

INFABiC

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em
Fotônica Aplicada à Biologia Celular

inct-infabic.net.br

Share your knowledge, expertise and best practices with others.

Bruna Martinuzzi. The leader as a Mensch, 2009

The continuous body of knowledge, which should be properly named cellular and molecular biology, could be compared to a bridge which like its equivalents in civil engineering, has two bridgeheads: one in traditional anatomical-morphological sciences and the other in equally traditional biochemistry. The cautious and careful have stayed close to the bridgeheads because the area around them had been consolidated over centuries by the work of their predecessors. The bold and venture-some have ventured on the bridge itself from both directions, because they believed that there was where the action was going to be... As in the old Latin proverb, fortune favored the bold: the bridge proved to be strong enough to support the intense occasionally frantic activity of whole armies of explorers.

George Palade, 1987

Apud William Bechtel – *Discovering of Cell Mechanisms*, 2006, p. 190

2. Coordenador

Hernandes F. Carvalho. Bacharel e licenciado em Ciências Biológicas (Unicamp, 1987), Mestre em Biologia Celular (Unicamp, 1989), Doutor em Bioquímica (Unicamp, 1993), Pós-Doutorado na Unversidade do Novo México em Albuquerque), Professor Livre-Docente (1997) e Professor Titular (2004) da Unicamp. Presidente da Sociedade Brasileira de Biologia Celular (2006-2008 e 2014-2016). Secretário Geral da Federação Internacional de Biologia Celular. Pesquisador 1A do CNPq. Coordenador do INCT-INFABiC (2009-2015).

3. Comitê Gestor

Carlos Lenz Cesar (vice-coordenador)

(Professor Titular) (Instituto de Física Gleb Wataghin, UNICAMP)

(CPF 090.585.593-00)

Ruy G. Jaeger

(Professor Titular) (ICB, USP) (CPF 036.968.758-21)

Sérgio Luis Felisbino

(Professor Associado) (IBB, UNESP) (CPF 098.097.418-63)

Carmen Veríssima Ferreira

(Professora Associada) (IB, UNICAMP) (CPF 775.227.536-00)

Siglas utilizadas nesse projeto

Instituições:

CEPID: Centro de Pesquisa, Inovação e Difusão [Research, Innovation and Dissemination Centers] - FAPESP

CEPOF: Centro de Pesquisas em Óptica e Fotônica [Center for Research in Optics and Photonics]

FM-RP = Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

FMJ = Faculdade de Medicina de Jundiaí

IB = Instituto de Biologia – UNICAMP

IFES = Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Aracruz

IFGW: Instituto de Física Gleb Wataghin – UNICAMP

NIH = National Institutes of Health (USA)

U-o-B = University of Bristol

UFC = Universidade Federal do Ceará

UFF = Universidade Federal Fluminense

UFG = Universidade Federal de Goiás

UFMG = Universidade Federal de Minas Gerais

UFPe = Universidade Federal de Pernambuco

UFPR = Universidade Federal do Paraná

UFRJ = Universidade Federal do Rio de Janeiro

UFSCar = Universidade Federal de São Carlos

UNESP = Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

UNICAMP = Universidade Estadual de Campinas

USP = Universidade de São Paulo

Técnicas Fotônicas e outras:

BALM: Bleaching/Blinking Localization Microscopy

CARS: Coherent AntiStokes Raman Scattering

EAD: Ensino à distância

FCS: Fluorescence Correlation Spectroscopy

FLIM: Fluorescence Lifetime Imaging

FLIP: fluorescence loss in photobleaching

FRAP: Fluorescence Recovery After Photobleaching

FRET: Förster Resonant Energy Transfer

MEC: Matriz extracelular

NLO: Non-Linear Optics

OPO: Optical Parametric Oscillator

PALM: Photoactivation Localization Microscopy

PLE: Photoluminescence Excitation Spectroscopy

SFG: Sum Frequency Generation

SHG/THG: Second/Third Harmonic Generation

TPEF: Two-Photon Excited Fluorescence

4. Grupo de proponentes (somente líderes de laboratórios):

1. Ana Paula Davel (Prof Assist Doutor) (UNICAMP) (CPF 053.909.097-20)
2. André Romero da Silva (Gerente de Gestão Educacional) (IFES) (CPF 079.772.818-05)
3. Anibal E. Vercesi (Professor Titular) (UNICAMP) (CPF 341.236.608-00)
4. Anita Marsaioli (Professora Titular) (UNICAMP) (CPF 110.015.859-68)
5. Carlos Lenz Cesar (Professor Titular) (UNICAMP) (CPF 090.585.593-00)
6. Carmen Veríssima Ferreira (Professora Associada) (UNICAMP) (CPF 775.227.536-00)
7. Catarina Segretti Porto (Professora Associada) (UNIFESP) (CPF 878.594.088-72)
8. Cláudio C. Werneck (Prof Assist Doutor) (UNICAMP) (CPF 918.687.937-53)
9. Cristina Pontes Vicente (Prof Assist Doutor) (UNICAMP) (CPF 803.888.257-15)
10. Evelise Maria Nazari (Prof Assist Doutor) (UFSC) (CPF 716.091.489-91)
11. Fernanda C. A. dos Santos (Prof Assist Doutor) (UFG) (CPF 212.704.538-66)
12. Fernanda Ramos Gadelha (Professora Associada) (UNICAMP) (CPF 766.901.057-68)
13. Helena Coutinho Oliveira (Professora Titular) (UNICAMP) (CPF 011.788.198-84)
14. Heloisa Sobreiro Selistre de Araujo (Professora Associada) (UFSCAR) (CPF 029.268.028-70)
15. Henrique Souza Marque (Prof Assist Doutor) (UNICAMP) (CPF 004.436.519-57)
16. Hernandes F Carvalho (UNICAMP) (CPF 552.095.646-49)
17. Jörg Kobarg (Professor Titular) (CNPEM) (CPF 217.350.928-43)
18. José Andrés Yunes (Pesquisador) (BOLDRINI) (CPF 711.727.859-53)
19. José Ferreira Nunes (Professor Titular) (UECE) (CPF 031.219.503-63)
20. Konradin Metze (Professor Titular) (UNICAMP) (CPF 137.661.288.76)
21. Leticia Frölich Archangelo (Prof Assist Doutor) (FM-RP/USP) (CPF 252.154.098-62)
22. Lucia Elvira Alves (Prof Assist Doutor) (UNICAMP) (CPF 123.764.208-65)
23. Lucimara Gaziola de la Torre (Prof Assist Doutor) (UNICAMP) (CPF 137.680.368-20)
24. Manoel Biancardi (Prof Assist Doutor) (UFG) (CPF 222.602.608-88)
25. Marco Antonio Ferreira Randi (Professor Assistente Doutor) (UFPR) (CPF 068.891.138-50)
26. Marco Aurélio Ramires Vinolo (Prof Assist Doutor) (UNICAMP) (CPF 311.670.698-03)
27. Maria Christina Werneck Avellar (Professora Associada) (UNIFESP) (CPF 082.738.678-89)
28. Maria de Fátima Leite (Professora Associada) (UFMG) (CPF 620.265.936-04)
29. Maria Denise Feder (Professora) (UFF) (CPF 764.426.917.72)
30. Marinilce Fagundes Santos (Professora Titular) (USP) (CPF 062.491.238-81)

31. Marisa Masumi Beppu (Professora Associada) (UNICAMP) (CPF 137.680.208-27)
32. Mary Ann Foglio (Pesquisadora)(UNICAMP) (CPF 096.776.818.77)
33. Mônica Alonso Cotta (Professora Associada) (UNICAMP) (CPF 083.897.888-61)
34. Patrícia Gama (Professora) (USP) (CPF 126.803.358-80)
35. Paulo Pinto Joazeiro (Professor Associado) (UNICAMP) (CPF 773.096.778-20)
36. Pedro de Campos-Lima (Pesquisador) (Boldrini) (CPF 432.244.316-87)
37. Roger Frigério Castilho (UNICAMP) (CPF 137.680.638-01)
38. Ruy G Jaeger (Professor Titular) (USP) (CPF 036.968.758-21)
39. Sérgio Luis Felisbino (Professor Associado) (UNESP) (CPF 098.097.418-63)
40. Silvana Allodi (Professor Associado) (UFRJ) (CPF 951.356.858-04)
41. Sonia Regina Grötzner (Prof Assist Doutor) (UFPR) (CPF 530.446.149-53)
42. Suzana Côrte-Real Faria (Pesquisadora) (FIOCRUZ) (CPF 352.874.387-53)
43. Suzete Araújo Oliveira Gomes (Prof Assist Doutor) (UFF) (CPF 639.664.257-34)
44. Taize Augusto (Professora Adjunta) (FMJ) (CPF 220.124.188-05)
45. Vanessa Freitas (Prof Assist Doutor) (USP) (CPF 199.948.488-60)
46. Yara Maria Rauh Muller (Prof Assist Doutor) (UFSC) (CPF 247.889.889-68)

