarificados.

A microscopia eletrônica de varredura serial block face é um método para gerar imagens tridimensionais de alta resolução a partir de pequenas amostras. A técnica foi desenvolvida para o tecido cerebral, mas é amplamente aplicável a qualquer amostra biológica. Possui resolução semelhante à da microscopia de varredura de duplo feixe, mas cobre áreas e volumes pelo menos 10 ou 20 vezes superiores.

A microscopia óptica é uma área em que a tecnologia tem rompido as barreiras dos limites de resolução além do que se poderia imaginar décadas atrás. A própria Microscopia Confocal avançou de modo que equipamentos adquiridos há 10 ou 15 anos se tornaram obsoletos e requerem upgrade ou substituição. Não devemos deixar de mencionar que grandes avanços também têm sido alcançados em técnicas de microscopia correlativa, combinando microscopia óptica e eletrônica.

The light sheet is a fluorescence microscope that divides the excitation and detection fluorescence into two separate optical paths, the illumination axis being perpendicular to the detection axis. This equipment provides visualization and three-dimensional reconstruction of samples on the millimeter scale. As an example, worms can be visualized and other invertebrates at different stages of embryonic development, and will be able to isolate and clarify essential organs.

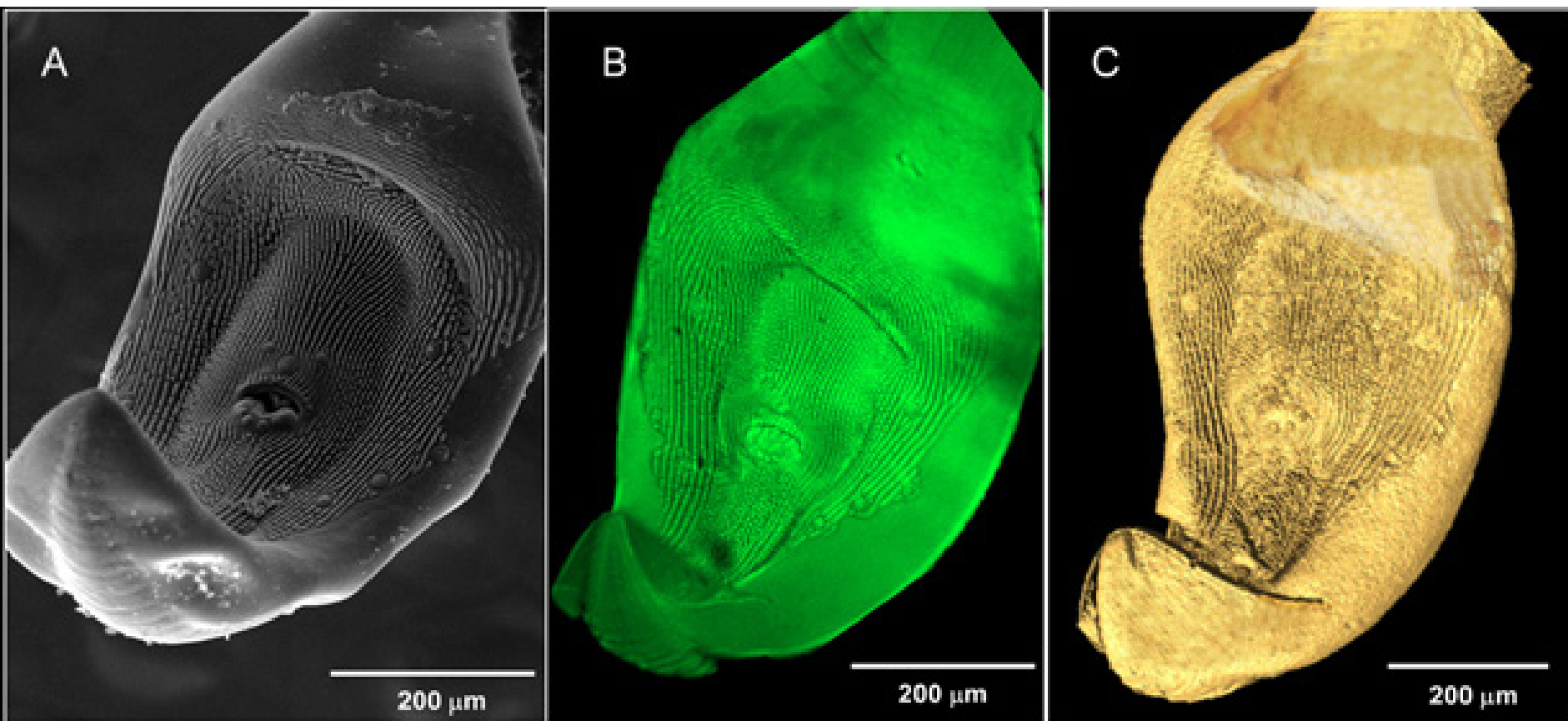
Serial block face scanning electron microscopy is a method for generating high resolution three-dimensional images from small samples. The technique was developed for brain tissue, but is broadly applicable to any biological sample. It has a resolution similar to that of dual-beam scanning microscopy, but covers areas and volumes at least 10 or 20 times greater.

Optical microscopy is an area where technology has pushed the boundaries of resolution beyond what could have been imagined decades ago. Confocal microscopy itself has advanced so that equipment purchased 10 or 15 years ago has become obsolete and requires upgrade or replacement.

Great advances have also been achieved in correlative microscopy techniques, combining optical and electron microscopy.

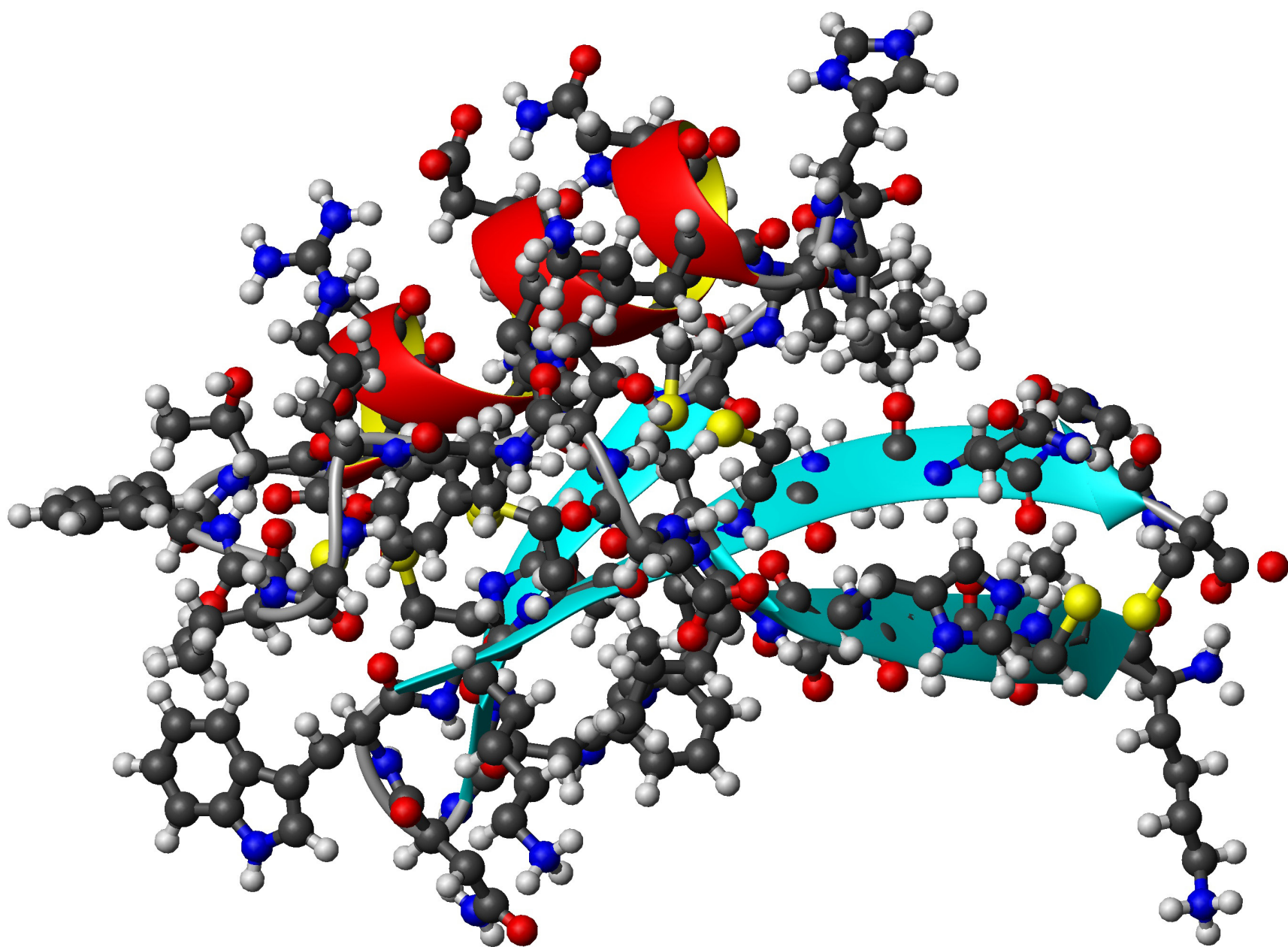
As innovations and advances in the field of imaging are numerous each year, there is a permanent prospection of what may lead the Advanced Microscopy Unit to maintain its leadership in offering resources for the development of projects in the scientific community.

Sendo as inovações e os avanços no campo de geração de imagens numerosos a cada ano, existe uma prospecção permanente daquilo que possa levar UMA a manter seu caráter de liderança na oferta de recursos para o desenvolvimento dos projetos da comunidade científica.



Exemplo de microscopia correlativa: porção posterior de *Physaloptera mirandai*, exemplo de integração de imagens de microscopia. (A) Microscopia eletrônica de varredura de espécimes secos, mostrando as estruturas taxonômicas da extremidade posterior do macho. (B) Esteremicroscopia de fluorescência de uma amostra hidratada- imagem tridimensional renderizada a partir do software ZEN;(C) Algoritmo obtido utilizando o software AMIRA, mostra as estruturas taxonômicas na superfície da cutícula, permitindo medidas da superfície real da cutícula. Imagens adaptadas de Lopes-Torres et al., (2019) – DOI <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.04.002> (copyright request).

/ Example of correlative microscopy: posterior portion of Physaloptera mirandai, example of integration of microscopy images. (A) Scanning electron microscopy of dried specimens, showing the taxonomic structures of the posterior end of the male. (B) Fluorescence stereomicroscopy of a hydrated sample - three-dimensional image rendered from the ZEN software; (C) Algorithm obtained using the AMIRA software, showing the taxonomic structures on the cuticle surface, allowing measurements of the actual cuticle surface. Images adapted from Lopes-Torres et al., (2019) – DOI <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.04.002> (copyright request).



4.3 Unidade de Biologia Estrutural

Aqui são apresentadas as capacidades do CENABIO no campo da Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de biomoléculas. Com seus 6 espectrômetros de alta resolução, laboratórios para produção de biomolécula e uma equipe altamente especializada em biologia estrutural de biomoléculas, é oferecido tanto o acesso e o apoio aos usuários externos, que incluem pesquisadores, líderes de grupo, estudantes de pós-graduação e graduação, tanto da UFRJ, quanto de outras instituições de ensino, além de entes privados.

O Rio de Janeiro foi pioneiro na elucidação da estrutura de proteínas em solução por RMN no Brasil. Em 1996, o Professor Jerson Lima da Silva liderou um grupo de pesquisadores para adquirir dois espectrômetros de RMN e assim iniciar a área

4.3 - STRUCTURAL BIOLOGY UNIT

This chapter presents the capabilities of CENABIO in the field of Nuclear Magnetic Resonance of biomolecules. With its 6 high-resolution spectrometers, laboratories for biomolecule production and a team that is highly specialized in the structural biology of biomolecules, it offers both access and support to external users, including researchers, group leaders, and graduate and undergraduate students, both from UFRJ and elsewhere, in addition to private entities.

Rio de Janeiro was a pioneer in the elucidation of the structure of proteins in solution by NMR in Brazil. In 1996, Professor Jerson Lima da Silva led a group of researchers to acquire two NMR spectrometers and thus initiated the study of structural biology of biomolecules by NMR in Brazil. Dr. Silva had returned from an internship in the laboratory of Professor Jiri Jonas, who used NMR to study the effects of hydrostatic



Histórico da instalação dos espectrômetros de RMN de biomoléculas no CENABIO. Crédito: Arquivo CENABIO. / Time line of the installation of biomolecules NMR spectrometers at CENABIO. Credit: CENABIO Archive.

de biologia estrutural de biomoléculas por RMN no Brasil. O Professor Jerson Lima da Silva havia retornado de um estágio no laboratório do Professor Jiri Jonas, que utilizava RMN para estudar efeitos de pressão hidrostática em proteínas. O projeto de aquisição dos espectrômetros de RMN foi submetido pela UFRJ e então aprovado pela FINEP (Financiadora de Estudos e Projetos).

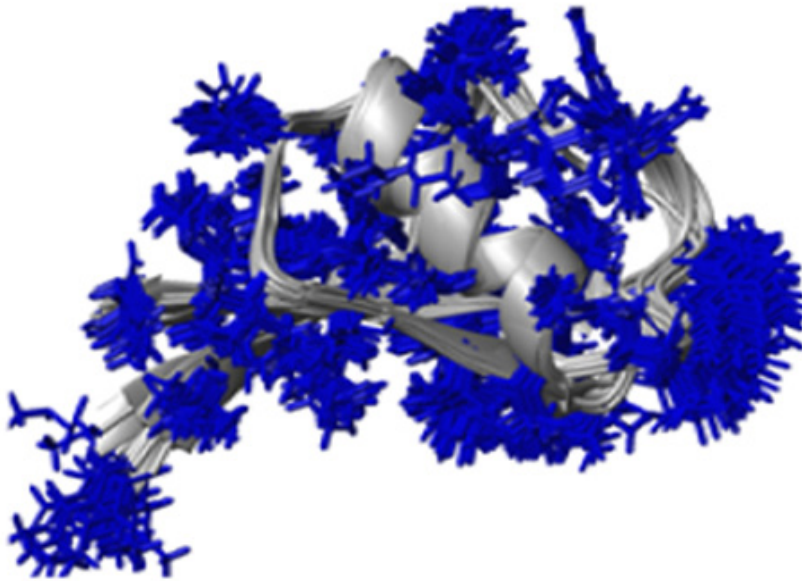
A empresa Bruker foi a vencedora da licitação e devido à habilidosa negociação realizada pelo Professor Jerson Lima da Silva dois excelentes espectrômetros foram adquiridos, um operando a 600 e outro a 400 MHz de frequência de próton e ainda estão em funcionamento até a data de publicação deste livro. No final de 1996, os Professores Fábio Ceneviva Lacerda de Almeida e Ana Paula Valente — que tinham experiência tanto no doutorado como pós-doutorado com a ressonância magnética nuclear de biomoléculas — haviam retornado ao Brasil e a convite do Professor Jerson Lima da Silva se associaram ao “embrião” do que viria ser o Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear — Jiri Jonas, coordenando a instalação, manutenção e treinamento para a utilização dos equipamentos. As instalações para os dois magnetos foram adaptadas em uma grande sala de aula de pouco mais de 120 m², incluindo espaço de laboratório para preparo de amostras, e os equipamentos, de fato, funcionaram muito bem para a aquisição de dados para caracterização da conformação de diversas biomoléculas, entre elas algumas proteínas foco dos grupos nascentes dos professores cofundadores do CENABIO, Fábio Ceneviva Lacerda de Almeida e Ana Paula Valente.

A proteína Psd1, uma defensina antifúngica de planta (*Pisum sativum*), foi primeira biomolécula com estrutura determinada usando dados coletados exclusivamente no Brasil e fazia parte da tese de doutorado do atual Professor Marcius da Silva Almeida, que foi orientado pela Professora Eleonora Kurtenbach, além dos dois professores coordenadores e fundadores do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem. Essa estrutura foi depositada com o código “1JKZ” no banco de dados Protein Data Bank, em 13 de julho de 2001.

pressure on proteins. The project for the acquisition of NMR spectrometers was submitted by UFRJ and then approved by the Brazilian funding agency FINEP.

The Bruker company was the winner of the bids for spectrometers, and due to the skillful negotiation carried out by Dr. Silva, two excellent spectrometers were acquired, one operating at 600 MHz and the other at 400 MHz of proton frequency, and were still in operation at the time this book was published. At the end of 1996, professors Fabio Ceneviva Lacerda de Almeida and Ana Paula Valente, both with doctoral and postdoctoral experience with nuclear magnetic resonance of biomolecules, returned to Brazil at the invitation of Dr. Silva and joined the “embryo” of what would become the Jiri Jonas National Center for Nuclear Magnetic Resonance, coordinating the installation, maintenance and training for the use of the equipment. These two magnets were first installed in the UFRJ Health Sciences Center in a large classroom of just over 120 m² that included laboratory space for sample preparation, and in fact worked very well for data acquisition to characterize the conformation of several biomolecules. Some of the first target proteins for the new instruments were isolated by the nascent groups of Professors Almeida and Valente.

*The Psd1 protein, an antifungal plant defensin (*Pisum sativum*), was the first biomolecule with a structure determined using data collected exclusively in Brazil and was part of the doctoral thesis of current professor Marcius da Silva Almeida, supervised by professor Eleonora Kurtenbach, and by the two coordinating professors and co-founders of the National Center for Structural Biology and Bioimaging. This structure was deposited with the code “1JKZ” in the Protein Data Bank on July 13, 2001.*



Conjunto de modelos que representa a estrutura tridimensional da Psd1, uma defensina de planta, que teve sua estrutura determinada no Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem em 2001, a primeira por RMN no Brasil. Código no PDB: 1JKZ. Azul indica as cadeias laterais dos aminoácidos; cinza representa a cadeia principal da proteína. Crédito: Arquivo CENABIO. / *Bundle of models that represent the three-dimensional structure of Psd1, a plant defensin, whose structure was determined at the National Center for Structural Biology and Bioimaging in 2001, the first by NMR in Brazil. PDB Id.: 1JKZ. Blue indicates the amino-acid sidechains; gray denotes the protein backbone. Credit: CENABIO archive.*

Nesta mesma época, o CENABIO já atraía a atenção do mundo com publicações em revistas científicas dos trabalhos de caracterização de biomoléculas por RMN e apresentações em congressos internacionais, o que chamou a atenção do Professor Kurt Wüthrich, trazendo-o para uma visita ao CENABIO ainda no início de 2001. O Professor Kurt Wüthrich, que viria a receber o Prêmio Nobel de Química em 2002, teve papel fundamental no desenvolvimento da técnica de RMN de biomoléculas, e a partir dessa visita, de certa forma, juntou sua história com a do CENABIO até os dias atuais. As visitas do Laureado à América do Sul incluíam uma visita ao Rio de Janeiro e ao CENABIO para reencontrar a equipe pioneira da biologia estrutural de biomoléculas por RMN do Brasil e discutir ciência em âmbito mundial.

At the same time, the National Center for Structural Biology and Bioimaging was already attracting attention with publications in scientific journals on the characterization of biomolecules by NMR and presentations at international conferences. Among the interested observers was Professor Kurt Wüthrich, who visited the National Center for Structural Biology and Bioimaging at the beginning of 2001. Dr. Wüthrich, who would receive the Nobel Prize in Chemistry in 2002, played a fundamental role in developing the use of biomolecular NMR. After this visit, Professor Wüthrich became an integral part of the history of the National Center for Structural Biology and Bioimaging. His visits to South America included Rio de Janeiro and the National Center for Structural Biology and Bioimaging, to reconnect with Brazil's pioneering team in the structural biology of biomolecules by NMR and to discuss science worldwide.

At that time, a very favorable environment for the scientific development of the two groups associated with the National Center for Structural Biology and Bioimaging was created, which leveraged the training of several researchers with unique know-how for the characterization of the conformation of biomolecules by nuclear magnetic resonance, including researchers and professors hired at UFRJ and at the Oswaldo Cruz Foundation research institute (Fiocruz) who are part of the critical mass of CENABIO collaborators. Among these are professors Gisele Cardoso de Amorim, MSc and PhD in 2001 and 2007, Cristiane Dinis Ano Bom, MSc and PhD in 2002 and 2006, Anderson de Sá Pinheiro, MSc and PhD in 2003 and 2007, and Francisco Gomes Neto, MSc and PhD in 2005 and 2009.

In 2003, a new instrument was purchased with funds from CT-Infra, spectrometer of 800 MHz that uses extremely advanced technology to maintain its highly stable magnetic field. To install this equipment, it was necessary to create a dedicated space. For this purpose, UFRJ, together with FAPERJ, provided the funds to construct a building totally dedicated to NMR devices. The building met the specific needs of spectrometers, including central air conditioning, a diesel generator and a dedicated nitrogen tank for liquid and gas supply. This building not only allowed the expansion of the NMR spectrometer park, but also represented the physical

Foi criado nessa época um ambiente muito favorável ao desenvolvimento científico dos dois grupos associados ao CENABIO, o que alavancou a formação de vários pesquisadores com know-how único para a caracterização da conformação de biomoléculas por ressonância magnética nuclear, incluindo pesquisadores e professores contratados em unidades da UFRJ e Fiocruz e que fazem parte da massa crítica de colaboradores do CENABIO. Entre esses se incluem os Professores Gisele Cardoso de Amorim, Mestrado e Doutorado em 2001 e 2007; Cristiane Dinis Ano Bom, Mestrado e Doutorado em 2002 e 2006; Anderson de Sá Pinheiro, Mestrado e Doutorado em 2003 e 2007; e Francisco Gomes Neto, Mestrado e Doutorado em 2005 e 2009.

Em 2003, um novo equipamento foi adquirido com verba do CT-Infra, um 800 MHz que utiliza tecnologia extremamente avançada para manter seu elevado campo magnético estável. Para instalação desse equipamento foi necessária a criação de um espaço dedicado a isso. Nesse sentido, a UFRJ junto com a FAPERJ disponibilizaram contrapartida financeira para construir um prédio totalmente dedicado aos aparelhos de RMN. O prédio foi construído para atender a necessidades específicas dos espectrômetros, incluindo ar-condicionado central, gerador a diesel e um tanque de nitrogênio para abastecimento de líquido e gás. O prédio não só previa a ampliação do parque de espectrômetros de RMN, mas representou o primórdio físico do CENABIO, sendo o primeiro prédio construído dessa unidade multiusuária.

Em 2010, uma nova iniciativa foi realizada com a aprovação de outro CT-Infra e para aquisição dos espectrômetros de 500 MHz e 700 MHz, este último com todos os acessórios para a realização de experimentos em estado líquido e sólido.

Em 2012, frente ao grande sucesso do CENABIO na utilização dos espectrômetros de RMN para desenvolvimento científico e tecnológico do Brasil, foi submetida ao final de 2012 a proposta de aquisição de espectrômetro de 900 MHz para a UFRJ, em vista do edital do MCTI/FINEP/CT-INFRA 01/2013. Este projeto, coordenado pelo diretor do CENABIO, Professor Adalberto Vieyra, foi aprovado com mérito na UFRJ e apoiado pela FINEP e FAPERJ. No final de 2016, o espectrômetro

beginnings of CENABIO, being the first building for this multi-user unit.

In 2010, a new initiative was carried out, with approval of another CT-Infra and for the acquisition of 500 MHz and 700 MHz spectrometers, the latter with all the accessories for carrying out experiments in liquid and solid states.

Given the great success of the National Center for Structural Biology and Bioimaging in the use of NMR spectrometers for scientific and technological development in Brazil, a proposal was submitted at the end of 2012 to acquire a 900 MHz spectrometer for UFRJ, in view of the MCTI/FINEP/CT-INFRA public notice 01/2013. This project, coordinated by the director of CENABIO, Dr. Vieyra, was approved at UFRJ and then supported by FINEP and FAPERJ. In 2017, the spectrometer was installed at UFRJ, and since then it has been fully functional in the acquisition of data on the structure of biomolecules for the studies of several fundamental aspects of biochemistry, often associated with diseases such as COVID-19, Zika, dengue, cancer and neurodegeneration in age-related diseases.

Since the foundation of the National Center for Structural Biology and Bioimaging to the present day of CENABIO, professors Jerson Lima da Silva, Fabio Ceneviva Lacerda de Almeida and Ana Paula Valente continue to train graduate students and develop research in the area of NMR, extending a legacy that began in 1998.

The National Center for Nuclear Magnetic Resonance/CENABIO at UFRJ is still a reference in Latin America for the determination of protein structure and dynamic evaluation by NMR. The National Center for Structural Biology and Bioimaging/CENABIO has six NMR instruments operating at 900, 800, 700, 600, 500 and 400 MHz, fully equipped to carry out research related to understanding the structure of micro- or macromolecules.

The National Center for Structural Biology and Bioimaging/CENABIO is located at the Health Sciences Center of the Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), and currently occupies an annex that houses all the devices and the computer center for data analysis. CENABIO is associated with researchers from several UFRJ units (Institute of Medical Biochemistry, Institute of Nutrition, Institute for Research on Natural Products, Carlos Chagas Filho Institute of Biophysics,

chegou à UFRJ, sendo instalado em 2017. Sua inauguração contou com a presença do Professor Kurt Wüthrich, ganhador do Prêmio Nobel de Química pelo desenvolvimento da técnica de RMN para determinação da estrutura de biomoléculas. O Professor Kurt Wüthrich é um colaborador das pesquisas em RMN de biomoléculas no Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem e pesquisador visitante do CENABIO. Na ocasião foi concedido um certificado assinado em conjunto pelo Diretor do CENABIO, Professor Adalberto Vieyra, responsável e coordenador do projeto de aquisição do espectrômetro de 900 MHz, além dos Professores Fábio Almeida, Diretor e cofundador do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem, e Marcius Almeida, então Diretor de pesquisa do CENABIO. Dede então, o equipamento tem funcionado plenamente na aquisição de dados de estrutura de biomoléculas para os estudos de diversos aspectos fundamentais da bioquímica, muitas vezes associados a doenças como Covid-19, Zika, Dengue, Câncer e neurodegeneração causada por doenças relacionadas ao envelhecimento.



Chegada do espectrômetro de 900 MHz no CENABIO em dezembro de 2016. Crédito: Arquivo CENABIO. /



Certificado ao Professor Kurt Wüthrich de participação no evento de inauguração do espectrômetro de 900 MHz. /

Institute of Microbiology, University Hospital Clementino Fraga Filho, Institute of Chemistry). CENABIO serves, in a multi-user form, groups from UFRJ and other entities, such as FIOCRUZ, University of São Paulo, UFRRJ, UNESP, UERJ, and UNICAMP, among other institutions.

Equipment: NMR spectrometers from 400 MHz to 900 MHz

The NMR spectrometers installed at CENABIO are equipped for the acquisition of spectra of multiple nuclei (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{32}P , among others) and therefore can be used for conformational characterization of all biomolecules. The possibility of using several different fields, 900, 800, 700, 600, 500 and 400 MHz, makes the structure of CENABIO unique for detailed studies of molecular dynamics, a fundamental property for the activity of biomolecules.

Each spectrometer installed has some specific configuration that allows for more specific applications. The 400 MHz spectrometer has a wide frequency probe, which allows the analysis of a greater number of nuclei, for example present

Da fundação do CENABIO até os dias atuais, os Professores Jerson Lima da Silva, Fábio Ceneviva Lacerda de Almeida e Ana Paula Valente continuam formando pós-graduandos e desenvolvendo pesquisa na área de RMN, sempre ampliando o legado dessa criação de 1998.

O Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear do CENABIO ainda é uma referência na América Latina para a determinação de estrutura de proteínas e de avaliação dinâmica por RMN. O CENABIO tem seis equipamentos de RMN operando a 900, 800, 700, 600, 500 e 400 MHz, totalmente equipados para realizar pesquisas relacionadas à compreensão da relação da estrutura de micro ou macromoléculas.

Estão associados ao CENABIO pesquisadores de várias Unidades da UFRJ (Instituto de Bioquímica Médica, Instituto de Nutrição, Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Instituto de Microbiologia, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Instituto de Química). O CENABIO atende, sob forma de caráter multiusuário, os grupos da UFRJ e grupos externos, como Fiocruz, Universidade de São Paulo, UFRRJ, UNESP, UERJ, UNICAMP, dentre outras instituições.

Equipamentos: Espectrômetros de RMN de 400 MHz a 900 MHz

Os espectrômetros de RMN instalados no CENABIO estão equipados para aquisição de espectros de múltiplos núcleos (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{32}P , entre outros) e por isso podem ser usados para caracterização conformacional de todas as biomoléculas. A possibilidade de usar vários campos distintos, 900, 800, 700, 600, 500 e 400 MHz, torna a estrutura do CENABIO única para estudos detalhados de dinâmica molecular, uma propriedade fundamental para a atividade das biomoléculas.

Cada espectrômetro instalado ainda possui alguma configuração específica que permite aplicações ainda mais específicas. O espectrômetro de 400 MHz possui uma sonda de ampla frequência que permite a análise de um maior número de núcleos, por exemplo, presente em moléculas organometálicas. O espectrômetro de 500 MHz possui trocador automatizado de amostras, o que permite análises de larga escala, por

in organometallic molecules. The 500 MHz spectrometer has an automated sample changer, which allows large-scale analyses, for example for metabolomics and identification of target protein-binding molecules, for drug development. The 600 MHz spectrometer has a cryogenic probe, which increases the sensitivity of this equipment by up to five fold, allowing the acquisition of data on very diluted biomolecules and identification of diluted contaminants in samples. The 700 MHz spectrometer is capable of acquiring data from solid samples, for example from toxic protein aggregates. The 800 and 900 MHz spectrometers, which have a higher magnetic field, have high sensitivity and resolution compared to all others, being indicated for data acquisition of relatively larger biomolecules, since they have such complex spectra that they can not be resolved in spectrometers of lower field. Spectrometer users also have data acquisition and analysis software, including the AMIX software license, developed for the analysis of metabolomics experiments.

These instruments are in operation 24 hours a day, collecting data from different samples, serving directly to research groups that are developing scientific work and partners from the private sector, which in general are interested in the development and quality control of pharmaceutical products, such as biopharmaceuticals.

The 900 MHz nuclear magnetic resonance (NMR) spectrometer, installed in February 2017 at CENABIO, is the only one in Latin America. For UFRJ, this equipment guarantees professors, researchers and graduate and undergraduate students, access to the newest technologies in the structural biology of macromolecules. As an example, there are studies carried out by UFRJ professors to elucidate “invisible” states of protein conformation of extremely short duration, but fundamental in protein activity. Also with this equipment, research groups from UFRJ and many other institutions in the country and abroad have the opportunity to characterize macromolecule structures within cells. Finally, studies of protein complexes, responsible for the signaling of cellular processes, can be characterized using this 900 MHz spectrometer. Thus, with this equipment, UFRJ is able to ensure access to one of the most elaborate NMR technologies that currently exist to unravel the molecular mechanism of the functioning of living organisms, as well as pathologies such as Zika and dengue.

exemplo, para metabolômica e identificação de moléculas ligantes de proteínas alvo para o desenvolvimento de fármacos. O espectrômetro de 600 MHz possui sonda criogênica, que aumenta em até cinco vezes a sensibilidade desse equipamento, permitindo a aquisição de dados de biomoléculas muito diluídas e identificação de contaminantes diluídos em amostras. O espectrômetro de 700 MHz possui capacidade para aquisição de dados de amostras sólidas, por exemplo, de agregados tóxicos proteicos. O espectrômetro de 800 e de 900 MHz que possuem maior campo magnético possuem alta sensibilidade e resolução comparados a todos os outros, sendo indicados para aquisição de dados de biomoléculas relativamente maiores, uma vez que essas possuem espectros tão complexos que poderiam não ser resolvidos nos outros espectrômetros de campo mais baixo. Os usuários dos espectrômetros ainda contam com software de aquisição e análise de dados, incluindo a licença do software AMIX, desenvolvido para análise de experimentos de metabolômica.

Esses equipamentos ficam em funcionamento 24 horas por dia, coletando dados de diferentes amostras, servindo diretamente a grupos de pesquisa que estão desenvolvendo trabalhos científicos e parceiros da iniciativa privada, que, em geral, estão interessados no desenvolvimento e controle de qualidade de produtos farmacêuticos, como os biofármacos.

O espectrômetro de RMN de 900 MHz, instalado em fevereiro de 2017, no CENABIO, é o único da América Latina. Para a UFRJ esse equipamento garante aos docentes pesquisadores e alunos de pós-graduação e graduação acesso às mais novas tecnologias da biologia estrutural de macromoléculas. Como exemplo, há pesquisas realizadas por docentes da UFRJ para elucidar estados "invisíveis" da conformação de proteínas de duração extremamente curta, mas fundamentais na atividade de proteínas. Também com esse equipamento, os grupos de pesquisa da UFRJ e de muitas outras instituições do país e do exterior têm oportunidade de caracterizar estruturas de macromoléculas dentro de células. Por fim, estudos de complexos proteicos, responsáveis pela sinalização de processos celulares, são passíveis de serem caracterizados com o uso deste espectrômetro de 900 MHz. Assim, com esse equipamento, a

In Brazil, CENABIO is a reference in NMR of biological proteins and macromolecules. In the context of the multi-user mission of this unit, the 900 MHz spectrometer fulfills the purpose of maintaining this national leadership, attracting several researchers in the area of structural biology of macromolecules to collect data in equipment with specifications above any other installed in the southern hemisphere. This interchange allows for the acquisition of data that were previously very scarce due to the limitations of the equipment. In addition, the exchange of ideas and knowledge between professors and students from UFRJ and other institutions is encouraged, which often culminates in the development of collaborations, thus further increasing the projection and insertion of UFRJ in world science and technology. Finally, it directly reflects the great participation of UFRJ in the training of highly qualified personnel at the forefront of knowledge.

At the international level, the 900 MHz spectrometer greatly reduces technological asymmetries, thus allowing the application of the latest advances obtained over the years in the field of structural biology. In practice, this catalyzes the insertion of internationally renowned researchers in CENABIO. Thus, important international cooperations, such as the one established through the "Science Without Borders (CsF)" program, with Nobel Prize winner Dr. Kurt Wüthrich are highly stimulated by the presence of the 900 MHz spectrometer. Professor Wüthrich remains established as Visiting Professor at UFRJ and has acted as advisor for a doctoral thesis defended in Brazil in February 2017, in the postgraduate program in Biological Chemistry of the Institute for Medical Biochemistry Leopoldo de Meis at UFRJ.

To demonstrate the gain that a 900 MHz instrument can provide in experimental data, Figure X compares two spectra collected from the same sample, but in spectrometers of 500 or 900 MHz. As can be seen, the gain of resolution and sensitivity is very high for the spectrum collected in the 900 MHz spectrometer. In this example it is possible to identify signals that are not visible in the spectrum collected at 500 MHz. With the use of specific pulse sequences such as TROSY and CRINEPT, the sensitivity and resolution increase to another level, which allows the study of biomolecules in complexes of molecular mass up to 1 MDa, that is, 40 times greater than what is possible in spectrometers with a lower field.

UFRJ está apta para assegurar acesso a uma das tecnologias de RMN mais elaboradas que existem atualmente para desvendar o mecanismo molecular do funcionamento dos organismos vivos, assim como de patologias, tais como Zika e Dengue.

No Brasil, o CENABIO é uma referência em RMN de proteínas e macromoléculas biológicas. Relativamente à missão multiusuária dessa Unidade da UFRJ, o espectrômetro de 900 MHz cumpre o propósito de manter a liderança nacional, atraindo diversos pesquisadores da área de biologia estrutural de macromoléculas para a coleta de dados em um equipamento com especificações acima de qualquer outro instalado no Hemisfério Sul. O intercâmbio de pesquisadores permite a aquisição de dados outrora pouquíssimo explorados devido às limitações de outros equipamentos. Além disso, é fomentada a troca de ideias e conhecimento entre docentes e discentes da UFRJ e de outras Instituições, o que frequentemente culmina com a formalização de colaborações, ampliando ainda mais a projeção e a inserção da UFRJ na ciência e na tecnologia mundiais. Reflete por fim, diretamente, a grande participação da UFRJ na formação de pessoal altamente qualificado na vanguarda do conhecimento.

