### PROGRAMA DE DISCIPLINA

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **CÓDIGO:** | **CIB081** | | | | | |
| **DISCIPLINA:** | **FUNDAMENTOS E APLICAÇÕES DE ENSAIOS DE DESLOCAMENTO TÉRMICO** | | | | | |
| **PRÉ-REQUISITOS:** | **Não há** | | | | | |
| **CARGA HORÁRIA** | **TEÓRICA:** | **45** | **PRÁTICA:** | **0** | **TOTAL:** | **45** |
| **CRÉDITO:** | **TEÓRICA:** | **3** | **PRÁTICA:** | **0** | **TOTAL:** | **32** |
| **PROFESSOR (A):** | **THAMIRES QUADROS FROES** | | | | | |
|  | ASSINATURA: | | | | | |
| **EMENTA:** | Compreensão dos fundamentos e aplicações de ensaios de deslocamento térmico (TSA) na otimização de condições de purificação/cristalização de proteínas, identificação de compostos bioativos e caracterização do seu modo de interação com o alvo macromolecular. | | | | | |
| **OBJETIVOS:** | Fornecer aos discentes elementos para desenvolver e/ou aplicar TSA na otimização de condições de purificação/cristalização de proteínas, triagem de compostos bioativos e caracterização do seu modo de interação com o alvo macromolecular. Além disso, esse curso visa discutir as vantagens e limitações de diferentes métodos de análises de resultados de TSA | | | | | |
| **METODOLOGIA:** | O conteúdo será abordado por meio de aulas expositivas dialogadas, além de aulas teórico-práticas que visam demonstrar a padronização e utilização de TSA para diferentes propósitos. Os resultados obtidos, juntamente com artigos científicos, serão utilizados para discutir as limitações e vantagens do TSA | | | | | |
| **AVALIAÇÃO:** | O aluno(a) será avaliado de forma continuada, a partir de atividades realizadas em sala de aula (discussões de artigos e resultados obtidos nas aulas teórico-práticas) e extra-sala aula (relatório sobre desenvolvimento, padronização e análise de resultados de TSA). | | | | | |
| **CONTEÚDO PROGRAMÁTICO:** | 1. Fundamentos da técnica de TSA (ThermoFluor) 2. Adaptações da técnica de TSA (ThermoFAD/ ThermoFMN) 3. Aplicações de TSA na otimização das condições de purificação/cristalização 4. Aplicações de TSA na triagem de compostos bioativos 5. Adaptações de TSA para ensaios celulares 6. Analise e interpretação dos dados de TSA 7. Investigação do modo de interação (mecanismo de inibição) por TSA 8. Cálculo da constante de afinidade (Kd) por TSA | | | | | |
| **REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA:** | 1) Senisterra, G. et al. Thermal Denaturation Assays in Chemical Biology. **Technology review**, v. 10, n. 2, 2012.  2) VOLLRATH, F. et al. Differential Scanning Fluorimetry provides high throughput data on silk  protein transitions. **Scientific Reports.** v. 4, 2014.  3) LO, M.C. et al, Evaluation of fluorescence-based thermal shift assays for hit identification in drug discovery. **Analytical Biochemistry**. v. 332, p. 153 – 159, 2004.  4) ERICSSON, U. B., et al. Thermofluor-based high-throughput stability optimization of proteins for structural studies. **Analytical biochemistry**, v. 357, p. 289 – 298, 2006.  5) NIESEN, F. H. et al. The use of differential scanning fluorimetry to detect ligand interactions that promote protein stability. **Nature protocols.** v. 2, n. 9, 2007.  6) GRØFTEHAUGE, M. K. , et al. Protein–ligand interactions investigated by thermal shift assays (TSA) and dual polarization interferometry (DPI). **Acta Crystallographica Section D**. v. 71, p. 36 – 44, 2015.  7) FORNERIS, F. ThermoFAD, aThermofluorÒ-adapted flavinadhocdetection system for protein folding and ligand binding. **The FEBS Journal**. v. 276, p. 2833 – 2840, 2009  8) REINHARD, L. et al. Optimization of protein buffer cocktails using Thermofluor. **Acta Crystallographica Section F.,** v. F69, p. 209 – 214, 2013  9) PADUA, R.A., et al. ThermoFMN - A Thermofluor Assay Developed for Ligand-Screening as an Alternative Strategy for Drug Discovery. ***J. Braz. Chem. Soc.*,** v. 25, n. 10, p. 1864-1871, 2014.  10) BAI et al. Isothermal Analysis of ThermoFluor Data can readily provide Quantitative Binding Affinities. **Scientific Reports,** v. 9, 2019 | | | | | |