5. Estrutura organizacional e funcional do instituto

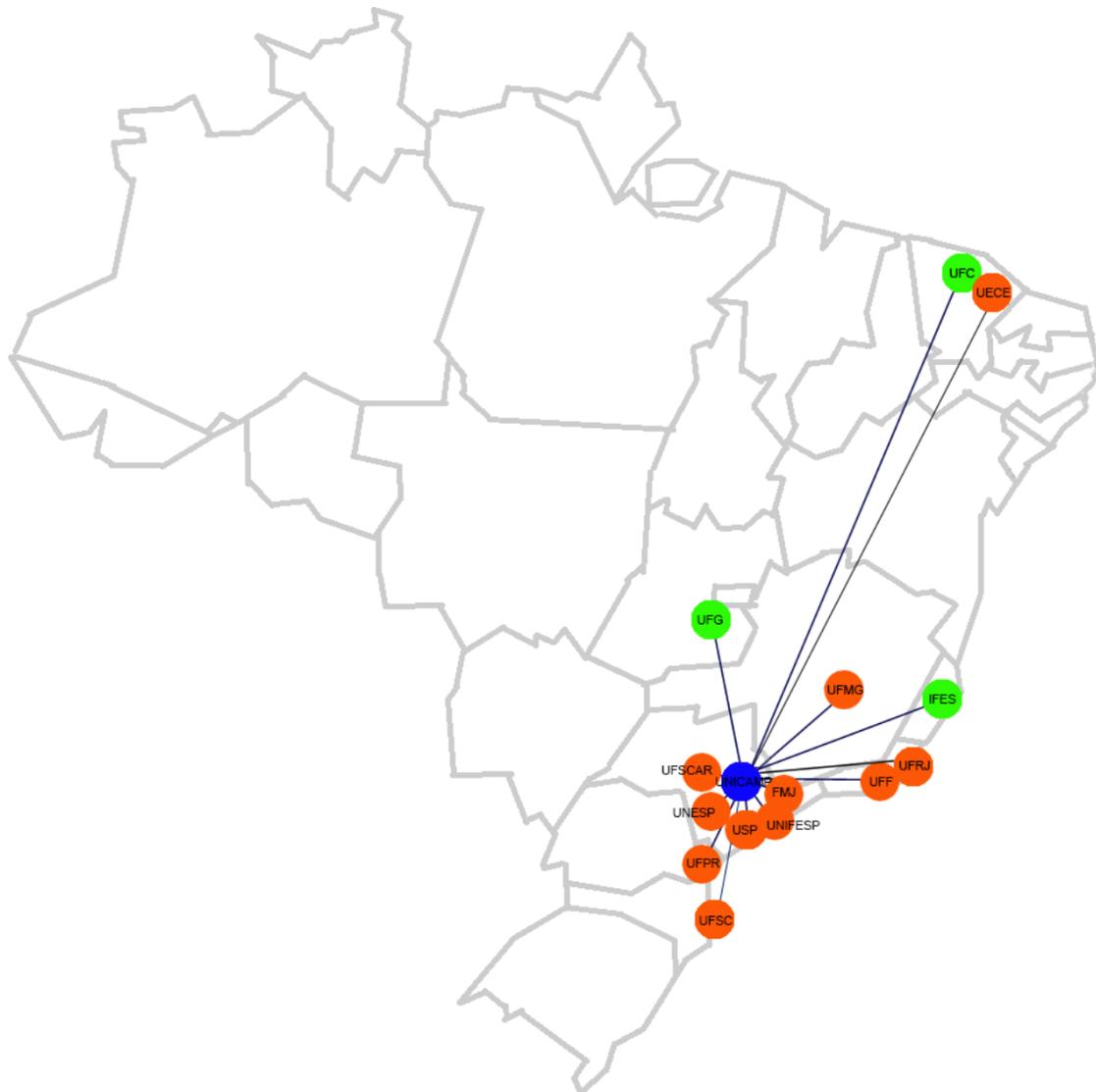


Figura 1. Distribuição geográfica das instituições afiliadas ao INFABIC. A sede em Campinas é indicada em azul. Os laboratórios associados tipo 1 são indicados em laranja e os laboratórios associados tipo 2 são indicados em verde. Estamos presentes em 8 Estados e em quatro regiões geográficas da Federação.

Laboratório Sede do INFABiC na Unicamp (azul, no mapa)

O INFABiC tem sede na Unicamp. Seu vínculo oficial é com o IB e com o IFGW. O laboratório sede, em fase final de construção está localizado no IB. Neste laboratório os equipamentos do INFABiC serão instalados em uma área de 150 m², climatizada e com sistema de filtração de ar correspondente a sala limpa classe 10.000. Este arranjo visa proteger os equipamentos de variações de temperatura e umidade, assim como de poeira e aerossóis. Em área contígua (300 m²) estão sendo criadas condições para duplicar a capacidade instalada para armazenamento e cultivo de linhagens celulares, assim como para o processamento de materiais destinados às análises nos diferentes equipamentos. Além disto, foi planejado um banco de vetores, construções gênicas e de células que expressem proteínas específicas para as análises de organelas celulares e moléculas específicas, em espaço destinados a biofreezers e tanques de nitrogênio líquido. No IB está instalada também a Zebrafish Unit (**Danio Core**), que visa dar condições para a criação e manutenção de linhagens de *Zebrafish*, escolhido como modelo animal. Esta unidade tem dimensão suficiente para suprir grande demanda por animais para experimentação e está sendo equipada para a obtenção de animais expressando genes repórteres e marcadores celulares customizados. A sede conta ainda com laboratório de Biofotônica do IFGW, sob responsabilidade do Prof. Carlos Lenz Cesar, que atuará como agente de prospecção e transferência de tecnologias para o laboratório principal. Desta maneira, vislumbra-se que as células e os animais (principalmente Zebrafish) mantidos no IB sejam utilizados nas análises realizadas no Laboratório Sede e no laboratório de Biofotônica, que atuarão conjuntamente no atendimento aos usuários. No Laboratório Sede serão concentradas também as atividades organizacionais e de planejamento do INFABiC, enquanto as atividades de ensino e difusão acontecerão em diversas instalações da Unicamp, dependendo do número de participantes. Além do Laboratório Sede do INFABiC, há na Unicamp vários laboratórios associados, localizados nos próprios IFGW e IB, e também no Instituto de Química, na Faculdade de Engenharia Química, na Faculdade de Ciências Médicas, no CPQBA (Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas), na recém-criada Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) e no CNPEM (Centro Nacional de Pesquisas em Energia e Materiais).

Laboratórios Associados (verde e laranja, no mapa)

Os laboratórios associados (tipo I e tipo II, descritos abaixo) que forem beneficiados através do INCT deverão atuar na mesma linha geral de divulgação/difusão, disponibilização, treinamento e investigação do INFABiC. Espera-se que funcionem como núcleos de difusão local do conhecimento/tecnologia centrada em microscopia fotônica, microscopia óptica integrada e aspectos dinâmicos, quantitativos e mecanísticos da biologia celular, com foco em aspectos subcelulares e moleculares.

Os laboratórios associados estão localizados em instituições estabelecidas e se vinculam ao INFABiC por compartilharem de seus objetivos, por buscarem elementos de identidade com o trabalho desenvolvido, por desenvolverem trabalhos em colaboração de longa data ou por buscarem os elementos de excelência reunidos na laboratório sede/grupo proponente. Eles ampliam os temas de interesse do laboratório, difundem técnicas e abordagens e desenvolvem pesquisas relacionadas ao tema central do INFABiC e auxiliam no oferecimento dos cursos/programas. Faz parte desta proposta do INFABiC, (i) identificar gargalos no desenvolvimento das pesquisas nos laboratórios associados (fora da Unicamp), em particular com respeito a microscopias, e (2) descentralizar parte das atividades que acontecem no Laboratório Sede ampliando a base de usuários ao mesmo tempo que dedica os equipamentos complexos para a utilização de acessórios capazes de obter dados mais refinados.

O INFABiC busca ter ação **transformadora** na aproximação com os Laboratórios Associados Tipo II (“pólos avançados”). Eles são três: Universidade Federal de Goiás (Goiânia), Instituto Federal do Espírito Santo (Aracruz) e Universidade Federal do Ceará (Fortaleza). Esta relação visa a implantação de condições apropriadas de trabalho, suporte técnico-científico e financiamento básico, para que eles possam desenvolver pesquisas em biologia celular dinâmica e passem a atuar como difusores locais.

Parceiros Internacionais

Atuarão na troca de informações, intercâmbio de estudantes e funcionarão como postos avançados, repassando informações úteis e de interesse do grupo. Colaborarão

nas pesquisas realizadas no INFABiC em contato direto com os membros de sua equipe. Proferirão palestras nas atividades formais do INFABiC e contribuirão na submissão de propostas para financiamento internacional. Em casos especiais, permanecerão por períodos determinados no Laboratório Sede ou nos laboratórios associados, através de programas específicos do CNPq e da FAPESP. São parceiros internacionais do INFABiC:

**School of Biochemistry (Program on Dynamic Cell Biology)
University of Bristol - UK**

Contato:

George Banting - e-mail: dean-fmvs@bristol.ac.uk

**Nanoscience and Quantum Information Centre
University of Bristol - UK**

Contato:

Mervyn Miles - e-mail: m.j.miles@bristol.ac.uk

Section on Organelle Biology - NIH-Bethesda, USA

Contato:

Jennifer Lippincott-Schwartz - e-mail: jlippin@helix.nih.gov

Yale University, USA

Contato:

Michael Nathanson - e-mail: michael.nathanson@yale.edu

Universidad de Entre Rios, Argentina

Contato:

Javier Adur - e-mail: jadur@bioingenieria.edu.ar

University of Georgia in Athens, USA

Contato:

Roberto DoCampo - e-mail: rdocampo@uga.edu

Université de Picardie Jules Verne au Amiens, France

Contato:

Pierre Toledano - e-mail: pierre.toledano@u-picardie.fr

6. Definição de tarefas de cada entidade participante

Laboratório Sede (UNICAMP): Concentra equipamentos de grande porte e os disponibiliza aos usuários. Oferece suporte técnico-científico. Prospecta novas tecnologias, implanta-as e divulga aplicações. Organiza ações do INFABiC, zelando pelo cumprimento das metas estabelecidas. Coordena ações de ensino e difusão. Organiza os eventos. Define estratégias futuras, ouvidas as partes envolvidas. Organiza dados e se responsabiliza pela elaboração dos relatórios científicos. Estimula a interação entre os laboratórios associados para o funcionamento em rede e em sub-redes.

Laboratórios Associados tipo I (USP, UNIFESP, UNESP, UFSCAR, UFMG, UFPR, UFRJ, UFF, FIOCRUZ, UFPe, Boldrini, FMJ, UFSC): Desenvolvem pesquisas e realizam investigações, utilizando as facilidades oferecidas pelo INFABiC. Participam das definições de metas futuras e colaboram nos eventos. Estimulam o trânsito de estudantes e pesquisadores entre os diferentes laboratórios e entre as Instituições participantes da proposta. Atuam na divulgação local das ações de pesquisa/ensino/extensão/ inovação do INFABiC, ressaltando a importância das abordagens em nível celular e molecular, buscando os aspectos dinâmicos, quantitativos e mecânicos.