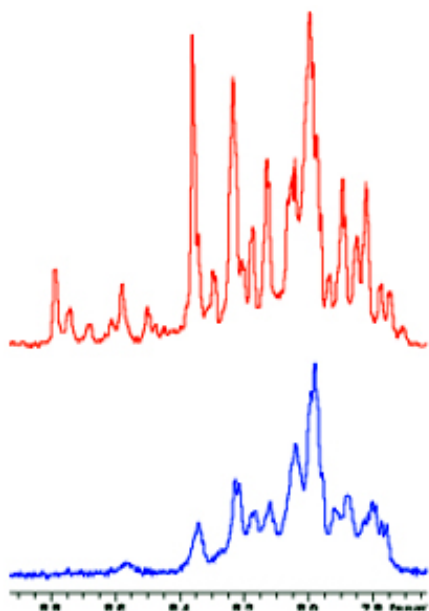
No âmbito internacional, o espectrômetro de 900 MHz diminui muito assimetrias tecnológicas, permitindo a aplicação dos mais novos avanços obtidos ao longo dos anos no campo da biologia estrutural. Na prática, isso catalisa a inserção de pesquisadores de alto renome internacional no CENABIO. Assim, importantes cooperações internacionais, tais como a estabelecida por meio do programa “Ciência Sem Fronteiras” com o Prêmio Nobel Dr. Kurt Wüthrich, são altamente estimuladas pela presença do espectrômetro de 900 MHz. O Professor Kurt Wüthrich continua estabelecido como professor visitante da UFRJ e atuou como orientador de uma tese de doutorado defendida no Brasil, em fevereiro de 2017, pelo programa de pós-graduação em Química Biológica do Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, na UFRJ.

Para demonstrar o ganho que um equipamento de 900 MHz pode fornecer em um dado experimental, foi incluída uma figura comparando dois espectros coletados no CENABIO da mesma amostra, mas nos espectrômetros de 500 ou 900 MHz. Como



Espectrômetro de 900 MHz, único na América Latina, instalado no CENABIO. Crédito: Arquivo CENABIO. / *900 MHz spectrometer, unique in Latin America, installed at CENABIO. Credit: CENABIO archive.*

pode ser observado, o ganho de resolução e sensibilidade é altíssimo para o espectro coletado no espectrômetro de 900 MHz. Nesse exemplo é possível identificar sinais que não são visíveis no espectro coletado a 500 MHz. Com o uso de sequências de pulso específicas como TROSY e CRINEPT, a sensibilidade e resolução são elevadas para outro patamar, o que permite o estudo de biomoléculas em complexos de até 1 MDa, ou seja, 40 vezes maior do que o possível em espectrômetros de menor campo.



Comparação de dois espectros de ^1H de uma biomolécula de peso molecular relativamente alto, de 25 kDa. O espectro em vermelho foi coletado no espectrômetro de 900 MHz, enquanto o azul, no de 500 MHz. Crédito: Arquivo CENABIO. / ^1H spectra of a relatively high molecular weight (25 kDa) biomolecule. The red spectrum was collected on a 900 MHz spectrometer while the blue one was collected at 500 MHz. Credit: CENABIO archive.

O CENABIO possui todas as ferramentas necessárias para estudos de biomoléculas. Os espectrômetros possuem consoles que são de última geração (Avance III), o que significa que nessa plataforma a geração de radiofrequência e os receptores são digitais com alta velocidade, permitindo a aquisição de dados de forma mais eficiente. Dessa forma, os espectros apresentam uma diminuição do ruído que era gerado com a plataforma analógica anterior. Essas características permitem uma grande velocidade e flexibilidade dos espectrômetros, o que realiza a execução de experimentos para determinação estrutural e outros ainda mais sofisticados

The National Center for Structural Biology and Bioimaging/CENABIO has all the necessary tools for studying biomolecules. The spectrometers have state-of-the-art consoles (Avance III) which means that on this platform, the radio frequency generation and the receivers are digital with high speed, allowing for more efficient data acquisition. In this way, the spectra present a decrease in the noise that was generated with the previous analog platform. These characteristics allow a great speed and flexibility of the spectrometers, allowing the execution of experiments for structural determination and others even more sophisticated. Examples include: 1- Experiments of fast acquisition, including APSY, Hadamart, GFT and “projection reconstruction”. These techniques aim to reduce the acquisition time of experiments. The lower noise level and inherent stability of digital devices, combined with the ability to program pulse sequences and processing, make these techniques easy to implement; 2- Simultaneous acquisition of several NMR frequencies. The digital architecture allows the extension to multiple receivers, which allows the rapid acquisition of 1- or 2-dimensional data using the “dual-receiver” arrangement; 3- Solid-state applications. The ready access to different combinations of phase (25 ns), frequency and amplitude leads to the accuracy and high precision of RF and solid-state decoupling and recoupling experiments.

Determination of molecular structure

A fundamental application of nuclear magnetic resonance is the characterization of the three-dimensional structure of molecules. At CENABIO, there is a focus on the study of biomolecules, especially proteins. In this sense, since the establishment of the method by Professor Wüthrich in the mid-1980s, approximately 12,000 proteins have had their structures determined by this technology, mostly in aqueous solution, in different research centers around the world. With the characterization of the conformation of biomolecules, it is possible to describe their mechanisms of action and, with that, to identify possible modes of pharmacological intervention in the activity of a protein.

To determine a three-dimensional structure, a series of NMR spectra of the sample is acquired. The analysis of these spectra by the specialist allows the association of each signal to an atom of the molecule. Then, spectral data are identified that

como: 1 – Experimentos de rápida aquisição, como APSY, Hadamart, GFT e projection reconstruction. Essas técnicas visam à redução do tempo de aquisição dos experimentos. A pureza e estabilidade dos aparelhos digitais, combinadas com a capacidade de programar sequências de pulso e processamento tornam fácil a implementação dessas técnicas; 2 – Aquisição simultânea de várias frequências de RMN. A arquitetura digital permite a extensão para múltiplos receptores, o que realiza a rápida aquisição de dados de uma ou duas dimensões utilizando o arranjo dual-receiver; 3 – Aplicações em estado sólido. A possibilidade de alterar a fase (25 ns), frequência e amplitude levam à acurácia e alta precisão de RF e experimentos de desacoplamento e reacoplamento em estado sólido.

Determinação da estrutura molecular

Uma aplicação fundamental da ressonância magnética nuclear é a caracterização da estrutura tridimensional das moléculas. No CENABIO, existe um foco para estudo de biomoléculas, em especial proteínas. Nesse sentido, desde o estabelecimento do método pelo Professor Kurt Wüthrich, em meados da década de 1980, aproximadamente 12.000 proteínas tiveram suas estruturas determinadas por essa tecnologia, em sua maioria em solução aquosa, em diferentes centros de pesquisa do mundo. Com a caracterização da conformação das biomoléculas é possível descrever seus mecanismos de ação e até identificar possíveis modos de intervenção farmacológica na atividade de uma proteína.

Diversos alvos proteicos já tiveram sua estrutura determinada no CENABIO por algum dos grupos que trabalham diretamente nesse Centro ou de colaboradores que utilizaram as suas capacidades.

Para determinação da estrutura tridimensional são adquiridos uma série de espectros de RMN da amostra. A análise desses espectros pelo especialista permite a associação de cada sinal a um átomo da molécula. Em seguida são identificados dados espectrais que fornecem dados de distância interatômica e de ângulos de diedro entre ligações químicas. De posse desses dados, são usados programas de dinâmica molecular com restrição conformacional com base nos

provide information about inter-atomic distance and dihedral angles between chemical bonds. With these data, molecular dynamics programs with conformational constraint based on the experimental data are used to calculate structural models.

A selection of protein targets that have had their structure determined at CENABIO either by in-house groups or visitors is presented later in this chapter (Page XX).

Molecular dynamics

NMR is a unique methodology for structural studies in solution. Knowledge of protein structures makes it possible to understand complex biological mechanisms at the molecular level. Today, it is known that the biological mechanisms of molecular recognition involve not only highly populated states of proteins, but also low populated states, called excited states. These excited states are identified by specific NMR experiments, developed by Professor Dmitry Korzhnev, one of the collaborators at CENABIO.

Data on conformational dynamics, identified by NMR spectra, are fundamental for the complete description of the mechanism of action of biomolecules and involve different types of conformational flexibility that can be determined at different scales of amplitude and frequency by NMR. Therefore, molecular models determined by NMR often include both quantitative and qualitative molecular dynamics data.

Molecular interactions

Biological mechanisms involve molecular recognition, usually mediated by proteins. The structural determination of proteins allows a detailed understanding of the mechanisms involved in their interaction with other biomolecules. Generally, the protein structure (static) does not fully explain its biological function, as it is known that this is intrinsically associated with its dynamics. Several examples show that proteins experience conformations of different energies, known as ground and excited states, and this balance is the modulator of biological function.

Molecular recognition between proteins, or between proteins and other biomolecules such as nucleic acids or smaller molecules such as metabolites or drugs integrates experimental data on structure and dynamics with data obtained in real time by interaction NMR. For this, experiments are used that

dados experimentais para calcular os modelos estruturais.

Um grupo de proteínas que tiveram suas estruturas determinadas no CENABIO, tanto pelos grupos dessa unidade multiusuário como de grupos externos, é apresentado na página **XX**.

Dinâmica molecular

A RMN é uma metodologia única para estudos estruturais em solução. As estruturas das proteínas permitem compreender mecanismos biológicos complexos em âmbito molecular. Hoje, sabe-se que os mecanismos biológicos de reconhecimento molecular envolvem não somente os estados altamente populados das proteínas, mas também estados pouco populados, ditos estados excitados. Estes estados excitados são identificados por experimentos específicos de RMN, desenvolvidos pelo Professor Dmitry Korzhnev, um dos colaboradores do CENABIO.

Os dados de dinâmica conformacional identificados por espectros de RMN são fundamentais para a descrição completa do mecanismo de ação das biomoléculas e envolvem diversos tipos de flexibilidade conformacional que podem ser determinados em diferentes escalas de amplitude e frequência por RMN. Por isso, frequentemente os modelos moleculares determinados por RMN incluem dados quantitativos e qualitativos da dinâmica molecular.

Interação molecular

Os mecanismos biológicos envolvem reconhecimento molecular, geralmente mediado por proteínas. A determinação estrutural de proteínas permite a compreensão em detalhes dos mecanismos envolvidos na interação dessas com outras biomoléculas. Geralmente, a estrutura da proteína (estática) não explica completamente sua função biológica, pois se sabe que esta é intrinsecamente associada à sua dinâmica. Vários exemplos mostram que as proteínas experimentam conformações de diferentes energias, conhecidas como estado fundamental e excitado, sendo este equilíbrio o modulador da função biológica.

O reconhecimento molecular entre proteínas, proteínas

indicate the interaction site, both in the target protein as well as the ligand, the interaction affinity, allosteric effects and, when necessary, the influence of solution properties on the interaction. A selection of such studies is presented later in this chapter.

Metabolomics by NMR

Metabolomics is at the heart of the information flow of the omics sciences. With this technology it is possible to discriminate different metabolites in samples such as blood, saliva and cells. Thus, a broad and accurate picture of metabolic states of an organisms can be constructed and one can determine the influence of external or intrinsic factors on his organism. These data can be applied to disease assessment, development of therapies and assessment of stress responses, to name a few examples.

NMR spectroscopy plays an important role in metabolomics, as it allows the non-destructive evaluation of the amount of a large number of molecules in a sample. These analyses are performed with specific spectra, generally collected for dozens of samples in the 500 MHz spectrometer, which has an automated refrigerated sample changer.

NMR for studying solids

Biological systems work through interactions established between different macromolecules present in cells. Such interactions can give rise to large molecular complexes, which are the effectors of responses triggered by stimuli to the cell, such as inflammation. In addition, communication between the extracellular and intracellular environments is carried out through proteins, mostly as multimers, forming channels or pores across the plasma membrane. The malfunction of these molecular complexes causes the loss of cellular homeostasis that results in a pathological process. Thus, the study of these supramolecular structures is of great interest to public health, as they are potential targets for the development of drugs that can restore cellular homeostasis or improve the general clinical condition of a patient, promoting a better quality of life. However, for a rational design of a compound that acts on a specific target, knowledge of the atomic structure of the target molecule is a prerequisite. To this end, there are few techniques that are available and capable of providing this information,

e outras biomoléculas, como ácidos nucleicos, ou moléculas menores, como metabólitos ou fármacos, integra os dados experimentais da estrutura e dinâmica com dados obtidos em tempo real por RMN de interação. Para tal são utilizados experimentos que indicam o local de interação, tanto na proteína alvo, assim como o ligante, a afinidade de interação, efeitos alostéricos e, quando necessário, a influência de propriedades da solução na interação. Alguns projetos nessa área são apresentados ao fim do capítulo.

Metabolômica por RMN

A metabolômica está no centro do fluxo de informação das ciências ômicas. Com essa tecnologia é possível discriminar diversos metabólitos em amostras, tais como sangue, saliva, células, entre outras. Assim, é construído um quadro amplo e preciso de estados metabólicos de organismos e determina a influência de fatores externos ou intrínsecos neste organismo. Os dados podem ser aplicados para avaliação de doenças, desenvolvimento de terapias, avaliação de respostas ao estresse, para citar alguns exemplos.

A espectroscopia de RMN tem um papel de destaque na metabolômica, pois permite avaliar com grande precisão uma grande quantidade de moléculas em uma amostra, de forma não destrutiva. Estas análises são feitas com espectros específicos, geralmente coletados para dezenas de amostras no espectrômetro de 500 MHz, que possui amostrador automatizado refrigerado.

RMN para estudo de sólidos

Os sistemas biológicos funcionam através de interações estabelecidas entre diferentes macromoléculas presentes nas células. Tais interações podem dar origem a grandes complexos moleculares, os quais são os efetores das respostas disparadas por estímulos à célula, tais como inflamação. Além disso, a comunicação entre os ambientes extracelular e intracelular é realizada por meio de proteínas, em sua maior parte, como multímeros, formando canais ou poros através da membrana plasmática. O mau funcionamento desses complexos moleculares acarreta a perda da homeostase celular que

among them: X-ray crystallography, nuclear magnetic resonance and cryo-electron microscopy. Each of them has different limitations to the type of sample that can be used. In this section, the solid-state magnetic resonance technique will be discussed, which has been used at the National Center for Structural Biology and Bioimaging at CENABIO, in the study of large molecular complexes involved in pathologies such as amyloidosis, inflammation and viral infections.

Solid-state nuclear magnetic resonance is a technique that still requires a high degree of technical preparation from the user, from a theoretical and equipment handling point of view. Thus, the wide implementation of this technique in laboratories is not trivial, especially in the field of biomolecules. Within this context, the training of human resources is fundamental. At CENABIO, the Biological Solid-State NMR research group coordinated by Dr. Mônica Santos de Freitas has been working with this technique and has collaborated with researchers from Minas Gerais, Rio de Janeiro and Berlin, Germany. The projects developed at CENABIO have involved undergraduate, master's and doctoral students and collaborating researchers primarily post-doctoral fellows, from Brazil and Germany. Currently, two graduate students, masters and doctoral, are applying solid state nuclear magnetic resonance in their projects.

The doctoral thesis of student Yohan Britto Kevorkian, which is confidential due to the Patent Feasibility Study (EVP), has the collaboration of a German researcher, Dr. Pascal Fricke, currently at the Leibniz-Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie. Dr. Fricke was in Brazil as a postdoctoral fellow in the group of Professor Mônica Santos de Freitas, from 2018 to 2019, with financial support from the prestigious Alexander von Humboldt Foundation. In addition to working on the EVP project, he also participated in a project involving the formation of murine prion protein aggregates in the presence of nucleic acids.

With the beginning of the COVID-19 pandemic, in collaboration with researchers from Fiocruz, the project involving the vaccine prototype in EVP, is being adapted for the study of SARS-CoV-2. In this project, Dr. Joaquim Teixeira, a post-doctoral fellow in the group of Professor Mônica Freitas, is responsible for the analysis of the vaccine prototype and the study of other viral proteins by solid-state nuclear magnetic resonance, as well as the part involving the cellular and

resulta em um processo patológico. Assim, o estudo dessas estruturas supramoleculares é de grande interesse para a Saúde Pública, pois são alvos em potencial para o desenvolvimento de medicamentos que possam restabelecer a homeostase celular ou melhorar o quadro clínico geral de um paciente, promovendo uma melhor qualidade de vida. Contudo, para um desenho racional de um composto que atue em um alvo específico tem-se o pré-requisito do conhecimento da estrutura atômica da molécula alvo. Para tal, poucas são as técnicas disponíveis com capacidade de fornecer essas informações, dentre elas podem ser citadas: cristalografia de raios X, ressonância magnética nuclear e microscopia crioeletrônica. Sendo que cada uma delas apresenta limitações diferentes ao tipo de amostra utilizada. Nesta seção será abordada a técnica de ressonância magnética de estados sólidos, a qual tem sido utilizada no CENABIO no estudo de grandes complexos moleculares, envolvidos em doenças como: amiloidoses, inflamação e desenho de vacinas baseadas na estrutura.

A ressonância magnética nuclear de estado sólido permite o estudo de grandes complexos moleculares. Contudo, é uma técnica que ainda requer um alto grau de preparo técnico do usuário do ponto de vista teórico e de manuseio do equipamento. Logo, a ampla implementação dessa técnica nos laboratórios não é trivial, principalmente, no campo das biomoléculas. Tornando-se fundamental a formação de recursos humanos habilitados. No CENABIO, o grupo de pesquisa Biological Solid-State NMR, coordenado pela Professora Mônica Santos de Freitas, tem trabalhado com essa técnica e colaborado com pesquisadores de Minas Gerais, do Rio de Janeiro e de Berlim, na Alemanha. Os projetos desenvolvidos no CENABIO têm envolvido estudantes de iniciação científica, mestrado, doutorado e pesquisadores colaboradores na função de pós-doutores, do Brasil e da Alemanha. Atualmente, dois estudantes de pós-graduação, mestrado e doutorado, estão aplicando a ressonância magnética nuclear de estado sólido em seus projetos.

A tese de doutorado do aluno Yohan Britto Kevorkian, que está sob sigilo devido ao Estudo de Viabilidade Patentária (EVP), conta com a colaboração do pesquisador alemão, Dr. Pascal Fricke, que, atualmente, está no Leibniz-Forschungsinstitut

adaptive immune response, in collaboration with the group of Dr. Marcelo Pinto from Fiocruz.

In the area of amyloidosis, CENABIO has participated in projects with researchers from different UFRJ units, as well as Germany. The study of protein interactions involved in Parkinson's disease and Alzheimer's disease has been the master's thesis project of student Gustavo Bacelar, in collaboration with researchers from different units of UFRJ, including professor Cristian Follmer, from the Institute of Chemistry.

In addition to training human resources, from the point of view of developing theses and dissertations, at CENABIO, solid-state magnetic resonance has been disseminated through courses and schools. In 2014, shortly after the installation of the 700 MHz spectrometer at CENABIO, training on the equipment was offered to researchers from several Brazilian states. In 2018, the Rio International School of Structural Biology was held. The school offered different practical courses involving multiple techniques, including solid-state nuclear magnetic resonance. The professors were researchers from Brazil, Germany and France, and the students were from different states of Brazil

References:

- de Freitas, M.S. et al. The protofilament architecture of a de novo designed coiled coil-based amyloidogenic peptide. JOURNAL OF STRUCTURAL BIOLOGY, v. 203, p. 263-272, 2018.*
- De Oliveira, G.A.P. et al. Structural basis for the dissociation of α -synuclein fibrils triggered by pressure perturbation of the hydrophobic core. Scientific Reports, v. 6, p. 37990, 2016.*
- Cino, E.A. et al. Backbone resonance assignments of the human p73 DNA binding domain. Biomolecular NMR Assignments, v. -, p. 1-3, 2015.*
- Alves, L. et al. Structural and Molecular Modeling Features*

für Molekulare Pharmakologie. Dr. Fricke esteve no Brasil como pós-doutorando no grupo da Professora Mônica Santos de Freitas, no período de 2018 a 2019, com suporte financeiro da prestigiada fundação alemã, a Fundação Alexander von Humboldt. Além de trabalhar no projeto em EVP, também participou do projeto envolvendo a formação de agregados da proteína príon de murino na presença de ácidos nucleicos.

Com o início da pandemia de Covid-19, em colaboração com pesquisadores da Fiocruz, o projeto envolvendo o protótipo vacinal em EVP está sendo adaptado para o SARS-CoV2. Desta forma, o pesquisador Dr. Joaquim Teixeira, pós-doutorando do grupo da Professora Mônica Freitas, é o responsável pelas análises do protótipo vacinal e do estudo de outras proteínas virais por ressonância magnética nuclear de estado sólido, bem como a parte envolvendo a resposta imune celular e adaptativa, em colaboração com o grupo do Dr. Marcelo Pinto, da Fiocruz.

Na área de amiloidoses, o CENABIO tem participado de projetos com pesquisadores de diferentes unidades da UFRJ, bem como da Alemanha. O estudo das interações de proteínas envolvidas na doença de Parkinson e na doença de Alzheimer tem sido o projeto de dissertação de mestrado do aluno Gustavo Bacelar, em colaboração com pesquisadores, de diferentes unidades da UFRJ, com o Prof. Cristian Follmer, do Instituto de Química.

Além de formação de recursos humanos, pelo ponto de vista de desenvolvimento de teses e dissertações, no CENABIO a ressonância magnética de estado sólido tem sido difundida por meio de cursos e escolas. Em 2014, um pouco após a instalação do espectrômetro de 700 MHz no CENABIO, foi oferecido um treinamento no equipamento para pesquisadores de vários estados do Brasil. Em 2018, foi realizada a Escola Internacional de Biologia Estrutural. Estudantes de diferentes estados do Brasil participaram da escola, que contou com diferentes cursos práticos, envolvendo múltiplas técnicas, incluindo ressonância magnética nuclear de estado sólido. Como professores, tivemos pesquisadores do Brasil, da Alemanha e da França.

RMN-Rio - Structure, dynamics, and function of proteins of biological and biotechnological interest. Prospecting for new potentially active compounds

In 2021 a network was formed with research groups in NMR of proteins formed in Rio de Janeiro (RMN-Rio), with the goal of building an infrastructure for screening drugs by NMR.

The initial focus chosen was drug screening for two important biological targets: peptidyl-prolyl cis-trans isomerase and ribose-5-phosphate isomerase. These enzymes are considered excellent pharmaceutical targets for Chagas disease, leishmaniasis, malaria and tuberculosis, with an impact on Rio de Janeiro and Brazil. Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase is a known and validated biological target in humans in the screening of fragments by NMR. Peptidyl-prolyl cis-trans isomerases from microorganisms diverge by about 40% in the primary sequence when compared to human orthologs, enabling the design of selective ligands. Ribose-5-phosphate isomerase is essential in the viability of organisms. In some microorganisms these enzymes are functionally analogous, but structurally divergent, thus being a target for drug design.

For ligand-screening projects, the group initially produces recombinant enzymes from human orthologs, protozoa and pathogenic bacteria (eg. T. cruzi, L. brasiliensis, M. tuberculosis). In addition, the focus on research into SARS-CoV-2 N protein ligands was initiated, due to the emergence of this virus in the pandemic that started in December 2019.

NMR methods for screening fragments are classified as either ligand-based or receptor-based methods. Receptor-based methods observe chemical shift perturbations that occur by ligand interaction typically in the HSQC or TROSY spectrum of the ¹⁵N-labeled receptor. Ligand-based

methods detect changes in ligand spectrum characteristics (relaxation, NOE, magnetization transfer) that occur upon receptor binding. These methods require much lower concentrations of receptor, absence of isotopic labeling or signaling resonances, and there are no limitations on receptor size. STD (saturation transfer difference) and Water-LOGSY experiments are used, which are based on the transfer of magnetization from the receptor to the ligands. With this procedure, it is possible to select target protein-binding fragments with low affinity. After sorting the fragments, the

Referências:

- ALVES, L. et al. Structural and Molecular Modeling Features of P2X Receptors. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 15, p. 4531-4549, 2014.
- CINO, E.A. et al. Backbone resonance assignments of the human p73 DNA binding domain. *Biomolecular NMR Assignments*, v. -, p. 1-3, 2015.
- DE FREITAS, M.S. et al. The protofilament architecture of a de novo designed coiled coil-based amyloidogenic peptide. *Journal of Structural Biology*, v. 203, p. 263-272, 2018.
- DE OLIVEIRA, G.A.P. et al. Structural basis for the dissociation of β -synuclein fibrils triggered by pressure perturbation of the hydrophobic core. *Scientific Reports*, v. 6, p. 37990, 2016.

RMN-Rio – Estrutura, dinâmica, função de proteínas de interesse biológico e biotecnológico. Prospecção de novos compostos potencialmente ativos

Foi formada uma rede com os grupos de pesquisa em RMN de proteínas formados no Rio de Janeiro (RMN-Rio) com o intuito principal de construir infraestrutura de triagem de fármacos por RMN.

O foco inicial escolhido foi a triagem de fármacos para dois importantes alvos biológicos: peptidil-prolil cis-trans isomerase e ribose-5-fosfato isomerase. Essas enzimas são consideradas excelentes alvos farmacêuticos para doença de Chagas, leishmanioses, malária e tuberculose, com impacto para o Rio de Janeiro e Brasil. A peptidil-prolil cis-trans isomerase é um alvo biológico conhecido e validado em humanos na triagem de fragmentos por RMN. As peptidil-prolil cis-trans isomerases de microrganismos divergem em cerca de 40% na sequência primária quando comparada as ortólogas humanas, possibilitando o desenho de ligantes seletivos. A ribose-5-fosfato isomerase é essencial na viabilidade dos organismos. Em alguns microrganismos essas enzimas são funcionalmente análogas, mas estruturalmente divergentes, sendo assim um alvo para desenho de fármacos.

molecules that bind to contiguous regions of the proteins can be combined to obtain leader compounds with higher affinity (dissociation constant around nM). These NMR drug-screening methods are widely used in pharmaceutical companies for drug development.

The researchers in this group are: Fábio Cenveviva Lacerda Almeida; Ana Paula Valente; Marcius da Silva Almeida; José Ricardo Murari Pires; Cristiane Dinis Anobom; Anderson de Sa Pinheiro; Francisco Gomes Neto; Tatiana El Bacha; Gisele Cardoso Amorim; Viviane de Paula.

Structures determined by NMR at CENABIO

The biomolecules with 3D structures determined at CENABIO are presented below, highlighting some of the most recent ones. Several of them had their conformations and molecular dynamics determined, but in other cases interaction sites were also identified and tested to characterize their mechanisms of action or identify new therapeutic options.

Peptidyl Prolyl cis-trans Isomerase FKBP12 – This is a chaperone-like protein from Mycobacterium tuberculosis that accelerates protein folding. This protein catalyzes the cis-trans isomerization of proline imidic bonds in proteins. The determined structure of FKBP12 from M. tuberculosis revealed that this protein has unique structural features that distinguish it from human homologs and therefore it may be an important molecular target for the treatment of tuberculosis.

Grb2 (Growth receptor-bound protein factor 2) – This is a key intracellular factor in the regulation of cell proliferation, differentiation and metabolism through integration with extracellular molecular signaling. This protein has multiple domains and flexible segments to be able to associate with various molecular partners. The determined structure of the SH2 domain, as well as the complex with a phosphopeptide, revealed the molecular characteristics of the interaction site as well as a diversity of conformational dynamics, which are fundamental to understanding the mechanism of phosphoprotein recognition.

Ixolaris – This is a tick saliva protein with a potent anticoagulant effect. It forms a complex with tissue factor, factor VIIa and factor Xa. Thus, ixolaris blocks tissue factor, preventing not only thrombosis, but also tumor growth and

Para projetos de triagem de ligantes, inicialmente o grupo produz enzimas recombinantes dos ortólogos humanos, protozoários e bactérias patogênicas (ex.: T. cruzi, L. braziliensis, M. tuberculosis). Além disso, foi iniciado o foco em pesquisa de ligantes da proteína N do SARS-CoV-2, devido à emergência desse vírus na pandemia iniciada em dezembro de 2019.

Os métodos de RMN para a triagem de fragmentos são classificados como métodos baseados no ligante ou no receptor. Métodos baseados no receptor observam perturbações de deslocamento químico que ocorrem pela interação do ligante tipicamente no espectro HSQC ou TROSY do receptor marcado com ^{15}N . Os métodos baseados no ligante detectam mudanças nas características do espectro do ligante (relaxação, NOE, transferência de magnetização) que ocorrem por ligação ao receptor. Esses métodos requerem concentrações muito menores do receptor, ausência de marcação isotópica ou assinalamento de ressonâncias e não há limitações quanto ao tamanho do receptor. São usados experimentos de STD (do inglês Saturation Transfer Difference) e Water-LOGSY, que se baseiam na transferência de magnetização do receptor para os ligantes. Com esse procedimento é possível selecionar fragmentos ligantes à proteína alvo com baixa afinidade. Após a triagem de fragmentos, as moléculas que se ligam em regiões contíguas das proteínas podem ser combinadas para a obtenção de compostos líderes de maior afinidade (constante de dissociação em torno de nM). Os métodos de triagem de fármacos por RMN tanto baseados na proteína, como nos ligantes, são amplamente utilizados em empresas farmacêuticas para o desenvolvimento de fármacos.

Os pesquisadores desse grupo são: Fábio Ceneviva Lacerda de Almeida; Ana Paula Valente; Marcius da Silva Almeida; José Ricardo Murari Pires; Cristiane Dinis Ano Bom; Anderson de Sá Pinheiro; Francisco Gomes Neto; Tatiana El-Bacha; Gisele Cardoso de Amorim; Viviane de Paula.

Estruturas determinadas por RMN no CENABIO

As biomoléculas com estruturas 3D determinadas no CENABIO são apresentadas a seguir, com destaque para algumas das mais recentes. Diversas tiveram suas conformações

immune activation. The structure and dynamics of ixolaris were both determined in order to elucidate this mechanism of action. The interaction between these biomolecules is primarily driven by electrostatic forces and an allosteric mechanism.

***CDNF (Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor)** – is able to reduce lesions in dopaminergic neurons of the substantia nigra, induced by 6-hydroxy-dopamine, in models for Parkinson's disease. Although the signaling pathway in which CDNF participates is still not well understood, this biomolecule appears to be a potential therapeutic target for Parkinson's disease and has been tested in clinical trials by the Finnish company Herantis Pharma. CDNF seems to act by reducing endoplasmic reticulum stress and also by directly interacting with α -synuclein to protect dopaminergic neurons. Determined by NMR, the structure of CDNF has two tightly folded domains connected by an intrinsically disordered segment. Regions on the surface of CDNF that resemble protein interaction sites were identified, as they concentrate hydrophobic residues and have intermediate flexibility.*



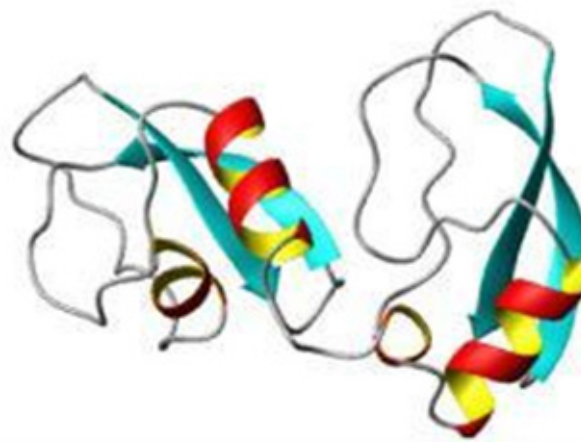
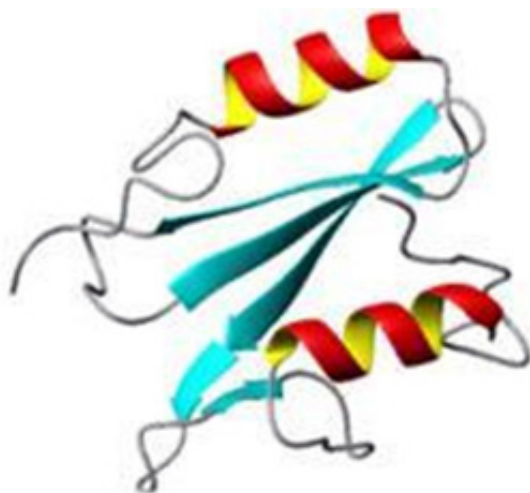
e dinâmica molecular determinadas, mas em vários casos também foram identificados e testados sítios de interação para caracterização dos seus mecanismos de ação ou identificação de novas opções terapêuticas.

Peptidyl Prolyl cis-trans Isomerase FKBP12 – Esta é uma proteína de *Mycobacterium tuberculosis* do tipo chaperona que acelera o enovelamento de proteínas. Essa proteína catalisa a isomerização cis-trans das ligações imídicas da prolina em proteínas. A estrutura determinada da FKBP12 de *M. tuberculosis* revelou que essa proteína possui características estruturais únicas que a distinguem dos homólogos humanos e por isso sugere que possa ser um importante alvo molecular para tratamento de tuberculose.

Grb2 (Growth factor receptor-bound protein 2) – Este é um fator intracelular chave na regulação da proliferação, diferenciação e metabolismo celular por meio da integração com a sinalização molecular extracelular. Essa proteína possui múltiplos domínios e segmentos flexíveis para poder se associar



Estrutura 3D da Peptidyl Prolyl cis-trans Isomerase FKBP12 de *Mycobacterium tuberculosis*, determinada por RMN, no CENABIO. Código no PDB: 6WBU. Crédito: Arquivo CENABIO. / *3D structure of Peptidyl Prolyl cis-trans Isomerase FKBP12 from Mycobacterium tuberculosis, determined by NMR at CENABIO. PDB Id.: 6WBU.*

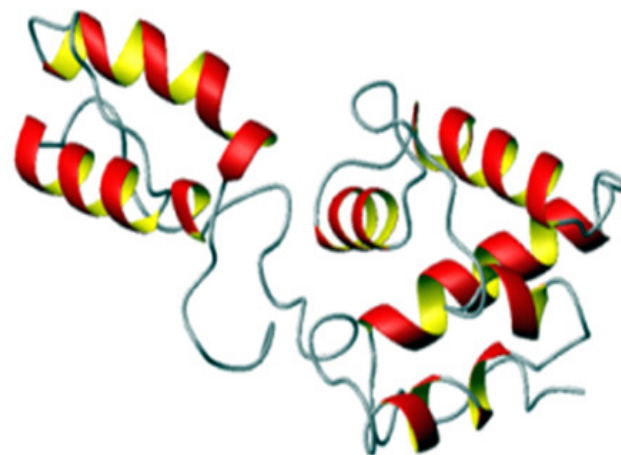


Estrutura 3D de moléculas determinadas por RMN no CENABIO. À esquerda: fator Grb2. Código no PDB: 6VK2. À direita: Ixolaris. Código no PDB: 6NAN. Crédito: Arquivo CENABIO./ *3D structure of the Grb2 factor, determined by NMR at CENABIO. PDB Id.: 6VK2, and 3D structure of ixolaris, determined by NMR at CENABIO. PDB Id.: 6NAN.*

a vários parceiros moleculares. A estrutura determinada do domínio SH2, assim como do complexo com um fosfopeptídeo, revelou as características moleculares do sítio de interação, assim como uma diversidade de dinâmica conformacional, que são ambas fundamentais para compreender o mecanismo de reconhecimento de outras proteínas fosforiladas.

Ixolaris – Esta é uma proteína presente na saliva de carrapato com potente efeito anticoagulante. Ela forma um complexo: o fator tecidual, fator VIIa e fator Xa. Assim, a Ixolaris bloqueia o fator tecidual, prevenindo não somente a trombose, mas também o crescimento tumoral e a ativação imune. A determinação da estrutura e dinâmica da Ixolaris foi determinada para elucidar este mecanismo de ação². A interação entre essas biomoléculas é primariamente guiada por forças eletrostáticas e mecanismo alostérico.

CDNF (Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor) – É capaz de reduzir lesões em neurônios dopaminérgicos da substância nigra, induzidas por 6-hidroxi-dopamina, em modelos para doença de Parkinson. Embora ainda não se conheça bem a via de sinalização que o CDNF participa, essa biomolécula parece ser um alvo terapêutico potencial para a doença de Parkinson e tem sido testada em ensaios clínicos pela empresa Herantis Pharma, da Finlândia. O CDNF parece atuar reduzindo estresse de retículo endoplasmático e também diretamente interagindo com a α -sinucleína para proteger neurônios dopaminérgicos. Por RMN foi determinada a estrutura do CDNF, que possui dois domínios bem enovelados, conectados por um segmento intrinsecamente desordenado. Além disso, foram identificadas regiões na superfície da CDNF que se assemelham a sítios de interação com proteínas, pois concentram resíduos hidrofóbicos e têm flexibilidade intermediária.