Laboratório Associado tipo II (UFG/Goiânia, IFES/Aracruz e UFC/Fortaleza): Suas funções assemelham-se àquelas do Laboratório Associado tipo I, porém por serem coordenados por jovens pesquisadores e/ou grupos, terão apoio específico para alavancarem suas atividades, quer seja através de novos equipamentos, quer seja através de suporte técnico-científico do Laboratório Sede e dos Laboratórios Associados tipo I.

7. Descrição dos mecanismos para promover a interação entre os grupos de pesquisa participantes

O INFABiC dará continuidade aos mecanismos que garantiram alta sinergia até o momento, além de implementar novas ações para fortalecer ainda mais a interação entre os participantes.

Ações organizacionais:

Além das reuniões do workshop anual, e quinzenais de assessoria ao usuário, incluiremos uma reunião mensal de planejamento entre os líderes do grupo para discussão de ideias e estratégias geradoras de publicações em revistas de alto impacto. Estabeleceremos uma série de **Seminários Mensais** do INFABiC, divulgados no formato de *Webminar*, onde diferentes membros da equipe e convidados especiais poderão expor os resultados de suas pesquisas e propor ações conjuntas e um **Journal Club**, que deverá ser divulgado via homepage do INFABiC, onde os membros possam comentar highlights da literatura, de preferência suas próprias publicações.

A reunião anual de auto-avaliação será aprimorada para contar com a presença de membros do *steering committee* externo avaliando nossa atuação e sugerindo novas ações.

Criaremos a **Rede Virtual de Biologia Celular Avançada de Campinas**, que congregará pesquisadores de diferentes áreas interessados na célula como objeto de estudo ou ferramenta de trabalho e que abrangerá as atividades específicas do INFABiC em termos de acesso ao equipamento, suas atividades de ensino/pesquisa/extensão e atuará na agregação de pesquisadores que, por diversas razões não puderam participar desta proposta, atuando mesmo na integração de vários INCTs.

Ações de suporte

Ampliar de forma robusta e oficial o suporte extra-oficial que o INFABiC ofereceu para instituições da Região Nordeste, com a inclusão de pesquisadores das regiões Nordeste, Centro-Oeste e do Espírito Santo na equipe proponente. Ampliar a parte do orçamento do INFABiC destinada a garantir a mobilidade dos participantes que não moram em Campinas, especialmente para os que moram em outros estados e

entre os laboratórios associados na realização das atividades de ensino/divulgação e treinamento. No estágio atual do nosso instituto, esta ação deve fazer grande diferença e deverá ter impacto mais palpável na colaboração nacional “assimétrica” com três centros (UFG-Goiânia em Goiás, IFES-Aracruz no Espírito Santo e UFC-Fortaleza, no Ceará).

Continuidade de ações para prover sinergias

A estrutura de pesquisa montada pelo INFABiC, resultante da interação entre o corpo permanente, organização e equipamentos, foi o principal fator responsável pela sinergia do instituto, alcançada pela união dos eixos (x) instrumentação, (y) suporte técnico-conceitual e (z) caráter agregador e interdisciplinar da equipe proponente. Na forma como o INFABiC opera todo aprendizado é compartilhado e difundido para um grande número de pesquisadores. Alguns exemplos mostram a eficácia dessa organização. As microscopias TPEF, SHG e FLIM, entre as mais demandadas atualmente, eram basicamente desconhecidas no país antes do INFABiC [2009]. O primeiro estudo de FRET-FLIM do Brasil, em colaboração com o LNBIO, estimulou estudos de interação de proteínas em outros laboratórios do próprio LNBIO, do Centro Boldrini e do INCOR.

O INFABiC disponibiliza o agendamento para utilização dos equipamentos via internet (através de sua homepage) para qualquer pesquisador no País. Além disso, criou um comitê de usuários e um conjunto de regras aprovadas nas congregações dos IB e do IFGW, para garantir a continuidade da operação do laboratório mesmo que haja mudanças no Comitê Gestor. Usuários de todo o País, incluindo Pernambuco e Ceará, integrantes da RENORBIO, e mesmo do Exterior (Argentina, Colômbia, México), têm utilizado essa infraestrutura desde 2010. A operacionalidade desse laboratório envolve um conhecimento que começa com lasers de femto/pico-segundos e se estende na direção da óptica linear e não linear, eletrônica e softwares. Além disso inclui desde o processamento de amostras e análises de imagens até a interpretação dos resultados, perpassando a biologia celular e molecular e disciplinas adjacentes.

As seguintes ações foram fundamentais para o sucesso e a capacidade de atender um grande número de usuários e devem ter continuidade:

(1) a reunião de um número considerável de equipamentos e o seu gerenciamento;

(2) a disponibilidade dos coordenadores para discutir as possibilidades e estratégias adequadas para responder as questões científicas dos usuários;

(3) a existência de dois PhDs de suporte foi fundamental para que os usuários não tenham receio de utilizar e ou danificar os equipamentos complexos, podendo se concentrar nos aspectos específicos de sua pesquisa, e para que sejam preservadas informações relevantes que são imediatamente difundidas para outros usuários;

(4) a difusão do conhecimento sobre óptica não linear e sobre microscopias fotônicas para a comunidade científica e o convencimento da utilidade das mesmas na solução de problemas científicos;

(5) a manutenção de laços estreitos com a comunidade internacional participando de escolas de verão/inverno e visitando laboratórios.

As ações (4) e (5) foram organizadas de várias formas. A mais simples foi a oferta de disciplinas eletivas, sobre os temas (i) Biofotônica, (ii) Biologia Celular e Molecular (iii) Biologia do Câncer e (iv) Redes/Networks, para alunos de graduação e de pós-graduação. Além da teoria, estas disciplinas incluíram aulas práticas de alinhamento de lasers, aquisição de imagens, processamento de amostras, análises de artefatos e uso de softwares. Alunos de física, biologia, engenharia de alimentos, farmácia, química e medicina, muitos deles membros do INFABiC, se matricularam nessas disciplinas.

A mais ampla de nossas ações, em relação ao número de pessoas envolvidas, foi a organização de Workshops Teóricos e Práticos, na UNICAMP, com duração de duas semanas. As três versões desse Workshop contaram cada uma com um público de mais de 100 pessoas. O quarto workshop acontecerá no final de setembro de 2014. A parte prática destes workshops é limitada a um número menor de participantes, dado o tamanho do laboratório e disponibilidade dos equipamentos. Além das aulas/experimentos apresentados pela equipe do INFABiC, o Workshop contou com palestrantes convidados do Brasil e do Exterior, aulas e demonstrações de equipamentos de várias empresas, e também treinamentos específicos em processamento de imagens utilizando o Image J (incluindo montagem de

filmes/animações, transformadas de Fourier, análise de textura via contraste, energia e entropia dentre outros). Esses workshops criaram um dos melhores meios de interação e compartilhamento de conhecimento dentro e fora do INFABiC. Vários membros da equipe atual, ou seus orientados, participaram desses workshops.

Em nível mais global, organizamos o **XII Congresso Internacional de Biologia Celular** (em conjunto com o **XVI Congresso da Sociedade Brasileira de Biologia Celular**) (2012) e a seção de microscopia óptica avançada no **17 International Microscopy Congress** (2010), ambos no Rio de Janeiro. Em abril de 2014, organizamos o **I Workshop “Na Interface entre Física e Biologia”**, que aconteceu na sede da FAPESP, em São Paulo. Organizamos também duas versões da **Jornada Internacional de Biologia Celular do Estado de São Paulo** (2012, 2014), ambas financiadas pela FAPESP.

Uma ação relevante foi a publicação de vários capítulos de livros (*ver highlights da produção, item 14*). Os capítulos de livros são importantes por duas razões: (i) contêm uma descrição didática e completa dos temas incompatível com uma publicação tradicional, mesmo de revisão; (ii) podem ser consultados a qualquer momento e sem pressa pelos leitores, entre os quais se encontram os usuários do nosso laboratório.

Interações com outros INCTs. O INFABiC mantém uma colaboração histórica e intensa com outros INCTs. São os casos do CNPEM (que elabora proposta própria), do INCT do Sangue e do INCT do Diabetes e Obesidade, ambos da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, com o INOMAT e com o FOTONICON também sediados na Unicamp. Fora de Campinas existe uma interação forte com o INCT de fotônica e com o INCT de Lantanídeos, ambos da UFPE, e com o INCTTOX, do Instituto Butantan.

8. Programa de formação de pessoal

Nível da educação infantil. Convênio com as escolas Alberto Freitas, Gabriel Porto e Colégio Múltiplo para ações específicas no ensino/aprendizado de ciências em geral e Biologia Celular e Molecular, em particular, ao redor da Unicamp. Os Laboratórios Associados tipo II adotarão pelo menos uma escola em suas localidades para desenvolverem atividades semelhantes.

Nível da educação superior. Será lançada a 4^a. Edição do livro didático **A Célula** (Carvalho HF, Recco-Pimentel SM. Ed. Manole), incluindo aspectos típicos da interface com a Física. Será criado um instrumento multimídia para o ensino de **Biologia Celular Dinâmica**, que futuramente deverá substituir o livro A Célula na sua forma impressa.

Nível de pós-graduação. Será criado o **Plano Integrado de Formação de Doutorandos** da Unicamp, baseado no Centro de Formação de Doutorandos da Universidade de Bristol. A função principal é treinar os pós-graduandos para atuar na interface entre disciplinas, expondo alunos de Doutorado no seu primeiro semestre a visões, conceitos e abordagens de outra área do conhecimento. Dois alunos de áreas diferentes trabalharão conjuntamente as questões/abordagens de seu projeto com o colega. Ao final do semestre cada dupla resolverá tarefas específicas para serem desenvolvidas em conjunto. O objetivo é estender a compreensão do trabalho interdisciplinar e estimular o uso de técnicas abordagens típicas da outra área nos trabalhos a serem desenvolvidos ao longo do doutoramento. Um protótipo desta ação será realizada já em 2015 com alunos dos programas de Física (Programa nível 7 da CAPES) e Biologia Celular e Estrutural (Programa nível 6 da CAPES), com extensão subsequente para outras áreas, como Engenharia Química, Química, Computação e Fisiopatologia. De forma independente, mas sincronizada, serão continuamente oferecidas as disciplinas de Óptica/Fotônica, Redes/Networks e de Biologia Celular e Molecular abertas a alunos de todas as áreas.

Nível de treinamento técnico. Planeja-se o oferecimento de cursos de treinamentos para técnicos responsáveis por laboratórios de microscopia de todo o Brasil, pelo menos uma vez ao ano. Incorporamos a expertise de docentes da UFRJ (Manoel Costa e Cláudia Mermelstein) no oferecimento de cursos de treinamento em microscopia.

Nível de extensão/educação continuada. Planeja-se a criação de Cursos de Extensão em (1) *Biologia Celular e Molecular*, (2) *Biologia do Câncer* (já oferecido conjuntamente com a Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp), (3) *Técnicas e*

Práticas para Cultivo Celular in Vitro, (4) *Vídeo-microscopia/time lapse* e (5) *Análise de imagens com Emprego do Image J*.

Para esta proposta, incorporamos a experiência realizada na USP no oferecimento de atualização de professores em Biologia Celular e Molecular utilizando ferramentas de EAD para o Estado de São Paulo. Pretendemos associar esta iniciativa com mais profissionais de outros Estados e, utilizando a plataforma de e-Sciences (Contato: Dr. Siome Klein Goldsmith) do Instituto de Computação da Unicamp, estender esta ação para que tenha abrangência nacional.

9. Descrição do programa do instituto

Em termos conceituais, nossa proposta espelha-se no programa *Common Fund Programs* do NIH¹, quando procuramos atuar de forma (a) **transformativa**; (b) **catalítica**; (c) **sinérgica**; (d) “**transversal**” e (e) **única**, atuando em três níveis:

- (1) **Instrumentação.** Disponibilização de equipamentos de alto custo e alta complexidade e com acessórios para aquisição de imagens e parâmetros quantitativos, de difícil assimilação por não especialistas.
- (2) **Conceitualização/abordagem.** O salto necessário para uma abordagem dinâmica, quantitativa e mecanística, a partir de abordagens descritivas/fenomenológicas e associativas é grande e depende da disponibilidade do equipamento, de treinamento adequado, e da compreensão do avanço buscado. O mesmo se aplica para diversas das metodologias baseadas em óptica não linear difundidas pelo INFABiC e para a transição para o uso da microengenharia/microfabricação, que traz a eficiência na definição de condições para que as variáveis testadas possam ser perfeitamente testadas e reproduzidas (veja proposta de *megaprojetos* abaixo).
- (3) **Organização/Integração.** A equipe recrutada para desenvolvimento desta proposta e o sistema de gerenciamento proposto minimizam as dificuldades encontradas na realização de pesquisa, como excesso de burocracia e mobilização por assuntos diversos, favorecendo a utilização do tempo, das

¹Collins FS, Wilder EL, Zerhouni E. NIH Roadmap/common fund at 10 years. *Science* 345: 274-276

habilidades individuais e do intelecto dos pesquisadores nas atividades fins, inclusive na solução de questões gerais priorizadas pela equipe como um todo.

Com base nestes princípios gerais, são funções gerais do INFABiC:

1. Facilitar e acelerar o trabalho dos usuários, imprimir qualidade nas diferentes etapas da pesquisa realizada e criar condições para minimizar a dispersão dos pesquisadores do foco de sua pesquisa, incentivando abordagens de alto risco, que não poderiam, de outra forma, serem implementadas;
2. Estimular a interação entre os usuários, promovendo ações transversais e coletivas, que visem o sinergismo e o aumento do impacto dos trabalhos desenvolvidos;
3. Buscar parcerias com empresas e prospectar novos financiamentos para garantir o bom funcionamento dos equipamentos existentes e o trabalho na vanguarda tecnológica e conceitual da microscopia fotônica;
4. Representar o grupo, no melhor de seus interesses, nas diferentes instâncias de sua atuação e
5. Atender aos princípios gerais de conduta de biossegurança e de experimentação animal e com humanos.

Considerando a definição de **programa** do edital como o conjunto de etapas para atingir objetivos e metas, dividimos essa seção nos programas relativos à pesquisa, formação de recursos humanos, transferência de conhecimento e internacionalização. Aqui nos limitaremos a relacionar as ações transformadoras que implicam no domínio de metodologias de impactos mais amplos de forma transversal por todo o INFABiC. O funcionamento geral do INFABiC abrange várias ações, centradas sim em técnicas e instrumentação, mas capazes de permitir um grande passo no delineamento de *megaprojetos* envolvendo os diferentes expertises dos participantes da equipe proponente.

O programa de Pesquisa:

1. **Super Resolução “*far field*”:** definição da configuração do sistema de super resolução a ser adquirido. Importação e instalação do equipamento. Utilização do equipamento para reproduzir resultados do fabricante na observação de

trajetória de uma única molécula, e na capacidade de observação de super resolução em profundidades maiores do que 10 micra em larvas de drosófilas. Incorporação desse equipamento nos estudos de bioquímica *in singulo*, incluindo FRET. Difusão do conhecimento em super resolução para os membros do INFABiC.

2. **Super Resolução “near field”**: estudo de tempos de vida de fluorescência, FRET, geração de segundo e terceiro harmônicos nas vizinhanças do *tip* metálico do sistema de AFM. Ancoragem de enzimas no *tip* metálico para observações de reações bioquímicas *in singulo* via *tip*-enhancement. Estudo de FCS em volumes focais de ato-litros e sua utilização no sequenciamento de *single strand* DNA. Espectroscopia Raman em ato-litros.
3. **Microscopia CARS**: disponibilização da técnicas CARS/SFG. Utilização do CARS em conjunto com FLIM e FRET na caracterização de diferenciação celular, lipídios, metabolismo e mitocôndrias.
4. **Espectroscopia/microscopia Raman**: manutenção no sistema integrado de Raman na plataforma multimodal. Utilização do Raman no estudo da formação de substâncias poliméricas extracelulares em biofilmes de bactérias. Utilização do Raman na caracterização de diferenciação celular com ênfase nos processos de metilação do DNA.
5. Desenvolver pesquisas na fronteira do conhecimento em Biologia Celular e em Microscopia Fotônica Multimodal, abordando aspectos dinâmicos, quantitativos, subcelulares, macromoleculares e moleculares, incluindo células únicas (*single cell*) e moléculas únicas (*single molecule*). Estimular o uso das técnicas mais avançadas existentes no grupo como FCS, *tip*-enhancement, TERS, Raman em conjunto com manipulações e medidas biomecânicas. Caracterização de distribuições de stress na divisão celular via sensores de FRET; distribuição de *stress* no citoesqueleto após aplicação de forças externas; introdução de material intracelular via optoporação.
6. Estimular a execução de **megaprojetos**. Para promover a integração, os diferentes cientistas submeterão projetos interdisciplinares, cujo desenvolvimento e/ou solução dependam de contribuições de ordens diversas

(intelectual, experimental, instrumental). Um megaprojeto deve envolver vários pesquisadores do INFABiC e muitas modalidades simultaneamente da plataforma fotônica do INFABiC. A própria definição do megaprojeto será um processo de alta sinergia, vai requerer um conjunto de várias reuniões e visará, obrigatoriamente, publicações em revistas de alto impacto, utilizando as expertises dos diversos pesquisadores que participam de nossa equipe. A convite, questões oriundas de outros INCTs ou CEPID poderão ser tratadas por toda a equipe do INFABiC. Um primeiro tema a ser mencionado é a investigação das interações dinâmicas entre as organelas acidocalciossomas-mitocôndrias e retículo endoplasmático em tripanossomatídeos, trazida ao grupo pelos Dr. Anibal Vercesi (FCM-UNICAMP) e seu colaborador de longa data Dr. Roberto Docampo (University of Georgia in Athens).

Programa de gerenciamento do parque de equipamentos

7. Garantir o acesso universal aos instrumentos e às demais facilidades reunidas pela equipe do INFABiC (segundo compromisso firmado com as agências financiadoras e com a Instituição Sede). Cuidar da manutenção e preservação do patrimônio público outorgado ao INFABiC, garantindo o bom uso e otimizando a organização.
8. Organizar reunião anual de auto-avaliação e do *steering committee* para sugestões sobre operacionalidade do INFABiC.
9. Finalizar a construção do laboratório sede no IB, incluindo sistema de refrigeração e sala limpa. Aquisição de mesas ópticas para o novo laboratório. Planejamento da mudança dos equipamentos atuais para o novo laboratório de forma a causar o menor transtorno possível, possivelmente quebrando o sistema em duas partes e mantendo uma sempre operacional enquanto se reinstala a outra. Mudança dos equipamentos para o novo laboratório incluindo limpeza total de toda a óptica dos mesmos. Reinstalação e operação dos equipamentos no novo espaço.
10. Disparar o processo de avaliação de biosegurança e bioética em experimentação animal e com humanos em todos os laboratórios sede do

INFABiC. Exigir que os laboratórios associados sigam condutas semelhantes nas suas respectivas instituições. Re-estruturar fisicamente os laboratórios em que se deseje alcançar um maior nível de biosegurança, redefinindo protocolos de biosegurança, inclusive óptica, dos laboratórios.

11. Definição das configurações dos sistemas de time-lapse que desafogam os instrumentos mais sofisticados do INFABiC. Importação e instalação desses equipamentos nas equipes do INFABiC. Checar a boa operação dos mesmos através de um experimento padrão para todos os sistemas.
12. Montagem da facilidade de produção de materiais de microengenharia e microfluídica. Utilizar os dispositivos na plataforma multimodal do INFABiC.

O programa de formação recursos humanos:

13. Usar a estrutura do INFABiC para o desenvolvimento de projetos de de iniciação científica, teses de mestrado e doutorado e pós-doutorado. Integrar estes projetos através do Plano de Treinamento de Doutorandos.
14. Ofertar disciplinas teórico-práticas de graduação e pós-graduação multidisciplinares semestrais. A fusão de disciplinas ofertadas por diferentes institutos ajuda a evitar dificuldades burocráticas nas ofertas dessas disciplinas transversais.
15. Oferta de treinamentos de técnicos responsáveis por microscópios e/ou laboratórios de microscopia.

10. Descrição das principais linhas de pesquisa

Detalhes dos sub-projetos específicos dos membros do INFABIC podem ser encontrados no site do INFABiC inct-infabic.net.br em “Nova Proposta”.