Estrutura 3D do fator neurotrófico CDNF, determinada por RMN, no CENABIO. Código no PDB: 4BIT. Crédito: Arquivo CENABIO. / *3D structure of the neurotrophic factor CDNF, determined by NMR at CENABIO. PDB Id.: 4BIT*

Lista das estruturas
determinadas por RMN, no
CNRMN/CENABIO a partir
de 2013

*Table of structures determined by RMN, at
CNRMN/CENABIO from 2013.*

1	6WBU	Putative Peptidyl Prolyl cis-trans Isomerase FKBP12 from <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2021
2	6NK9	Solution structure of AcaTx1, a potassium channel inhibitor from the sea anemone <i>Antopleura cascaia</i>	2020
3	6VK2	NMR Solution structure of Grb2-SH2 domain at pH 7	2020
4	6D6X	HSP40 co-chaperone Sis1 J-domain	2019
5	6NOM	NMR Solution structure of <i>Pisum sativum</i> defensin 2 (Psd2) provides evidence for the presence of hydrophobic surface clusters	2019
6	6NAN	NMR Structure determination of Ixolaris and Factor X interaction reveals a noncanonical mechanism of Kunitz inhibition	2019
7	6C44	Zika virus capsid protein	2019
8	6ALK	NMR Solution structure of the major beech pollen allergen Fag s 1	2018
9	5SZW	NMR Solution structure of the RRM1 domain of the post-transcriptional regulator HuR	2017
10	2N5A	Structures of the REDUCED state of the mutant D24A of yeast thioredoxin 1	2015
11	2N5B	Structures of the OXIDIZED state of the mutant D24A of yeast thioredoxin 1	2015
12	4BIT	Solution structure of cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF)	2014
13	2MBX	Structure, dynamics and stability of allergen cod parvalbumin Gad m 1 by solution and high-pressure NMR.	2014
14	2LPN	Solution Structure of N-Terminal domain of human Conserved Dopamine Neurotrophic Factor (CDNF)	2013
15	2LWL	Structural Basis for the Interaction of Human β -Defensin 6 and Its Putative Chemokine Receptor CCR2 and Breast Cancer Microvesicles	2013
16	2M85	PHD Domain from Human SHPRH	2013

Na tabela acima estão relacionadas apenas as estruturas determinadas a partir de 2013, embora o Centro Nacional de Ressonância magnética esteja em atividade desde 2002. As estruturas destas e de outras moléculas podem ser acessadas no banco de dados do Protein Data Bank, usando os códigos de três dígitos apresentados.

Projetos realizados com apoio da infraestrutura de RMN, do CENABIO

Alguns dos projetos mais relevantes que foram realizados com apoio da infraestrutura de RMN, do CENABIO, são apresentados a seguir. Diversos grupos usam a RMN para a determinação da estrutura de proteínas, identificação de mecanismo de interação molecular e dinâmica conformacional.

Estudo da estrutura e função da proteína supressora de tumores p53

O estudo intitulado “Agregação da Proteína Supressora de Tumores p53: Caracterização de um Alvo Farmacológico na Terapia Anticâncer”, realizado pelo grupo de colaboradores do Laboratório de Termodinâmica de Proteínas e Estruturas Virais (LTPV): Gregório Weber do IBqM-UFRJ, coordenado pelo Professor Jerson Lima da Silva, teve seu início no ano de 2018. Ao longo destes 3 anos, tem sido desenvolvido o estudo com o auxílio da infraestrutura e dos diversos equipamentos do CENABIO. O objetivo do estudo, que foi publicado recentemente na revista *Chemical Science*, é a avaliação do processo de separação de fase líquido-líquido na rota de agregação da p53. Essa avaliação do processo de agregação da proteína p53 tem várias aplicações importantes em tratamentos médicos, especialmente contra o câncer. A p53 é conhecida como a guardiã do genoma humano e sua mutação leva ao surgimento de agregados infecciosos para a célula, que estão presentes em mais da metade dos casos de câncer. O câncer é uma das principais patologias de preocupação global, e em mais de 50% dos casos de câncer o gene da proteína p53 está mutado. Assim, p53 mutantes e seus agregados estão envolvidos na progressão do câncer. Na execução do projeto as estruturas do Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear Jiri Jonas (CNRMN)

In the table above, only the structures determined from 2013 are listed, although the National Magnetic Resonance Center has been active since 2002. The structures of these and other molecules can be accessed in the Protein Data Bank database, using the codes of three digits displayed.

Projects carried out with the support of CENABIO's NMR infrastructure

Several of the projects that were carried out with the support of the CENABIO NMR infrastructure are described below. These projects used NMR to determine the structure of proteins, identify molecular interaction mechanisms and define conformational dynamics.

Structure and function of the p53 tumor suppressor protein

*The study entitled “Aggregation of p53 Tumor Suppressor Protein: Characterization of a Pharmacological Target in Anticancer Therapy”, has been carried out by the Laboratory of Thermodynamics of Viral Proteins and Structures Gregorio Weber (LTPV) of IBqM-UFRJ, coordinated by Professor Jerson Lima Silva, since 2018. Over these years, it has been developed with the help of the infrastructure and tools available at CENABIO. The aim of the study, which was recently published in the journal *Chemical Science*, is to evaluate the liquid-liquid phase separation (LLPS) process in the p53 aggregation pathway. This assessment of the p53 protein aggregation process has several important applications in medical treatments, especially against cancer. p53 is known as the guardian of the human genome and its mutation leads to the appearance of infectious aggregates for the cell, which are present in more than half of cancer cases. Cancer is one of the main pathologies of global concern, and in more than 50% of cancer cases, the p53 protein gene is mutated. Thus, p53 mutants and their aggregates are involved in cancer progression. In the execution of the project, the facilities of the Jiri Jonas National Center for Nuclear Magnetic Resonance (CNRMN) and the National Center for Structural Biology and Bioimaging (CENABIO) were used for preparation of the samples and execution of the experiments. The first steps of the project*

e do CENABIO foram utilizadas para o preparo das amostras e execução dos experimentos. Os referidos laboratórios contam com equipamentos de RMN e microscópios, necessários para o desenvolvimento da pesquisa. Toda a demanda experimental prevista foi perfeitamente assimilável pelas condições atuais dos laboratórios. As primeiras etapas do projeto envolveram o uso da RMN com o objetivo de revelar os estados precursores da agregação da p53, combinando agentes físicos (alta pressão hidrostática) e químicos (agentes caotrópicos). Além desta, o microscópio óptico de super-resolução Zeiss Elyra foi outro equipamento fundamental para o desenvolvimento do projeto.

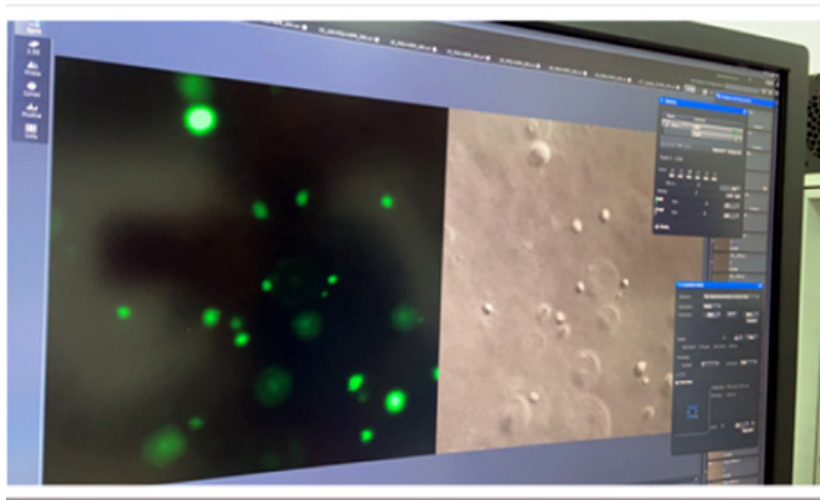


Foto de experimentos com a p53 por microscopia de contraste de interferência diferencial realizados no microscópio óptico de super-resolução Zeiss Elyra localizado no CENABIO. Crédito: Arquivo CENABIO. / *Photo of experiments with p53 by differential interference contrast microscopy performed in the Zeiss Elyra super resolution optical microscope located at CENABIO.*

Os resultados obtidos nesses equipamentos pela Dr.^a Elaine da C. Petronilho e pelo Dr. Murilo Pedrote (supervisionados pelos Professores Tuane Vieira, Guilherme A. P. de Oliveira e Jerson Lima da Silva) fornecem uma base expandida para evitar a agregação de p53 e demonstram como a combinação de agentes físicos e químicos e o uso de ferramentas espectroscópicas podem ajudar a descobrir estados excitados de participantes pré-amiloidogênicos de p53 na patologia da doença. Porém outras condições de análises ainda precisam de investigação.

involved the use of NMR in order to identify the precursor states of p53 aggregation, combining physical (high hydrostatic pressure) and chemical (chaotropic agents) agents. Also essential in this part of the project was the super-resolution Zeiss Elyra microscope.

These experiments, which were carried out by Dr.Elaine da C. Petronilho and Dr.Murilo Pedrote (supervised by professors Tuane Vieira, Guilherme AP de Oliveira and Jerson Lima Silva) provide an expanded foundation for preventing p53 aggregation and demonstrate how the combination of physical and chemical agents and the use of spectroscopic tools can help discover excited states of pre-amyloidogenic p53 participants in disease pathology. However, other conditions still need investigation. The findings of this study contribute to the elucidation of crucial mechanisms to be considered in the development of new strategies to prevent p53 aggregation as a new therapeutic approach for cancer.

References:

PETRONILHO, E.C. et al. Phase separation of p53 precedes aggregation and is affected by oncogenic mutations and ligands. Chem. Sci. v. 12, p. 7334-7349, 2021.

DE OLIVEIRA, G.A.P. et al. The status of p53 oligomeric and aggregation states in cancer. Biomolecules v. 10, p. 548, 2020.

PEDROTE M. M. et al. Aggregation-primed molten globule conformers of the p53 core domain provide potential tools for studying p53C aggregation in câncer. J. Biol. Chem. v. 293, p. 11374-11387, 2018.

Specific and conserved proteins in trypanosomes and of unknown function

T. cruzi, T. brucei, and L. major cause neglected diseases, which are endemic in countries of South America and Africa. Key events in these diseases are host cell interaction and invasion. The genomes of T. cruzi, T. brucei and L. major were sequenced and 20,000 proteins were deposited. The identification and characterization of relevant proteins in the mechanism of these diseases is important for their control.

Os achados desse estudo contribuem para a elucidação de mecanismos cruciais a serem considerados no desenvolvimento de novas estratégias de prevenção da agregação da p53 como uma nova abordagem terapêutica para o câncer.

Referências:

- DE OLIVEIRA, G.A.P. et al. *The status of p53 oligomeric and aggregation states in cancer. Biomolecules*, v. 10, p. 548, 2020.
- PEDROTE, M.M. et al. *Aggregation-primed molten globule conformers of the p53 core domain provide potential tools for studying p53C aggregation in cancer. J. Biol. Chem.* v. 293, p. 11374-11387, 2018.
- PETRONILHO, E.C. et al. *Phase separation of p53 precedes aggregation and is affected by oncogenic mutations and ligands. Chem. Sci.*, v. 12, p. 7334-7349, 2021.

Proteínas específicas e conservadas em tripanossomas e de função desconhecida

T. cruzi, T. brucei, e L. major são causadores de doenças negligenciadas, endêmicas em países da América do Sul e África. Os eventos chave nessas doenças são interação com a célula hospedeira e invasão. O genoma do T. cruzi, T. brucei e L. major foram sequenciados e 20.000 proteínas foram depositadas. A identificação e caracterização de proteínas relevantes no mecanismo dessas doenças são importantes para o controle delas. 50% dos domínios proteicos conservados e de função conhecida em mamíferos, plantas e fungos estão ausentes em tripanossomas. Assim, os cinetoplastídeos devem usar mecanismos de sinalização alternativos que podem estar presentes nas proteínas de função desconhecida.

Seguindo uma abordagem de genômica estrutural, são resolvidas estruturas de proteínas específicas e conservadas em tripanossomas e de função desconhecida, muitas dessas essenciais para o ciclo de vida desses parasitas. A caracterização estrutural dessas proteínas pode fornecer informações sobre suas funções (revelando características específicas dos organismos tripanossomatídeos que diferem

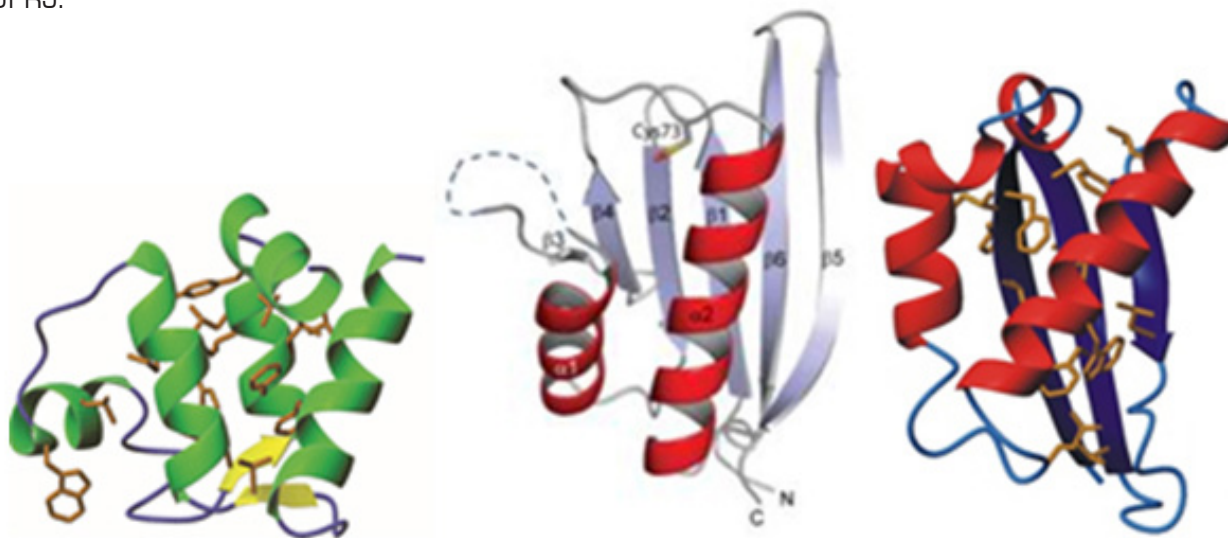
Half of conserved protein domains of known function in mammals, plants and fungi are absent in trypanosomes. Thus, kinetoplastids must use alternative signaling mechanisms that may be present in proteins of unknown function.

Following a structural genomics approach, specific and conserved protein structures of unknown function were determined, many of which are essential for the life cycle of these parasites. The structural characterization of these proteins can provide information about their functions (revealing specific characteristics of trypanosomatid organisms that differ from other eukaryotes) as well as providing data (such as chemical shifts and structure) that are methodological prerequisites in exploring these proteins as pharmacological targets. Recently the structures of the proteins of the parasite Trypanosoma cruzi Q4DY78, Q4D6Q6 and Q4D059 were resolved both by NMR and by crystallography.

These studies have been led by Professor José Ricardo Murari Pires, from the Institute of Medical Biochemistry at UFRJ.

de outros eucariotos), bem como fornecem dados (como deslocamentos químicos e estrutura) que são pré-requisitos metodológicos na exploração dessas proteínas como alvos farmacológicos. Recentemente as estruturas das proteínas do parasita *Trypanosoma cruzi* Q4DY78, Q4D6Q6 e Q4D059 foram resolvidas tanto por RMN como por cristalografia.

Estes estudos têm sido liderados pelo Professor José Ricardo Murari Pires, do Instituto de Bioquímica Médica da UFRJ.



Estrutura das proteínas de *Trypanosoma cruzi* Q4DY78 (esquerda), Q4D6Q6 (centro) e Q4D059 (direita), determinadas no CENABIO. Crédito: Arquivo CENABIO. / *Structure of Trypanosoma cruzi* proteins Q4DY78 (left), Q4D6Q6 (center) and Q4D059 (right) determined at CENABIO.

Referências:

- D'ANDRÉA, É.D. et al. Crystal structure of Q4D6Q6, a conserved kinetoplastid-specific protein from *Trypanosoma cruzi*. *J Struct Biol.* v. 211, p. 107536, 2020.
- D'ANDRÉA, É.D. et al. NMR structure and dynamics of Q4DY78, a conserved kinetoplastid-specific protein from *Trypanosoma cruzi*. *J Struct Biol.* v. 213, p. 107715, 2021.
- LÓPEZ-CASTILHA, A. et al. NMR structure and dynamics of Q4D059, a kinetoplastid-specific and conserved protein from *Trypanosoma cruzi*. *J Struct Biol.* v. 190, p. 11-20, 2015.

References:

- D'ANDRÉA É.D. et al. NMR structure and dynamics of Q4DY78, a conserved kinetoplastid-specific protein from *Trypanosoma cruzi*. *J Struct Biol.* v. 213, p. 107715, 2021.
- D'ANDRÉA É.D. et al. Crystal structure of Q4D6Q6, a conserved kinetoplastid-specific protein from *Trypanosoma cruzi*. *J Struct Biol.* v. 211, p. 107536, 2020.
- LÓPEZ-CASTILLA A. et al. NMR structure and dynamics of Q4D059, a kinetoplastid-specific and conserved protein from *Trypanosoma cruzi*. *J Struct Biol.* v. 190, p. 11-20, 2015.

Estrutura e função de proteínas do SARS-CoV-2

Neste projeto são abordados dois aspectos essenciais para o ciclo biológico dos betacoronavírus, entre eles o SARS-CoV-2, causador da síndrome respiratória aguda Covid-19: 1 – As bases moleculares da especificidade da interação de RNA com a proteína nucleocapsídica (nucleoproteína ou proteína N); 2 – A interação da proteína Spike (proteína S) com polissacarídeos da matriz extracelular.

Os pesquisadores envolvidos nesse projeto usam a RMN para medir a interação das regiões regulatórias, TRS e a cauda 3' poli(A) do RNA genômico, com a proteína N das 5 cepas de betacoronavírus que atualmente infectam a população humana, são eles: SARS-CoV, SARS-CoV-2 e MERS-CoV, que levam à síndrome respiratória aguda, e os hCoV-OC43 e hCoV-HKU1, que levam a sintomas respiratórios leves e resfriado sazonal comum. Além da Ressonância Magnética Nuclear, são usados outros métodos biofísicos para medir a interação e estudar a dinâmica do complexo. Também são usados métodos computacionais de ancoragem molecular e simulação de dinâmica molecular para a descrição das interações e dinâmica biomoleculares.

É também objetivo nesse projeto o estudo da interação da proteína S, em seu domínio galectina, na ausência e presença do domínio RBD, com polissacarídeos oriundos da matriz extracelular. Essas interações têm o potencial de regular a entrada do vírus na célula hospedeira. A proteína S é a mais exposta para a ação do sistema imunológico do hospedeiro, sendo assim a mais estudada para a produção de vacinas. A interação do vírus com a matriz extracelular tem também o potencial de regular a resposta imunológica, sendo fundamental para se compreender no processo de confecção de uma vacina.

Nucleoproteína (Proteína N)

Este projeto é desenvolvido em rede internacional formada em resposta à pandemia de SARS-CoV-2 (<https://covid19-nmr.de/>). A nucleoproteína ou proteína N dos coronavírus é fundamental para a replicação eficiente do genoma viral e para a transcrição descontínua através de subgenomas. Sua estrutura é composta por dois domínios, N- e C-terminal, conectados pela região LTR, intrinsecamente desordenada (IDR)

Structure and function of SARS-CoV-2 proteins

In this project, two essential aspects for the biological cycle of beta coronaviruses are addressed. The viruses include SARS-CoV-2, which causes the acute respiratory syndrome COVID-19. The main questions include (1)- The molecular basis of the specificity of the interaction of RNA with the nucleocapsid protein (nucleoprotein or N protein), and (2)- The interaction of Spike protein (S protein) with extracellular matrix polysaccharides.

NMR was used to measure the interaction of regulatory regions, TRS and the 3' poly(A) tail of genomic RNA, with the N protein of the 5 strains of betacoronavirus that currently infect the human population. (SARS -CoV, SARS-CoV-2 and MERS-CoV, which lead to acute respiratory syndrome, and hCoV-OC43 and hCoV-HKU1, which lead to mild respiratory symptoms and the common seasonal cold). In addition to Nuclear Magnetic Resonance, other biophysical methods were used to measure the interaction and study the dynamics of each complex. Computational methods for molecular anchoring and molecular dynamics simulations were also used to describe biomolecular interactions and dynamics.

A second objective was to map the interaction of protein S galectin domain with polysaccharides from the extracellular matrix in the absence and presence of the RBD domain. These interactions have the potential to regulate virus entry into the host cell. Protein S is the viral protein that is most exposed to the action of the host's immune system, thus being the most studied for the production of vaccines. The interaction of the virus with the extracellular matrix also has the potential to regulate the immune response, thus it is fundamental to understanding the process of making a vaccine.

Nucleoprotein (N Protein)

This project is still ongoing and is being developed in an international network, formed in response to the SARS-CoV-2 pandemic (<https://covid19-nmr.de/>). The nucleoprotein or N protein of coronaviruses is critical for efficient replication of the viral genome and for discontinuous transcription across subgenomes. Its structure is composed of two domains, N- and C-terminal, connected by the LTR

e rica em arginina e serina. O domínio C-terminal participa da dimerização da proteína N, o domínio N-terminal e a região LTR apresentam interação com RNA. Além disso, a região LTR também é responsável pela transcrição descontínua através dos subgenomas. A estrutura do domínio N-terminal da proteína N do SARS-CoV-2 foi recentemente resolvida em solução e por cristalografia de raios X [PDB: 6VYO].

A interação da proteína N com RNA promove a formação de um ribonucleocapsídeo com simetria helicoidal (RNP). A região LTR da proteína N é passível de sofrer fosforilações e isso regula o processo de montagem do RNP. O RNP torna o material genético +RNA fita simples supercompactado, desempenhando um papel fundamental durante a montagem viral. É descrito que a interação da proteína N com o RNA durante o processo de montagem do RNP seja predominantemente inespecífica (3). Além disso, a proteína N atua como chaperona de RNA, promovendo a desnaturação de RNA dupla fita.

Apesar da suposta inespecificidade, a proteína N possui múltiplas atividades específicas intracelulares, como reconhecimento de caudas poli(A) e regulação da expressão das proteínas virais através da ligação a sequências reguladoras de transcrição (TRSs). Esse é um processo complexo e dinâmico e ainda pouco entendido. A proteína N é capaz de se ligar à cauda poli(A) com alta afinidade, inibindo o evento da tradução; todavia, as bases para a especificidade desse processo ainda são desconhecidas. Outra atividade específica descrita é como supressora viral de silenciamento por RNA de interferência. O mecanismo de interação com RNA, as bases moleculares para a especificidade e o efeito alostérico da interação são pouco conhecidos, e entender esses processos moleculares é o objetivo principal dos pesquisadores envolvidos no projeto, pesquisadores que utilizam a infraestrutura do CENABIO. Esse projeto é coordenado pelo Professor Fábio Ceneviva Lacerda de Almeida.

region, intrinsically disordered (IDR) and rich in arginine and serine. The C-terminal domain participates in the N-protein dimerization, while the N-terminal domain and the LTR region interact with RNA. Furthermore, the LTR region is also responsible for discontinuous transcription across subgenomes. The structure of the N-terminal domain of the N-protein of SARS-CoV-2 was recently resolved in solution and by X-ray crystallography [PDB: 6VYO].

The interaction of N protein with RNA promotes the formation of a helical symmetry ribonucleocapsid (RNP). The LTR region of the N protein is susceptible to phosphorylation and this regulates the RNP assembly process. The RNP makes the genetic material +single-stranded RNA supercompact, playing a key role during viral assembly. It is described that the interaction of N protein with RNA during the RNP assembly process is predominantly nonspecific (3). In addition, the N protein acts as an RNA chaperone, promoting the denaturation of double-stranded RNA.

Despite the supposed nonspecificity, the N protein has multiple specific intracellular activities, such as poly(A) tail recognition and regulation of viral protein expression through binding to transcriptional regulatory sequences (TRSs). This is a complex and dynamic process and still poorly understood. The N protein is able to bind to the poly(A) tail with high affinity, inhibiting the translation event; however, the bases for the specificity of this process are still unknown. Another specific activity described for N protein is its ability to suppress viral silencing by RNA interference. The mechanism of interaction with RNA, the molecular basis for the specificity and the allosteric effect of the interaction are little known and understanding these molecular processes is the main objective of the researchers involved in this project, who use the infrastructure of CENABIO. This project is coordinated by Dr.Fabio Almeida.

Referências:

- *ALTINCEKIC, N.K. et al. Large-Scale Recombinant Production of the SARS-CoV-2 Proteome for High-Throughput and Structural Biology Applications. Frontiers In Molecular Biosciences, v. 8, p. 1-1, 2021.*
- *CARUSO, I. et al. Insights into the specificity for the interaction of the promiscuous SARS-CoV-2 nucleocapsid protein N-terminal domain with deoxyribonucleic acids. International Journal Of Biological Macromolecules, v. 203, p. 466-480, 2022.*

Proteína Spike (Proteína S) – Interação com a Matriz Extracelular

O envelope viral é constituído majoritariamente pela proteína de membrana M e por uma pequena quantidade da proteína de envelope (E), além da proteína Spike (S). Análise por microscopia eletrônica mostrou que a superfície do vírus é decorada por projeções da glicoproteína S, que possui dois domínios funcionais, S1 (a projeção) e S2 (a base). A proteína S desempenha papel essencial na replicação viral. O domínio S1 é responsável pela interação com receptores celulares que iniciam uma mudança conformacional que expõe o peptídeo de fusão no domínio S2. Com isso, ocorre a fusão entre o envelope viral e a membrana celular, permitindo a liberação do nucleocapsídeo no citoplasma.

No envelope viral do SARS-CoV 1 e 2 e MERS, a proteína S se encontra em duas populações conformacionais distintas: aberta e fechada. A importância dessas conformações para o processo de infecção ainda está sendo investigada e parecem estar relacionadas com a fusão do envelope viral com a membrana da célula hospedeira.

A proteína S possui dois domínios principais, N e C-terminal, S1-NTD e S1-CTD ou RBD (Receptor binding domain). Vários trabalhos descreveram a estrutura tridimensional do complexo entre a região RBD e a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), incluindo a identificação dos resíduos importantes para a formação do complexo.

A estrutura do S1-NTD dos betacoronavírus mostra

References:

- ALTINCEKIC N. K. et al. Large-Scale Recombinant Production of the SARS-CoV-2 Proteome for High-Throughput and Structural Biology Applications. FRONTIERS IN MOLECULAR BIOSCIENCES, v. 8, p. 1-1, 2021.*

Spike Protein (S) - Interaction with the Extracellular Matrix

The viral envelope consists mainly of the membrane protein M and a small amount of the envelope protein (E), in addition to the spike protein (S). Electron microscopy has shown that the surface of the virus is decorated by projections of the S glycoprotein, which has two functional domains, S1 (the projection) and S2 (the base). Protein S plays an essential role in viral replication. The S1 domain is responsible for interacting with cellular receptors that initiate a conformational change that exposes the fusion peptide in the S2 domain. With this, fusion occurs between the viral envelope and the cell membrane, allowing the release of the nucleocapsid into the cytoplasm of the host cell.

In the viral envelope of SARS-CoV 1 and 2 and MERS, the S protein is found in two distinct conformational populations: open and closed. The importance of these conformations for the infection process is still being investigated and seems to be related to the fusion of the viral envelope with the host cell membrane.

The S protein has two main domains, N and C-terminal, S1-NTD and S1-CTD or RBD (Receptor binding domain). Several studies have described the three-dimensional structure of the complex between the RBD region and the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), including the identification of important residues for formation of the complex.

similaridade às galectinas humanas (galactose-binding lectins), sendo essa composta por 2 folhas-beta antiparalelas e seis fitas-beta. Estudos por mutagênese mostraram que o S1-NTD é capaz de reconhecer ácido 5-N-acetil neuramínico (Neu5,9Ac2) da superfície das células. Como o Neu5,9Ac2 é encontrado em vários tecidos, esse pode ser um receptor importante para a infecção interespecie. O domínio galectina também foi encontrado em outros vírus, incluindo influenza HA1, rotavírus VP4 e adenovírus. Assim, a estratégia viral para fugir do sistema imune parece envolver o reconhecimento de receptores proteicos, mas também utilizar receptores de açúcares.

Assim, além de receptores proteicos, coronavírus também parecem utilizar carboidratos como mediadores da interação com a célula hospedeira. Terminações de ácido siálico são encontradas conjugadas a glicoproteínas e glicolípideos na superfície de células eucarióticas. A região S1-NTD se liga a sialosídeos e acredita-se que essa interação faça parte de um contato inicial da proteína S com a célula hospedeira, facilitando o encontro e a posterior ligação a dipeptidil-peptidase-4. Estudos feitos com mutações em aminoácidos na região do domínio A da subunidade S1, envolvidos na ligação com derivados sialosídeos, inibiram a entrada viral de uma construção do vírus da MERS.

Foi observado que o MERS-CoV se liga preferencialmente a sialosídeos com ligação glicosídica α -2,3 em vez de α -2,6. Como esses carboidratos têm estruturas e tipos de ligação glicosídica distintos entre tipos celulares e também entre espécies, existem indícios que a variedade estrutural de sialosídeos pode ser um dos fatores determinantes para o tropismo da infecção viral do hospedeiro suscetível à infecção.

Para os CoVs humanos NL63 e SARS-CoV, o heparan sulfato parece modular a ligação a células hospedeiras. O coronavírus murino e o vírus infeccioso da bronquite aviária (IBV) também interagem com GAG. Embora existam dados sobre a infecciosidade e ligação, pouco se sabe sobre as regiões da estrutura do vírus envolvidas na interação entre CoVs e GAGs. A caracterização dessa ligação é de grande importância para a elucidação de epitopos, a fim de facilitar o desenvolvimento de drogas, vacinas e imunoterapias. Este projeto da caracterização

The structure of betacoronavirus S1-NTD shows similarity to human galectins (galactose-binding lectins), which is composed of 2 antiparallel beta sheets and six beta strands. Mutagenesis studies have shown that S1-NTD can recognize 5-N-acetyl neuraminic acid (Neu5,9-Ac2) from the cell surface. As Neu5,9-Ac2 is found in many tissues, it may be an important receptor for interspecies infection. The galectin domain has also been found in other viruses, including HA1 influenza, VP4 rotavirus, and adenovirus. Thus, the viral strategy to evade the immune system seems to involve recognizing protein receptors, but also using sugar receptors.

Thus, in addition to protein receptors, coronaviruses also seem to use carbohydrates as mediators of interaction with the host cell. Sialic acid termini are found conjugated to glycoproteins and glycolipids on the surface of eukaryotic cells. The S1-NTD region binds to sialosides and it is believed that this interaction is part of an initial contact of the S protein with the host cell, facilitating the encounter and subsequent binding to dipeptidyl-peptidase-4. Studies performed with mutations of amino acids in the A domain region of the S1 subunit, involved in binding with sialoside derivatives, inhibited viral entry of a MERS virus construct.

It was observed that MERS-CoV preferentially binds to sialosides with α -2,3 glycosidic linkage rather than α -2,6. As these carbohydrates have different structures and types of glycosidic bonds between cell types and also between species, there are indications that the structural variety of sialosides may be one of the determining factors for the tropism of viral infection in the susceptible host.

da interação da proteína S com carboidratos, é coordenado pela Professora Ana Paula Valente e conta com o apoio da infraestrutura do CENABIO para os experimentos de RMN.

Metabolômica de saliva por RMN na descrição de doenças

A análise metabolômica de saliva por RMN tem sido utilizada para identificar correlações entre sua composição e diversas doenças, incluindo as odontológicas, mas também diabetes, disfunções renais, carcinoma de células escamosas, assim como outros tipos de carcinoma, no diagnóstico de alterações hormonais e hipertensão. O estudo na área da metabolômica associado ao acompanhamento longitudinal, vislumbrando estabelecer o perfil metabólico de pacientes em condição de saúde e de doença, assim como a discriminação de metabólitos endógenos e exógenos provenientes dos microrganismos bucais é um tema relevante e original e merece atenção pelo destaque dentro da odontologia, associando ciência básica e a prática odontológica em clínicas.

A caracterização dos metabólitos da saliva é um método prático e não invasivo de diagnosticar algumas doenças da cavidade oral e sistêmicas. Para isso, no CENABIO têm sido padronizados protocolos para a criação de um banco de dados de perfis metabolômicos que possam ser usados para discernir cada grupo de pacientes.

Uma das variáveis que podem alterar o resultado da avaliação desses grupos é a faixa etária, tendo em vista que ocorre alteração hormonal, podendo repercutir na composição metabólica da cavidade oral. Neste sentido, comparar amostras de saliva de crianças em diferentes idades tem sido um passo importante para conhecer suas variações.

A saliva total tem sido caracterizada por meio de diversas metodologias como, por exemplo, eletroforese, cromatografia e RMN. A Ressonância Magnética Nuclear tem destaque na avaliação de metabólitos, pois permite uma distinção em alta resolução dos sinais de cada molécula, é um método altamente reprodutivo e é uma técnica não destrutiva, ou seja, a amostra pode ser utilizada várias vezes.

For human CoVs NL63 and SARS-CoV, heparan sulfate appears to modulate binding to host cells. Murine coronavirus and avian infectious bronchitis virus (IBV) also interact with GAG. Although data exist on infectivity and binding, little is known about the regions of the virus structure involved in the interaction between CoVs and GAGs. The characterization of this binding is of great importance for the elucidation of epitopes, in order to facilitate the development of drugs, vaccines and immunotherapies. This project, about the characterization of protein S-carbohydrates interaction, is coordinated by Professor Ana Paula Valente and has the support of the CENABIO infrastructure for the NMR experiments.

Metabolomics of saliva by NMR in the description of diseases

Metabolomic analysis of saliva by NMR has been used to identify correlations between its composition and several diseases, including dental diseases, but also diabetes, renal dysfunction, squamous cell carcinoma as well as other types of carcinomas, in the diagnosis of hormonal changes and hypertension. The study in the field of metabolomics associated with longitudinal follow-up aiming to establish the metabolic profile of patients in health and disease conditions, as well as the discrimination of endogenous and exogenous metabolites from oral microorganisms is a relevant and original topic and deserves attention for its prominence within the field of dentistry, associating basic science and dental practice in clinics.

The characterization of saliva metabolites is a practical and non-invasive method of diagnosing some diseases of the oral cavity and systemic. For this, CENABIO has standardized protocols for the creation of a database of metabolomic profiles, which can be used to identify each group of patients.

One of the variables that can change the result of the evaluation of these groups is the age group, considering that hormonal changes occur, which can affect the metabolic composition of the oral cavity. In this sense, comparing saliva samples from children at different ages has been an important step towards knowing their variations.

Os trabalhos na interface clínica-pesquisa básica têm sido desenvolvidos pelas Professoras Tatiana Kelly da Silva Fidalgo, do Departamento de Odontologia da UFRJ; Doutora dentista Liana Bastos Freitas Fernandes, e Professora Ana Paula Valente, do CNRMN-CENABIO.

Referências:

- ALMEIDA, P.A. et al. Salivary metabolic profile after hemodialysis among children and adolescents with chronic kidney disease. *Metabolomics*, v. 13, p. 141-150, 2017.
- DE OLIVEIRA, L.R.P et al. Salivary metabolite fingerprint of type 1 diabetes in young children. *Journal of Proteome Research*, v. 1, p. 1-9, 2016.
- FIDALGO, T.K.S. et al. Effect of antihistamine-containing syrup on salivary metabolites: an in vitro and in vivo study. *Brazilian Oral Research*, v. 35, p. 1-10, 2021.
- FIDALGO, T.K.S. et al. Longitudinal evaluation of salivary profile from children with dental caries before and after treatment. *Metabolomics (Dordrecht)*, v. 9, p. 780-785, 2015.
- FREITAS-FERNANDES, L.B. et al. Salivary metabolome of children and adolescents under peritoneal dialysis. *Clinical Oral Investigations*, v. 25, p. 2345-2351, 2021.
- LETIERI, A.S. et al. Analysis of salivary metabolites by Nuclear Magnetic Resonance before and after oral mucosa cleaning of infants in the pre-dental period. *Frontiers in Dental Medicine*, v. 2, p. 1-9, 2021.
- LETIERI, A.S. et al. Longitudinal Evaluation of Salivary Iga-S in Children with Early Childhood Caries Before and After Restorative Treatment. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, v. 3, p. 1053-4625-43.4.3-1-6, 2019.
- MALUF, C.V. et al. Evaluation of polymethyl methacrylate containing chlorhexidine: A randomized, controlled, split-mouth in situ study. *American Journal Of Dentistry*, v. 32, p. 94-98, 2019.
- PEREIRA, L. et al. Oral Health of Babies and Mothers during the Breastfeeding Period. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*, p. 9-13, 2019.
- ROSA, T.C. et al. The Oral Microbiome and Metabolome in Caries Development and Arrest. *Journal of Oral Microbiology*, v. 13, p. 1-16, 2021.

Whole saliva has been characterized using different methodologies, such as electrophoresis, chromatography and NMR. Nuclear Magnetic Resonance is highlighted in the evaluation of metabolites, as it allows a high-resolution distinction of the signals of each molecule, it is a highly reproducible method and it is a non-destructive technique, that is, the sample can be used several times.

These studies, in the basic clinical-research interface, have been developed by Professor Tatiana Kelly da Silva Fidalgo from the UFRJ Department of Dentistry, together with Dr.Liana Bastos Freitas Fernandes, DDS and Dr.A.P. Valente from CNRMN-CENABIO.