Área	Participantes	Descrição
H.1 Matriz Extracelular, proteases e seus inibidores	Heloisa H. Selistre-Araújo Hernandes F. Carvalho Marinilce F. Santos Paulo P. Joazeiro Ruy G. Jaeger Sergio L. Felisbino	Biossíntese, organização e degradação da matriz extracelular. MMPs e ADAMTs. Heparanase. Inibidores de proteases. Substratos para ensaios de migração e invasão celular. Colágeno, elastina e proteoglicanos. Ultraestrutura.
H.2 Migração Celular	Hernandes F. Carvalho Marinilce F. Santos	Migração celular em superfícies e em matrizes 3D. Quimiotaxia. Migração coletiva.
H.3 Biologia do Desenvolvimento; Diferenciação celular	Cláudia Mermelstein Fernanda C. A. Santos Henrique Marques de Souza Hernandes F. Carvalho Lucia Elvira Álvares Manoel L. Costa Patrícia Gama Carlos Lenz Cesar André Alexandre de Thomaz	Regulação da expressão gênica no desenvolvimento e na diferenciação celular. Regulação por TGF β
H.4 Reprodução/ Receptores nucleares/ Imunologia da reprodução	Catarina S. Porto Fátima Lázari José Nunes Manoel Biancardi Maria Christina W. Avellar Sérgio L. Felisbino	Parâmetros de fertilidade. Espermatogênese. Indução e desenvolvimento prostático. Câncer de próstata. Próstata feminina.
H.5 Microengenharia, superfícies, microfluidica	Lucimara G. de la Torre Marisa M. Beppu Monica A. Cotta	Funcionalização de superfícies. “Mochilas” celulares. Drug targetting. Microengenharia e microfluídica. Nanofios semicondutores.
H.6 Síntese orgânica	Anita Marsaioli	Sondas fluorescentes para sua detecção de atividade enzimática
H.7 Bioquímica in singulo. Lantanídeos. <i>quantum dots</i>	Carlos Lenz Cesar André Alexandre de Thomaz Diogo Burigo Almeida Vitor B Pelegati Mariana Ozello Baratti Hernandes F Carvalho	Estudo de moléculas únicas isoladas. Microfabricação e propriedades físico-químicas
H.8 Ciclo Celular,	Andrés Yunes Assuero Silva Meira	Ciclo Celular e sua regulação. Drogas citostáticas, antimetabólicas e

Câncer	Carmen Verissima Ferreira Hernandes F. Carvalho Joerg Kobarg Leticia Frolich Arcângelo Marco A. F. Randi Mary Ann Foglio Patricia Gama Sergio L. Felisbino Vanessa Freitas	indutoras de morte celular. Antivirais. Metástase experimental. Fatores ambientais
H.9 Biologia Vascular, Angiogênese e Aterosclerose	Ana Paula Davel Cláudio C. Werneck Cristina Pontes Vicente Helena C. F. Oliveira Hernandes F. Carvalho Konradin Metze Paulo Pinto Joazeiro	Fisiologia vascular, trombose e células tronco-endoteliais. Lipídios e aterosclerose. Matriz extracelular dos vasos. Células musculares lisas e contração vascular.
H.10 Patologia	Konradin Metze	Anatomia patológica, análise de imagens. Cromatina. Diagnóstico a partir de imagens.
H.11 Metabolismo, Lipídios, mitocôndrias	Anibal E. Vercesi Helena C. F. Oliveira	Consumo de oxigênio, estresse oxidativo. Metabolismo de cálcio. Acidocalciossomos
H.12 Micro-Imuno- Parasitologia	Denise Feder Fernanda Ramos Gadelha Marco Aurélio Vinolo Lucimara G. De la Torre Monica A. Cotta Suzana Corte Real Faria Suzete Oliveira	Biologia de Tripanossomatídeos; doença periodontal, <i>Xylllela fastidiosa</i> ; leveduras
H.13 Fatores ambientais	Evelise Maria Nazari Marco A F Randi Silvana Allodi Sonia Regina Grötzner Yara Maria Rauh Muller	Crustáceos e peixes como sensores ambientais. Neurotoxicidade ambiental

11. Qualificação (do problema)/justificativa

Relevância sócio-econômica e científica da convergência das ciências da vida com física, química e engenharias: Percebendo que a quinta revolução científica-tecnológica mundial, a revolução da informação e comunicação, está na fase da maturidade, espera-se o surgimento de uma nova onda nos próximos 10 anos. Os ciclos dessas grandes ondas têm uma duração em torno de 50-60 anos, com o surgimento da seguinte após 40 anos da anterior. A opinião de muitos analistas internacionais é a de que a 6ª onda viria da capacidade de controle sobre a biologia no

nível celular molecular sem precedentes na história. O termo bioeconomia tem sido utilizado para se referir a essa nova onda, que abriria uma enorme capacidade de produção de energia e manufatura de muitos produtos, sem impactos ambientais e com baixos custos.

Essas revoluções são formadas através de um fenômeno social coletivo no qual o número de pessoas que investem na área incentiva a entrada de mais investidores, empreendedores e pesquisadores. Nesse aspecto o fato de que Bill Gates, Warren Buffet, Jeff Bezos, Sergey Brin, exemplos de ícones do Mercado financeiro e do universo da informação, estão investindo grandes somas na bioeconomia, é mais um indicador do potencial da mesma para se tornar o centro da nova onda. A indústria brasileira também está convencida da importância dessa área, como demonstra o fato de que a Confederação Nacional da Indústria está promovendo o 3º Fórum de Bioeconomia CNI-Harvard em 2014.

O Committee on *Forefronts of Science at the Interface of Physical and Life Sciences*, do National Research Council [NRC] dos EUA publicou o relatório “*Research at the Intersection of the Physical and Life Sciences*”², avaliando as perspectivas e sugerindo estratégias para estimular pesquisas multidisciplinares nessa área. O MIT publicou o white paper “*The Convergence of the Life Sciences, Physical Sciences, and Engineering*”³, no qual afirmam explicitamente que *Information technology revolution is maturing*. No discurso “*Remarks by the President at the National Academy of Sciences Annual Meeting*”, o presidente Barack Obama afirmou “*In biomedicine ... we can harness the historic convergence between life sciences and physical sciences that’s underway today...*”⁴. O National Science Foundation [NSF] dos EUA decidiu financiar 9 centros de fronteira da física⁵ dos quais dois estão na área de física biológica, ou seja 22% do financiamento na fronteira da física foi dirigido para a interface física-biologia. Um se chama *Center for the Physics of Living Cells* da University of Illinois⁶. O outro se chama *Center for Theoretical Biological Physics* da UC San Diego e Rice University⁷ do qual o brasileiro José Nelson Onuchic é co-diretor. Todos os relatórios acima apontam que a

² <http://www.nap.edu/catalog/12809>

³ <http://dc.mit.edu/sites/dc.mit.edu/files/MIT%20White%20Paper%20on%20Convergence.pdf>

⁴ <http://www.presidentialrhetoric.com/speeches/04.27.09.html>

⁵ <http://www.nsf.gov/mps/phy/facilities.jsp>

⁶ <http://www.cplc.illinois.edu/>

⁷ <https://ctbp.ucsd.edu/>

concentração das pesquisas, e do julgamento de projetos, nas atuais áreas estanques de conhecimento é prejudicial ao desenvolvimento da convergência multidisciplinar necessária para o desenvolvimento da nova onda. Além disso, todos reafirmam a importância da criação de ambientes multidisciplinares para a realização das pesquisas e, principalmente, da formação de uma nova geração dominando conhecimentos e ferramentas interdisciplinares. **Esse ambiente multidisciplinar é a principal característica do INFABiC.**

Maturidade científica atual para estudo e controle de processos biológicos: Do ponto de vista científico percebe-se que a nossa própria existência, a qual depende de uma infinidade de processos bioquímicos em milhões de células, acontecendo em momentos específicos, controlados por mecanismos de sinalização celular, demonstra que: (1) os processos biológicos seguem leis e padrões determinados e (2) são, fundamentalmente, controláveis. **Controle** é a palavra chave nesse contexto.

Dentro de um conceito de informação o software dos dispositivos biológicos está contido no DNA, enquanto o hardware está embutido nos mecanismos celulares, na produção de proteínas, atuação de enzimas, etc. Juan Enriquez da Business School de Harvard, salienta que o software biológico incorpora a manufatura, pois inclui a produção do hardware via multiplicação celular. Tom Knight, engenheiro do MIT que se tornou biólogo aos 40 anos e criou a competição internacional de biologia sintética chamada iGEM e a Biobricks Foundation, afirma que: *...biologia é fundamentalmente uma tecnologia de manufatura e nós estamos no limiar de descobrir como controlá-la. Nós temos pouca habilidade de colocar os átomos exatamente onde queremos. Engenheiros de semicondutores não conseguem fazer isso. Biologia coloca cada átomo no local desejado com controle preciso. Nós podemos usar isso como uma tecnologia de manufatura extremamente poderosa.* Essa ideia do Knight se encaixa com perfeição na citação que Richard Feynman, prêmio Nobel de física do Caltech, deixou em seu quadro pouco antes de falecer: *O que eu não posso criar, eu não entendo!*. Com as ferramentas de hoje é possível criar organismos biológicos desde o início, abrindo o leque de possibilidades de produção de um sem número de biodispositivos e cura de doenças importantes.

Simples versus Complexo: Um consenso estabelecido atualmente é de que a biologia segue leis mais gerais do que a imensa diversidade de seres faria supor, e que semelhança dos padrões biológicos entre seres vivos demonstra que o conhecimento obtido em alguns deles pode ser transposto para a grande maioria dos seres vivos. Esse consenso, de que qualquer objeto de estudo leva ao mesmo conjunto de conhecimento, gerou duas grandes estratégias para financiamento e desenvolvimento da área. Na primeira, escolhe-se como objetos de estudo pesquisas as áreas de maior impacto sócio-econômico, como câncer, doenças cardiovasculares e cérebro. Na segunda, o objeto de estudo é escolhido para diminuir ao máximo o nível de complexidade e facilidade de manipulação, acelerando a aquisição do conhecimento nos processos básicos da vida. No segundo caso a tendência é concentrar os estudos em micro-organismos unicelulares, como bactérias, as quais já possuem uma boa parte do maquinário dos seres superiores, são fáceis de manipular e se reproduzem muito rapidamente, permitindo o acompanhamento dos processos em tempos curtos. Se o estudo dos mecanismos básicos permitir o entendimento dos processos complexos, como afirma Stephen Wolfram no seu livro *A Study in Complexity*, a estratégia de estudar o simples primeiro seria mais eficiente. Por outro lado, considerando que é necessário, do ponto de vista de impactos na saúde, o estudo dos casos complexos, se a compreensão do simples não acelerar o entendimento do complexo, a primeira estratégia seria mais eficiente, englobando o entendimento do simples dentro do processo de entender o complexo. Já em uma situação de incerteza sobre qual das estratégias é a mais eficiente, como parece ser o caso atual, o melhor seria investir em uma combinação das duas. Estudos de processos de diferenciação celular através da observação do desenvolvimento embrionário de seres minúsculos, por exemplo, representam um compromisso entre a simplicidade dos mecanismos celulares e a complexidade dos sistemas biológicos.