References:

- FIDALGO T. K. S. et al. Effect of antihistamine-containing syrup on salivary metabolites: an in vitro and in vivo study. BRAZILIAN ORAL RESEARCH, v. 35, p. 1-10, 2021.*
- ROSA, T. C. et al. The Oral Microbiome and Metabolome in Caries Development and Arrest. Journal of Oral Microbiology, v. 13, p. 1-16, 2021.*
- LETIERI, A. S. et al. Analysis of salivary metabolites by Nuclear Magnetic Resonance before and after oral mucosa cleaning of infants in the pre-dental period. Frontiers in Dental Medicine, v. 2, p. 1-9, 2021.*
- FREITAS-FERNANDES, L. B. et al. Salivary metabolome of children and adolescents under peritoneal dialysis. Clinical Oral Investigations, v. 25, p. 2345-2351, 2021.*
- MALUF, C. V. et al. Evaluation of polymethyl methacrylate containing chlorhexidine: A randomized, controlled, split-mouth in situ study. AMERICAN JOURNAL OF DENTISTRY, v. 32, p. 94-98, 2019.*
- LETIERI, A. S. et al. Longitudinal Evaluation of Salivary Iga-S in Children with Early Childhood Caries Before and After Restorative Treatment. Journal of Clinical Pediatric Dentistry, v. 3, p. 1053-4625-43.4.3-1-6, 2019.*
- PEREIRA, L. et al. Oral Health of Babies and Mothers during the Breastfeeding Period. JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH, p. 9-13, 2019.*

Metabolômica por RMN para caracterizar doenças humanas

O grupo do Professor Gilson Costa dos Santos Junior, sediado no Departamento de Genética da UERJ, tem obtido sucesso em compreender diversos pontos chave do metabolismo por meio da metabolômica por RMN. Os resultados de metabolômica por RMN obtidos no CENABIO têm identificado biomarcadores de câncer, metabolismo da vitamina D e osteoartrite. Além do mais, o trabalho em desenvolvimento em colaboração com outros pesquisadores com a metabolômica por RMN da saliva de pacientes com a Covid-19 foi alvo de duas matérias publicadas recentemente.

Referências:

- DE SOUSA, E.B. et al. *Metabolomics as a Promising Tool for Early Osteoarthritis Diagnosis. Brazilian, J. Med. Biol. Res.* v. 50, 2017.
- DE SOUSA, E.B. et al. *Normal and Osteoarthritic Synovial Fluid Present Different Metabolomic Profile. Osteoarthr. Cartil.* v. 25, p. S384, 2017.
- DE SOUSA, E.B. et al. *Osteoarthritic Synovial Fluid Modulates Cell Phenotype and Metabolic Behavior In Vitro. Stem Cells Int.* v. 2019, p. 1–14, 2019.
- *Diretoria de Comunicação da UERJ. Pesquisadores da Uerj estudam a saliva para tentar desvendar a ação do coronavírus no corpo humano. 12/01/2021. Disponível em: <https://www.uerj.br/noticia/pesquisadores-da-uerj-estudam-a-saliva-para-tentar-desvendar-a-acao-do-coronavirus-no-corpo-humano/>. Acesso em: 01/06/2021.*
- FREIRE-DE-LIMA, L. et al. *Cancer Metabolism: Current Knowledge and Perspectives. Front. Oncol.* v. 9, 2019.
- JUNIOR, G.C.S et al. *Metabolomic Analysis Reveals Vitamin D-Induced Decrease in Polyol Pathway and Subtle Modulation of Glycolysis in HEK293T Cells. Sci. Rep.* v. 7, p. 9510, 2017.
- JUNIOR, G.C.S et al. *Metabolomics in Cancer and Cancer-Associated Inflammatory Cells. J. Cancer Metastasis Treat.* p. 1–19, 2021.

ALMEIDA, P. A. et al. *Salivary metabolic profile after hemodialysis among children and adolescents with chronic kidney disease. Metabolomics*, v. 13, p. 141-150, 2017.

DE OLIVEIRA, L. R. P. et al. *Salivary metabolite fingerprint of type 1 diabetes in young children. Journal of Proteome Research*, v. 1, p. 1-9, 2016.

FIDALGO, T. K. S. et al. *Longitudinal evaluation of salivary profile from children with dental caries before and after treatment. Metabolomics (Dordrecht)*, v. 9, p. 780-785, 2015.

NMR metabolomics to characterize human diseases

The group of Professor Gilson Costa dos Santos Jr in the Department of Genetics at the State University of Rio de Janeiro (UERJ), has been successful in elucidating several key points of metabolism through NMR metabolomics. The results of NMR metabolomics obtained at CENABIO have identified cancer biomarkers, vitamin D metabolism and osteoarthritis. In addition, work being developed in collaboration with other researchers is the subject of two recent articles on NMR metabolomics of the saliva of patients with COVID-19.

References:

De Sousa, E.B. et al. *Metabolomics as a Promising Tool for Early Osteoarthritis Diagnosis. Brazilian J. Med. Biol. Res.* v. 50, 2017.

De Sousa, E.B. et al. *Normal and Osteoarthritic Synovial Fluid Present Different Metabolomic Profile. Osteoarthr. Cartil.* v. 25, p. S384, 2017.

De Sousa, E.B. et al. *Osteoarthritic Synovial Fluid Modulates Cell Phenotype and Metabolic Behavior In Vitro. Stem Cells Int.* v. 2019, p. 1–14, 2019.

Diretoria de Comunicação da UERJ. Pesquisadores da Uerj estudam a saliva para tentar desvendar a ação do coronavírus no corpo humano. 12/01/2021. Disponível em: <https://www.uerj.br/noticia/pesquisadores-da-uerj-estudam-a-saliva-para-tentar-desvendar-a-acao-do-coronavirus-no-corpo-humano/>. Acesso em: 01/06/2021.

- JUNIOR, G.C.S. et al. *Saliva NMR-Based Metabolomics in the War Against covid-19. Anal. Chem.* v. 92, p. 15688–15692, 2020.
- RODRIGUES, M.F. et al. *Enhanced OXPHOS, Glutaminolysis and β -Oxidation Constitute the Metastatic Phenotype of Melanoma Cells. Biochem. J.* v. 473, p. 703–715, 2016.
- RONA, G.B. et al. *^1H NMR Metabolomics Reveals Increased Glutaminolysis upon Overexpression of NSD3s or Pdp3 in *Saccharomyces cerevisiae*. J. Cell. Biochem.,* v. 120, p. 5377–5385, 2019.
- SANT'ANNA-SILVA, A.C.B. et al. *Metabolic Profile of Oral Squamous Carcinoma Cell Lines Relies on a Higher Demand of Lipid Metabolism in Metastatic Cells. Front. Oncol.* v. 8, p. 13, 2018.

Estrutura, dinâmica de defensinas humanas e sua interação com quimiocinas

As β -defensinas humanas (hBD) são moléculas alarme que estimulam o sistema imune adaptativo, além de sua atividade antimicrobiana. As hBD ativam células apresentadoras de antígenos e induzem quimiotaxia através de receptores acoplados à proteína G (GPCRs). Pouco se sabe quanto às interações entre as hBD e os seus receptores. Recentemente foi mostrado que o receptor de quimiotaxia CCR2 é expresso em células de câncer de mama, podendo ter uma função crítica na tumorigênese.

O grupo de pesquisa da Professora Ana Paula Valente trabalha na biologia estrutural de defensinas desde a inauguração do CENABIO. Em trabalho ainda em andamento, foram investigadas as interações da hBD1 e hBD6 com um sulfopeptídeo do receptor CCR2, que compreende a região N-terminal extracelular. Ambas hBD1 e hBD6 interagem com microvesículas secretadas por duas diferentes linhagens de câncer de mama e foi identificado um sítio de ligação putativo da hBD6 com o receptor CCR2 e a interação com glicosaminoglicanos. O mapeamento da interação com a região N-terminal dos receptores CCR2, CCR6 e CXCR4 proporcionará as correlações entre as propriedades

Junior, G.C.S et al. Metabolomic Analysis Reveals Vitamin D-Induced Decrease in Polyol Pathway and Subtle Modulation of Glycolysis in HEK293T Cells. Sci. Rep. v. 7, p. 9510, 2017.

junior, G.C.S et al. Metabolomics in Cancer and Cancer-Associated Inflammatory Cells. J. Cancer Metastasis Treat. p. 1–19, 2021.

Freire-de-Lima, L. et al. Cancer Metabolism: Current Knowledge and Perspectives. Front. Oncol. v. 9, 2019.

Junior, G.C.S. et al. Saliva NMR-Based Metabolomics in the War Against covid-19. Anal. Chem. v. 92, p. 15688–15692, 2020.

Rodrigues, M.F. et al. Enhanced OXPHOS, Glutaminolysis and β -Oxidation Constitute the Metastatic Phenotype of Melanoma Cells. Biochem. J. v. 473, p. 703–715, 2016.

*Rona, G.B. et al. ^1H NMR Metabolomics Reveals Increased Glutaminolysis upon Overexpression of NSD3s or Pdp3 in *Saccharomyces cerevisiae*. J. Cell. Biochem.,* v. 120, p. 5377–5385, 2019.

Sant'Anna-Silva, A.C.B. et al. Metabolic Profile of Oral Squamous Carcinoma Cell Lines Relies on a Higher Demand of Lipid Metabolism in Metastatic Cells. Front. Oncol. v. 8, p. 13, 2018.

Structure and dynamics of human defensins and their interaction with chemokines

Human β -defensins (hBD) are alarm molecules that stimulate the adaptive immune system in addition to their antimicrobial activity. hBDs activate antigen-presenting cells and induce chemotaxis through G protein-coupled receptors (GPCRs). Little is known about the interactions between hBDs and their receptors. Recently, it was shown that the chemotaxis receptor CCR2 is expressed in breast cancer cells and may play a critical role in tumorigenesis.

imunológicas, estruturais e dinâmicas, e, assim, uma base para o desenho de drogas análogas às β -defensinas como estratégias para o tratamento do câncer.

Referências:

- DE PAULA, V.S. et al. *Unique properties of human β -defensin 6 (hBD6) and glycosaminoglycan complex: sandwich-like dimerization and competition with the chemokine receptor 2 (CCR2) binding site. J. Biol. Chem. v. 289, p. 22969-22979, 2014.*

Tioredoxina humana, proteína ligante de tioredoxina e processo de tumorigênese

As Tioredoxinas (Trx) são moléculas que participam do controle redox e nitrosativo das células. A dinâmica desta enzima regula eventos de catálise e reconhecimento molecular. A hTrx evoluiu com ganho de função no controle nitrosativo através de 3 cisteínas que regulam a S-nitrosilação. O grupo do Professor Fábio Ceneviva Lacerda de Almeida tem medido a dinâmica da hTrx nitrosilada e do processo de trans-nitrosilação para dois alvos específicos: a proteína supressora de tumor p53 e a (TXNIP).

A TXNIP, ligante da hTrx, é um importante regulador do metabolismo e ciclo celular, sendo sua expressão induzida em resposta a diversos estímulos. O estudo estrutura-função da TXNIP-hTrx é importante para a compreensão dos mecanismos moleculares de diversas patologias, como diabetes, doenças cardiovasculares e o câncer. A correlação entre os mecanismos moleculares da TXNIP e uma abordagem metabolômica ajudará a identificar novos alvos metabólicos e contribuirá para o desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento do câncer.

Professor Ana Paula Valente's research group has been working on the structural biology of defensins since the opening of the CENABIO. In a work still in progress, they have investigated the interactions of hBD1 and hBD6 with a sulfopeptide of the CCR2 receptor that comprises the extracellular N-terminal region. Both hBD1 and hBD6 interact with microvesicles secreted by two different lineages of breast cancer and a putative binding site of hBD6 with the CCR2 receptor has been identified, as well as the interaction of hBD6 with glycosaminoglycans. The mapping of the interaction with the N-terminal region of the CCR2, CCR6 and CXCR4 receptors will provide the correlations between the immunological, structural and dynamic properties, and thus, a basis for the design of drugs analogous to β -defensins as strategies for the treatment of cancer.

Reference:

De Paula, V. S. et al. Unique properties of human β -defensin 6 (hBD6) and glycosaminoglycan complex: sandwich-like dimerization and competition with the chemokine receptor 2 (CCR2) binding site. J. Biol. Chem. v. 289, p. 22969-22979, 2014.

Human thioredoxin, thioredoxin-binding protein and tumorigenesis process

Thioredoxins (Trx) are molecules that participate in the redox and nitrosative control of cells. The dynamics of this enzyme regulates catalysis and molecular recognition events. hTrx evolved with gain of function in nitrosative control through 3 cysteines that regulate S-nitrosylation. Professor Fabio Almeida's group has been measuring the dynamics of nitrosylated hTrx and the trans-nitrosylation process for two specific targets: the tumor suppressor protein p53 and a thioredoxin interacting protein (TXNIP). This hTrx ligand is an important regulator of metabolism and cell cycling, and its expression is induced in response to various stimuli. The structure-function study of TXNIP-hTrx is important for understanding the molecular mechanisms of several pathologies, such as diabetes, cardiovascular diseases and cancer. The correlation between the molecular mechanisms

Referências:

- CRUZEIRO-SILVA, C. et al. Hydration and Conformational Equilibrium in Yeast Thioredoxin 1: Implication for H⁺ Exchange. *Biochemistry (Easton)*, v. 53, p. 2890-2902, 2014.
- IQBAL, A. et al. 1H, 13C and 15N chemical shift assignments of *Saccharomyces cerevisiae* type 1 thioredoxin in the oxidized state by solution NMR spectroscopy. *Biomol NMR Assign*, v. 12, p. 28808882-0, 2017.
- IQBAL, A. et al. Dissection of the water cavity of yeast thioredoxin 1: the effect of a hydrophobic residue in the cavity. *Biochemistry (Easton)*, v. 54, p. 2429-2442, 2015.
- IQBAL, A. et al. Structures of the reduced and oxidized state of the mutant D24A of yeast thioredoxin 1: insights into the mechanism for the closing of the water cavity. *J Biomol NMR*, v. 63, p. 417-423, 2015.

Proteínas relacionadas ao desenvolvimento neural

Três proteínas relacionadas ao desenvolvimento neural são foco do grupo do Professor Marcius da Silva Almeida, do Instituto de Bioquímica Médica e CENABIO.

O NGF (do inglês Nerve growth factor) é importante na sobrevivência de neurônios sensores e simpáticos, ligando-se em diferentes receptores, entre eles o p75NTR (Low affinity Nerve growth factor Receptor). A proteína p75 está relacionada ao desenvolvimento cerebral e doenças neurodegenerativas. Quando ativada induz a sobrevivência de neurônios ou a morte celular.

O CDNF (do inglês Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor) é um fator neurotrófico atípico que protege diversas células de vertebrados, dentre elas estão os neurônios dopaminérgicos. Diversos mecanismos são discutidos para a ação do CDNF, que foi descoberto por reduzir as lesões em neurônios dopaminérgicos da substância nigra, induzidas por 6-hidroxi-dopamina, um modelo para doença de Parkinson. Existem evidências da participação do CDNF tanto intracelular, reduzindo estresse de retículo, como extracelular. O grupo do Professor Marcius da Silva Almeida estabeleceu colaboração internacional e, em conjunto com as capacidades do CENABIO, determinou a estrutura 3D

of TXNIP and a metabolomics approach will help to identify new metabolic targets and contribute to the development of new strategies for the treatment of cancer.

References:

- Iqbal, A. et al. 1H, 13C and 15N chemical shift assignments of *Saccharomyces cerevisiae* type 1 thioredoxin in the oxidized state by solution NMR spectroscopy. *Biomol NMR Assign*, v. 12, p. 28808882-0, 2017.
- Iqbal, A. et al. Dissection of the water cavity of yeast thioredoxin 1: the effect of a hydrophobic residue in the cavity. *Biochemistry (Easton)*, v. 54, p. 2429-2442, 2015.
- Iqbal, A. et al. Structures of the reduced and oxidized state of the mutant D24A of yeast thioredoxin 1: insights into the mechanism for the closing of the water cavity. *J Biomol NMR*, v. 63, p. 417-423, 2015.

Cruzeiro-Silva, C. et al. Hydration and Conformational Equilibrium in Yeast Thioredoxin 1: Implication for H⁺ Exchange. *Biochemistry (Easton)*, v. 53, p. 2890-2902, 2014.

Proteins related to neural development

Three proteins related to neural development are the focus of the group led by Professor Marcius da Silva Almeida, from the Institute of Medical Biochemistry and CENABIO.

Nerve growth factor (NGF) is important in the survival of sensor and sympathetic neurons, binding to different receptors, including Low affinity Nerve growth factor Receptor (p75NTR). The p75 protein is related to brain development and neurodegenerative diseases. When activated, it induces neuron survival or cell death.

Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor (CDNF) is an atypical neurotrophic factor that protects several vertebrate cells, including dopaminergic neurons. Several mechanisms are discussed for the action of CDNF, which was discovered to reduce lesions in dopaminergic neurons of the substantia nigra, induced by 6-hydroxy-dopamine, a model for Parkinson's disease. There is evidence of the participation of CDNF both intracellular, reducing reticulum stress, and extracellular. Professor Marcius da Silva Almeida's group

em solução desse fator neurotrófico e demonstrou que o CDNF interage com a proteína alfa-sinucleína, inibindo sua agregação. A agregação da alfa-sinucleína é conhecida por ser um dos principais fatores causadores de doenças neurodegenerativas, como o já citado Parkinson.

A proteína BEX3 (do inglês brain expressed x-linked) é produzida em organismos placentados e está relacionada ao desenvolvimento do sistema nervoso central. A BEX3 interage com a porção intracelular do receptor de NGF p75 ou do receptor de NGF TrkA, sendo essa interação responsável pela sinalização de apoptose ou sobrevivência celular, respectivamente. Apesar de ser conhecida como uma proteína intrinsecamente desovelada, a BEX3 adota conformação estável após interação com fragmentos de tRNA e sofre o fenômeno de transição de fase líquido-líquido, fenômeno descrito com auxílio de tecnologias disponíveis no CENABIO, como RMN e microscopia de contraste de interferência diferencial.

Referências:

- ALBERT, K. et al. Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor Reduces α -Synuclein Aggregation and Propagation and Alleviates Behavioural Alterations in vivo. *MOLECULAR THERAPY*, v. 29, p. 2821-2840, 2021.
- CABRAL, K.M.S. et al. Biophysical Studies on BEX3, the p75NTR-Associated Cell Death Executor, Reveal a High-Order Oligomer with Partially Folded Regions. *PLoS One*, v. 10, p. e0137916, 2015.
- DO AMARAL, M.J. et al. Phase Separation and Disorder-to-Order Transition of Human Brain Expressed X-Linked 3 (hBEX3) in the Presence of Small Fragments of tRNA. *JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY*, v. 432, p. 2319-2348, 2020.
- LATGE, C. et al. The Solution Structure and Dynamics of Full-length Human Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor and Its Neuroprotective Role Against α -Synuclein Oligomers. *JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*, v. 290, p. 20527-20540, 2015.

established international collaboration and, together with the capabilities of CENABIO, determined the 3D structure in solution of this neurotrophic factor and demonstrated that CDNF interacts with the alpha-synuclein protein, inhibiting its aggregation. The aggregation of alpha-synuclein is known to be one of the main causes of neurodegenerative diseases such as Parkinson's.

The brain expressed x-linked protein (BEX3) is produced in placental organisms and is related to the development of the central nervous system. BEX3 interacts with the intracellular portion of the nerve growth factor (NGF) receptor p75 or the NGF receptor TrkA, and this interaction is responsible for signaling apoptosis or cell survival, respectively. Despite being known as an intrinsically unfolded protein, BEX3 adopts a stable conformation after interaction with tRNA fragments and undergoes the liquid-liquid phase transition phenomenon, a process described with the aid of technologies available at CENABIO such as NMR and differential interference contrast microscopy.

References:

- Albert, K. et al. Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor Reduces α -Synuclein Aggregation and Propagation and Alleviates Behavioural Alterations in vivo. MOLECULAR THERAPY, v. 29, p. 2821-2840, 2021.*
- Do Amaral, M. J. et al. Phase Separation and Disorder-to-Order Transition of Human Brain Expressed X-Linked 3 (hBEX3) in the Presence of Small Fragments of tRNA. JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY, v. 432, p. 2319-2348, 2020.*
- Latge, C. et al. The Solution Structure and Dynamics of Full-length Human Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor and Its Neuroprotective Role Against α -Synuclein Oligomers. JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, v. 290, p. 20527-20540, 2015.*
- Cabral, K. M. S. et al. Biophysical Studies on BEX3, the p75NTR-Associated Cell Death Executor, Reveal a High-Order Oligomer with Partially Folded Regions. PLoS One, v. 10, p. e0137916, 2015.*

Asparaginase tipo II de Escherichia coli como biofármaco

A enzima Asparaginase (EC 3.5.1.1) é uma amido-hidrolase presente em uma grande variedade de espécies de plantas, animais e microrganismos, que catalisa a reação de hidrólise do aminoácido asparagina em ácido aspártico e amônia. Essa família de enzimas contém 2 classes de amido-hidrolases. As asparaginases altamente específicas para asparagina, sendo as enzimas provenientes de Escherichia coli (EcA) e Erwinia chrysanthemi (ErA) são denominadas L-asparaginase do tipo II.

A L-asparagina é um aminoácido não essencial para células humanas. No entanto, em algumas células neoplásicas, como as existentes na leucemia linfoblástica aguda, a expressão de Asparagina sintase é extremamente baixa ou ausente e, portanto, essas células requerem fontes extracelulares de L-asparagina.

A L-Asparaginase do tipo II de Escherichia coli é capaz de reduzir a concentração de asparagina plasmática após administração intravenosa ou intramuscular e com isso exercer seu papel antineoplásico. A depleção da asparagina circulante pela ação da L-asparaginase leva a deficiências nutricionais nas células neoplásicas, inibição da síntese proteica e eventualmente a apoptose delas mesmas causando a regressão da leucemia.

Os grupos dos Professores Marcio da Silva Almeida, Luis Mauricio Trambaioli da Rocha e Lima e Fábio Ceneviva Lacerda de Almeida têm usado a RMN e cristalografia por raios X, tecnologias disponíveis no CENABIO, para caracterizar formulações e uma versão recombinante da L-Asparaginase do tipo II de E. coli produzida na Plataforma Avançada de Biomoléculas do CENABIO. Esses estudos têm como meta mitigar a dependência nacional desse insumo, que é importado para ser distribuído pelo SUS.

Referências:

- DE ARAÚJO, T.S. et al. Biophysical characterization of two commercially available preparations of the drug containing Escherichia coli L-Asparaginase 2. *Biophys. Chem.* v. 271, p. 106554, 2021.
- LIMA, L.M.T.R. et al. Monitoring asparaginase activity. *LANCET ONCOL.*, v. 19, p. e574, 2018.

Escherichia coli type II asparaginase as a biopharmaceutical

The enzyme asparaginase (EC 3.5.1.1) is an amidohydrolase present in a wide variety of plant, animal and microorganism species that catalyzes the hydrolysis reaction of the amino acid asparagine into aspartic acid and ammonia. This family of enzymes contains 2 classes of amidohydrolases. The highly specific asparaginases for asparagine and the enzymes from Escherichia coli (EcA) and Erwinia chrysanthemi (ErA) are called type II L-asparaginase.

L-asparagine is a non-essential amino acid for human cells. However, in some neoplastic cells, such as those in acute lymphoblastic leukemia, the expression of asparagine synthase is extremely low or absent, and therefore these cells require extracellular sources of L-asparagine.

L-Asparaginase type II from E. coli can reduce the plasma asparagine concentration after intravenous or intramuscular administration, thus exerting an antineoplastic role. The depletion of circulating asparagine by the action of L-asparaginase leads to nutritional deficiencies in neoplastic cells, inhibition of protein synthesis and eventually their apoptosis, causing leukemia regression.

The groups of Drs M.S. Almeida, L.M.T.R. Lima and F.L.C. Almeida have used NMR and X-ray crystallography technologies at CENABIO, to characterize formulations and a recombinant version of L-asparaginase type II from E. coli produced in the Advanced Biomolecules Platform of CENABIO. These studies aim to mitigate national dependence on this input, which is imported to be distributed by the SUS.

References:

- De Araújo, T. S. et al. Biophysical characterization of two commercially available preparations of the drug containing Escherichia coli L-Asparaginase 2. *Biophys. Chem.* v. 271, p. 106554, 2021.
- Lima, L. M. T. R. et al. Monitoring asparaginase activity. *LANCET ONCOL.*, v. 19, p. e574, 2018.

Proteína do príon e os mecanismos das doenças neurodegenerativas

A conversão estrutural da proteína príon celular (PrPC) na forma scrapie (PrPSc) é o evento chave para a deflagração das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis, doenças neurodegenerativas fatais que acometem humanos e outros mamíferos. A PrPC é monomérica e rica em alfa-hélices e a PrPSc está presente na forma multimérica enriquecida em folhas-beta. Diversas sequências de ácido nucleico foram descritas como catalizadoras da conversão da PrPC em espécies scrapie-like, que agregam e podem ser citotóxicas.

Recentemente, o grupo da Professora Yraima Cordeiro selecionou sequências de DNA que se ligam com alta afinidade (aptâmeros) ao domínio globular da rPrP murina (rPrP90-231) pela metodologia de SELEX. A interação da rPrP90-231 com os aptâmeros induz separação de fase líquido-líquido em condensados dinâmicos da ordem de micrômetros. O fenômeno de separação de fase é característico de proteínas ligantes de ácido nucleico, que apresentam regiões parcialmente enoveladas, e tem sido apontado como o novo paradigma da biologia celular. Ácidos nucleicos modulam finamente o estado dinâmico dos condensados, sendo a desregulação desse processo o mecanismo responsável pela evolução a agregados patológicos, segundo diversas evidências.

A caracterização detalhada do efeito de diferentes ácidos nucleicos na separação de fase da rPrP permitirá compreender o papel desse fenômeno na neurodegeneração, conseqüentemente fornecendo ferramentas valiosas para a intervenção terapêutica. Para caracterizar a interação dos ácidos nucleicos com a rPrP são aplicadas diversas técnicas espectroscópicas, incluindo a RMN, disponível no CENABIO.

Referências:

- MATOS, C.O. et al. *Liquid-liquid phase separation and fibrillation of the prion protein modulated by a high-affinity DNA aptamer. FASEB J. v. 34, p. 365-385, 2020.*

Prion protein and the mechanisms of neurodegenerative diseases

The structural conversion of cellular prion protein (PrPC) into the scrapie form (PrPSc) is the key event for the onset of transmissible spongiform encephalopathies, fatal neurodegenerative diseases that affect humans and other mammals. PrPC is monomeric and rich in alpha-helices and PrPSc is present in the multimeric form, enriched in beta-sheets. Several nucleic acid sequences have been described as catalysts for the conversion of PrPC into scrapie-like species, which aggregate and may be cytotoxic.

Recently, Professor Yraima Cordeiro's group selected DNA sequences that bind with high affinity (aptamers) to the globular domain of murine rPrP (rPrP90-231) by the SELEX methodology. The interaction of rPrP90-231 with aptamers induces liquid-liquid phase separation (LLPS) in dynamic condensates on the order of micrometers. The phenomenon of phase separation is characteristic of nucleic acid-binding proteins, which present partially folded regions and have been touted as the new paradigm of cell biology. Nucleic acids finely modulate the dynamic state of the condensates, and the deregulation of this process is the mechanism responsible for the evolution to pathological aggregates, according to several pieces of evidence.

The detailed characterization of the effect of different nucleic acids on the phase separation of rPrP will allow to understand the role of this phenomenon in neurodegeneration, consequently providing valuable tools for therapeutic intervention. To characterize the interaction of nucleic acids with rPrP, several spectroscopic techniques are applied, including NMR, available at CENABIO.

Reference:

- Matos, C. O. et al. Liquid-liquid phase separation and fibrillation of the prion protein modulated by a high-affinity DNA aptamer. FASEB J. v. 34, p. 365-385, 2020.*

HuR – proteína ligante de mRNA

A HuR atua na regulação pós-transcricional da expressão gênica, com papel chave no câncer. A HuR é a única proteína humana ubíqua que estabiliza transcritos de mRNA, estimulando síntese proteica. Dentre os mRNAs alvos, destacam-se os que codificam proteínas que participam no estabelecimento e desenvolvimento de tumores. Em mais de 50% dos cânceres, a expressão da HuR encontra-se aumentada. Há correlação direta entre o aumento da expressão citoplasmática da HuR e o tamanho, estágio avançado e resistência a drogas de diversos tipos de carcinomas. A HuR é um importante alvo terapêutico e marcador prognóstico do câncer.

Esse trabalho é realizado com auxílio das tecnologias disponíveis no CENABIO pelo grupo do Professor Anderson de Sá Pinheiro.

Referências:

- LIXA, C. et al. *Oligomeric transition and dynamics of RNA binding by the HuR RRM1 domain in solution. J. BIOMOL. NMR*, v. 72, p. 179-192, 2018.
- MUJO, A. et al. *¹H, ¹⁵N and ¹³C resonance assignments of the RRM1 domain of the key post-transcriptional regulator HuR. Biomol. NMR Assign. v. 9, p. 281-284, 2015.*

Contribuição Tecnológica e de Inovação

A seguir são listadas as atividades de inovação, incluindo as patentes, com relação direta ao uso da infraestrutura de RMN do CENABIO:

1 – Patente de peptido-mimético (WO2009032477) VEGFR-1/NRP-1 TARGETING PEPTIDES) desenvolvido a partir de colaboração entre os laboratórios BioNMR (UFRJ), coordenado por Fábio C. L. Almeida e Ana Paula Valente e o laboratório coordenado por Renata Pasqualini e Wadih Arap, no MD Anderson Cancer Center. A colaboração resultou no desenvolvimento de peptidomimético com atividade antiangiogênica. Esse conjunto de patentes internacionais dividida entre Universidade do Texas e a UFRJ tem grande potencial de aplicabilidade, principalmente

HuR – mRNA binding protein

HuR acts in the post-transcriptional regulation of gene expression, with a key role in cancer. HuR is the only ubiquitous human protein that stabilizes mRNA transcripts, stimulating protein synthesis. Among the target mRNAs, those that encode proteins that participate in the establishment and development of tumors stand out. In more than 50% of cancers, HuR expression is increased. There is a direct correlation between the increase in the cytoplasmic expression of HuR and the size, advanced stage and drug resistance of different types of carcinomas. HuR is an important therapeutic target and prognostic marker of cancer.

This work is carried out by Professor Anderson de Sá Pinheiro's group with the application of technologies available at CENABIO.

References:

- Lixa, C. et al. Oligomeric transition and dynamics of RNA binding by the HuR RRM1 domain in solution. J. BIOMOL. NMR, v. 72, p. 179-192, 2018.*
- Mujo, A. et al. ¹H, ¹⁵N and ¹³C resonance assignments of the RRM1 domain of the key post-transcriptional regulator HuR. Biomol. NMR Assign. v. 9, p. 281-284, 2015.*

Technological and Innovation Contributions

Innovation activities listed below, including patents, are directly related to the use of the CENABIO NMR infrastructure.

1- Peptide-mimetic patent (WO2009032477) VEGFR-1/NRP-1 TARGETING PEPTIDES) developed from a collaboration between the BioNMR laboratories (UFRJ), coordinated by Fabio CL Almeida and Ana Paula Valente and the laboratory coordinated by Renata Pasqualini and Wadih Arap at the MD Anderson Cancer Center. The collaboration resulted in the development of a peptidomimetic with anti-angiogenic activity. This set of international patents, divided between the University of Texas and UFRJ, has great potential for applicability, especially regarding their topical ocular use to

no que concerne seu uso ocular tópico para combater patologias que levam a hipervascularização da retina.

Entre agosto de 2008 e fevereiro de 2012, 8 patentes adicionais relacionadas a esse peptídeo foram concedidas ao mesmo grupo (CA2695960-A1, WO2009032477-A2, AU2008296733-A1, WO2009032477-A8, JP2011504458-W, CN102264755-A, US2012028880-A1, WO2009032477-A3, EP2283028-A2).

Inventores: PASQUALINI, Renata; ARAP, Wadih; GIORDANO, Ricardo José; VALENTE, Ana Paula; ALMEIDA, F. C. L.

2 – Patente para proteção de peptídeo desenvolvido a partir das medidas de interação entre a proteína DENVC e corpúsculos lipídicos. O peptídeo tem a capacidade de inibir esta interação e assim a replicação viral (Dengue). (WO2012159187) DENV-DERIVED PEPTIDES AND METHODS FOR THE INHIBITION OF THE FLAVIVIRUS REPLICATION.

Inventores: ALMEIDA, Fábio C. L.; SANTOS, Nuno; DA POIAN, Andrea; MARTINS, Ivo Cristiano da Rocha. Means and methods for the inhibition of the Flavivirus replication.

3 – Desenvolvimento de metodologia de síntese do peptídeo bioativo Octreotida.

A Octreotida é um peptídeo sintético utilizado para o tratamento da acromegalia e outros cânceres responsivos a somatostatina e hormônio do crescimento.

Esse projeto está sendo desenvolvido em parceria com a empresa Hygeia Biotecnologia e o Instituto Vital Brasil em convênio assinado com o Ministério da Saúde. O projeto é financiado pelos mecanismos descritos pela portaria 978/1284. O laboratório BioNMR, do Instituto de Bioquímica Médica da UFRJ, tem função no projeto de desenvolvimento de metodologia de síntese do peptídeo Octreotida.

Nome da empresa: Hygeia Biotecnologia, CNPJ: 08.808.822/0001-05.

combat pathologies that lead to retinal hypervascularization.

Between August 2008 and February 2012, 8 additional patents related to this peptide were awarded to this same group of researchers (CA2695960-A1, WO2009032477-A2, AU2008296733-A1, WO2009032477-A8, JP2011504458-W, CN102264755-A, US2012028880-A1, WO2009032477-A3, EP2283028-A2).

Inventors: PASQUALINI, R, ARAP, W, GIORDANO, R J, VALENTE, APaula ALMEIDA, FCL.

2- Patent for the protection of a peptide developed from the measurements of interaction between the DENVC protein and lipid bodies. The peptide has the ability to inhibit this interaction and thus viral replication (Dengue). (WO2012159187) DENV-DERIVED PEPTIDES AND METHODS FOR THE INHIBITION OF THE FLAVIVIRUS REPLICATION

Inventors: ALMEIDA FCL, . ALMEIDA N S, DA POIAN A, MARTINS I.C. Means and methods for the inhibition of the Flavivirus replication

3- Development of a methodology for the synthesis of the bioactive peptide Octreotide

Octreotide is a synthetic peptide used for the treatment of acromegaly and other somatostatin and growth hormone-responsive cancers. This project is being developed in partnership with the company Hygeia Biotecnologia (CNPJ 08.808.822/0001-05) and the Instituto Vital Brazil in an agreement signed with the Ministry of Health. The project is financed by the mechanisms described by the decree 978/1284. The BioNMR laboratory of the Institute of Medical Biochemistry at UFRJ is involved in the project to develop a methodology for the synthesis of the peptide Octreotide.

Visão da técnica para o futuro da RMN

1 – Aumento da sensibilidade

Neste caso o aumento da sensibilidade se dá principalmente pelo uso de crio-sondas, evento no qual a relação sinal ruído aumenta em até 5 vezes em relação às sondas usuais. A Unidade de Biologia (UBE) Estrutural já possui uma destas crio-sondas no magneto de 600 MHz, mas tem a intenção de instalar novas crio-sondas nos magnetos de 900, 800 e 500 MHz.

Essas sondas possuem suas bobinas imersas em hélio líquido, o que diminui o ruído elétrico e conseqüentemente leva a um aumento da relação sinal ruído.

A técnica de RMN tem pouca sensibilidade, significando que, em geral, 0,2 mM é o limite inferior de concentração de biomoléculas para análise. Com as crio-sondas o limite chega em 0,04 mM, o que representa um enorme salto de abrangência da RMN, pois diversas proteínas, por exemplo, possuem um limite de solubilidade próximo desse valor. Para ilustrar a importância prática desse avanço técnico, de acordo com a experiência da Unidade, normalmente as proteínas mais importantes relacionadas com doenças degenerativas agregam facilmente quando em concentrações próximas a 0,1 mM.

Além de permitir o estudo de proteínas em menor concentração, as crio-sondas são muito importantes para análise de misturas complexas, como, por exemplo, sangue, saliva, meio de cultura e lisado celular, materiais em que é necessário avaliar a presença de substâncias em concentrações muito baixas, na faixa de micromolar. Estes estudos são denominados em conjunto de metabolômica por RMN e são fundamentais para a avaliação de substâncias traçadoras para doenças ou contaminantes em preparações farmacêuticas.

Por fim, o uso de um espectrômetro com crio-sonda para amostras “bem comportadas”, que ficam estáveis em concentrações de 1 mM ou mais, permite a diminuição do tempo de aquisição espectral, justamente devido a maior sensibilidade desta crio-sonda. Com isso, experimentos que poderiam levar até 6 dias de aquisição, podem ser coletados em até 2 dias.

Technology for the future of NMR

1- Increase in sensitivity

An increase in sensitivity can be achieved by the use of cryoprobes, where the signal-to-noise ratio increases up to five fold in relation to the usual probes. The CENABIO Structural Biology Unit has one of these cryoprobes on the 600 MHz magnet, but intends to install new ones on the 900, 800 and 500 MHz magnets.

These probes have their coils immersed in liquid helium, which reduces electrical noise, and consequently leads to an increase in the signal-to-noise ratio.

The NMR technique has low sensitivity, meaning that in general 0.2 mM is the lower limit of concentration of biomolecules for analysis. With cryoprobes, this limit reaches 0.04 mM, which represents a huge leap in NMR coverage, as several proteins, for example, have a solubility limit close to this value. To illustrate the practical importance of this technical advance, according to the experience of this Unit, in general, the most important proteins related to degenerative diseases, aggregate easily at concentrations close to 0.1 mM.

In addition to allowing the study of proteins at lower concentrations, cryoprobes are very important for the analysis of complex mixtures, such as blood, saliva, culture medium and cell lysate, where in general it is necessary to evaluate the presence of substances in very low concentrations, in the micromolar range. These studies are collectively called NMR metabolomics and are fundamental for the evaluation of tracer substances for diseases or contaminants in pharmaceutical preparations.

Finally, the use of a cryoprobe spectrometer for “well-behaved” samples, which are stable at concentrations of 1 mM or more, allows a reduction in the spectral acquisition time, precisely due to the greater sensitivity of this cryoprobe. An experiment that could take up to 6 days to acquire spectra without a cryoprobe could be carried out in only 2 days with a cryoprobe.

2 – Aumento da resolução

O aumento da resolução espectral se dá por aquisição de mais pontos em cada dimensão dos espectros, mas primariamente o limite de resolução é dado pela largura de linha dos sinais de RMN. A largura de linha é diretamente dependente do tamanho da molécula analisada e de grosso modo inversamente proporcional à intensidade do campo magnético. Para se estudar moléculas de até 20 kDa, são desejáveis campos magnéticos cuja precessão do hidrogênio seja maior de 400 MHz. Entretanto, para se estudar moléculas ainda mais complexas, com mais de 30 kDa, é necessário usar campos magnéticos acima de 800 MHz. Com magnetos de 900 MHz a 1200 MHz e usando sequências de pulso específicas de TROSY e CRINEPT, além de marcação isotópica com deutério, carbono e nitrogênio é possível estudar grandes complexos proteicos.

Atualmente temos um magneto de 800 MHz e mais recentemente foi instalado um magneto de 900 MHz. Com esses dois magnetos conseguimos não somente aumentar a resolução espectral, mas também a sensibilidade da técnica. Devido à grande demanda de estudos por RMN no Brasil, atendido muitas vezes pelo CENABIO, é almejada a aquisição de outro magneto de mais alto campo, seja ele outro 900 MHz ou até mesmo um 1000 MHz, com o qual o efeito de aumento de resolução é máximo. Ainda, a incorporação de frio-sondas leva a um aumento maior da sensibilidade do equipamento, permitindo estudar amostras mais rapidamente e mais diluídas, conforme indicado anteriormente.

3 – Criação de novas sequências de pulso

As sequências de pulso eletromagnéticas são o fundamento para a aquisição de diferentes espectros de RMN. Com os diferentes tipos disponíveis de sequência de pulsos, é possível adquirir o sinal e identificar o acoplamento de magnetização de cada um dos núcleos, sendo hidrogênio, carbono, nitrogênio e fósforo os mais usuais. O desenvolvimento de sequências de pulso, em princípio, inclui aprimoramentos que permitem aumento de sensibilidade e, por isso, diminuição do tempo de aquisição espectral. Entre os avanços mais recentes instalados

2- Increase in resolution

The increase in spectral resolution occurs through the acquisition of more points in each dimension of the spectrum, but primarily the resolution limit is given by the line width of the NMR signals. The line width is directly dependent on the size of the analyzed molecule and is roughly inversely proportional to the strength of the magnetic field. To study molecules of up to 20 kDa, magnetic fields whose hydrogen precession is greater than 400 MHz are desirable. However, to study even more complex molecules, with more than 30 kDa, it is necessary to use magnetic fields above 800 MHz. With magnets from 900 MHz to 1200 MHz and using specific pulse sequences of TROSY and CRINEPT in addition to isotopic labeling with deuterium, carbon and nitrogen, it is possible to study large protein complexes.

CENABIO currently have one spectrometer of 800 MHz and one of 900 MHz. With these two magnets, CENABIO managed to increase not only the spectral resolution, but also the sensitivity of the technique. Due to the great demand for access to NMR instruments and expertise at CENABIO, the acquisition of an additional magnet with a high field is a current goal. This new spectrometer will be another of 900 MHz or one of 1000 MHz, where the improvement in resolution reaches a maximum. The use of cryoprobes leads to an even greater increase in the sensitivity of the equipment, allowing for faster spectral acquisition of more diluted samples, as indicated above.

3- The creation of novel pulse sequences

Electromagnetic pulse sequences are the foundation for acquiring different NMR spectra. With the different types of pulse sequence available, it is possible to acquire the signal and identify the magnetization coupling of each of the nuclei, with hydrogen, carbon, nitrogen and phosphorus being the most common. The development of effective pulse sequences in principle allows improvements in sensitivity and therefore reduced spectral acquisition time. Among the most recent advances installed at CENABIO is a protocol for “Non-Uniform Sampling” (NUS). Through this acquisition technique, only a fraction of the most relevant data are collected for the construction of spectra of two or more

no CENABIO está a aquisição usando Non-Uniform Sampling (NUS). Por meio dessa técnica de aquisição, é coletada somente uma fração dos dados mais relevantes para a construção de espectros de duas ou mais dimensões, que são necessários para caracterização da estrutura de biomoléculas. Assim, na prática espectros multidimensionais que antes eram coletados em 5 dias, são coletados em um dia.

Outro avanço já implementado pelos usuários da UBE é a aquisição de espectros para caracterização de estados conformacionais invisíveis, que são muito pouco abundantes e apresentam dinâmica molecular específica. Estes estados invisíveis são fundamentais para a atividade das enzimas e biomoléculas sinalizadoras.

O grupo de usuários da UBE está sempre tentando novas variações destas sequências de pulso para aprimorar a aquisição de espectros, e conjuntamente com o avanço demonstrado pela literatura científica de RMN está aplicando as mais modernas tecnologias de aquisição espectral.

4 – Análise avançada de metabolômica de doenças

A UBE tem dado apoio a pesquisas na área de metabolômica que envolvem a análise de componentes de amostras complexas, como sangue, urina, saliva, meios de cultura e etapas de purificação de biofármacos. A empresa Bruker lançou o IVD_r, que é uma plataforma padronizada de metabolômica por RMN que permite a triagem pré-clínica de alto desempenho de amostras e a descoberta e validação de novos ensaios de metabolômica.

Essa tecnologia inclui hardware avançado (espectrômetro dedicado de 600 MHz), software, automação, bibliotecas espectrais e procedimentos operacionais padrão (SOPs) para validação de ensaios de biofluidos de alto desempenho e para triagem pré-clínica. Os benefícios do uso dessa plataforma incluem maior disponibilidade de conteúdo e alta definição de espectros, bem como excelente reprodutibilidade, alto rendimento e suporte de triagem clínica por uma comunidade de pesquisadores.

dimensions, which are necessary for characterization of the structure of biomolecules. Thus, in practice, multidimensional spectra that were previously collected in 5 days are collected in one day.

Another advance already implemented by users of the Structural Biology Unit is the acquisition of spectra for the characterization of invisible conformational states, which are very low in abundance and have specific molecular dynamics. These invisible states are fundamental for the activity of enzymes and signaling biomolecules.

The users of the Structural Biology Unit are always trying new variations of these pulse sequences, to improve the acquisition of spectra and together with the advances demonstrated by the scientific literature of NMR, it is applying the most modern technologies of spectral acquisition.

4- Advanced metabolomic analysis of diseases

The Structural Biology Unit maintains projects in the area of metabolomics, which involves the analysis of components of complex samples, such as blood, urine, saliva, culture media and biopharmaceutical purification steps. The Bruker company has launched IVD_r, which is a standardized NMR metabolomics platform that enables high-performance preclinical screening of samples and the discovery and validation of new metabolomics assays.

This technology includes advanced hardware (a dedicated 600 MHz spectrometer), software, automation, spectral libraries, and standard operating procedures (SOPs) for high-performance biofluid assay validation and pre-clinical screening. The benefits of using this platform include greater availability of content and high definition of spectrums, as well as excellent reproducibility, high throughput and clinical screening support by a community of researchers.

5 – Reciclagem de hélio líquido

Os espectrômetros de RMN necessitam de manutenção constante, incluindo o abastecimento bimensal com hélio líquido. O hélio líquido é fundamental para manter uma temperatura extremamente baixa (por volta de -270 oC) nas bobinas geradoras de campo magnético e com isso torná-las supercondutoras, possibilitando a geração dos campos magnéticos padrões dos espectrômetros de RMN. Essa temperatura das bobinas supercondutoras é obtida devido à evaporação do hélio líquido, em que estão imersas. Assim sendo, o funcionamento dos magnetos depende invariavelmente desse insumo. A falta de abastecimento adequado com hélio líquido não só causa desligamento do equipamento, mas possivelmente causa danos irreversíveis ao magneto.

A Universidade Federal do Rio de Janeiro contrata anualmente a compra de hélio (R\$ 2.150.815,08 em 2020) e nitrogênio líquidos (R\$ 525.200 em 2020) para uso multiusuário de toda a universidade, incluindo o CENABIO. O investimento anual somente em hélio líquido para a UBE com seus atuais 6 espectrômetros foi de R\$ 696.000 em 2020.

Devido à diminuição da captação de fontes naturais e o aumento no consumo, o hélio líquido vem se tornando um insumo cada vez mais raro e com isso o preço ao longo da última década vem aumentando [Kramer, 2019].

O preço do hélio líquido também tem aumentado constantemente por se tratar de um insumo importado, com precificação em dólar. Assim sendo, entre 2018 e 2019, o preço do hélio líquido em dólar dobrou, representando um aumento de praticamente o quádruplo para os consumidores do Brasil devido à variação desfavorável do real frente ao dólar.

Em razão da crise de abastecimento de hélio líquido, os maiores centros de RMN no mundo têm optado por instalar plantas de reciclagem de hélio líquido junto a suas estruturas onde ficam os espectrômetros de RMN.

Ainda que o suprimento de hélio líquido tenha se normalizado nos dois últimos anos, devido à diminuição da demanda e restabelecimento de plantas de extração [David Kramer, 2020], o consumo desse elemento ainda é contínuo e representa um custo significativo para o orçamento da UFRJ. Para além do

5- Liquid helium recycling plant

NMR spectrometers require constant maintenance, including refilling with liquid helium every two months. Liquid helium is essential for maintaining an extremely low temperature (around -270 oC) in the magnetic field generating coils and thus making them superconducting, enabling the generation of the standard magnetic fields of NMR spectrometers. This temperature of the superconducting coils is obtained due to the evaporation of the liquid helium, where they are immersed. Thus, the operation of magnets invariably depends on this input. Failure to properly supply liquid helium causes equipment shutdown, and it may cause irreversible damage to the magnet.

The Federal University of Rio de Janeiro annually contracts the purchase of helium (R\$ 2,150,815.08, about US\$ 418,634 in 2020) and liquid nitrogen (R\$ 525,200.00 in 2020) for multi-user use by the entire university, including that of CENABIO. The annual investment in liquid helium alone for the Structural Biology Unit with its current 6 spectrometers was R\$ 696,000.00 (US\$ 135,146) in 2020.

Due to the decrease in the capture of natural sources and the increase in consumption, liquid helium has become increasingly rare, and the price over the last decade has been increasing [Kramer, 2019]

Since it is imported, it is priced in dollars; between 2018 and 2019, the price of liquid helium in dollars doubled, representing an increase of almost four fold for Brazilian consumers, due to the unfavorable variation of the real against the dollar.

Faced with this crisis in the supply of liquid helium, the largest NMR centers in the world have chosen to install liquid helium recycling plants next to their structures where the NMR spectrometers are located.

Although the supply of liquid helium has normalized in the last two years, due to the decrease in demand and the re-establishment of extraction plants [Kramer, 2020], the consumption of this element at CENABIO is still continuous and represents a significant cost for the UFRJ budget. There

impacto financeiro, a instalação do sistema de reciclagem de hélio na UBE causará um aumento na segurança para o abastecimento dos equipamentos desse centro, uma vez que em períodos de crise atrasos na entrega de hélio líquido são recorrentes.

Assim, o grupo de usuários da UBE considerou de extrema importância estratégica a aquisição de uma planta de reciclagem de hélio líquido que garanta aproximadamente uma recuperação de 90% de hélio evaporado dos magnetos para garantir o funcionamento desse Centro Multiusuário, tornando-o mais autônomo para sua manutenção em relação ao uso de hélio líquido.

Com a proposta da instalação de uma planta de reciclagem de hélio líquido no Centro Nacional de RMN prevemos uma redução de 90% da necessidade de aquisição desse raro e valioso insumo, passando a necessitar de compras bimensais, em vez de anuais. Uma estimativa conservadora prevê que a planta de recuperação de hélio líquido se paga em 7 anos com a economia de hélio líquido, considerando o consumo elétrico necessário para alimentar a planta de reciclagem (em torno de 33 kW).

Referências:

- *KRAMER, D. Helium is again in short supply. DOI: 10.1063/PT.6.2.20220404a, 2022.*
- *KRAMER, D. Helium shortage has ended, at least for now. Physics Today. DOI: 10.1063/PT.6.2.20200605a, 2020.*
- *KRAMER, D. Helium users are at the mercy of suppliers. Physics Today v. 72, p. 26. 2019.*

are also unpredictable delays in delivery. Thus, in addition to the financial impact, installation of a helium recycling system in the Structural Biology Unit will increase the security for researchers, obviating one source of interruptions.

Thus, the user's group of the Structural Biology Unit considers it a matter of extreme strategic importance to acquire a liquid helium recycling plant that guarantees approximately 90% recovery of helium evaporated from the magnets

With the proposal to install a liquid helium recycling plant at the National NMR Center, it is anticipated a 90% reduction in the need to acquire this product, moving from bi-monthly to annual purchases. A conservative estimate predicts that the liquid helium recovery plant will pay for itself in 7 years with the liquid helium savings, considering the cost of electricity necessary to power the recycling plant (around 33 kW).

References:

- Kramer, D. Helium users are at the mercy of suppliers. Physics Today v. 72, p. 26. 2019.*
- Kramer, D. Helium shortage has ended, at least for now. Physics Today. DOI: 10.1063/PT.6.2.20200605a, 2020.*
- Kramer, D. Helium is again in short supply. DOI:10.1063/PT.6.2.20220404a, 2022.*

4.3.1 Plataforma avançada de biomoléculas

A Plataforma Avançada de Biomoléculas (PAB) (<https://www.cenabio-pab.com>) é um laboratório da Universidade Federal do Rio de Janeiro que atua em pesquisa e desenvolvimento de proteínas e peptídeos para terapia e diagnóstico.



Prédio da PAB, construído com apoio da FAPERJ, em 2017. / Inaugurated on December 18, 2017, the Protein Advanced Biochemistry (PAB)



Inauguração da PAB com a presença do seu idealizador, Marcius da Silva Almeida (à esquerda, no primeiro plano), o Diretor do CENABIO, Adalberto Vieyra (centro) e convidados ilustres. Dezembro de 2017 Créditos: Arquivo CENABIO. / *laboratory brings together the extensive hands-on experience of its members and collaborators in the development of protein and peptide production processes, and the translation of products to the market.*

4.3.1. Protein Advanced Biochemistry (PAB) Laboratory

The Protein Advanced Biochemistry laboratory (<https://www.cenabio-pab.com>) at the Federal University of Rio de Janeiro works in research and development of proteins and peptides for therapy and diagnosis.

Inauguration of the PAB with its principal investigator, Marcius da Silva Almeida (left foreground), Adalberto Vieyra (center), Director of CENABIO, and distinguished guests. December, 2017. Credit: CENABIO archive.

Research and products already developed include: 1- COVID-19 therapy and diagnosis; 2- acute lymphoblastic leukemia therapy; 3- therapy against degenerative diseases related to aging; 4- therapy against Zika virus.

Currently, the research group of the Protein Advanced Biochemistry laboratory has four PhD professors (Marcius da Silva Almeida – Founder and Coordinator; Fabio Ceneviva Lacerda de Almeida – Advisory Board; Luis Mauricio Trambaioli – Advisory Board; Kátia MS Cabral – Project Manager), two specialists (Rafael A. Andrade – Process Manager; Jéssica M. Azevedo – Laboratory Manager), in addition to graduate and undergraduate students who develop their projects and prototypes, generally in the area of human health.

The Protein Advanced Biochemistry laboratory is an academic environment conducive to the development of research projects in a network of collaborators, including prototypes for the biopharmaceuticals and diagnostics market, in addition to catalyzing interactions with startups and the biotechnology industry. Partners include Biozeus (<https://biozeus.com.br>), Novageia (<https://novageia.com.br>) and Osiris (<https://osirisigem.wixsite.com/osirisrioufrj>), in addition to academic research laboratories at the Health Sciences Center/UFRJ.

Many PAB collaborators do not have laboratories nearby, or even on the same campus. In this case, collaborators who seek solutions for the production or characterization of proteins or peptides with diverse and specific applications for their research projects are assigned temporary space in this shared laboratory.

Inaugurada em 18 de dezembro de 2017, a PAB reúne a vasta experiência de seus membros e colaboradores em desenvolvimento de processos de produção de proteínas e peptídeos e translação de produtos para o mercado.

As pesquisas e produtos já desenvolvidos incluem: 1 – terapia e diagnóstico da Covid-19; 2 – terapia de leucemia linfoblástica aguda; 3 – terapia contra doenças degenerativas relacionadas ao envelhecimento; 4 – terapia contra vírus Zika.

Atualmente o grupo de pesquisa da PAB conta com quatro professores doutores (Marcius da Silva Almeida – Fundador e Coordenador; Fábio Geneviva Lacerda de Almeida – Conselho Consultivo; Luis Mauricio Trambaioli – Conselho Consultivo; Kátia M.S. Cabral – Gerente de projetos), dois especialistas (Rafael A. Andrade – Gerente de processos; Jéssica M. Azevedo – Gerente de laboratório), além de estudantes de pós-graduação e de graduação que desenvolvem seus projetos e protótipos geralmente na área da saúde humana.

A PAB é o ambiente no meio acadêmico propício para estimular o desenvolvimento de projetos de pesquisa em rede de colaboradores, de protótipos para o mercado de biofármacos e diagnóstico, além de catalisar a interação com startups e a indústria de biotecnologia. Os parceiros incluem a Biozeus (<https://biozeus.com.br>), Novageia (<https://novageia.com.br>) e Osiris (<https://osirisigem.wixsite.com/osirisrioufrj>), além de laboratórios de pesquisa acadêmica da UFRJ.

Uma grande parte dos usuários da PAB não tem laboratórios nos arredores desse campus. Os colaboradores que buscam soluções para produção ou caracterização de proteínas ou peptídeos com aplicações diversas e específicas para seus projetos de pesquisa têm acesso a espaço temporário nesse laboratório compartilhado.

Na PAB existem diversos equipamentos para produção e análise de proteínas ou peptídeos. Destacam-se o biorreator para escala laboratorial, indicado para o desenvolvimento de processos voltados para a indústria, os sistemas de cromatografia líquida, analíticos ou preparativos, sintetizador automatizado de peptídeos, equipamento de ressonância de plasmons de superfície para identificar interações entre macromoléculas. Além desses equipamentos instalados na

At the PAB there are several tools for the production and analysis of proteins or peptides. Of note are the laboratory-scale bioreactor, indicated for the development of processes aimed at industry; liquid-chromatography systems, analytical or preparative; automated peptide synthesizer; and surface plasmon resonance equipment, to identify interactions between macromolecules. In addition to these tools installed at the PAB, the group of specialists on this platform has access to nuclear magnetic resonance, circular dichroism, and fluorescence spectrometers for comprehensive characterization of biomolecules. PAB is applying NMR culture medium metabolomics for the development of recombinant processes for the production of polypeptides, an area of great impact for the industry.

Ongoing and/or completed projects

Two types of projects are carried out in the PAB. Approximately half of the demand for its use comes from projects led by researchers external to the PAB, in this case representing a specific service offer (35 biomolecules) for these external researchers (16 groups). Due to confidentiality agreements with these partners, these projects or products cannot be specified yet; the project of Production of enzymes for the diagnosis of SARS-CoV-2 by Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP), in partnership with the startup Osiris-Rio (<https://osirisigem.wixsite.com/osirisrioufrj>), can be highlighted here.

The other half of the projects carried out at PAB are authored by a member of this laboratory. These projects make up part or all of the dissertation or thesis of a student whose advisor is a permanent member of PAB. Among these projects, a biotechnology project for the production and characterization of L-Asparaginase type 2 from Escherichia coli, with application in acute lymphoblastic leukemia, stands out. This project is developed in partnership with the biotechnology startup Novageia (<https://novageia.com.br/>) and the Martagão Gesteira Institute for Childcare and Pediatrics – (IPPMG) (<http://www.ippmg.ufrj.br>) and has strong support from FAPERJ through the Startup-Bio program.

PAB, o grupo de especialistas da plataforma tem acesso a espectrômetros de ressonância magnética nuclear, dicroísmo circular, fluorescência para caracterização compreensiva de biomoléculas. A PAB está aplicando metabolômica de meio de cultivo por RMN para desenvolvimento de processos recombinantes de produção de polipeptídios, área de grande impacto para a indústria.

Projetos em andamento e/ou finalizados

Dois tipos de projetos são realizados na PAB. Aproximadamente metade da demanda de sua utilização advém de projetos de pesquisadores externos à PAB, nesse caso representando oferta de serviço (35 biomoléculas) específica para esses pesquisadores externos (16 grupos). Devido a acordos de sigilo com esses parceiros, os projetos ou produtos não podem ser especificados, ainda assim destaca-se o projeto de Produção de enzimas para diagnóstico do SARS-CoV-2 por Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP), em parceria com a startup Osiris-Rio (<https://osirisigem.wixsite.com/osirisrioufrj>).

A outra metade dos projetos realizados na PAB é de autoria de algum membro do laboratório. Esses projetos são parte ou integralmente a dissertação ou tese de algum estudante orientado na PAB. Entre esses projetos se destaca um projeto na área de biotecnologia para produção e caracterização de L-Asparaginase tipo 2 de *Escherichia coli*, com aplicação em leucemia linfoblástica aguda. O projeto “Imaginaé” desenvolvido em parceria com a startup de biotecnologia Novageia (<https://novageia.com.br/>) e o Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG) (<http://www.ippmg.ufrj.br>) e tem forte apoio da FAPERJ por meio do edital Startup-Bio.

Lista de artigos publicados

Desde a criação da PAB em 2017, foram publicados 15 artigos em revistas científicas:

- Albert, K. et al. Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor Reduces α -Synuclein Aggregation and Propagation and Alleviates Behavioural Alterations in vivo. *MOLECULAR THERAPY*, v. 29, p. 2821-2840, 2021.

List of published articles

Since the creation of the PAB in 2017, 15 articles have been published:

Caruso, I. et al. Insights into the specificity for the interaction of the promiscuous SARS-CoV-2 nucleocapsid protein N-terminal domain with deoxyribonucleic acids. INT. J. OF BIOL. MACROMOL. v. 203, p. 466-480, 2022.

Do Amaral, M.J. et al. Phase separation of the mammalian prion protein: physiological and pathological perspectives. J. NEUROCHEM. v. 1, p. 1-2, 2022.

Silva-JR, H. et al. Formation of subvisible particles in commercial insulin formulations. COLLOIDS AND SURFACES B-BIOINTERFACES, v. 1, p. 112566-112567, 2022.

*Araújo, T.S. et al. Biophysical characterization of two commercially available preparations of the drug containing *Escherichia coli* L-Asparaginase 2. Biophys. Chem. v. 271, 2021.*

Albert K. et al. Cerebral Dopamine Neurotrophic Factor Reduces α -Synuclein Aggregation and Propagation and Alleviates Behavioural Alterations in vivo. MOLECULAR THERAPY, v. 29, p. 2821-2840, 2021.

Kleiz-Ferreira, J.M. et al. Three-Finger Toxins from Brazilian Coral Snakes: From Molecular Framework to Insights in Biological Function. TOXINS, v. 13, p. 328-328, 2021.

Altincekic N.K. et al. Large-Scale Recombinant Production of the SARS-CoV-2 Proteome for High-Throughput and Structural Biology Applications. FRONTIERS IN MOLECULAR BIOSCIENCES, v. 8, 2021.

Amaral, M.J. et al. Phase Separation and Disorder-to-Order Transition of Human Brain Expressed X-Linked 3 (hBEX3) in the Presence of Small Fragments of tRNA. J. MOL. BIOL., v. 432, p. 2319-2348, 2020.

Ferreira, J.K. et al. Brazilian three-finger toxins: What can we learn? From molecular framework to insights in biological function. TOXICON, v. 177, p. S57, 2020.

Matos, C.O. et al. Liquid-liquid phase separation and fibrillation of the prion protein modulated by a high-affinity DNA aptamer. THE FASEB JOURNAL, v. 34, p. 365-385, 2019.

Vazquez, L. et al. Properties of novel surfactin-derived biosurfactants obtained through solid-phase synthesis. J. PEP. SCIENCE, v. 1, p. e3129, 2018.

- Altincekic, N.K. et al. Large-Scale Recombinant Production of the SARS-CoV-2 Proteome for High-Throughput and Structural Biology Applications. *FRONTIERS IN MOLECULAR BIOSCIENCES*, v. 8, 2021.

- Araújo, T.S. et al. ¹H, ¹³C and ¹⁵N chemical shift assignment of lissencephaly-1 homology (LisH) domain homodimer of human two-hybrid-associated protein 1 with RanBPM (Twa1). *Biomolecular NMR Assignments*, v. 12, p. 99-102, 2017.

- Araújo, T.S. et al. Biophysical characterization of two commercially available preparations of the drug containing *Escherichia coli* L-Asparaginase 2. *Biophys. Chem.* v. 271, 2021.

- Caruso, I. et al. Insights into the specificity for the interaction of the promiscuous SARS-CoV-2 nucleocapsid protein N-terminal domain with deoxyribonucleic acids. *INT. J. OF BIOL. MACROMOL.* v. 203, p. 466-480, 2022.

- Do Amaral, M.J. et al. Phase Separation and Disorder-to-Order Transition of Human Brain Expressed X-Linked 3 (hBEX3) in the Presence of Small Fragments of tRNA. *J. MOL. BIOL.*, v. 432, p. 2319-2348, 2020.

- Do Amaral, M.J. et al. Phase separation of the mammalian prion protein: physiological and pathological perspectives. *J. NEUROCHEM.* v. 1, p. 1-2, 2022.

- Ferreira, J.K. et al. Brazilian three-finger toxins: What can we learn? From molecular framework to insights in biological function. *TOXICON*, v. 177, p. S57, 2020.

- Kleiz-Ferreira, J.M. et al. Three-Finger Toxins from Brazilian Coral Snakes: From Molecular Framework to Insights in Biological Function. *TOXINS*, v. 13, p. 328-328, 2021.

- Lima, L.M.T.R. et al. Monitoring asparaginase activity. *LANCET ONCOLOGY*, v. 19, p. e574, 2018.

- Matos, C.O. et al. Liquid-liquid phase separation and fibrillation of the prion protein modulated by a high-affinity DNA aptamer. *THE FASEB JOURNAL*, v. 34, p. 365-385, 2019.

- Silva-JR, H. et al. Formation of subvisible particles in commercial insulin formulations. *COLLOIDS AND SURFACES B-BIOINTERFACES*, v. 1, p. 112566-112567, 2022.

- Vazquez, L. et al. Comprehensive structural analysis of designed incomplete polypeptide chains of the replicase

Lima, L.M.T.R. et al. Monitoring asparaginase activity. LANCET ONCOLOGY, v. 19, p. e574, 2018.

Vazquez, L. et al. Comprehensive structural analysis of designed incomplete polypeptide chains of the replicase nonstructural protein 1 from the severe acute respiratory syndrome coronavirus. PLOS ONE, v. 12, p. e0182132, 2017.

Araújo, T.S. et al. ¹H, ¹³C and ¹⁵N chemical shift assignment of lissencephaly-1 homology (LisH) domain homodimer of human two-hybrid-associated protein 1 with RanBPM (Twa1). Biomolecular NMR Assignments, v. 12, p. 99-102, 2017.

Wicikowski, A. et al. Ligand-free method to produce the anti-angiogenic recombinant Galectin-3 carbohydrate recognition domain. Protein Expr. Purif., v. 144, p. 19-24, 2017.

Technology for the future of protein biochemistry

In accordance with the current demand for services and prototypes developed at PAB, investments are planned in new technologies including: fluorescence and protein spectrophotometry for parallel analysis of multiple samples; circular dichroism spectrometry, and an automated bioreactor. More technicians are also necessary to this Platform.

Still in the short term, it is intended to increase scalability for peptide synthesis, installing a state-of-the-art automated synthesizer and hiring a specialist specifically trained for organic chemical synthesis. In addition, it was identified that the acquisition of equipment for high-speed analysis is strategic for analyzing the conformational thermal stability of biomolecules (Thermoshift assay) and fluorescence-monitored thermophoresis.

Part of the master plan for the next 5 years includes the adaptation of a nearby isolated laboratory area containing a cold-storage room for prototyping. This section will permit an important reduction in personnel movement, as well as particle control and climate control for protein purification at 7 oC, in compliance with industrial protein production standards.

The advisory committee of the Advanced Biomolecules Platform has identified this area for prototyping as a change that will permit a leap in quality and development for this group and for the associated research laboratories, in terms of the production of protein prototypes in a controlled environment, accelerating

nonstructural protein 1 from the severe acute respiratory syndrome coronavirus. PLOS ONE, v. 12, p. e0182132, 2017.

- Vazquez, L. et al. Properties of novel surfactin-derived biosurfactants obtained through solid-phase synthesis. J. PEP. SCIENCE, v. 1, p. e3129, 2018.

- Wiocikowski, A. et al. Ligand-free method to produce the anti-angiogenic recombinant Galectin-3 carbohydrate recognition domain. Protein Expr. Purif., v. 144, p. 19-24, 2017.

Visão da técnica para o futuro em bioquímica de proteínas

De acordo com a demanda atual de serviços e protótipos desenvolvidos é proposto o investimento em novas tecnologias como: fluorescência e espectrofotometria de proteínas para várias amostras; espectrômetro de dicroísmo circular; biorreator automatizado. Também pretendemos contratar mais técnicos.

Ainda em curto prazo, se pretende aumentar a escalabilidade para síntese de peptídeos, instalando sintetizador automatizado de última geração e contratando especialista destinado especificamente para síntese química orgânica. Além disso, foi identificada ser estratégica a aquisição de equipamento capaz de análises paralelas de estabilidade térmica conformacional de biomoléculas (Thermoshift assay) e termoforese monitorada por fluorescência.

Parte de seu plano diretor de desenvolvimento, em um futuro próximo de até 5 anos, inclui a adaptação de uma área de laboratório isolada para prototipagem, contendo câmara frigorífica. Essa área isolada é essencial, pois tem contenção de circulação de pessoal, assim como controle de partículas e climatização para purificação de proteínas em 7 oC, em conformidade com os padrões de produção industrial de proteínas.

O grupo gestor da PAB identificou que essa área de prototipagem representará um salto de qualidade e desenvolvimento para este grupo e para os laboratórios de pesquisa associados, no que tange à produção de protótipos de proteínas em ambiente controlado, acelerando a translação

pode ser uma foto ou apenas cor

de produtos terapêuticos e de diagnóstico para benefício direto da população e fortalecendo um ambiente de inovação biotecnológica que atraia novos investimentos públicos e da rede privada.

A médio prazo, de 3-10 anos, se pretende estabelecer formalmente um centro de pesquisa para desenvolvimento de biomoléculas terapêuticas ou diagnósticas, reunindo esforços de pesquisadores da área de prospecção, desenvolvimento e caracterização de biofármacos, enzimas e outras biomoléculas com aplicação na área da saúde. Neste âmbito, pretendemos criar e estabelecer área para desenvolvimento de processo em biorreator, para bactérias, leveduras e células eucarióticas, criar Laboratório aberto de protótipos de produtos e processos (makerspaces). Esse laboratório de, aproximadamente, 70 m² terá uso compartilhado e aberto a múltiplos públicos com equipamentos básicos para prototipagem de biomoléculas.

the translation of products therapeutics and diagnostics for the direct benefit of the population and strengthening an environment of biotechnological innovation that attracts new public and private investments.

In the medium term, of 3-10 years, it is intended to formally establish a research center for the development of therapeutic or diagnostic biomolecules, bringing together efforts of researchers in the area of prospection, development and characterization of biopharmaceuticals, enzymes and other biomolecules with application in the area of health. In this context, it is intended to create an area for the development of a bioreactor for bacteria, yeast and eukaryotic cells, and create an open laboratory for prototypes of products and processes (makerspaces). This laboratory of approximately 70 m² will be shared and open to multiple users with basic equipment for prototyping biomolecules.



5. EXTENSÃO

CENABIO no universo da Extensão e Divulgação Científica

OUTREACH AND EDUCATION

Respeitando o princípio da indissolubilidade da tríade pesquisa, ensino e extensão, o CENABIO disponibiliza sua infraestrutura de ponta para atividades de Extensão Universitária. Complementando assim seu papel como facilitador e provedor para o desenvolvimento científico e tecnológico nacional na modalidade de Centro Multiusuário.

O presente capítulo trata da divulgação e popularização da Ciência realizada pelos projetos de Extensão Universitária do CENABIO em sua atuação como incentivador dos espaços de educação não formal, que complementam a educação formal dentro e fora da universidade.

Mesmo antes da sua criação oficial, em 2013, o CENABIO já participava de projetos de extensão em colaboração com outras unidades da UFRJ, recebendo estudantes da rede pública, de todo o Estado do Rio de Janeiro, em suas dependências, para que eles pudessem conhecer um pouco mais do dia a dia de um centro de pesquisa de tão renomada Universidade. Independentemente do projeto envolvido, o CENABIO encontra-se sempre aberto a visitas de escolas, grupos ou pessoas de dentro ou fora da universidade, que desejem saber mais sobre seu funcionamento, equipe e equipamentos.

Em parceria com o Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Biologia Estrutural e Bioimagem (INBEB), em 2010 foi criado o Núcleo de Educação e Divulgação Científica (NEDiCi). O NEDiCi organizou mais de 20 cursos, como os Cursos de Férias (inspirados na metodologia do Professor Leopoldo De Meis), cursos práticos e não expositivos, em que um tema é proposto pelos monitores. Os próprios estudantes discutem e criam experimentos sobre esse tema, sendo somente auxiliados pelos monitores para chegar às suas próprias conclusões. São cursos voltados para graduandos, professores e estudantes da educação básica (somando aproximadamente 800 participantes), oportunidade que complementa a formação de alunos de graduação e pós-graduação, uma vez que eles atuam

“Investment in science education from childhood... is the key to building a democratic, economically productive, more humane and sustainable society.” (Joana D’Arc Félix)

Respecting the principle of indissolubility of the research, teaching and extension triad, CENABIO makes its state-of-the-art infrastructure available for extension activities, complementing its role as a facilitator and provider of national scientific and technological development in the form of a Multiuser Center.

This chapter deals with the Outreach & Education of science carried out by the University Extension projects of CENABIO, in its role as a promoter of non-formal education spaces that complement formal education inside and outside the university.

Even before its official inauguration in 2013, CENABIO already participated in extension projects in collaboration with other UFRJ units, receiving students from the public network from all over the state of Rio de Janeiro, in its facilities, so that they could get to know a little more about the day-to-day life of a research center at an internationally recognized university. Regardless of the project involved, CENABIO is always open to visits from schools, groups or individuals who wish to know more about its operation, staff and equipment.

In 2010, the Sector for Scientific Education and Outreach (NEDiCi) was created. The NEDiCi organized more than 20 practical courses, such as the “Holiday Courses” (inspired by the methodology of Professor Leopoldo De Meis), where a theme is proposed by the monitors for this hands-on, do-it-yourself activity. The students themselves discuss and create experiments on the e proposed theme, being only helped by the monitors, to reach their own conclusions. These are courses aimed at undergraduates, teachers and students of basic education - totaling approximately 800 participants - that complement the training of undergraduate and graduate students, who act as monitors in the aforementioned courses and are trained to provide an environment that favors creativity and stimulates critical thinking, working with multidisciplinary topics such as biology, chemistry, physics, arts and mathematics, among others.

como monitores nos referidos cursos e são treinados para propiciar um ambiente que favoreça a criatividade e o estímulo ao pensamento crítico, trabalhando com temas multidisciplinares como biologia, química, física, artes, matemática, entre outros.