Nossa proposta se posiciona como uma combinação das duas estratégias entre o simples e o complexo, unificadas através do uso das mesmas ferramentas fotônicas integradas. Nessa proposta temos três mini-consórcios na biologia, (1) câncer/ciclo celular/mitose; (2) biologia vascular e (3) microbiologia; e mais três na física/engenharia: (1) desenvolvimento de estudos em moléculas isoladas; (2) microengenharia, microfabricação/superfícies etc; (3) quantum dots/lantanídeos.

Importância da fotônica na pesquisa de processos biológicos

A fotônica permite acompanhar remotamente, não destrutivamente, processos celulares em tempo real, com alta resolução espacial e espectral. A sensibilidade dos detectores ópticos atuais, chegando ao limite de detecção de um fóton, aliada ao fato de que uma molécula pode emitir em torno de 1000 fótons em um microssegundo, permite o estudo dinâmico de moléculas únicas ao longo do tempo. Além disso, o limite de resolução espacial dado pela difração, em torno de 200 nm, foi quebrado na última década. Diversos esquemas de microscopias fotônicas têm alcançado resoluções abaixo de 10 nm, com alguns relatos de resolução de microscopia óptica abaixo de 1 nm. Essa área foi denominada de super-resolução e inclui técnicas de campo próximo [near field], na qual um dispositivo deve estar próximo do objeto de estudo por alguns nm, sendo, portanto, técnicas de quase-contacto, e distante [far field], na qual as ondas eletromagnéticas que incidem e são emitidas pelo objeto de estudo são observadas/manipuladas à distância.

Estudos de moléculas únicas podem ser realizados através de altas diluições ou com as técnicas de super resolução. Nesse contexto, a fotônica não encontra competição de outras técnicas de caracterização, em termos de resolução, sensibilidade a moléculas isoladas, capacidade de obtenção de informação em tempo real, em células vivas, na temperatura ambiente, e com discriminação química, através de espectroscopias de óptica linear e não linear. Além disso, a fotônica inclui a capacidade de realização de manipulações e medidas biomecânicas utilizando pinças ópticas. A facilidade de combinar e transportar feixes de luz também permite o desenvolvimento de sistemas multimodais combinando diversas técnicas fotônicas entre si, ou com microscopias de força atômica e eletrônicas.

Atuação do INFABiC

A missão do INFABiC é gerar e disponibilizar conhecimento na interface biologia/física que permita estudar fenômenos biológicos da escala molecular até observações *in vivo* em pequenos animais. Para isso o instituto conta com uma infraestrutura de plataforma multimodal já estabelecida, que deve ser consolidada e ampliada, em ações que estamos denominando de CONSOLIDAÇÃO e EXPANSÃO. A expansão será voltada fundamentalmente na montagem de sistema de super resolução capaz de acompanhar movimentos moleculares.

Do ponto de vista biológico podemos classificar as possibilidades de atuação do INFABiC em diversas categorias entrelaçadas em diferentes níveis. Essa classificação nos auxilia identificar as necessidades dos pesquisadores, as melhores técnicas, estudos fundamentais que devem ser realizados no âmbito do INFABiC e as direções futuras mais estratégicas para nosso Instituto.

O INFABiC deve atuar transversalmente nas seguintes categorias

Escala espacial:

- A.1 – Moléculas únicas [*single molecule*]
- A.2 – Células únicas [*single cell*]
- A.3 – Células [Tecido e interações intercelulares]
- A.4 – Microscopia intravital

Escala temporal da observação:

- B.1** – Muito rápida em volume pequeno [μs]. Difusão molecular, mudanças de conformações moleculares. Observação dinâmica em um ponto fixo, por exemplo, FCS.
- B.2** – Processo biológico rápido [μs - ms] – impulsos elétricos, ação de enzimas, replicação de DNA, reações bioquímicas que dependem da difusão molecular, movimentação de parasitas flagelados, movimento de eritrócitos na corrente sanguínea. Observação dinâmica com resolução espacial tipo spinning disk ou câmeras de alta velocidade.
- B.3** – Processo biológico lento [min] – células/tecidos vivos, movimentação tipo *crawling*. Observação dinâmica com microscopia confocal de varredura a laser convencional.
- B.4** – processo biológico muito lento [dezenas de min até dias] – desenvolvimento de tumores, desenvolvimento embrionário, processos de infecção, movimentação de leucócitos. Observação dinâmica no estilo *time-lapse*.

Funcionalidade do objeto de estudo:

- C.1** – *In vivo* – organismos multicelulares inteiros. Dificuldades de profundidade de observação, interesse em volumes grandes e sujeitos à movimentação do organismo como respiração e batimentos cardíacos. Observação dinâmica.
- C.2** – *Ex vivo* – estruturas funcionais fora dos organismos. Pouca movimentação, volume de observação pequeno, observação dinâmica.
- C.3** – Material fixado. Observação estática, congelada no tempo.

Resolução espacial da observação:

- D.0** – *Atomic force microscope* alcança resolução atômica.
- D.1** – Super resolução – entre 10-60 nm.
- D.1.1** – *Near Field*. Tip-enhancement/AFM, SNOM, nanoantenas. Técnica de quase contato, lenta, usualmente também permite manipulação/medidas mecânicas. Pode ser usada na produção de estruturas com dimensões de nm e reações bioquímicas na escala de 10 nm.
- D.1.2** – *Far Field*. Iluminação estruturada, técnicas de localização

[PALM/BALM/STORM], STED. Hoje é possível fazer aquisição de imagens com 20/70 nm de resolução lateral/axial com velocidades acima de 1000 quadros por segundo e acompanhar o movimento de uma molécula com precisão de 10 nm.

D.2 – resolução normal limitada por difração [> 250 nm no plano xy da ordem].

Técnicas/metodologias:

E.1 Visualização utilizando fluorescência: microscopia confocal *single/multi-photon*, FLIM, FRET, FCS, FRAP etc; Plataformas confocal por varredura laser ou *spinning disk*.

E.2 Visualização utilizando Óptica não linear: SHG/SFG/THG, CARS.

E.3 Manipulação e medidas biomecânicas: pinças ópticas, micro-dissecção a laser, força atômica;

E.4 Espectroscopia com resolução espacial: Raman, CARS, PLE de 1 e 2 fótons, tempo de vida de fluorescência.

E.5 Super resolução *near field* [AFM/*Tip enhancement*] – todas as técnicas listadas em C.1; C.2; C.3 e C.4 podem ser utilizadas na presença do tip. Estudos de validação dessas técnicas serão obrigatórios pois não se sabe como a presença do tip metálico modifica tempos de vida de fluorescência, interações de Förster (fundamental no FRET); SHG, CARS etc.

E.6 Super resolução *Far Field* – iluminação estruturada pode ser feita com óptica não linear. Técnicas de localização ou STED utilizam fluorescência. Visualização utilizando super resolução está se difundindo rapidamente com aparecimento de equipamentos comerciais. Por outro lado, estudos de viabilidade da combinação de super resolução com SHG/SFG ou FLIM/FRET ainda estão, internacionalmente, nos estágios iniciais.

Manipulações e Medidas Biomecânicas:

F.1 Pinças Ópticas Múltiplas: movimentação; captura de microorganismos para observação no tempo; medidas de forças entre 50 femto-Newtons até 500 pico-Newtons, estudos de adesão, elasticidades, viscosidades de membranas, potencial zeta; quimiotaxia; deformações celulares, especialmente combinada com sensor de stress de FRET; caracterização de motores moleculares, transporte ativo via kinesina ou dineína.

F.2 Microdissecção a Laser: extração de material para análise; fotoporação; transfecção combinando com pinças ópticas ou AFM

F.3 Microscopia de Força Atômica: medidas de forças entre 50 pico-Newtons a dezenas de nano-Newtons; *tip-enhancement*; ancoragem de enzimas;

F.4 Microengenharia, Microfabricação e Microfluídica em células opticamente transparentes: controle rápido do ambiente químico em volumes muito pequenos incluindo a caracterização óptica do mesmo; configuração de gradientes; injeção de drogas ou materiais biológicos.

Materiais e sensores:

G.1 Autofluorescência: grande vantagem de ser endógeno, não interferindo nos processos biológicos, sendo considerados *label free*. NAD, FAD, lignina são exemplos de marcadores de autofluorescência. Antes considerados geradores de artefatos hoje se tornaram muito úteis, especialmente usando FLIM para discriminação de ambiente químico.

G.2 Marcadores exógenos fluorescentes convencionais. Sensores baseados na intensidade de fluorescência como sensores de cálcio, pH, O₂ etc estão disponíveis

comercialmente.

G.3 Proteínas fluorescentes codificadas no DNA dos organismos: GFP, CFP, YFP, RFP etc. O fato de que o próprio organismo expressa a proteína fluorescente significou uma revolução na marcação biológica. Também podem ser usados como um par de FRET, CFP-YFP sendo o mais comum.

G.4 Sensores de fluorescência através de FRET: FRET pode ser usado na construção de sensores de *stress*, temperatura, proteínas, etc. Qualquer parâmetro que mude a distância entre o par doador-aceitador pode ser quantificado com FRET. Existem sensores comerciais de FRET e laboratórios com domínio da bioquímica podem produzir sensores personalizados.

G.5 Marcadores fluorescentes avançados. *Quantum dots* e íons de Lantanídeos são exemplos de marcadores fluorescentes modernos. FLIM e FRET entre esses materiais permitiriam um grande número de aplicações. Podem ser discriminados dos marcadores convencionais através do tempo de vida, da ordem de 10-40 ns nos quantum dots e de μ s a ms nos lantanídeos. Lantanídeos possuem largura espectral muito fina e tempos de vida muito longo tornando-os marcadores importantes para FRET e FLIM. FRET em quantum dots ainda está em fase de estudo internacional.

Panorama Biológico:

Itens H.1 a H.13 da tabela das áreas de pesquisa (p. 21)

Em relação às ferramentas e metodologias o status atual do INFABIC permite realização de pesquisas que utilizam os seguintes itens:

A.2; A.3 e A.4 (A.1 pode ser realizado na estratégia de alta diluição e com utilização do *tip-enhancement* e **D.1.2** de super resolução far field solicitada neste projeto) **B.1** (utilizando o *spinning disk* sem integração com as demais técnicas NLO); **B.2; B.3 e B.4**

D.1.1 e D.2 – necessitaríamos do sistema de super resolução *far field*

E.1; E.2; E.3; E.4 e E.5 estão disponíveis. **E.6** depende de D.1.2

F.1; F.2 e F.3 estão disponíveis acopladas aos microscópios confocais. **F.4** é possível através da agregação nesse projeto de pesquisadores com capacitação na microengenharia, microfabricação e microfluídica [Profas. Lucimara G. De la Torre, Marisa M. Beppu e Mônica A. Cotta]. Plataforma AFM isolada com capacidade de estudos biológicos demonstrada também se agrega ao INFABIC através da Profa. Mônica A. Cotta.

G.1; G.2; G.3 e G.4 disponíveis em geral, equipe científica bem capacitada no uso desses marcadores. Grande experiência do grupo da física com *Quantum dots*. Incorporação dos Lantanídeos se encontra nessa proposta através de uma colaboração com o grupo do DQF da UFPE, o mais antigo e capacitado do Brasil nessa área.

H.2; H.3; H.4 e H.5 representam áreas de estudo já desenvolvidos no âmbito do INFABIC. **H.1**, estudos de bioquímica *in singulo*, representa uma das áreas na fronteira do conhecimento a ser desenvolvida no próximo período, utilizando as sinergias entre os pesquisadores que dominam os aspectos bioquímicos e os pesquisadores que dominam as técnicas de observação caracterização.

Proposta para Consolidação do INFABiC

Após a implantação do laboratório percebemos que maior parte dos usuários apresentam demandas para técnicas mais simples, como fluorescência ou confocal 2D, requerendo muito tempo de utilização dos microscópios, seja por serem em grande número, seja por apresentarem grande quantidade de amostras. Por outro lado, duas técnicas baseadas em microscopia multifóton a geração de segunda harmônica (SHG) e a microscopia baseada no tempo de vida da fluorescência (FLIM), foram prontamente incorporadas pelo simples fato de poderem ser aplicadas a materiais prontos, muitas vezes fixados.

Um ponto de transição importante, que ocorre lentamente, é a utilização de células vivas e a aplicação de técnicas mais avançadas que dependem de muito trabalho para padronização ou que dependem da utilização de construções específicas e em grande parte customizadas para responder a questões dos diferentes projetos, como FRAP, FRET, pinças ópticas e microscopia intravital e “*tip enhancement*”.

A medida estabelecida para ampliar o acesso, nas presentes condições, foi estabelecendo grupos de usuários, definidos de acordo com a sua autonomia na utilização dos equipamentos técnicas. Assim, temos **usuários de nível 3**, que têm acesso irrestrito e que não dependem de suporte técnico para utilização dos equipamentos, que são deslocados para o período noturno, finais de semana e feriados. Os **usuários de nível 1 e 2** dependem de suporte técnico, disponível apenas no horário comercial, para operação dos equipamentos e se distinguem pelo conhecimento/domínio do material que examinam.

O funcionamento do INFABiC revelou alguns gargalos que podem ser solucionados com relativa facilidade. A figura 2 mostra a relação entre o número de usuários e a complexidade da técnica/metodologia empregada. Como mencionado anteriormente, há um grande número de usuários de técnicas mais simples, baseadas em microscopia de fluorescência e confocal e obtenção de imagens com SHG. Há certa inércia para a transição do uso de material permanente, cortes histológicos ou células fixadas, para a observação de células vivas, inclusive com construções customizadas conjugadas com proteínas fluorescentes. O uso de animais em experimentos *in vivo*, sejam eles camundongos ou zebrafish, também é lento e demanda empenho e criação de condições adequadas, além de enorme esforço para o

convencimento dos usuários. O emprego de pinças ópticas múltiplas e simultâneas, assim como o emprego de técnicas espectroscópicas mais refinadas, que dependem de intensa modificação das configurações dos equipamentos, padronização e longos períodos de aquisição de dados, também demanda intensa aplicação de esforços do INFABiC, uma vez que envolve grande empenho dos usuários.

Em termos de instrumentação, nossa proposta é adquirir novos microscópios que estejam equipados para observações de células vivas e que atendam à demanda por imagens microscópicas baseadas em fluorescência, utilizando a confocalidade suprida por sistema do tipo Apotome (Zeiss). Esperamos poder estender esta medida também para São Paulo (USP e UNIFESP), onde existem confocais multifótons instalados, ao instalar sistema semelhantes naquelas instituições. Estes sistemas na UFG (Goiânia) e na UFSCAR (São Carlos) visam criar pólos de difusão da experimentação e observação de aspectos dinâmicos das células.

Ao fazermos isto, criaremos uma base ampla e facilitaremos o trabalho com células vivas, recrutando pessoas de áreas diversas como fisiologia e farmacologia para o estudo em nível celular, ao mesmo tempo em que desoneramos o uso dos confocais que possuem acessórios para técnicas mais específicas e laboriosas, e estimulamos o uso das técnicas mais complexas disponibilizadas no Laboratório Sede.

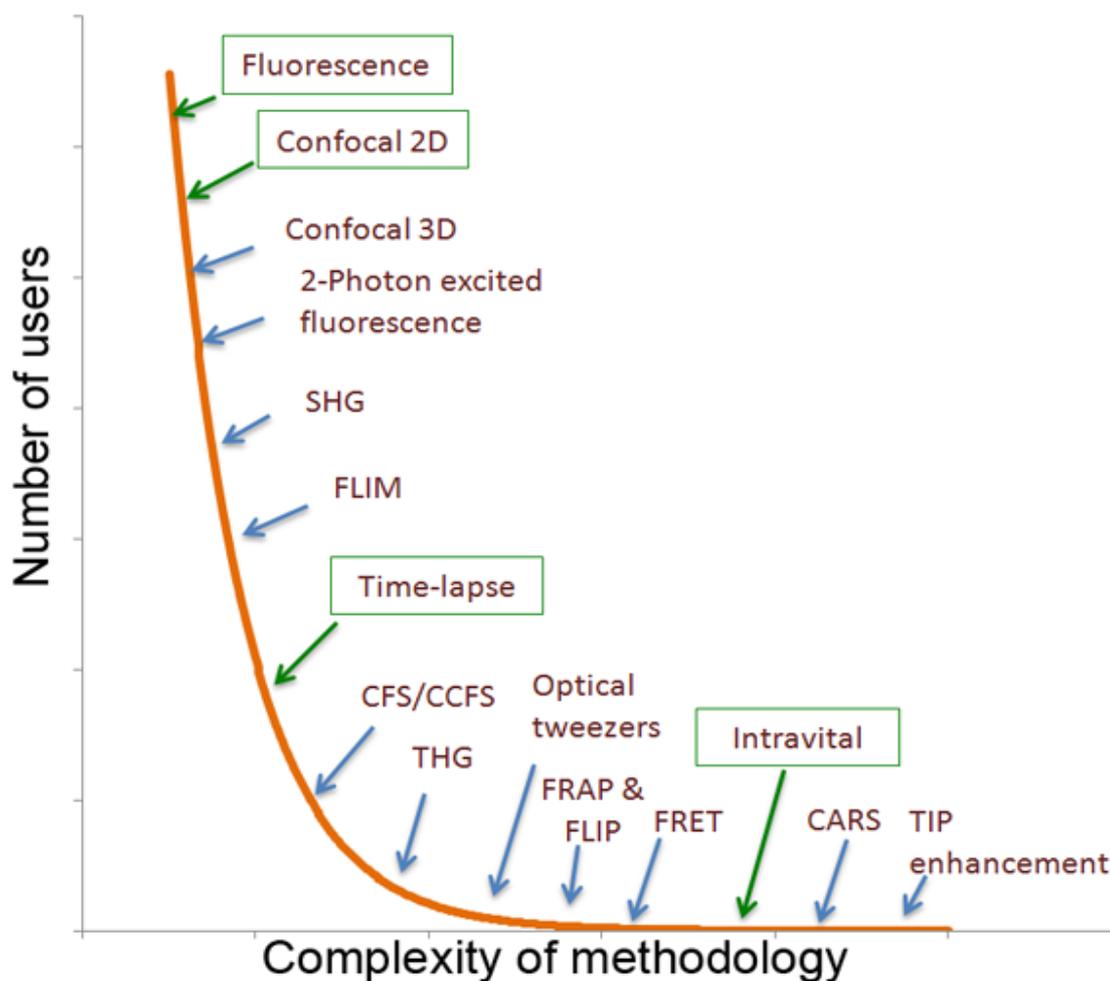


Figura 2. Distribuição do número de usuários em função da complexidade das técnicas/abordagens disponibilizadas pelo INFABiC.

Ao darmos sequência à instalação e operação do **Danio Core** (Unidade de manutenção e criação de Zebrafish), queremos também estimular o uso de pequenos animais para estudos *in vitro*, já amplamente empregado, representando uma alternativa bastante promissora em diversas frentes de trabalho.

No sentido de acrescentar possibilidades em microscopia e análises no laboratório sede, propomos a aquisição de um sistema para microscopia de superresolução, que seria suprido por equipamento semelhante ao N-SIMS da Nikon ou o Vutara 350 da Bruker, dependendo de negociações particulares com uma e outra empresa.