Em 2017, o projeto “Integração do Ensino Médio da Região Serrana de Nova Friburgo com a Universidade”, coordenado pelo Professor Emiliano Horacio Medei, foi registrado pelo CENABIO na UFRJ, tornando-se assim o primeiro projeto de extensão oficial do CENABIO. Esse projeto surgiu em 2010, ainda no Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF) e no que futuramente seria o CENABIO. Esse projeto visa aproximar e integrar a Região Serrana do Estado do Rio de Janeiro com a UFRJ, por meio da divulgação e popularização da Ciência na região. Com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) foi construído um laboratório de ciências e reformada a biblioteca do Colégio Estadual José Martins da Costa, escola parceira do projeto, o que permitiu a realização de cursos, feiras de ciências e diversas outras atividades que permitiam aos estudantes e professores vivenciar um pouco da realidade de um cientista.

Foi em 2018, com a criação da Diretoria de Extensão, e a nomeação da primeira Diretora Adjunta de Extensão do CENABIO, Isalira Peroba Rezende Ramos, que o CENABIO passou a expandir seus projetos de extensão e mostrar seu espaço e

In 2017, the project “Integration of the High School of the Serrana Region of Nova Friburgo with the University”, coordinated by Dr.Medei, was registered by CENABIO at UFRJ, thus becoming the first official extension project of CENABIO. This project emerged in 2010, still at the Carlos Chagas Filho Biophysics Institute (IBCCF). This project aims to bring together and integrate the Mountain Region of the State of Rio de Janeiro with UFRJ, through the Outreach & Education of science in this region. With the support of the Carlos Chagas Filho Foundation for Research Support of the State of Rio de Janeiro (FAPERJ), a science laboratory was built and the library of Colégio Estadual José Martins da Costa, a partner school in the project, was renovated, allowing courses, fairs and and several other activities that let students and teachers experience a little of the day-to-day reality of a scientist.



Dia de Ciências no Colégio Estadual José Martins da Costa em parceria com o projeto “Conhecendo o CENABIO – Ciência, Arte & Educação”. Crédito: Arquivo CENABIO. / *Science Day at Colégio Estadual José Martins da Costa in partnership with the project “Getting to Know CENABIO – Science, Art & Education” Credit: CENABIO archive*



Fotos de algumas oficinas pedagógicas do projeto “Conhecendo o CENABIO – Ciência, Arte & Educação” realizadas no CENABIO. Crédito: Arquivo CENABIO. / *Photos of some pedagogical workshops of the project “Getting to know CENABIO – Science, Art & Education” held in CENABIO*

relevância em sua área, cumprindo assim seu papel na Educação e divulgação da Ciência ao grande público, participando do processo de formação de cidadãos. Em resposta à necessidade de aproximação entre a academia e a sociedade, o CENABIO se propôs a desenvolver atividades direcionadas a crianças, jovens e adultos que possibilitassem enfrentar os desafios gerados pela dificuldade em se comunicar ciência para a população em geral, promovendo uma aproximação real entre a comunidade acadêmica universitária e a escola. Assim, diversos projetos foram criados com a intenção de ampliar a atuação do CENABIO no cenário da extensão universitária. Alguns destes projetos ilustram este livro, ressaltando que há mais informações nas redes sociais (Instagram: @cenabioufrj e YouTube: CENABIO Extensão).

Em 2019, foi criado o primeiro projeto dessa nova fase da Extensão no CENABIO, intitulado “Conhecendo o CENABIO – Ciência, Arte & Educação”. Esse projeto é coordenado por Isalira Peroba Rezende Ramos, e conta com a participação de Daniel Meira dos Anjos e Renata Travassos. O “Conhecendo o CENABIO – Ciência, Arte & Educação” visa criar e aplicar

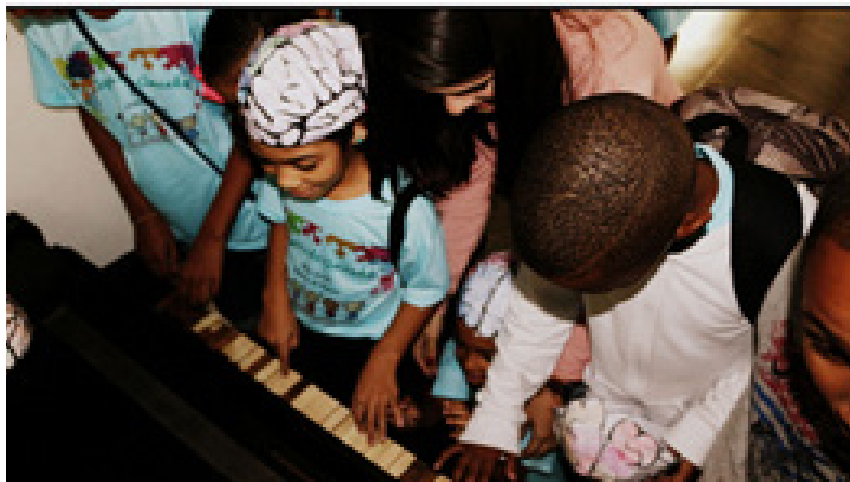
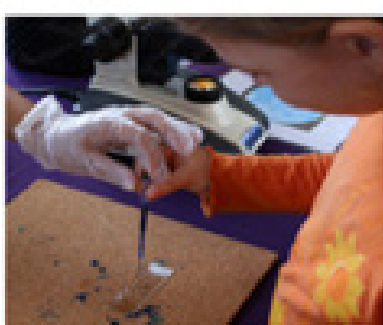
It was in 2018, with the creation of the Extension Directorate, that CENABIO began to expand its extension projects and show its space and relevance in this area, thus fulfilling its role in the outreach and education of science to the general public. In response to the high demand for knowledge and the need to bring academia and society closer together, CENABIO proposed to develop activities aimed at children, young people, and adults, which would make it possible to meet the challenges generated by poor communication, promoting a real approximation. of the university academic community and the school.

From that moment on, several projects were created with the intention of expanding the performance of CENABIO in the university extension scenario.

Next, each of these projects will be presented, emphasizing that they are on social networks (Instagram: @CENABIOufrj and Youtube CENABIO Extension).

In 2019, the first project of this new extension phase was created at CENABIO, entitled “Getting to Know CENABIO – Ciência, Arte & Educação”. This project is coordinated by the Assistant Director of Outreach at CENABIO, Isalira Peroba Rezende Ramos, with the participation of Daniel dos Anjos Meira, Renata Travassos and Camila Victoria Oliveira. This project aims to create and implement pedagogical workshops that promote an innovative and integrative education based on 4 pillars: Science, Social Emotional Intelligence. Conversation circles, courses and science and art events are presented. These encourage teamwork, autonomy, responsibility, creativity, self-knowledge and critical thinking, both from the team and from the visitors.

Dozens of workshops have already been held on the premises of CENABIO, where students can experience the experimental scientific routine of researchers and users of CENABIO, in addition to recreational activities, such as theatrical games.



Fotos de algumas oficinas pedagógicas do projeto “Conhecendo o CENABIO – Ciência, Arte & Educação” realizadas no CENABIO. Crédito: Arquivo CENABIO. / *Photos of some pedagogical workshops of the project “Getting to know CENABIO – Science, Art & Education” held in CENABIO*

oficinas pedagógicas que promovam uma educação inovadora e integrativa baseada em 4 pilares: ciência, arte, inteligência emocional e ação social. São realizadas rodas de conversa, cursos e eventos de ciência e arte, que estimulam o trabalho em equipe, autonomia, responsabilidade, criatividade, autoconhecimento e pensamento crítico tanto da equipe quanto dos visitantes.

Já foram realizadas dezenas de oficinas nas dependências do CENABIO, onde os estudantes puderam conhecer e vivenciar a rotina científica experimental dos pesquisadores e usuários do CENABIO, além de participarem de atividades lúdicas, como jogos teatrais.

As oficinas também foram realizadas nas escolas parceiras do projeto, onde foram criados ambientes propícios à discussão científica, com equipamentos e materiais do dia-a-dia do CENABIO.

Em seu ano de criação, 2019, o projeto atendeu mais de 25 escolas e 1.500 crianças e adolescentes no território fluminense. Com o isolamento social gerado pela pandemia de Covid-19 no início de 2020, o projeto foi adaptado para oficinas pedagógicas on-line. Foram realizadas 10 oficinas remotas para escolas de diversos Estados, como Alagoas (Escola Municipal Marechal Floriano Peixoto, Diretora Maria do Socorro Peroba Oliveira Santos) e Bahia (Escola Inkiri, Diretora Karina Clark), escolas essas que não poderiam ser atendidas pelo CENABIO devido à distância. As oficinas abordaram temas variados, com foco em tópicos de alta relevância para a sociedade como: verdades e mentiras sobre a Covid-19, vacinação contra o coronavírus e a realização de experimentos com temas que interligam a ciência e o cotidiano. A Escola Municipal Marechal Floriano Peixoto, situada em Maceió/AL, é uma escola de ensino fundamental 1, com a qual o projeto mantém parceria desde sua criação e são realizadas oficinas pedagógicas relacionadas aos temas de cada classe. A Escola Inkiri faz parte do Instituto Inkiri, situado na Ecovila de Piracanga, em Maraú/Bahia, e é parceira do CENABIO em diversos projetos. Atende da educação infantil ao ensino fundamental 1 e é considerada referência em inovação e criatividade na educação básica (<https://inkiri.com/>).

The workshops were also held at the project's partner schools, where environments conducive to scientific discussion were created, with equipment and materials from the daily routine of CENABIO.

In its year of creation, 2019, the project served more than 25 schools and 1,500 children and adolescents in Rio de Janeiro. With the social isolation generated by the COVID-19 pandemic in early 2020, the project was adapted for online pedagogical workshops. 10 remote workshops were held for schools in different states, such as Alagoas (Marechal Floriano Peixoto Municipal School, Director Maria do Socorro Peroba) and Bahia (Inkiri School, Director Karina Clark), schools that could not visit CENABIO due to distance. The workshops addressed a variety of topics, focusing on topics of high relevance to society, such as: truths and lies about COVID-19, Vaccination against the Coronavirus and carrying out experiments with topics that interconnect science and everyday life. Marechal Floriano Peixoto Municipal School, located in Maceió/AL, is an elementary school 1, with which the project has maintained a partnership since its creation and pedagogical workshops related to the themes of each class are held. The Inkiri School is part of the Inkiri Institute, located at Ecovila de Piracanga in Maraú/Bahia and is a partner of CENABIO in several projects. It serves from kindergarten to elementary school 1. It is considered a reference in innovation and creativity in basic education (www.inkir.com).



Fotos das oficinas pedagógicas remotas do projeto “Conhecendo o CENABIO – Ciência, Arte & Educação”. Crédito: Arquivo CENABIO. Crédito: Arquivo CENABIO. / Photos of the remote pedagogical workshops of the project “Getting to know CENABIO – Science, Art & Education”. Credit: CENABIO archive.

Estas oficinas resultaram em publicações em revistas da área:

- OLIVEIRA, C.V.S. et al. *Contribuições de espaços não-formais de educação na transformação social e divulgação científica: uma aprendizagem baseada no projeto de extensão universitária: Conhecendo o CENABIO – Ciência, Arte e Educação*. RAÍZES E RUMOS, v. 9, p. 29, 2021.

- RAMOS, I.P.R. *O processo de requalificação de uma oficina pedagógica para divulgar a ciência no CENABIO. Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização em Divulgação e Popularização da Ciência – Fundação Oswaldo Cruz. Casa de Oswaldo Cruz. Museu da Vida; Universidade Federal do Rio de Janeiro. Casa da Ciência; Fundação CECIERJ; Museu de Astronomia e Ciências Afins; Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2021.*

- TRAVASSOS, R. et al. *Divulgação Científica em tempos de pandemia: A importância de divulgar o fato em meio às fakes*. RAÍZES E RUMOS, v. 8, p. 231-239, 2020.

These workshops resulted in publications in journals in the area:

- Travassos, R. et al. *Divulgação Científica em tempos de pandemia: A importância de divulgar o fato em meio às fake*. RAÍZES E RUMOS, v. 8, p. 231-239, 2020.

- Oliveira, C. V. et al. *Contribuições de espaços não formais de educação na transformação social e divulgação científica: uma aprendizagem baseada no projeto de extensão universitária: Conhecendo o CENABIO - Ciência, Arte e Educação*. RAÍZES E RUMOS, v. 9, p. 29, 2021.

- Ramos, I.P.R. *O processo de requalificação de uma oficina pedagógica para divulgar a ciência no CENABIO. Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização em Divulgação e Popularização da Ciência – Fundação Oswaldo Cruz. Casa de Oswaldo Cruz. Museu da Vida; Universidade Federal do Rio de Janeiro. Casa da Ciência; Fundação CECIERJ; Museu de Astronomia e Ciências Afins; Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2021.*

Articles accepted for publication in E-book “Relatos da Extensão – Criatividade e Resistência em Tempos de Pandemia”, intitulado: “Extensão CENABIO e a pandemia de Covid-19: resistir para existir”.

Artigos aceitos para publicação no E-book “Relatos da Extensão – Criatividade e Resistência em Tempos de Pandemia”, intitulados: “Extensão CENABIO e a pandemia de Covid-19: resistir para existir”.

Ainda em 2019, analisando as demandas de extensão do CENABIO, foi criado o projeto “Expedição Ciência”, coordenado por Isalira Peroba Rezende Ramos, representando o CENABIO; Erika Negreiros, representando o Espaço Memorial Carlos Chagas Filho, do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF); Joaquim Fernando Mendes da Silva, do Departamento de Química Orgânica (IQ); Ludmila Ribeiro de Carvalho, representando o Museu de Anatomia Por Dentro do Corpo, do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB); e assessorado por Daniel Meira dos Anjos, Karina Siciliano e Eduardo Freitas. Esse projeto foi criado com o objetivo de oficializar o que já vinha sendo feito por essas 4 unidades da UFRJ em parceria com o Restaurante Universitário Central (RU), também da UFRJ, onde os estudantes do ensino fundamental e médio ficam um dia na UFRJ, visitando e participando de atividades em todas essas unidades e almoçando no RU, tendo o que foi chamado carinhosamente por seus coordenadores de “experiência real pela UFRJ”.

Also in 2019, analyzing CENABIO's extension demands, the “Science Expedition” project was created. This is coordinated by Isalira Peroba Rezende Ramos, representing CENABIO, Erika Negreiros, representing the Carlos Chagas Filho Memorial Space of the Biophysics Institute Carlos Chagas Filho (IBCCF), Joaquim Fernando Mendes da Silva, from the Department of Organic Chemistry (IQ), Ludmila Ribeiro de Carvalho, representing the Museum of Anatomy Inside the Body, from the Institute of Biomedical Sciences (ICB), and assisted by Daniel dos Anjos Meira, Karina Siciliano and Eduardo Freitas. This project was created with the objective of making official what was already being done by these 4 UFRJ units, in partnership with the Restaurante Universitário Central (RU), also from UFRJ, where elementary and high-school students stay for a day at UFRJ, visiting and participating in activities in all these units and having lunch in the RU, having what was affectionately called by its coordinators “real experience at UFRJ”.



Projeto “Expedição Ciência”, fotos das visitas dos estudantes à UFRJ Crédito: Arquivo CENABIO e Arquivo Espaço Memorial Carlos Chagas Filho/UFRJ. / *Science expedition project, photos of student visits to UFRJ. Credit: CENABIO and Espaço Memorial Carlos Chagas Filho/UFRJ archives.*

No início de 2020 foi criado o projeto “Pint of Milk”, também coordenado por Isalira Peroba Rezende Ramos. Em parceria com um dos maiores festivais de divulgação científica do mundo, o “Pint of Science”, surgiu o irmão mais novo desse festival já consagrado, voltado totalmente para o público infantil. Proporcionando um contato único das crianças com cientistas, esse projeto acaba despertando o interesse delas por ciência e ajudando a construir uma visão mais curiosa e crítica sobre o mundo. Esse projeto nasceu no início de 2019, no Brasil, idealizado de forma remota, sendo transmitido ao vivo pelo YouTube. O evento apresenta dois quadros principais: Pint of... Perguntas (nele crianças enviam perguntas sobre temas determinados, que são respondidas ao vivo no dia do evento) e Pint of... Experimentos (no qual são realizados experimentos por outras crianças e cientistas gravados ou ao vivo, de forma simples, para que o público possa replicar em casa, mostrando como a ciência faz parte do dia a dia e como pode ser divertida). Nos dois quadros os cientistas explicam e respondem as dúvidas do público em tempo real. As duas edições do evento alcançaram mais de 4.000 visualizações nas redes sociais e foram descritas em um artigo para o E-book “Relatos da Extensão — Criatividade e Resistência em Tempos de Pandemia”.

Dando continuidade à parceria com o Instituto Inkiri, Escola Inkiri e Universidade Viva Inkiri (UNI), parceiros de longa data do CENABIO e do projeto “Conhecendo o CENABIO – Ciência, Arte & Educação”, foi criado o projeto “Universidade Viva Inkiri na UFRJ”, coordenado pelo técnico do NEDiCi, Daniel Meira dos Anjos. A UNI é um projeto do Instituto Inkiri, que tem como proposta criar novos caminhos para uma aprendizagem integral, construindo campos para a Educação. Esse projeto conta com cursos e eventos regulares que acontecem na UFRJ e no Instituto Inkiri, bem como em outras localidades que sejam interessantes para o desenvolvimento da metodologia.

Em 2021, o técnico Daniel Meira dos Anjos iniciou a coordenação de mais um projeto, intitulado “INTEGRE_SI”. Focado no público-alvo adulto e jovem-adulto, o projeto conta com encontros semanais em formato de cursos, palestras, rodas de conversas, cineclubes, entre outras atividades, para abordar e discutir ciência, arte, filosofia, natureza, autotransformação,

In early 2020, the “Pint of Milk” project was created, also coordinated by Dr. Isalira Peroba Rezende Ramos. In partnership with Pint of Science, one of the biggest festivals of outreach and education in science in the world, the “younger brother” of this already established festival was born, aimed entirely at children. Providing children with a unique contact with scientists, this project ends up arousing their interest in science and helping to build a more curious and critical view of the world. This project was born in early 2019 in Brazil, conceived remotely and broadcast live on YouTube. The event features two main boards: Pint of... Questions (where children submit questions on specific topics, which are answered live on the day of the event) and Pint of... Experiments - in which experiments are carried out by other children and scientists recorded or live, in a simple way, so that the public can replicate them at home, showing how science is part of everyday life and can be fun. In both versions, scientists explain and answer the public’s questions in real time. The two editions of the event reached more than 4,000 views on social networks, and were described in an article for the E-book “Relatos da Extensão – Criatividade e Resistência em Tempos de Pandemia”.

Continuing the partnership with Instituto Inkiri, Escola Inkiri and Universidade Viva Inkiri (UNI), long-time partners of CENABIO and the project “Getting to Know CENABIO – Science, Art & Education”, the “Viva Inkiri University at UFRJ” project was created, coordinated by NEDiCi technician Daniel Meira dos Anjos. UNI is a project of the Inkiri Institute that proposes to create new paths for integral learning, building fields for education. This project has regular courses and events that take place at UFRJ and Instituto Inkiri, as well as in other locations that are interesting for the development of the methodology.

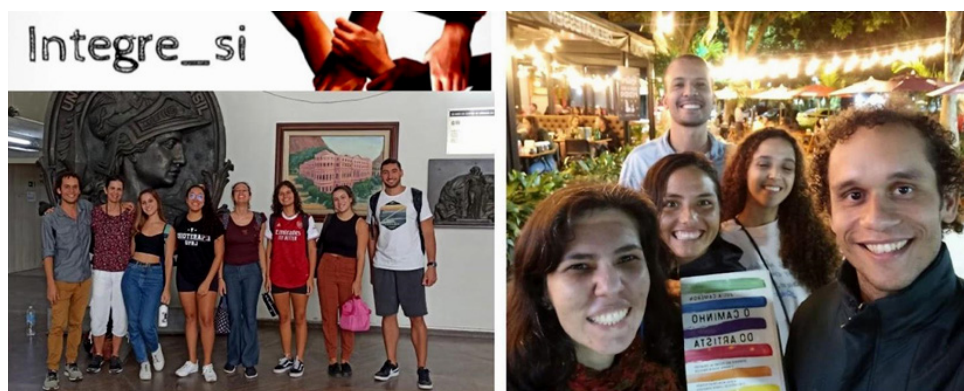


Cards do evento “Pint of Milk”, em 2020 e 2021. Créditos: Fernanda Martiath. / *Pint of Milk event cards in 2020 and 2021. Credits: Fernanda Martiath.*

transformação social e diversidade. Já foram realizados dois módulos: “Comunicação Não Violenta”, que apresentou aos alunos essa ferramenta social de diálogo com significado, humanidade, empatia e clareza; e “O Caminho do Artista”, que trabalhou o desbloqueio e expansão da criatividade para alunos e profissionais de todas as áreas por meio de textos teóricos, exercícios reflexivos, psicoterapia corporal e meditação. Ocorrendo também encontros presenciais em eventos culturais pela cidade.

Ainda em 2021, a equipe de Extensão do CENABIO, representada por Daniel Meira dos Anjos, foi convidada pelo Prof. Dr. Francisco Prosdócimi, do Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis (IBqM) para desenvolver uma disciplina inédita na UFRJ, um misto de disciplina de pós-graduação e extensão universitária sobre o tema “Ambientalismo”. Sendo firmada assim essa nova parceria entre o projeto de extensão do CENABIO, Integre_si, com a pós-graduação do IBqM. Foram ministradas nove aulas ao vivo pelo Zoom-YouTube (as aulas estão disponíveis

In 2021, technician Daniel Meira dos Anjos started a project entitled “INTEGRE_SI”. Focused on the adult and young-adult audience, the project has weekly meetings in the form of a course, lectures, conversation circles, film clubs, among other activities, to approach and discuss science, art, philosophy, nature, self-transformation, social transformation, and diversity. Two modules have already been carried out: Non-Violent Communication, which introduces students to this social tool for dialogue with meaning, humanity, empathy and clarity; Environmentalism, taught in conjunction with the IBqM graduate program (coordinated by Francisco Prosdócimi) and Rio’s Botanical Garden (coordinated by Pablo Rodrigues), with special guests in all classes, in which are discussed topics such as: ecology, hydrology, Ayurvedic medicine, shamanism, bioconstruction, and permaculture, among others.



Registros dos encontros do projeto “INTEGRE_SI”. Crédito: Arquivo CENABIO.
/ *Interviews with scientific personalities who are part of the history of CENABIO.*

no YouTube CENABIO Extensão) com diversos convidados especialistas para abordar temas relevantes, na tentativa de promover uma transformação de velhos hábitos, trocando-os por novos mais eco-friendly. As aulas abordaram temas como: pegada ecológica, vegetarianismo e veganismo, agrofloresta, reflorestamento, cuidados com as águas, ecotoxicologia, ecovilas, bioconstrução, yoga, ayurveda e plantas medicinais; e foram ministradas por Daniel Meira dos Anjos (CENABIO), Francisco Prosdocimi (IBqM), Pablo Rodrigues (Jardim Botânico/RJ) e Mirna Soto (médica colaboradora externa).

Outro projeto do CENABIO, o “Café Científico”, foi reformulado, tornando-se o projeto “Ciência, Arte e Cultura no CENABIO – Café com Ciência”, coordenado por Marcius da Silva Almeida, Isalira Peroba Rezende Ramos e Daniel Meira dos Anjos. No formato inicial do projeto, todo o corpo social do CENABIO se reúne para ouvir e discutir sobre projetos em andamento coordenados pelos convidados (de dentro e fora da UFRJ) e sobre os horizontes na ciência. A discussão é estimulada durante o café da manhã.

Durante a pandemia, o “Café Científico” foi adaptado para o modo virtual como o “Cyber Café Científico”. Nesse formato, foram apresentadas ao público externo as diferentes tecnologias e plataformas disponíveis no CENABIO. As apresentações, realizadas por integrantes do corpo social do CENABIO ou por convidados, abordam desde os princípios até as aplicações

The CENABIO project, Café Científico, was reformulated, becoming the project “Science, Art and Culture at CENABIO - Café com Ciência”, coordinated by Marcius da Silva Almeida, Isalira Peroba Rezende Ramos and Daniel dos Anjos Meira. In the initial format of this project, the entire social body of CENABIO gathered to hear and discuss ongoing projects coordinated by guests (from inside and outside UFRJ), as well as horizons in science. Discussion was followed by breakfast.

During the pandemic, the “Science Café” was adapted to virtual mode, and called “Science Cyber Café”. In this format, the different technologies and platforms available at CENABIO are presented to the external public. The presentations, by members of the social body of CENABIO or by guests, ranged from the beginnings to the applications of these technologies and platforms. Presentations are made in everyday language for non-specialist audiences. In addition to the scientific part, the interviewees are invited to talk about their professional trajectory. There are also artistic presentations, in addition to a free and interactive blog on science, art and culture on the CENABIO website, which are added to the production of professional documentaries and workshops on social technology.

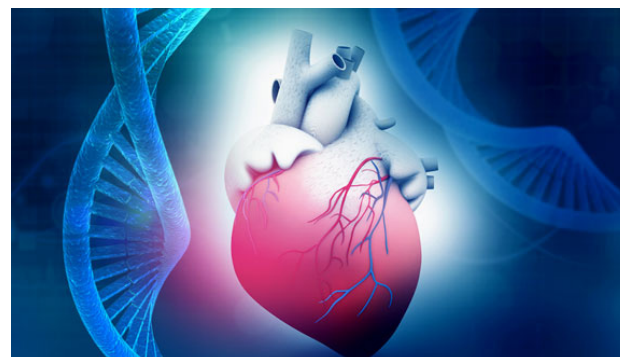


Entrevistas com personalidades científicas que fazem parte da história do CENABIO. Crédito: Arquivo CENABIO. / *Interviews with scientific personalities who are part of the history of CENABIO. Credit: CENABIO archive.*

Também em 2021, a professora Tais Hanae Kasai Brunswick iniciou o projeto “Levando ciência para as redes sociais — Divulgação científica sobre genômica e doenças cardiovasculares”, que visa divulgar informações científicas sobre cardiogenômica utilizando as redes sociais, auxiliando assim a Rede Nacional de Genômica Cardiovascular (RENOMICA) a expandir e difundir informações sobre doenças cardiovasculares hereditárias. A RENOMICA realizará o sequenciamento genético de mais 2400 pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS) com o objetivo de demonstrar que o diagnóstico genético em doenças cardiovasculares hereditárias é importante, viável e custo-efetivo como política pública de saúde no país, alicerçando a criação e implementação de uma nova rede de cuidados em saúde cardiovascular no SUS. O projeto de divulgação científica torna-se essencial nesse processo, uma vez que se estabelece como um canal aberto por meio do qual pacientes de todo o Brasil têm acesso a informações sobre o tema embasadas cientificamente por pesquisadores de toda a rede e construído por alunos de graduação. O projeto de



In 2021, Dr. Tais Hanae Kasai Brunswick started the project “Carrying science to the social networks - genes and cardiovascular diseases for non-scientists”, which aims to disseminate scientific information on cardiogenomics using social networks, thus helping the National Cardiovascular Genomics Network (Renomica) to expand and disseminate information about these types of diseases. RENOMICA will carry out the genetic sequencing of over 2400 patients from the Unified Health System (SUS) with the objective of demonstrating that genetic diagnosis in hereditary cardiovascular diseases is important, viable and cost-effective as a public health policy in the country, underpinning the creation and implementation of a new cardiovascular health care network in the SUS. The outreach project becomes essential in this process, since it is established as a channel through which patients from all over Brazil have access to information on the subject scientifically supported by



Logo do projeto “Levando ciência para as redes sociais — Divulgação científica sobre genômica e doenças cardiovasculares”. Crédito: Arquivo Renomica./ *Logo of the project “Levando ciência para as redes sociais – Divulgação científica sobre genômica e doenças cardiovasculares”. Credit: Renomica archive*

divulgação nas redes sociais permite não somente a difusão de conhecimento e popularização da ciência, mas também se torna também uma importante ferramenta de comunicação para que pacientes e profissionais de saúde interessados em participar desta iniciativa nacional sejam conectados à RENOMICA. Mais informações podem ser encontradas em nossas redes sociais: instagram e facebook: @renomica.brasil ou site: renomica.org.br.

Além dos projetos de extensão mencionados, há também o “Encontro CENABIO”, evento anual que tem como objetivo integrar a sociedade e a comunidade científica com as atividades realizadas no CENABIO. O evento teve sua primeira edição em 2019 com a temática “Prospecção de Novas Fronteiras de Saberes”, ocasião em que foram abordadas as fronteiras nas quais o CENABIO queria chegar. Em 2020, sua segunda edição teve como tema: “Explorando Novas Perspectivas contra a Pandemia num Centro Multiusuários”, quando foram abordadas as atividades do CENABIO em relação à pandemia de Covid-19. Na terceira edição, em 2021, o tema foi “Usuários em ação num centro multiusuário”, oportunidade em que os usuários do CENABIO apresentaram projetos que vêm sendo desenvolvidos com o auxílio dessa Unidade. Nos eventos sempre estavam presentes convidados ilustres, como a reitora Denise Pires e do ganhador do Prêmio Nobel de Química de 2002, Dr. Kurt Wüthrich.

researchers from across the network. The social media allows not only the outreach and Education of science, but also becomes an important communication tool for patients and health professionals interested in participating in this national initiative to be connected to RENOMICA. More information can be found on social networks: instagram and facebook: @renomica.brasil or website: renomica.org.br.

In addition to the extension projects mentioned, there is also the CENABIO Meeting, an annual event that aims to integrate society and the scientific community with the activities carried out at CENABIO. The event had its first edition in 2019, with the theme “Meeting for Prospecção of New Frontiers of Knowledge,” where the frontiers that CENABIO wanted to reach were addressed. In 2020, its second edition had as its theme: “Exploring New Perspectives against the Pandemic in a Multiuser Center”, where the activities of CENABIO / UFRJ in relation to the COVID-19 pandemic were addressed. In the third edition, in 2021, the theme was “Users in action in a multi-user center”, where CENABIO users presented projects that had been developed with the help of this unit. These events always counted on the presence of distinguished guests, such as the University Chancellor Dr.Denise Pires and the Nobel laureate Dr.Kurt Wüthrich.

Pode ser foto ou cor

6. O PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO PROFISSIONAL – MESTRADO E DOUTORADO

*THE PROFESSIONAL POSTGRADUATE
PROGRAM – MASTERS AND DOCTORATE*

Concomitantemente às atividades de pesquisa e na oferta de conhecimento para o desenvolvimento tecnológico e a inovação, o CENABIO tem uma forte inserção na formação de pessoal altamente qualificado, representado pelos técnicos, tecnólogos e pelos estudantes/usuários de programas de pós-graduação de todo o país que aqui encontram um rico ambiente multiusuário para desenvolver seus projetos.

Há hoje um consenso entre os pesquisadores sobre a prioridade que deve ser dada ao processo de formação de pessoal altamente qualificado, em diferentes níveis, para a atividade de pesquisa científica e tecnológica, bem como para a inovação tecnológica nas empresas. A expansão qualitativa e quantitativa da produção acadêmica e a transformação do conhecimento existente em processos e produtos inovadores requerem cada vez mais a participação de especialistas com formação avançada em diferentes áreas do conhecimento. Assim, ganha relevância a expansão dos cursos de nível superior na modalidade tecnólogo e os cursos de pós-graduação profissional. Atualmente, a pesquisa experimental depende da utilização de equipamentos altamente especializados e de complexidade crescente. Além disso, pelo elevado custo de várias categorias de equipamentos, observou-se nos últimos anos, concomitantemente ao crescimento do investimento nos diversos centros de pesquisa brasileiros, a criação de centros multiusuários que integram a aplicação de diversas técnicas visando à inovação e produção científica de alto impacto. Naturalmente, a demanda por profissionais capacitados ao manuseio de tais equipamentos e necessários na análise dos dados gerados por eles é crescente. Não somente isso, o Brasil é um consumidor de tecnologia aplicada ao desenvolvimento científico. As empresas que aqui se estabelecem e que fornecem equipamentos aos pesquisadores brasileiros também apresentam uma demanda pela formação de profissionais especializados. No entanto, esses profissionais

**ADICIONAR FOTO E
LEGENDA**



In addition to research activities and the offer of expertise for technological development and innovation, CENABIO has a strong presence focused on training of highly qualified personnel, represented by technicians, technologists, and researchers from all over the country who find here a rich multi-user environment to develop their projects.

There is now a consensus among researchers on the high priority that should be given to the process of training highly qualified personnel at different levels for scientific and technological research as well as for technological innovation in industry. The qualitative and quantitative expansion of academic production as well as the transformation of existing knowledge into innovative processes and products increasingly require the participation of specialists with advanced training in different areas of knowledge. In this context, the expansion of higher-education courses in the technologist modality and

são extremamente raros, uma vez que são poucos os cursos dedicados à sua formação e, na maioria das vezes, eles são formados quase que de forma artesanal.

Os programas de Pós-Graduação Profissional que vêm sendo estabelecidos com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) têm tudo para cumprir um papel relevante na formação de tais profissionais. No entanto, é possível identificar algumas áreas críticas que não têm sido atendidas pelos programas já existentes, como a grande área da biologia estrutural e bioimagem. Partindo da determinação da estrutura tridimensional de macromoléculas, através da difração de raios X, da ressonância magnética nuclear e da criomicroscopia eletrônica, passando pelas diferentes modalidades de microscopia, esta área se estende pelas várias metodologias de geração de imagens de aplicação biomédica, as quais permitem o estudo de pacientes e animais de experimentação vivos por meio do imageamento por ressonância magnética, tomografia computadorizada, bioluminescência e ultrassom. Há uma crescente demanda pela formação de profissionais capacitados de nível superior que atuem em hospitais, clínicas, laboratórios de diagnóstico, laboratórios de pesquisa e centros de bioimagem. O trabalho com imagens na área médica e biomédica tem tido um expressivo crescimento nos últimos anos devido às possibilidades e vantagens que esses equipamentos e tecnologias trazem para a geração de diagnósticos não invasivos de pacientes.

A necessidade de formação de pessoal de alto nível para atuação em biologia estrutural e bioimagem nas diferentes áreas de microscopia e na bioimagem de organismos vivos se justifica: [i] pelo investimento significativo em equipamentos específicos para o uso na área de imagem, [ii] pelo crescimento do número de pesquisadores atuantes nas mais diferentes áreas do conhecimento e que atuam na área de obtenção de imagens pelos métodos mencionados, [iii] pela crescente formação de centros contendo equipamentos altamente especializados para uso multiusuário, [iv] pela demanda por parte de empresas fornecedoras dos diversos equipamentos científicos utilizados na área de microscopia e de imagem, [v] pelo crescente uso

professional postgraduate courses becomes relevant. Currently, experimental research depends on the use of highly specialized and increasingly complex equipment. In addition, due to the high cost of several categories of equipment, in recent years, concomitantly with the growth in investment in various Brazilian research centers, multi-user centers have been created to integrate the application of a battery of techniques aimed at innovation and scientific production of high impact. Naturally, the demand for professionals trained to handle such equipment and analyze the data generated by them is growing. Not only that, but Brazil is also a consumer of technology applied to scientific development. The companies that are established in Brazil and supply equipment to Brazilian researchers also generate a demand for the training of specialized professionals. At present, these professionals are extremely rare, since there are few courses dedicated to their training and most of the time, they are trained one by one.

The Professional Postgraduate programs that have been established with the support of the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) play an important role in the training of these professionals. However, it is possible to identify some critical areas that have not been addressed by existing programs. These include the broad area of structural biology and bioimaging: starting from the determination of the three-dimensional structure of macromolecules, through X-ray diffraction, nuclear magnetic resonance and cryo-electron microscopy, the different modalities of microscopy and extending to the diverse methodologies for generating images of living patients and experimental animals, including magnetic resonance, computed tomography, bioluminescence and ultrasound. There is a growing demand for the training of professionals qualified to work in hospitals, clinics, diagnostic laboratories, research laboratories and bioimaging centers. The work with images in the medical and biomedical areas has grown enormously in recent years due to the possibilities and advantages that these tools bring to the task of generating non-invasive diagnoses of patients.

The need to train high-level personnel to work in structural biology and bioimaging, in the different areas of microscopy and in the bioimaging of living organisms, is justified by [i] the significant investment in specific equipment for use in

de metodologias de geração de imagens de aplicação médica e biomédica, que permitem o estudo não invasivo de pacientes, [vi] pela demanda reprimida composta por graduados que hoje se encaminham para os mestrados/doutorados acadêmicos pela falta de alternativa (esses jovens, por falta de vocação e pela própria dificuldade de absorção pela universidade no presente momento, acabam se frustrando e buscam inserção nos mais diferentes segmentos e/ou emigram, representando uma enorme perda para o Brasil por causa do investimento feito na sua formação), e [vii] pelo outro crescente grupo de profissionais que anseia por um doutorado de alto nível técnico para desenvolvimento e aplicação de tecnologias inovadoras. Esse grupo é composto por tecnólogos que já concluíram mestrado, seja acadêmico, seja profissional.

Todos esses fatores apontam para a necessidade de formação de um novo tipo de profissional, que comporá um quadro técnico altamente capacitado e especializado, com nível de Mestrado e Doutorado, que atuará em conjunto com os pesquisadores no processo de aquisição de dados e análise de resultados. A presença do profissional em bioimagens permitirá o melhor aproveitamento dos investimentos que vêm sendo feitos em infraestrutura de pesquisa no Brasil.

Em 2017, se iniciou no CENABIO o desenvolvimento de uma proposta de um Programa de Pós-Graduação Profissional em Tecnologias de Bioimagem e Bioestruturas (PPGP-TBB), que seria coordenado pela Professora Claudia Mermelstein. A atração de pessoal de instituições que trabalham e têm tradição na área de imagens e inovações tecnológicas em campos correlatos é de especial importância para alcançar uma alta e abrangente qualidade de ensino nesse programa. O corpo docente diverso é necessário para a capacitação e a formação de profissionais em diferentes campos de saberes e experiências profissionais, tanto para a oferta de disciplinas de capacitação geral e especializada, quanto para a orientação de dissertações e teses e desenvolvimento de produtos. O PPGP-TBB propõe três áreas de concentração: (1) Estrutura de Moléculas, (2) Imagem de Células e (3) Imagem de Organismos. Essas 3 áreas refletem [i] as expertises do corpo docente, [ii] a infraestrutura

imaging, [ii] the growth in the number of researchers working in widely differing areas of knowledge, obtaining images by the aforementioned methods, [iii] the construction of multi-user centers containing highly specialized equipment, [iv] demand on the part of companies that supply the scientific equipment used in the area of microscopy and imaging, [v] the growing use of imaging methodologies for medical and biomedical applications, which allow the non-invasive study of patients, [vi] repressed demand from graduates who are now heading towards academic masters/doctorates due to the lack of an alternative. T (these young people, due to the prospect of meagre salaries and the difficulty of being absorbed by the university at the moment, end up frustrated and seek insertion in different segments of the economy and frequently choose to emigrate, representing a huge loss to Brazil because of the investment made in their training), and [vii] to this group is added another that yearns for a doctorate at a high technical level with the development and application of innovative technologies. This group is composed of technologists who have already completed a master's degree, whether academic or professional.

All these factors point to the need to train a new type of professional who will compose a highly qualified and specialized technical staff, with master's and doctorate degrees, who will work together with researchers in the process of data acquisition and analysis of results. The presence of such professionals in bioimaging is essential to ensure the best use of the investments being made in research infrastructure in Brazil.

In 2017, CENABIO began to develop a proposal for a Professional Postgraduate Program in Bioimaging Technologies and Biostructures, which was coordinated by Professor Claudia Mermelstein. Attracting personnel from institutions that work and have a tradition in the area of imaging and technological innovations in related fields is of special importance to achieve a high and comprehensive quality of teaching in this program. This diversity is essential for the training and education of professionals in different fields of knowledge and professional experience, both for the provision of general and specialized training courses and for the guidance of dissertations and theses, as well as product development. The Professional Postgraduate Program in Bioimaging Technologies and Biostructures proposes three areas of concentration: (1) Structure of Molecules, (2)

em termos de equipamentos de imageamento no CCS/UFRJ e [iii] os segmentos de atuação de profissionais que irão trabalhar com imagens biológicas, médicas e biomédicas.

O corpo docente do PPGP-TBB atua intensamente em sociedades científicas ligadas às áreas de Biologia Estrutural e Bioimagem e na formulação de políticas de expansão de infraestrutura laboratorial nessa área em todo o país. Cabe também chamar a atenção para o fato de a Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise fazer parte da proposta do PPGP-TBB. A Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, ao longo de seus mais de 50 anos de existência, tem como principal missão a atualização, modernização e formação continuada de especialistas na área de microscopia e técnicas correlatas.

O corpo docente do PPGP-TBB possui, portanto, uma visão ampla da necessária capacitação e especialização de profissionais na área. Essa visão está alicerçada em uma profunda reflexão de que os saltos tecnológicos no mundo todo só ocorreram em função da dedicação de parte da academia para a formação de profissionais dedicados ao desenvolvimento tecnológico — com forte base científica — e com demandas estabelecidas pela indústria. Isso se dá tanto no desenvolvimento e aperfeiçoamento de instrumentos científicos, quanto na produção de novas tecnologias de preparo de amostras e de análise de dados.

Além disso, há o consenso entre os proponentes do PPGP-TBB, incluindo os pesquisadores do CENABIO, de que o país hoje possui conhecimento suficiente para propor modificações em instrumentos, protótipos, protocolos, software e assim vencer os obstáculos que impedem a aproximação com setores de produção. Essa aproximação permitirá a formulação conjunta de perguntas e estabelecimento de demandas entre a academia e o setor produtivo, permitindo a formação e atuação de profissionais formados no PPGP-TBB.

Finalmente, é importante ressaltar que a proposta descrita foi recentemente reformulada, de forma a ter sua coordenação geral no Centro de Ciências da Saúde da UFRJ. O projeto resultou do esforço conjunto do CENABIO, do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF), do Instituto de

Imaging of Cells and (3) Imaging of Organisms. These three areas reflect (i) the expertise of the faculty, (ii) the infrastructure in terms of CENABIO's equipment and (iii) the segments of activity of professionals who will work with biological, medical and biomedical images.

The faculty of the Professional Postgraduate Program in Bioimaging Technologies and Biostructures works intensively within scientific societies linked to the areas of Structural Biology and Bioimaging and in the formulation of policies for the expansion of laboratory infrastructure in this area throughout the country. It is also worth calling attention to the fact that the Brazilian Society of Microscopy and Microanalysis is part of the proposal of the Professional Postgraduate Program in Bioimaging Technologies and Biostructures. The Brazilian Society of Microscopy and Microanalysis, throughout its 45 years of existence, has as its main mission the updating, modernization and continuous training of specialists in the field of microscopy and related techniques.

The faculty of the Professional Postgraduate Program in Bioimaging Technologies and Biostructures therefore has a broad view of the necessary training and specialization of professionals in the area. This vision is based on the conviction that the technological leaps around the world only occurred due to the dedication of part of the academy to the training of professionals attracted by technological development - with a strong scientific base - and with demands established by the industry. This happens both in the development and improvement of scientific instruments, as well as in the production of new technologies for sample preparation and data analysis.

Furthermore, there is a consensus among the proponents of the Professional Postgraduate Program, including the ones from CENABIO, that Brazil currently has enough know-how to propose changes in instruments, prototypes, protocols and software and thus overcome the obstacles that prevent the approximation with production sectors. This approach will allow the joint formulation of questions and the establishment of demands between academia and the productive sector, fostering the development of professionals trained in the Professional Postgraduate Program in Bioimaging Technologies and Biostructures.

Finally, it is important to emphasize that the proposal

Bioquímica Médica Leopoldo De Meis (IBqM), do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB), do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes (IMPG), da Faculdade de Farmácia (FF), e é apoiado pela Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise. A maioria destas Unidades têm programas de mestrado profissional, demonstrando uma capacidade instalada para formação de mestres profissionais e, portanto, com grande experiência para a apresentação desta proposta com doutorado profissional. A reformulação da proposta do PPGP-TBB foi coordenada pelas Professoras Claudia Mermelstein (ICB), Silvana Allodi (IBCCF), Russolina Zingali (IBqM) e Claudia Figueiredo (FF). O programa foi aprovado pela CAPES e tem seu início previsto para o ano de 2024.

described above was recently reformulated in order to have its general coordination at the Center for Health Sciences (CCS) at UFRJ. The project resulted from the joint effort of CENABIO, the Carlos Chagas Filho Institute of Biophysics (IBCCF), the Leopoldo De Meis Institute of Medical Biochemistry (IBqM), the Biomedical Sciences Institute (ICB), the Paulo de Góes Institute of Microbiology. (IMPG), from the Faculty of Pharmacy (FF) and is supported by the Brazilian Society of Microscopy and Microanalysis (SBMM). All these Units have professional master's programs, demonstrating an installed capacity to train professional masters and, therefore, with great experience to present this proposal with a professional doctorate. The reformulation of the PPGP-TBB proposal was coordinated by professors Claudia Mermelstein (ICB), Silvana Allodi (IBCCF), Russolina Zingali (IBqM) and Claudia Figueiredo (FF). In July 2023 the program was formally approved by CAPES and will formally start in the second semester of 2024

Pode ser foto ou cor

7. BIOSSEGURANÇA

BIOSAFETY


Este capítulo discorre a respeito dos avanços em se institucionalizar a biossegurança como prática primacial durante a trajetória do CENABIO, seu impacto positivo para o direcionamento de suas atividades, e, ainda, as suas implicações e responsabilidades dos profissionais em seus processos de trabalho.

Como base conceitual, a biossegurança pode ser definida como “condição de segurança alcançada por um conjunto de ações destinadas a prevenir, controlar, reduzir ou eliminar riscos inerentes às atividades que possam comprometer a saúde humana, animal e o meio ambiente” (ANVISA, 2020).

As instituições de ensino superior, geradoras e difusoras de conhecimento, precisam cada vez mais assumir seu papel na esfera social, especialmente na criação de políticas sustentáveis, de preservação do trabalhador e do meio ambiente. Nesse cenário, o CENABIO se constitui atualmente em um Centro Nacional Multiusuário de referência, possuindo um dos maiores parques de equipamentos na área biomédica da América Latina e desenvolvendo numerosos projetos científicos, tecnológicos e de extensão que resultam em reconhecida contribuição científica de visibilidade internacional.

Criado em 2020, o Setor de Biossegurança do CENABIO é uma entidade referencial para orientar nos aspectos relacionados à biossegurança. Dada a importância e o compromisso do CENABIO com as bases que definem a biossegurança, a idealização e a projeção do seu Setor de Biossegurança ocorreram de forma natural, acompanhando seu crescimento. Esta implementação consolidou normas internas de trabalho em boas práticas desenvolvidas por profissionais altamente qualificados.

A missão é promover ações que visam à mitigação dos riscos no âmbito das suas atividades de pesquisa, de prestação de serviços e de extensão, bem como a dos riscos relacionados



ADICIONAR FOTO E LEGENDA (SE TIVER SENÃO VAI UMA DO BANCO DE IMAGENS)

This chapter discusses the advances in institutionalizing biosafety as a primary practice during CENABIO's trajectory, its positive impact on the direction of its activities, and also its implications and responsibilities of professionals in their work processes.

On a conceptual basis, biosafety can be defined as “a safety condition achieved by a set of actions aimed at preventing, controlling, reducing or eliminating risks inherent to activities that may compromise human, animal and environmental health” (ANVISA, 2020).

Higher-education institutions, as generators and disseminators of knowledge, increasingly need to assume their role in the social sphere, especially in the creation of sustainable policies, for the preservation of workers and the environment. In this scenario, CENABIO is currently a reference Multiuser Center, having one of the largest equipment parks in the biomedical area in Latin America, developing numerous scientific, technological

ao descarte dos resíduos gerados por essas atividades e consequente preservação do meio ambiente.

A centralização de tais atividades em um setor específico foi essencial para se estabelecer e implementar um programa de biossegurança conciso, eficiente e padronizado em nível institucional, facilitando a comunicação entre os diferentes atores de forma articulada e integrada.

O mapeamento dos riscos de toda a estrutura física do CENABIO contou com a participação de todos os seus funcionários. Tal experiência revelou-se primordial para despertar a consciência dos profissionais em relação aos riscos aos quais estão expostos e para conduzi-los a adotar os procedimentos adequados de segurança nas suas atividades laborais de rotina.

Tendo em vista sua natureza multidisciplinar, o CENABIO possui ambientes de trabalho bastante diversificados, cujos riscos são variados e específicos às diferentes atividades localmente desenvolvidas. Diante deste panorama e em consonância com o preconizado pela Câmara de Biossegurança do Centro de Ciências da Saúde (CCS), a classificação de risco dos laboratórios do CENABIO foi definida utilizando uma representação mundialmente conhecida, o Diamante de Hommel. Adicionalmente, todos os microrganismos utilizados nos diferentes laboratórios das Unidades do Centro foram catalogados e agrupados de acordo com sua patogenicidade, conforme estabelecido pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), possibilitando dessa forma a classificação do nível de biossegurança e risco biológico referente a cada setor. Atualmente, todos os laboratórios do CENABIO são classificados como Nível NB-2 de segurança biológica. A conscientização dos profissionais acerca do uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI) e Equipamentos de Proteção Coletiva (EPC) é também evidente na rotina das práticas experimentais desenvolvidas no CENABIO.

A interface saúde do trabalhador/meio ambiente é imperiosa nas práticas cotidianas e, por isso, é fundamental a articulação com as ações específicas adotadas pela Decania do CCS na gestão de resíduos e em conformidade com a legislação vigente. A educação permanente em saúde é um compromisso

and extension projects that result in scientific contributions of international visibility.

Created in 2020, the mission of the Biosafety Sector of CENABIO is to guide the community of this multi-user center in aspects related to biosafety. Given the commitment of CENABIO to safe practices in the workspace, the idealization and projection of the Biosafety Sector of the Center itself occurred naturally as the Center matured. The internal work standards were developed into a set of good practices under the guidance of a small team of highly qualified professionals.

The mission of the Biosafety Sector is to promote actions aimed at mitigating risks within the scope of its activities, which include research, service to users and extension, as well as mitigation of the risks related to the disposal of waste generated by these activities and consequent preservation of the environment.

The centralization of Biosafety activities in a specific sector has allowed to establish a concise, efficient and standardized biosafety program at an institutional level, facilitating communication among the different actors in an integrated manner.

The mapping of the risks for the entire physical structure of CENABIO had the active participation of all its employees. This was a primordial experience to raise the awareness of professionals in relation to the risks to which they are exposed and leading them to adopt the appropriate safety procedures in their daily routine.

In view of its multidisciplinary nature, CENABIO houses a diversity of work environments, where risks are varied and specific to the different activities carried out.

In view of this scenario, and in line with the recommendations of the CCS Biosafety Committee, the risk classification of the laboratories is defined using a worldwide standard, the Hommel Diamond. Additionally, all microorganisms used in the different laboratories of the Units were cataloged and grouped according to their pathogenicity, as required by the National Technical Commission on Biosafety (CTNBio), thus enabling classification of the Biosafety Level and biological risk related to each sector. Currently, all laboratories are classified as Biosafety Level NB-2.

The awareness of professionals about the use of Personal Protective Equipment (PPE) and Collective Protection Equipment (EPC) is evident in the routine of experimental practices developed at CENABIO.

assumido pelo CENABIO. O corpo técnico e docente participa continuamente de cursos, treinamentos e atualizações em diversas áreas do conhecimento que compõem a biossegurança. Atualmente, aproximadamente 80% dos tecnólogos são também brigadistas de incêndio ou produtos perigosos. Para assegurar a qualidade dos estudos e processos, o Setor de Biossegurança do CENABIO pauta com rigor científico, estando comprometido com garantia da padronização, reprodutibilidade e rastreabilidade dos dados obtidos. Todos os laboratórios possuem um manual de procedimentos atualizado e disponível. Os procedimentos operacionais padrão (POP) têm o objetivo de padronizar e minimizar a ocorrência de desvios na execução de tarefas fundamentais para a qualidade.

Pandemia de Covid-19, CENABIO e inovação

Em 31 de dezembro de 2019, a Organização Mundial da Saúde (OMS) foi notificada da ocorrência de casos de pneumonia grave de etiologia desconhecida na cidade de Wuhan (Província de Hubei), na China. O fato imediatamente gerou preocupação na comunidade médico-científica internacional. Em 7 de janeiro de 2020, os cientistas chineses anunciaram o isolamento de um novo coronavírus, denominado SARS-CoV-2, de um paciente de Wuhan. Em 30 de janeiro de 2020, a OMS declarou a epidemia de doença respiratória pelo SARS-CoV-2 uma Emergência de Saúde Pública de Interesse Internacional. Em 11 de fevereiro de 2020, a doença causada pelo novo coronavírus foi oficialmente denominada pela OMS de Coronavirus Disease 19 ou, abreviadamente, Covid-19.

Compreende-se a pandemia de Covid-19 como um “desastre biológico”, um evento que combina ameaça natural, exposição, condições de vulnerabilidade e insuficiente capacidade de resposta, causando grave perturbação ao funcionamento de uma comunidade ou sociedade e envolvendo extensivas perdas e danos humanos, materiais, econômicos ou ambientais. A essencialidade das atividades de pesquisa do CENABIO tornou-se incontestável e motivou discussões para a adoção de estratégias e planos de ação para manutenção segura de suas

The worker's health/environment interface is paramount in the daily practices and are linked to the specific actions adopted by the CCS in waste management, and in compliance with current legislation. In this context, permanent education in health is a commitment that is assumed. The technical and teaching staff continuously participates in courses, training and updates in several areas of knowledge that make up biosafety. Currently, approximately 80% of the technologists are also trained to deal with fire and/or hazardous materials.

To ensure the quality of the studies and processes, these are performed with scientific rigor and are committed to guaranteeing the standardization, reproducibility and traceability of the data obtained. All laboratories have an updated and available procedures manual. Standard Operating Procedures (SOP) aim to standardize and minimize the occurrence of deviations in the execution of tasks fundamental to the quality of the analysis

COVID-19 pandemic, CENABIO / UFRJ and innovation.

On December 31, 2019, the World Health Organization (WHO) was notified of the occurrence of cases of severe pneumonia of unknown etiology in Wuhan City (Hubei Province), China. The fact immediately generated concern in the international medical-scientific community. On January 7, 2020, Chinese scientists announced the isolation of a new coronavirus, called SARS-CoV-2, from a patient in Wuhan. On January 30, 2020, the WHO declared the SARS-CoV-2 respiratory illness epidemic a Public Health Emergency of International Concern. On February 11, 2020, the disease caused by the new coronavirus was officially named by the WHO as Coronavirus Disease 19 or, for short, COVID-19.

The COVID-19 pandemic is understood as a “biological disaster”, an event that combines natural threat, exposure, conditions of vulnerability and insufficient response capacity, causing serious disruption to the functioning of a community or society, and involving extensive losses and human, material, economic or environmental damage.

The essentiality of research activities of CENABIO became undeniable and motivated the movement of discussions for the adoption of strategies and action plans for the safe maintenance

atividades, sempre guardando sintonia com o estabelecido no Plano de Retorno Gradual da UFRJ.

O CENABIO atendendo a comunidade durante a pandemia na produção de Equipamentos de Produção Individual

Em decorrência da pandemia de Covid-19, a demanda pela utilização de EPI aumentou substancialmente. Concomitantemente, foram aventadas muitas dúvidas a respeito da efetiva capacidade de proteção desses equipamentos contra o novo coronavírus. Diante disso, o CENABIO providenciou um serviço de análise da eficiência de proteção das máscaras utilizando a técnica de microscopia eletrônica de varredura. As análises possibilitaram a verificação da capacidade filtrante das máscaras disponibilizadas para os profissionais de saúde, estabelecendo uma comparação com as máscaras de referência.

Outro projeto bastante impactante diante da grande demanda por EPI para utilização pelos profissionais de saúde de atuação na linha direta no combate à Covid-19 foi o de confecção de protetores faciais utilizando-se a impressora 3D disponível no CENABIO. Os suportes produzidos foram doados para o projeto “SOS 3D COVID” e foram distribuídos para diversas clínicas, hospitais e unidades de saúde do país.

Referências:

- Biossegurança e gerenciamento de resíduos-atualizações – APOSTILA/Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília:ANVISA.
- Guia de ações de biossegurança para a resposta à pandemia pela COVID-19 no âmbito da UFRJ. UFRJ, 2020.
- Microbiologia clínica para controle de infecção relacionada à saúde. Módulo 1: biossegurança e manutenção de equipamentos em laboratório de microbiologia clínica/Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília: ANVISA, 2013.

of their activities, always in line with the precautions established in the UFRJ's Gradual Return Plan.

CENABIO serving the community during the pandemic in the production of Individual Production Equipment (PPE)

As a result of the COVID-19 pandemic, the demand for the use of PPE increased substantially. At the same time, many doubts arose about the effectiveness of the masks that were available to protect against the new coronavirus. In view of this uncertainty, CENABIO set up an assay to analyze the efficiency of mask protection using a scanning electron microscope. The analyses made it possible to verify the filtering capacity of the masks available to health professionals, establishing a comparison with the N95 reference masks, cloth masks and others.

Another project developed to meet the great demand for PPE for use by health professionals working in the front lines against COVID-19 was the manufacture of face shields using the 3D printer available in the CENABIO. The supports produced were donated to the SOS 3D COVID project and were redistributed to various clinics, hospitals and health units in the country.

- Plano de contingência da pandemia causada pelo coronavírus (COVID-19) no âmbito da Universidade Federal do Rio de Janeiro – versão 1.3, de setembro de 2020. UFRJ, 2020.

- Plano de retorno gradual da UFRJ, APOSTILA/UFRJ, 2021.

- Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies/Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília: ANVISA, 2010.

<https://www.gov.br/anvisa/pt-br>

<https://www.who.int/pt>

ACHO QUE PODERIA SER A
FOTO DO EDIFÍCIO DE
MEDICINA DE PRECISÃO

8. INSTITUTOS NACIONAIS DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANCORADOS NO CENABIO

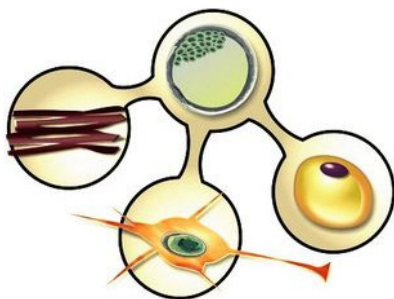
NATIONAL INSTITUTES OF SCIENCE AND TECHNOLOGY ANCHORED IN CENABIO

8.1 Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Medicina Regenerativa

O Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Medicina Regenerativa (INCT-REGENERA) objetiva organizar e articular, em rede nacional, as competências acadêmico-científicas e empresariais, criando condições para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas na área de Medicina Regenerativa para reduzir a morbidade e mortalidade de diferentes doenças.

O INCT-REGENERA atua em consonância com recomendações governamentais sobre uso de células-tronco e biomateriais, envolvendo o planejamento de ações específicas e a assessoria de representantes das agências de fomento. Com relação à agência reguladora, ANVISA, o INCT-REGENERA pretende desempenhar importante papel de assessoramento, considerando que toda legislação para a área está em processo de elaboração e a Câmara de Assessoria Técnica conta com três membros associados a esse INCT.

O INCT-REGENERA agrega a expertise de numerosos grupos de pesquisa produtivos com foco principal em terapia celular e bioengenharia, promovendo e integrando a multidisciplinaridade e interdisciplinaridade para que estudos básicos, pré-clínicos e clínicos sejam realizados e, conseqüentemente, seja possível alcançar a redução da perda funcional decorrente de doenças



INCT - Regenera
Instituto Nacional
de Ciência e Tecnologia
em Medicina Regenerativa

8.1 NATIONAL INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY IN REGENERATIVE MEDICINE

The NATIONAL INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY IN REGENERATIVE MEDICINE (INCT-REGENERA) aims to organize and articulate, in a national network, academic-scientific and business skills, creating conditions for the development of therapeutic strategies in the area of Regenerative Medicine, to reduce morbidity and mortality from different diseases.

INCT-REGENERA works in line with government recommendations on the use of stem cells and biomaterials, involving the planning of specific actions and the advice of representatives of development agencies. With regard to the regulatory agency ANVISA, the INCT-REGENERA intends to play an important advisory role, since all legislation for the area is in the process of being drafted and the Technical Advisory Committee has three members associated with this INCT.

INCT-REGENERA brings together the expertise of numerous productive research groups with a main focus on Cell Therapy and Bioengineering, promoting and integrating multidisciplinary and interdisciplinarity so that basic, pre-clinical and clinical studies are carried out and, consequently, it is possible to achieve the reduction of functional loss resulting from acute or chronic diseases that affect different systems: cardiovascular, nervous, respiratory, renal, digestive, endocrine, locomotor and integumentary. To this end, in-vitro and in-vivo models of diseases that affect human beings are being established, in order to test the safety and efficacy of pluripotent or multipotent stem cells or their subcomponents, associated or not with biomaterials, including those produced by nanotechnology. Based on the results obtained in pre-clinical studies with small animals (rodents), CENABIO will progressively move towards

agudas ou crônicas que acometem os diferentes sistemas: cardiovascular, nervoso, respiratório, renal, digestório, endócrino, locomotor e tegumentar. Para tal, modelos in vitro e in vivo de doenças que afetam seres humanos estão sendo estabelecidos, com o intuito de testar a segurança e eficácia de células-tronco pluripotentes ou multipotentes ou de seus subcomponentes, associadas ou não a biomateriais, incluindo aqueles produzidos por nanotecnologia. A partir dos resultados obtidos em estudos pré-clínicos com animais de pequeno porte (roedores), avançaremos progressivamente para modelos animais de médio porte como prelúdio para ensaios clínicos. Em função do avanço existente em estudos pré-clínicos, antevê-se que diversos ensaios clínicos sejam realizados no escopo desse projeto.

Outro grande objetivo do INCT-REGENERA é treinar um grande número de pesquisadores em Medicina Regenerativa nos níveis de Especialização, Pós-Graduação e Pós-Doutoramento, focando no desenvolvimento de técnicas inovadoras envolvendo Terapia Celular e Bioengenharia. Os vários grupos proponentes já possuem experiência e capacidade para a transferência de descobertas científicas para os setores público e privado. A união de pesquisadores experientes na área científica e tecnológica com uma abordagem em Medicina Regenerativa permitirá ao Brasil desenvolver as capacidades necessárias para terapêuticas individualizadas, bem como buscar alternativas para doenças ainda incuráveis. Essa ação é estratégica para o Brasil em razão do envelhecimento progressivo da população brasileira e dos custos crescentes da atenção à saúde. Não menos importante é o papel que o INCT-REGENERA assume na divulgação e popularização dos conhecimentos sobre a Medicina Regenerativa, dado o crescente problema das promessas de curas milagrosas por profissionais inescrupulosos. O INCT-REGENERA se coaduna com as metas da política de Saúde emanadas pelo Ministério da Saúde e da política de desenvolvimento do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio, no âmbito do Plano Brasil Maior, que visam integrar as ações governamentais com os setores privados e com a comunidade científica e tecnológica. Os objetivos específicos apresentados na proposta original do INCT-REGENERA estão listados abaixo:

medium-sized animal models as a prelude to clinical trials. The existing progress in pre-clinical studies indicates that several clinical trials will be carried out within the scope of this project.

Another major objective of INCT-REGENERA is to train a large number of researchers in Regenerative Medicine at the specialization, graduate and Ppost-doctoral levels, focusing on the development of innovative techniques involving cell therapy and bioengineering. The various proposing groups already have the experience and capacity to transfer scientific discoveries to the public and private sectors. The union of experienced researchers in the scientific and technological area with an approach in Regenerative Medicine will allow Brazil to develop the necessary capacities for individualized therapies, as well as to seek alternatives for still incurable diseases. This action is strategic for Brazil, due to the progressive aging of the population and the increasing costs of health care. No less important is the role that INCT-REGENERA assumes in the outreach and Education about Regenerative Medicine, given the growing problem of the promises of miraculous cures by unscrupulous professionals. The INCT-REGENERA is in line with the goals of the health policy enumerated by the Ministry of Health and the development policy of the Ministry of Development, Industry and Commerce, within the scope of the Greater Brazil Plan (Plano Brasil Maior), of 2011, which is designed to integrate government actions with private endeavors as well as with the scientific and technological community. The specific objectives presented in the original INCT-REGENERA proposal are listed below.

Specific objectives

- 1. Generate patient-specific induced pluripotent stem cells (iPSC) from the following systems: nervous, cardiovascular, renal, respiratory, digestive, endocrine, and locomotor*
- 2. Differentiate pluripotent cells into the cell types present in each physiological system: nervous, cardiovascular, renal, respiratory, digestive, endocrine and locomotor*
- 3. Generate tissue-specific adult cells by direct reprogramming*
- 4. Isolate and expand tissue-specific stem cells*
- 5. Generate biological and non-biological matrices for application in cell therapy*
- 6. Induce and study the matrix-cell interaction with the aim of promoting its use in cell grafts*

Objetivos Específicos

1. Gerar células-tronco de pluripotência induzida (iPSC) paciente-específicas dos seguintes sistemas: nervoso, cardiovascular, renal, respiratório, digestório, endócrino e locomotor.
2. Diferenciar células pluripotentes nos tipos celulares presentes em cada sistema fisiológico: nervoso, cardiovascular, renal, respiratório, digestório, endócrino e locomotor.
3. Gerar células adultas tecido-específicas por reprogramação direta.
4. Isolar e expandir células-tronco tecido específicas.
5. Gerar matrizes biológicas e não biológicas para aplicação em terapia celular.
6. Induzir e estudar a interação matriz-célula visando ao seu uso em enxertos celulares.
7. Usar células-tronco combinadas a matrizes ou isoladamente em modelos animais de doenças humanas.
8. Usar células-tronco combinadas a matrizes ou isoladamente em doenças de animais.
9. Investigar mecanismos de ação das terapias celulares in vitro e in vivo nos modelos animais de doenças humanas, usando métodos ômicos (genoma, transcriptoma, proteoma, metaboloma).
10. Realizar ensaios clínicos de terapia celular.
11. Bioengenheirar órgãos usando matrizes biológicas decelularizadas e células-tronco pluripotentes.
12. Bioengenheirar órgãos usando bioimpressão tridimensional.
13. Organizar cursos regionais de especialização e um curso nacional de pós-graduação em medicina regenerativa.
14. Organizar palestras e conferências junto a associações de pacientes e escolas, produzir vídeos para escolas e museus, inserções na mídia escrita, falada e televisiva, visando educar a população sobre as potencialidades e limitações da medicina regenerativa.
15. Estabelecer cooperações internacionais com centros avançados de terapia celular, bioengenharia e medicina regenerativa nos EUA, Europa e Ásia.

Dentre os objetivos listados pode-se relatar que houve avanço significativamente na geração de iPSC paciente-

7. *The use of single stem cells or stem cells combined with matrices in animal models of human disease*
8. *The use of stem cells combined with matrices or alone in animal diseases*
9. *Investigate mechanisms of action of cell therapies in vitro and in vivo in animal models of human diseases, using omics methods (genome, transcriptome, proteome, metabolome)*
10. *Conduct clinical trials of cell therapy*
11. *Bioengineered organs using decellularized biological matrices and pluripotent stem cells*
12. *Bioengineered organs using three-dimensional bio-printing*
13. *Organize regional specialization courses and a national postgraduate course in regenerative medicine*
14. *Organize lectures and conferences with patient associations and schools, produce videos for schools and museums, inserts in written, spoken and television media, aiming to educate the population about the potential and limitations of regenerative medicine*
15. *Establish international cooperation with advanced centers for cell therapy, bioengineering and regenerative medicine in the US, Europe and Asia*

Among the objectives listed, the research group from INCT-REGENERA has advanced significantly in the generation of patient-specific induced pluripotent stem cells (iPSC), having generated iPSC from the nervous, cardiovascular, respiratory, renal and endocrine systems. Likewise, the differentiation of these iPSCs into cells of the nervous, cardiac, respiratory, renal and pancreatic systems was successfully obtained, and has been used to model diseases such as: Zika virus infection, amyotrophic lateral sclerosis, Parkinson's disease, cardiac arrhythmias, cystic fibrosis, polycystic nephropathy and sickle-cell anemia. Regarding the direct reprogramming technique, where an adult cell is transformed into another adult cell type without going through the pluripotent state, there was little progress so far, but INCT-REGENERA groups intend to invest in this technique in some systems in later stages of the project.

The isolation and expansion of tissue-specific adult stem cells is another goal with significant progress. In particular,

específicas, tendo sido geradas iPSC dos sistemas nervoso, cardiovascular, respiratório, renal e endócrino. Da mesma forma, a diferenciação dessas iPSC em células dos sistemas nervoso, cardíaco, respiratório, renal e pancreático foi obtida com sucesso e tem sido utilizada para modelar doenças, tais como: infecção por vírus da Zika, esclerose lateral amiotrófica, doença de Parkinson, arritmias cardíacas, fibrose cística, nefropatia policística, anemia falciforme. Com relação à técnica de reprogramação direta, quando se transforma uma célula adulta em outro tipo celular adulto sem passar pelo estado pluripotente, tivemos até o momento pouco progresso, mas pretende-se investir nessa técnica em alguns sistemas até o fim do projeto.

O isolamento e a expansão de células-tronco adultas tecido-específicas foi outro objetivo no qual houve avanço significativo. Em especial, foram isoladas e expandidas células mesenquimais derivadas de medula óssea e tecido adiposo, além de células-tronco adultas dos sistemas nervoso, renal, pulmonar, endócrino, locomotor e cardíaco.

No campo das matrizes biológicas e não biológicas para aplicação em terapia celular, o INCT vem desenvolvendo diversas matrizes a partir de órgãos descelularizados (coração, fígado, rim, pulmão, pâncreas e tecido muscular) e matrizes não biológicas têm sido produzidas com sucesso pelas mais variadas técnicas, utilizando diversos materiais como hidroxiapatita, fosfato de cálcio, poli (ácido láctico) e copolímero com poli (ácido glicólico). Foram desenvolvidos também, estudos sobre a interação matrizes-células com o objetivo de testar seu uso em enxertos biológicos. De forma importante, os laboratórios do INCT-REGENERA têm estudado a citotoxicidade das matrizes não biológicas e sua aplicação na entrega de células-tronco em tecidos e órgãos acometidos por doenças agudas e crônico-degenerativas.

O desenvolvimento de modelos animais de doenças humanas para testes de terapias celulares, associadas (ou não) a matrizes, tem sido bastante estudado pelo INCT-REGENERA. Doenças neurológicas, como acidente vascular isquêmico, lesões raquimedulares e de nervo óptico, doença de Parkinson e de Alzheimer, esclerose lateral amiotrófica, infarto agudo do miocárdio, cardiomiopatia chagásica crônica, cardiomiopatia induzida por quimioterápicos, insuficiência cardíaca crônica,

mesenchymal cells derived from bone-marrow and adipose tissue, as well as adult stem cells from the nervous, renal, pulmonary, endocrine, locomotor and cardiac systems have been isolated and expanded.

In the field of biological and non-biological matrices for application in cell therapy, the INCT-REGENERA has been developing several matrices from decellularized organs (heart, liver, kidney, lung, pancreas and muscle tissue) and non-biological matrices have been successfully produced by the most varied techniques, using various materials such as hydroxyapatite, calcium phosphate, poly(lactic acid) and a copolymer with poly(glycolic acid). Studies on matrix-cell interaction were also developed with the aim of testing its use in biological grafts. Importantly, the cytotoxicity of non-biological matrices was studied, as well as their application in the delivery of stem cells in tissues and organs affected by acute and chronic-degenerative diseases.

The development of animal models of human diseases for testing cell therapies, associated (or not) with matrices, has been extensively studied by the INCT-REGENERA. Neurological diseases such as ischemic vascular accident (CVA), spinal cord and optic nerve injuries, Parkinson's and Alzheimer's disease, amyotrophic lateral sclerosis, acute myocardial infarction, chronic Chagas' cardiomyopathy, chemotherapy-induced cardiomyopathy, chronic heart failure, polycystic kidney, renal ischemia, pulmonary emphysema, acute respiratory distress syndrome, asthma, pulmonary arterial hypertension, silicosis, diabetes mellitus and osteo-articular injuries, among others have been studied. Researches have also explored the use of cell therapies, associated (or not) with extracellular matrix, in animal diseases. In all the animal models mentioned above, the mechanisms of action through omics techniques, with emphasis on genomic and proteomic analyses is investigated.

Clinical trials of cell therapy were also performed in pulmonary diseases and peripheral arterial disease, as well as in spinal cord injuries, chondral injuries, type 1 diabetes mellitus, chronic graft-versus-host disease, amyotrophic lateral sclerosis, and treatment of condylar resorption associated with dentofacial deformities. These studies, as well as others in stroke and heart disease, were performed independently of the INCT. The vast majority of these studies were safety and feasibility studies, since

rim policístico, isquemia renal, enfisema pulmonar, síndrome do desconforto respiratório agudo, asma, hipertensão arterial pulmonar, silicose, diabetes mellitus e lesões ósteo articulares, dentre outras também têm sido estudadas. O uso de terapias celulares também foi explorado, associadas (ou não) a matrizes, em doenças animais. Em todos os modelos animais citados anteriormente, houve investigado os mecanismos de ação através de técnicas ômicas, com ênfase em análises genômicas e proteômicas

Ensaio clínico de terapia celular foram também realizados em doenças pulmonares e doença arterial periférica, bem como em lesões de medula espinhal, lesões condrais, diabetes mellitus tipo 1, doença do enxerto contra o hospedeiro crônica, esclerose lateral amiotrófica e tratamento de reabsorções condilares associadas a deformidades dentofaciais. Esses estudos foram realizados, bem como outros em AVC e doenças cardíacas, de forma independente do INCT-REGENERA. A grande maioria destes estudos foi de segurança e exequibilidade, pois estudos de eficácia demandariam recursos muito superiores aos solicitados no projeto original e que ainda sofreu cortes.

A Bioengenharia de órgãos utilizando matrizes descelularizadas e células-tronco pluripotentes vem sendo realizada em corações, fígados, pâncreas e tecido muscular. Obteve-se sucesso no processo de descelularização desses órgãos e temos resultados preliminares indicando interação matriz-células progenitoras. A Bioengenharia do pulmão descelularizado de adultos e recém-natos vem sendo estudada. A Bioengenharia de órgãos utilizando bioimpressão tridimensional (3D) é uma área em que está sendo iniciada o desenvolvimento com a aquisição de bioimpressoras 3D por grupos integrantes do INCT-REGENERA financiados por projetos complementares.

São organizados diversos encontros e congressos científicos, regionais, nacionais e internacionais, muitos dos quais em conjunto com a Associação Brasileira de Terapia Celular (ABTCEL). Desenvolveu-se, também, intensa atividade de divulgação e conscientização da população sobre as possibilidades e os limites do uso de terapias celulares, visando educar a população e evitar a exploração antiética de profissionais inescrupulosos que vendem terapias celulares sem comprovação científica de eficácia. Desde a inauguração do CENABIO, foram produzidos mais de 60 vídeos, entrevistas

efficacy studies would require much greater resources than those requested in the original project, which still suffered cuts.

The bioengineering of organs using decellularized matrices and pluripotent stem cells has been performed in hearts, livers, pancreas and muscle tissue. Researchers from the INCT-REGENERA were successful in the decellularization process of these organs and have preliminary results indicating matrix-progenitor cell interaction. Bioengineering of adult and newborn decellularized lungs has been studied. Bioengineering of organs using three-dimensional (3D) bioprinting is an area in which is starting to be developed through the acquisition of 3D bioprinters by groups that are part of INCT-REGENERA, financed by complementary projects.

Periodically, scientific meetings are organized, as well as congresses at regional, national and international levels, many of them in conjunction with the Brazilian Association of Cell Therapy (ABTCEL). Intense efforts are also applied to publicize and raise awareness among the population about the possibilities and limits of the use of cell therapies, aiming to educate the population and avoid the unethical exploitation by unscrupulous professionals who sell cell therapies without scientific proof of effectiveness. Since the inauguration of CENABIO, 66 videos, radio or TV interviews, texts in newspapers or magazines, blogs and websites have been produced to inform the population about the potential and limitations of regenerative medicine.

Finally, research groups have registered seven patents that are directly related to the objectives of the INCT-REGENERA, 1219 articles have been published of which 505 are directly related to the INCT-REGENERA and international collaborations are established. 210 MSc students and 141 PhD's were trained, of which 70 masters and 76 doctoral theses were directly related to the INCT-REGENERA project in the period. There are 135 MSc and 179 PhD students working on their projects, of which 52 MSc and 83 PhDs are directly related to the INCT project. Within INCT-REGENERA there were 35 postdocs that completed their projects and there are 58 projects underway.

para rádio ou TV, textos em jornais ou revistas, blogs e sites para informar a população sobre o potencial e as limitações da medicina regenerativa.

Por fim, foram registradas sete patentes registradas que estão diretamente relacionadas aos objetivos do INCT-REGENERA. Foram publicados 1.219 artigos, dos quais 505 são diretamente relacionados ao INCT-REGENERA, e diversas colaborações internacionais estão estabelecidas. Foram formados 210 mestres e 141 doutores, dos quais 70 mestres e 76 doutores são diretamente relacionados ao projeto do INCT-REGENERA no período. O INCT-REGENERA tem 135 mestres e 179 doutores em orientação, dos quais 52 mestres e 83 doutores são diretamente relacionados ao projeto do INCT-REGENERA. Há também 35 pós-doutores e temos 58 com supervisão em andamento, relacionados ao projeto do INCT-REGENERA.

8.2 Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Biologia Estrutural e Bioimagem

O Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Biologia Estrutural e Bioimagem (INBEB) busca aglutinar toda a capacidade instalada em biologia estrutural e bioimagem para endereçar questões relativas aos mecanismos fisiopatológicos de diversas doenças, com ênfase em seus agentes etiológicos. O INBEB é constituído por 20 Laboratórios Associados (LAs) compostos por 115 pesquisadores, mais de 50 pós-doutores e centenas de alunos de doutorado, mestrado e iniciação científica.

A estrutura organizacional do INBEB conta com plataformas experimentais com foco em áreas temáticas, divididas em quatro grandes grupos, considerando os agentes e suas respectivas doenças, com ênfase em uma abordagem estrutural e funcional (da macromolécula às células e tecidos). São eles:

Grupo I: Proteínas Amiloidogênicas e Prions: Doenças Neurodegenerativas e do Mau Enovelamento Proteico;

Grupo II: Vírus e Doenças Virais;

Grupo III: Microrganismos Eucariontes e Respectivas Doenças;

Grupo IV: Proteínas de Supressão Tumoral e Oncogênicas em Câncer.

8.2 National Institute of Science and Technology of Structural Biology and Bioimaging

The National Institute of Science and Technology of Structural Biology and Bioimaging (INBEB) seeks to bring together all the installed capacity in structural biology and bioimaging to address issues related to the pathophysiological mechanisms of various diseases, with emphasis on their etiological agents. INBEB is made up of 20 Associate Laboratories (LAs) composed of 115 researchers, more than 50 post-docs and hundreds of PhD, MSc and Scientific Initiation undergraduate students.

The organizational structure of INBEB has experimental platforms focused on thematic areas, divided into four large groups, considering the agents and their respective diseases, with an emphasis on a structural and functional approach (from macromolecules to cells and tissues). These are:

Group I: Amyloidogenic Proteins and Prions: Neurodegenerative and Protein Misfolding Diseases;

Group II: Viruses and Viral Diseases;

Group III: Eukaryotic Microorganisms and their Diseases;

Group IV: Tumor suppression and oncogenic proteins in cancer.

The main objective of this INCT is to study the molecular, cellular and physiological bases of diseases, with a translational approach, contributing to create bridges between basic and clinical research, through all its physical and intellectual infrastructure. The information obtained from the NMR screening library, for example, will be used by medicinal chemistry to arrive at

LOGO DO INBEB

O principal objetivo deste INCT é estudar as bases moleculares, celulares e fisiológicas de doenças, com um enfoque translacional, contribuindo para criar pontes entre a pesquisa básica e clínica, por meio de toda sua infraestrutura física e intelectual. A informação obtida da biblioteca de triagem por RMN, por exemplo, será utilizada pela química medicinal para se chegar a compostos com alta afinidade por seus alvos. Estes compostos serão utilizados em ensaios pré-clínicos e, posteriormente, em testes clínicos utilizando a infraestrutura nas instituições parceiras.

A estrutura de funcionamento do INBEB se utiliza de plataformas experimentais já instaladas como forma de integração entre os grupos, bem como de novas plataformas a serem estabelecidas. Entre elas, destaca-se as plataformas de produção de proteínas recombinantes, de triagem de fármacos por RMN e de imagens biológicas. Na área de quimioterapia experimental *in vitro* e *in vivo*, pesquisadores associados ao INBEB pretendem desenvolver drogas antivirais e antiparasitárias com foco em doenças importantes para a saúde pública brasileira, como as arboviroses. No estudo de doenças neurodegenerativas e câncer, buscam-se novos alvos terapêuticos e ferramentas diagnósticas.

Em paralelo às atividades de pesquisa, o INBEB preza pela formação de novos pesquisadores em programas de pós-graduação de excelência e conta com um programa de atividades educativas e de divulgação científica, com oferecimento de cursos voltados para professores e alunos das redes pública e privada de ensino fundamental e médio.

Missão

A missão do INBEB consiste em promover a multidisciplinaridade e interdisciplinaridade, e fazer com que áreas convencionais como biofísica, parasitologia, imunologia, bioquímica, farmacologia, química e computação, tenham suas fronteiras estendidas. O que permite uma maior interação entre grupos para solucionar diversos problemas biológicos. Pode-se citar, como exemplos, agentes infecciosos humanos (vírus da Dengue, febre amarela, HIV/AIDS, tripanossoma, leishmanias), cujas macromoléculas específicas estão sendo estruturalmente identificadas e caracterizadas. Após a fase de caracterização estrutural, tem-se buscado a avaliação desse novo alvo como



Professor Jerson Lima da Silva, coordenador do projeto INBEB e fundador do CENABIO operando magneto de MRI instalado no CENABIO. Crédito: Arquivo CENABIO. / *Professor Jerson Lima da Silva, coordinator of the INBEB project and co-founder of CENABIO operating an MRI magnet installed at CENABIO. Credit: CENABIO archive.*

compounds with high affinity for their targets. These compounds will be used in pre-clinical trials and, later, in clinical trials using the infrastructure at partner institutions.

*The operating structure of INBEB uses experimental platforms already installed as a way of integrating the groups, as well as new platforms to be established. Among them, the platforms for the production of recombinant proteins, drug screening by NMR and biological imaging stand out. In the area of experimental *in-vitro* and *in-vivo* chemotherapy, researchers associated with INBEB work to develop antiviral and antiparasitic drugs with a focus on diseases that are important to Brazilian public health, such as arboviruses. In the study of neurodegenerative diseases and cancer, new therapeutic targets and diagnostic tools are sought.*

In parallel with its research activities, INBEB values the training of new researchers in MSc and PhD programs of excellence and has an agenda of outreach and education of

candidato para o desenvolvimento racional de uma droga ou uma vacina específica.

Mecanismos serão estabelecidos para que a utilização da infraestrutura única seja maximizada. Essa infraestrutura será criada por todos os participantes do projeto e incluirá os equipamentos de ressonância magnética nuclear, microscopia eletrônica, microscopia de força atômica, imageamento por RMN, entre outros. Ela também estará disponível para pesquisadores do país e do exterior, sobretudo para os do Mercosul que estejam desenvolvendo projetos que requeiram a utilização dessa infraestrutura.

O Instituto dá ênfase especial para os seguintes temas:

— Estudo de macromoléculas envolvidas em doenças infecciosas, degenerativas e câncer;

— Estudo de vírus importantes, como o da dengue, febre amarela, HIV, entre outros;

— Estudo de estruturas complexas presentes em protozoários, que são agentes responsáveis por doenças relevantes como as leishmanioses, a doença de Chagas, a malária e a toxoplasmose;

— Acompanhamento em pequenos animais experimentais da evolução de infecções por vírus e protozoários e seu comportamento em animais submetidos a quimioterapia experimental; e

— Estudo do comportamento in vivo de células-tronco, visando analisar sua biodistribuição, locais de fixação e seu efeito funcional em terapias celulares para doenças degenerativas.

science, through courses aimed at teachers and students from the public and private networks of elementary and high school.

Mission

INBEB's mission is to promote multidisciplinary and interdisciplinarity, and also to extend the borders of conventional areas such as biophysics, parasitology, immunology, biochemistry, pharmacology, chemistry and computer science. This allows for greater interaction between groups to solve various biological problems. Examples include human infectious agents (dengue virus, yellow fever, HIV/AIDS, trypanosomes, leishmania), whose specific macromolecules are being structurally identified and characterized. After the structural characterization phase, the evaluation of each new target as a candidate for the rational development of a specific drug or vaccine has been sought.

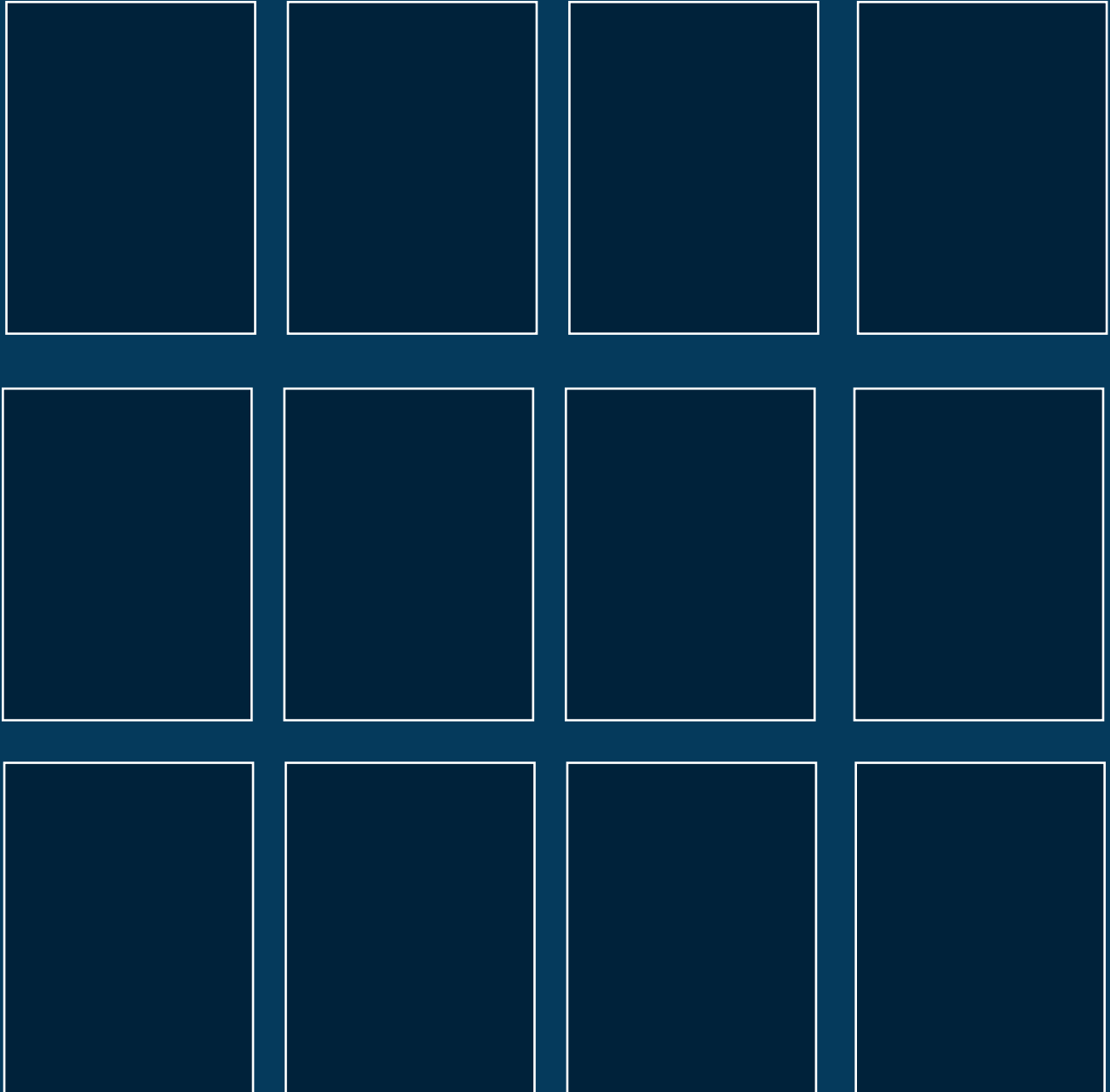
Mechanisms have been established so that use of the unique infrastructure is maximized. This infrastructure is the creation of all project participants, and includes nuclear magnetic resonance, electron microscopy, atomic force microscopy, NMR imaging, and other tools. It is also available to researchers from all around Brazil and abroad, especially those from Mercosur, who are developing projects that require the use of this infrastructure.

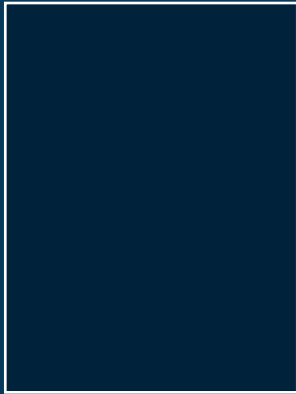
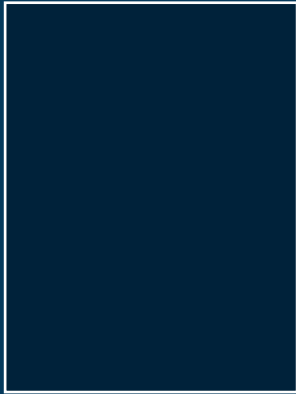
INBEB places special emphasis on the following topics:

- The study of macromolecules involved in infectious and degenerative diseases and cancer;*
- The study of important viruses, such as dengue, yellow fever, HIV, and others;*
- The study of complex structures present in protozoa that are responsible for diseases such as leishmaniasis, Chagas disease, malaria and toxoplasmosis;*
- The monitoring in small experimental animals of the evolution of infections by viruses and protozoa and their behavior in animals subjected to experimental chemotherapy;*
- The study of the in-vivo behavior of stem cells, aiming to analyze their biodistribution, attachment sites and their functional effects in cell therapies for degenerative diseases.*

9. CAPAS PUBLICADAS

PUBLISHED COVERS





10. ANEXOS

SUPPLEMENTS

Instituições e pesquisadores usuários do CENABIO

Cenabio's Institutions and researchers users

A seguir uma lista de principais pesquisadores atendidos pelo CENABIO, de 2017 a 2021. Vale lembrar que cada pesquisador líder de grupo representa seus alunos e pesquisadores associados também atendidos pelo Centro.

As planilhas são organizadas em 4 grandes áreas, que correspondem às 3 unidades e à PAB. Um usuário normalmente usa mais de uma plataforma, então pode estar representado em mais de uma planilha. Os equipamentos instalados funcionam 24 h por dia, nos 7 dias da semana, para atender uma vasta relação de usuários de instituições acadêmicas ou empresas de biotecnologia.

Below is a list of the main researchers assisted by CENABIO, from 2017 to 2021. It is worth remembering that each group leader researcher represents their students and associate researchers also assisted by the Center. The worksheets are organized into 4 large areas, which correspond to the 3 units and the PAB. A user typically uses more than one platform, so it may be represented in more than one worksheet. The installed equipment works 24 hours a day, 7 days a week, to serve a wide range of users from academic institutions or biotechnology companies.

UNIDADE DE IMAGEAMENTO DE PEQUENOS*Small animals imaging unit*

Adalberto Vieyra	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Adriana Bastos Carvalho	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Adriana Bonomo	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz – RJ
Alberto Félix Antônio da Nóbrega	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Alexandre Morrot	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Alysson Roncally Silva Carvalho	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Ana Maria Blanco Martínez	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Ana Paula Cabral A. Lima	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
André Talvani	Departamento de Ciências Biológicas	UFOP
Andrea Cheble de Oliveira	Instituto de Bioquímica Médica	UFRJ
Andressa Bernardi	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Anissa Daliry	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Antonio Carlos C. Carvalho	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Barbara Rossi Bergmann	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Bruno Diaz	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Christina Alves Peixoto	Instituto Aggeu Magalhães	Fiocruz-PE
Claudia Farias Benjamim	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Claudia Lucia Martins da Silva	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Claudia Neto Paiva	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Cláudia Pinto Figueiredo	Faculdade de Farmácia	UFRJ
Cristina Henriques	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Daniel Adesse	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Debora Foguel	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Didier Salmon	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Dirlei Nico	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ

Eliete Bouskela	Instituto de Biologia	UERJ
Elisa Cupolillo	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz - RJ
Elvira Maria Saraiva	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Emerson Lopes Olivares	Departamento de Ciências Fisiológicas	UFRRJ
Emiliano Horacio Medei	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Érick Svenvo	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Fabiana S Machado	Instituto de Ciências Biomédicas	UFMG
Fábio Hepp	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Fernanda De Felice	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Fernanda Gubert	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Fernanda Tovar Moll	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Fernando de Azevedo Cruz Seara	Departamento de Ciências Fisiológicas	UFRRJ
Flavia F. Bloise	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Flavia Lima	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Gisele Zapata-Sudo	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Gleide Fernandes de Avelar	Instituto de Ciências Biomédicas	UFMG
Helena Lobo Borges	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Herbert Leonel de Matos Guedes	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Iranaia Assunção Miranda	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Isis Hara Trevenzoli	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Jader S. Cruz	Instituto de Ciências Biomédicas	UFMG
Jerson Lima da Silva	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ

João Carlos Machado	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
José Eduardo Ferreira Manso	Faculdade de Medicina	UFRJ
Jose Hamilton Nascimento	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
José Roberto Lambertucci	Departamento de Clínica Médica	UFMG
Joseli Lannes-Vieira	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Juliana Demeis	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Julio Scharfstein	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Katia Carneiro de Paula	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Kelly Salomão	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Luis Eduardo Menezes Quintas	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Manoel Luis Costa	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Marcela Sorelli Carneiro-Ramos	Centro de Ciências Naturais e Humanas	UFABC
Marcelo Felipe Santiago	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Marcia Cury El Cheikh	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Marcos Farina de Souza	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Maria Bellio	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Mariana Caldas Waghabi	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Martin Hernan Bonamino	Instituto Nacional do Câncer	INCA
Martin Vila Petroff	Facultad de Ciencias Médicas	Universidad Nacional
Mauro Rebelo	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Norma Aparecida Dos Santos	Departamento de Ciências Fisiológicas	UFRRJ
Patricia Pestana Garcez	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ

Patricia Rieken Macedo Rocco	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Paulo Henrique Rosado de Castro	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Pedro Leme	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Pedro Moreno Pimentel Coelho	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Rafael Braga Gonçalves	Bioquímica	UNIRIO
Rafael Dariolli	Empresa	Pluricell Biotech
Rafael Lindoso	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Regina Coeli dos Santos Goldenberg	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Renata Meirelles Santos Pereira	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Roberto José Castro Fonseca	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Roberto Lent	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Roberto Sudo	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Robson Coutinho-Silva	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Robson de Queiroz Monteiro	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Rodrigo Soares Fortunato	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Rogério Arena Panizzutti	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Ronaldo da Silva Mohana Borges	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Rosalía Mendez-Otero	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Rossiane Vomaro	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Rubem Menna Barreto	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz-RJ
Sérgio A. L. Souza	Departamento de Radiologia	UFRJ
Silvia Carolina Guatimosim Fonseca	Instituto de Ciências Biológicas	UFMG
Tais Hanae Kasai Brunswick	Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem	UFRJ
Tania Orfega	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Victor Tulio	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ

Vinicius Cotta de Almeida	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz - RJ
Vivaldo Moura Neto	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Vivian Mary Barral Doss Rumjanek	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Wagner Coelho de Albuquerque Pereira	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
Wanderley de Souza	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ

UNIDADE DE MICROSCOPIA AVANÇADA

Advanced microscopy unit

Bluma Guenther Soares	Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano	UFRJ
Bruno Pontes	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Carla Holandino	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Carlos Nelson Elias	Instituto Militar de Engenharia	IME
Carolina Braga	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Carolina Neumann Keim	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Celso Caruso Neves	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Celso Sant'Anna	Laboratório de Biotecnologia	INMETRO
Christina Maeda Takiya	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Christina Wyss Castelo Branco	Instituto de Biociências	UNIRIO
Clarissa Damaso	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Claudia Franca Barros	Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro	JBRJ
Claudia Mermelstein	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ

Claudia Regina Elias Mansur	Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano	UFRJ
Claudio Fernando Mahler/Kalina Duarte	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
Claudio Lopes	Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano	UFRJ
Daniel Adesse	Laboratório de Biologia Estrutural do IOC	Fiocruz
Debora Ferreira Barreto Vieira	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Débora Foguel	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Didier Salmon	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Dilson Silva dos Santos	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
Edelgard Baumann	Universidade Federal Fluminense	UFF
Ednildo de Alcantara Machado	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Eduardo Carlos Meduna Hajdu	Museu Nacional	UFRJ
Eduardo Torres	Instituto de Biologia	UERJ
Eliana Tavares	Instituto de Biologia	UFRJ
Eliane de Oliveira Ferreira	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Elsie Franklin Guimarães	Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro	JBRJ
Elvira Maria Saraiva	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Emanuel Seixas	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
Emiliano Medei	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Erica dos Santos Martins Duarte	Instituto de Ciências Biomédicas	UFMG
Erik Svensjo	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Fábio Ceneviva Lacerda Almeida	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Fabio Mendonça Gomes	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Fabio Souza Toniolo	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
Fernanda de Avila Abreu	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Fernanda Tovar Moll	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ

Flávia Carvalho Alcantara Gomes	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Francisco Barrantes	Universidad Católica Argentina	UCA-Argentina
Francisco Lopes	Núcleo Multidisciplinar de Pesquisa	UFRJ - Xerém
Guilherme Augusto Piedade de Oliveira	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Guilherme Ramos da Silva Muricy	Museu Nacional	UFRJ
Gustavo Rocha	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Helene Barbosa	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Herbert Leonel de Matos de Guedes	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Hernandes Carvalho	Instituto de Biologia	UNICAMP
Isabel Ferreira Barbosa	Faculdade de Odontologia	UNIGRANRIO
Isabela Ramos	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Jacenir Reis dos Santos Mallet	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Jaqueline Villaça	Faculdade de Farmácia	UFRJ
Jeniffer Lowe	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Jerson Lima da Silva	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
João Carlos Machado	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
João Paulo Bassin	Instituto de Química	UFRJ
Jose Andres Morgado Diaz	Instituto Nacional de Câncer	INCA
José Antônio da Cunha Ponciano Gomes	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
José Costa de Macêdo Neto	Universidade do Estado do Amazonas	UEA
José Garcia Ribeiro Abreu Júnior	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
José Roberto Meyer Fernandes	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Josiane Sabbadini Neves	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Juliana Villela Paulino	Faculdade de Farmácia	UFRJ
Juliany Cola Fernandes Rodrigues	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ

Julio Scharfstein	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Katia Calp Gondim	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Katia Carneiro de Paula	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Katia Santos	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Kildare Rocha de Miranda	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Leda dos Reis Castilho	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
Leonardo Nimrichter	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Leonardo Tavares Salgado	Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro	JBRJ
Leonardo Vazquez	Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI)	FIRJAN
Lidia Oazem	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
Lúcia Maria Jaejer de Carvalho	Faculdade de Farmácia	UFRJ
Luciana Jesus da Costa	Núcleo Multidisciplinar de Pesquisa	UFRJ - Xerém
Lucianne Cople Maia de Faria	Faculdade de Odontologia	UFRJ
Lucio Ayres Caldas	Campus Duque de Caxias	UFRJ
Lucio Mendes Cabral	Faculdade de Farmácia	UFRJ
Luis Henrique de Almeida	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia	UFRJ
Luis Mauricio Trambaioli	Faculdade de Farmácia	UFRJ
Maite Vaslin	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Manoel Luis Costa	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Marcelo Martins Werneck	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
Marcelo Pelajo Machado	Fiocruz	Fiocruz
Marcelo Rosado Fantappié	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Marcelo Felipe Santiago	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Marcia Atlas	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Marcia Christina Vasconcelos Archer Da Motta	Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos /BioManguinhos	Fiocruz

Marcia Dezotti	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
Marcus Almeida	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Marcos Fabio Henriques dos Santos	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Marcos Farina	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Marcos André Vannier	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Maria Alice Fusco de Souza	Hospital Naval Marcílio Dias	HNMD/Marinha do Brasil
Maria Cristina M. Motta	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Maria Inês Bruno Tavares	Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano - IMA	UFRJ
Mariana Matos V. M. Souza	Escola de Química	UFRJ
Marianela Gastaldi	Museu Nacional	UFRJ
Mariângela Menezes	Museu Nacional	UFRJ
Marinella Silva Laport	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Marlene Benchimol	Universidade do Grande Rio	UNIGRANRIO
Marta Cléa Costa Dantas	Faculdade de Odontologia	UFRJ
Matheus Melo Pithon	Faculdade de Odontologia	UFRJ
Michelle Klautau	Instituto de Biologia	UFRJ
Michelle Tanny do Nascimento	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Miria Gomes Pereira	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Miriam Fatima Zaccaro Scelza	Faculdade de Odontologia	UFF
Mirian Ribeiro Leite Moura	Faculdade de Farmácia	UFRJ
Monica Montero Lomeli	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Monica Ramos	Faculdade de Farmácia	UFRJ
Monica Santos de Freitas	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Narcisa Leal da Cunha e Silva	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Nei Pereira Junior	Escola de Química	UFRJ

Nelson Ferreira Junior	Museu Nacional	UFRJ
Norton Heise	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Olavo Bohrer Amaral	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Ortrud Monika Barth	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Patricia Fampa Negreiros Lima	Departamento de Ciências Farmacêuticas	UFRRJ
Patricia Rieken Macedo Rocco	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Paula Mendes Jardim	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia – COPPE	UFRJ
Paulo Américo Maia Neto	Instituto de Física	UFRJ
Paulo Cavalcanti Gomes Ferreira	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Paulo Costa	Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais Walter Mors	UFRJ
Paulo Mascarello Bisch	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Paulo Sérgio Salomon	Instituto de Biologia	UFRJ
Pedro Ernesto Lopes Leão	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Pedro Paulo Xavier Elsas	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Plinio Cunha Sahler	Faculdade de Farmácia	UFRJ
Rafael Mariante Meyer	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Rafael Soares Lindoso	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Rafaela Sartore da Costa Gomes	Fundação Pró-Coração	INTO
Raquel Silva Peixoto	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Regina Coeli dos Santos Goldenberg	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Renata Carvalho Silva	Laboratório de Biotecnologia	INMETRO
Renata Cristina Picão	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Ricardo Louro	Instituto de Biologia	UFRJ
Roberto Lent	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Robson Silva	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ

Rodrigo Tinoco Figueiredo	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Romildo Toledo	Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia	UFRJ
Ronaldo Mohana Borges	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Rosana Barreto Rocha Ferreira	Instituto de Microbiologia Paulo de Góes	UFRJ
Rossana Correa Netto Melo	Instituto de Ciências Biomédicas	UFJF
Rossiane Claudia Vommaro	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Russolina Benedeta Zingali	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Samuel dos Santos Valença	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Selma Gomes Ferreira Leite	Escola de Química	UFRJ
Sergio Bonecker	Museu Nacional	UFRJ
Sergio Schenkman	Departamento de Micro e Imunobiologia	UNIFESP
Sonia Nair Bao	Instituto de Ciências Biológicas	UNB
Sônia Rozental	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Stevens Kastrup Rehen	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Susana Frasés Carvajal	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Tais Hanae Kasai Brunswick	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Tatiana Lobo Coelho de Sampaio	Instituto de Ciências Biomédicas	UFRJ
Tuane Vieira	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Ulisses Gazos Lopes	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Vanessa de Souza Mello	Instituto de Biologia	UERJ
Victor do Valle Pereira Midlej	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Wanda Maria Almeida von Kruger	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Wanderley de Souza	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Yraima Moura Lopes Cordeiro	Faculdade de Farmácia	UFRJ

UNIDADE DE BIOLOGIA ESTRUTURAL*Structural Biology Unit*

Adolfo Henrique de Moraes	Departamento de Química	UFMG
Adriane Todeschini	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Alejandro Vila	Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario	Universidad de Rosario – Argentina
Ana Paula Valente	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Anderson de Sá Pinheiro	Instituto de Química	UFRJ
Andrea Cheble de Oliveira	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Andrea Pintor	Faculdade de Odontologia	UFRJ
Andrea T. da Poian	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Apoena de Aguiar Ribeiro	Division of Diagnostic Sciences	University of North Carolina – USA
Aymara Cabrera Munoz	Center for Protein Studies	Universidad de La Habana – Cuba
Bartira Rossi Bergmann	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Carlos Henrique I. Ramos	Instituto de Química	UNICAMP
Cláudia Jorge do Nascimento	Instituto de Biociências	UniRio
Cristiane Ano Bom	Instituto de Química	UFRJ
Denise Saraiva Dagnino	Centro de Biociências e Biotecnologia	UENF
Dmitry Korzhnev	Department of Molecular Biology and Biophysics	University of Connecticut –USA
Eleonora Kurtenbach	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
Fábio C. L. Almeida	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Fabiola Pazos	Center for Protein Studies	Universidad de La Habana – Cuba
Felipe Bezerra	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho	UFRJ

Felipe Souto da Silva	Instituto de Química	UFRJ
Francisco Gomes Neto	Instituto Oswaldo Cruz	Fiocruz
Gilson Santos Jr.	Departamento de Genética	UERJ
Gisele de Amorim	Campus Duque de Caxias	UFRJ
Glaucius Oliva	Instituto de Física de São Carlos	UFSCar
Gonzalo de Prat Gay	Fundación Instituto Leloir-CONICET	Fundación Instituto Campomar – Argentina
Guilherme A. P. de Oliveira	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Guilherme Andrade	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Gustavo Ferreira	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Hugo Verli	Centro de Biotecnologia	UFRGS
Iolanda Midea Cuccovia	Instituto de Química	USP
Irina Bezsonova	Department of Molecular Biology and Biophysics	University of Connecticut – USA
Ivete Pomarico	Faculdade de Odontologia	UFRJ
Jan Schripsema	Centro de Ciências Exatas e Tecnologia	UENF
Jarbas Magalhães Resende	Departamento de Química	UFMG
Jerson Lima da Silva	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
José Osvaldo Previato	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ
José Ricardo Murari Pires	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Liana Bastos F. Fernandes	Faculdade de Odontologia	UFRJ
Lucia Mendonça Previato	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ

Lucianne Cope Maia	Faculdade de Odontologia	UFRJ
Luis Mauricio Trambaioli	Faculdade de Farmácia	UFRJ
Maday Alonso del Rivero	Center for Protein Studies	Universidad de La Habana – Cuba
Marcel M. Lyra da Cunha	Campus Duque de Caxias	UFRJ
Marcela Rodrigues Alves	Faculdade de Odontologia	UFRJ
Marcia Grillo	Faculdade de Odontologia	UFRJ
Marcus da S. Almeida	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Mariana Torquato Quezado	Departamento de Bioquímica e Imunologia	UFMG
Mauro Pavão	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho	UFRJ
Mayra de Amorim Marques	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Mey Ling Reytor Gonzalez	Center for Protein Studies	Universidad de La Habana – Cuba
Monica Santos de Freitas	Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis	UFRJ
Paulo Mourão	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho	UFRJ
Ricardo José Giordano	Departamento de Bioquímica	USP
Roberto Kopke Salinas	Departamento de Bioquímica	USP
Shaker Chuck Farah	Departamento de Bioquímica	USP
Talita Lopes dos Santos	Departamento de Química	Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha
Tatiana El-Bacha	Instituto de Química	UFRJ
Tatiana Kelly da Silva Fidalgo	Odontologia Preventiva e Comunitária	UERJ
Theo Luiz Ferraz de Souza	Faculdade de Farmácia	UFRJ

Theresa Christina Barja Fidalgo	Departamento de Biologia Celular	UERJ
Vanessa Silva da Mota	Instituto de Química	UFRJ
Veronica Calado	Instituto de Química	UFRJ
Vitor Pomin	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho	UFRJ

PLATAFORMA AVANÇADA DE BIOMOLÉCULAS

Protein Advanced Biochemistry

Anderson Pinheiro	Instituto de Química	UFRJ
Carlos Ramos	Instituto de Química	UNICAMP
Claudia Nascimento	Instituto de Biociências	UNIRIO
Débora Foguel	Instituto de Bioquímica Médica	UFRJ
Franklin Rumjanek	Instituto de Bioquímica Médica	UFRJ
Gabriela Paiva e Silva	Instituto de Bioquímica Médica	UFRJ
Jerson Silva	Instituto de Bioquímica Médica	UFRJ
Maria Cecília Bastos Vieira de Souza	Instituto de Química	UFF
Fábio Almeida	Instituto de Bioquímica Médica	UFRJ
Russolina Zingali	Instituto de Bioquímica Médica	UFRJ
Luis Mauricio Trambaioli	Faculdade de Farmácia	UFRJ
Marcel Frajblat	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho	UFRJ

Monica Montero	Instituto de Bioquímica Médica	UFRJ
Raquel Regina Bonelli	Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes	UFRJ
Renato Sampaio	Faculdade de Farmácia	UFRJ
Sergio Ferreira	Instituto de Bioquímica Médica	UFRJ
Marcelo de Freitas Lima	Instituto de Ciências Exatas	UFRRJ
Marinella Silva Laport	Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes	UFRJ
Jiang Liu	Biomedical Sciences	Marshall University
Iralice Medeiros de Souza	Bio-Manguinhos	Fiocruz
Maria Angela Bernardes Grieco	Instituto de Química	UFRJ

4^a CAPA

Pode acrescentar um texto do editor