12. Objetivos (detalhamento)

Objetivo Geral

O objetivo geral dessa proposta é pesquisar aspectos dinâmicos, quantitativos e mecanísticos de células, organelas e moléculas únicas em vários modelos biológicos, na vanguarda da microscopia óptica e fotônica e da microengenharia e microfluídica. Estudaremos processos biológicos da escala molecular até processos *in vivo* em modelos de pequenos animais. Para tanto desenvolveremos ferramentas e metodologias para observações, medidas quantitativas e manipulação de moléculas, células e tecidos, ao mesmo tempo em que integramos um grande grupo de pesquisadores de diferentes instituições ao redor dos eixos estruturados pela fotônica/microscopia e pela biologia celular e molecular. Esta estrutura permitirá o estudo de problemas biológicos tanto dentro das áreas de expertise destes pesquisadores quanto na sua interface com outras áreas presentes no INFABiC; esperamos assim expandir as fronteiras do conhecimento no estado da arte da biologia celular e molecular. O perfil do INFABiC, sua estrutura multiusuária e multidisciplinar e a continuidade do financiamento garantem que possamos atuar, compartilhando conhecimento, expertises e melhores práticas, de forma (a) transformativa; (b) catalítica; (c) sinérgica; (d) “transversal” e (e) única, como sugerido pelo NIH para os programas de *Common Fund*. A presente proposta propõe ações de CONSOLIDAÇÃO e de EXPANSÃO do INFABiC. **CONSOLIDAÇÃO:** (1) Preservar a unidade da equipe (2) garantir a manutenção dos equipamentos atuais, (3) promover a mudança para novo prédio no IB, (4) garantir a realização de eventos de ensino/difusão/extensão; (5) ampliar/estimular o uso integrado das técnicas disponíveis na nossa plataforma multimodal, procurando imprimir abordagem verticalizada das questões biológicas e (6) Integrar transversalmente os membros da equipe para o estabelecimento de novas sub-redes de colaborações e novos hubs. **EXPANSÃO:** (1) **Equipe.** Inclusão de novos grupos, fortalecendo o caráter geográfico nacional. Buscar ações de integração e imprimir forte transformação local, nas colaborações assimétricas. Criar condições para aumentar a mobilidade entre os laboratórios e atuação em rede. (2) **Instrumentação.** (i) ampliar o uso de cultivo *in vitro* e de análises dinâmicas, adquirindo, instalando e dando suporte ao uso de

equipamentos para fluorescência/*time lapse* nos laboratórios associados; (ii) solucionar gargalos existentes em outras instituições parceiras e (iii) adquirir um sistema de super resolução com resolução de 20/60 nm nas direções lateral/axial, em uma profundidade da ordem de 20 micra, com taxa de aquisição de imagens acima de 1000 quadros por segundo, e capacidade de acompanhar a trajetória de uma molécula em 3 dimensões. (3) **Pesquisa**. Na equipe ampliada, identificamos subgrupos de interesse comum nos temas Câncer, Biologia Vascular/Angiogênese, Microbiologia e Microfabricação, além de técnicas fotônicas. Dentro desses temas estudaremos: diferenciação, migração e ciclo celular e sua regulação; metabolismo, lipídios, mitocôndrias; reprodução, receptores nucleares e imunologia da reprodução; indução, desenvolvimento e câncer prostático; Micro-Imuno-Parasitologia de Tripanossomatídeos, doença periodontal, *Xyllera fastidiosa*, leveduras; Angiogênese e fisiologia vascular; matriz extracelular; anatomia patológica; microengenharia/microfluídica; “mochilas” celulares e *drug targetting*; síntese de enzimas com sondas fluorescentes; sensores de FRET, lantanídios e *quantum dots*. (4) **Ensino/extensão/difusão**. As instituições presentes nesta proposta agregam novas expertises a esta frente de atuação, como EAD e novas mídias, que deverão ser incorporadas nas atividades do INFABiC. (5) **Internacionalização**. Além das colaborações individuais, estão sendo firmados acordos institucionais com dois centros de excelência no Exterior (NIH/USA e U-o-B/UK), que permitirão o compartilhamento de expertises e o fluxo bidirecional de pesquisadores/estudantes.

Objetivos específicos

- (1) Garantir a manutenção e renovação do parque de equipamentos, prospectando na vanguarda da microscopia óptica, inclusive técnicas de superresolução,
- (2) Ampliar o atendimento dos usuários de técnicas básicas e desonerar os equipamentos complexos para o uso de acessórios para as técnicas mais específicas e, ao mesmo tempo, estimular e descentralizar as análises dinâmicas e baseadas em contraste simples ou fluorescência,
- (3) Buscar a excelência na aquisição de imagens, monitoramento simultâneo de parâmetros diversos e de manipulação física das células (utilizando pinças

ópticas) e moléculas (acoplando expertise em microscopia de força atômica com a de funcionalização de superfícies),

- (4) Monitorar no tempo e no espaço a função de enzimas selecionadas, particularmente nos sistemas de DNA polimerases e de biossíntese/edição/degradação de carboidratos, como no caso da enzima bifuncional N-desacetilase-N-Sulfotransferase (NDNST, crítica na síntese de heparan sulfato/heparina) e das celulasas/quitinasas, capazes de degradar celulose e quitina, respectivamente,
- (5) Disponibilizar técnicas de microfabricação para a construção e monitoramento de características físico-químicas-arquiteturais do ambiente onde se encontram as células, acoplando a microengenharia/microfabricação e microfluídica com a fabricação de *quantum dots* e complexos baseados em metais lantanídeos, dentre outros serviços customizados, para os pesquisadores participantes da proposta e para comercialização, via prestação de serviços e setor produtivo,
- (6) Agregar expertises na construção de vetores, incluindo vetores virais, e transfecção/infecção, para obtenção de construções customizadas que permitam especificidade molecular na análise dos aspectos subcelulares e dinâmicos das células,
- (7) Estimular o uso de Zebrafish como modelo experimental, disponibilizando o sistema para manutenção/criação e para construção e depósito de linhagens transgênicas e aplicações da microscopia intravital,
- (8) Fomentar ações transversais entre laboratórios e pesquisadores e nuclear subgrupos com interesses específicos como “Câncer”, “Biologia Vascular/Angiogênese”, “Microbiologia” e “Microfabricação”,
- (9) Integrar o INFABiC a dois centros de excelência no Exterior (NIH-USA e U-o-B-UK), com expertises em biologia celular dinâmica, estimulando o fluxo de pesquisadores e estudantes nas duas direções,
- (10) Instalar condições para cultura de células e *time-lapse* dos três laboratórios associados tipo II (colaboração nacional) em Goiânia, Fortaleza e Aracruz, e
- (11) Lançar o **Programa Virtual de Biologia Celular de Campinas**, que centralizará as ações de ensino, extensão e divulgação, em suas diferentes frentes.

13. Metodologia

A função básica de disponibilização de equipamentos e técnicas é realizada através de agendamento feito através da *homepage* do INFABIC. Identificada a demanda, os usuários são instruídos quanto ao agendamento e uso do equipamento e alertados sobre necessidades específicas do projeto. Quando necessário, os usuários são direcionados para assessoria dos coordenadores ou outros componentes da equipe para (a) melhor compreensão dos fenômenos envolvidos, (b) refinamento dos modelos ou exploração com outras técnicas disponíveis, (c) assessoria para o preparo do material ou adaptações de protocolos, (d) auxílio na descrição da metodologia e (e) auxílio na interpretação de resultados e redação de manuscritos.

O principal elemento de difusão das técnicas empregadas é o **Workshop Anual do INFABIC**, realizado em outubro/novembro, quando são realizadas palestras técnicas e de instrumentação, palestras científicas mostrando aplicações específicas desenvolvidas no laboratório e treinamento prático diretamente nos equipamentos, além de treinamento específico em análises de imagens utilizando o Image J.

De 2009 até o presente momento, estivemos concentrados em montar um laboratório de altíssimo nível e estabelecer condições de infraestrutura para seu funcionamento, com envolvimento mínimo dos usuários. Para esta etapa futura, esperamos atuar mais efetivamente na identificação de questões de interesse do grupo como um todo, priorizar temas e abordagens, definir estratégias e reunir expertises capazes de atuar sinergicamente para alcançar os objetivos. Identificamos pelo menos três áreas nas quais existe massa crítica suficiente para adotarmos esta abordagem: (i) **Câncer** (Ciclo celular/Mitose/Invasão/Migração/MEC-proteases); (i) **Biologia Vascular** (Células tronco/MEC-proteases/fisiologia/aterosclerose/ultra-estrutura), ambos com grande potencial translacional; (iii) **Microbiologia** (leveduras; *Xyllela fastidiosa* e outras bactérias) têm grande apelo na agricultura, por buscar melhoramento em processos e identificar mecanismos envolvidos na relação com o hospedeiro vegetal. (iv) **Microengenharia/Microfabricação** (Funcionalização de superfícies, microfluídicas, micropadrões 2D e 3D; *quantum dots* e lantanídeos), tem grande potencial para a prestação de serviços e produção de insumos customizados para cultivo celular *in vitro*.

Como reforço, incorporamos também especialista em clonagem em vetores virais (Boldrini), necessário para algumas abordagens em transfecção, transgenia e expressão de proteínas recombinantes e nos associamos a grupos que prospectam novas moléculas na biodiversidade (CPQBA e UFC). Além disto, associamo-nos a especialistas em técnicas alternativas (UFPR) de ensino e de EAD (USP).

Esperamos que, ao disponibilizar equipamentos e outros benefícios, possamos ampliar as abordagens de um mesmo tema, criando consórcios para a solução de problemas de grande complexidade, se formos capazes de focar as experiências individuais para o trabalho em equipe. Neste sentido, exploraremos a ideia de MEGAPROJETOS.

14. Contribuições científicas e análise da situação atual e pretendida

O INFABiC foi criado com o intuito inicial de fortalecer a interação entre a física e a biologia, na prospecção e disponibilização de técnicas avançadas de microscopia fotônica baseada em óptica não linear. Este objetivo principal foi plenamente atingido, visto que hoje o laboratório existe e dá acesso irrestrito a usuários de todo o País e mesmo do Exterior.

Um aspecto que vale menção foi que, ao financiamento obtido diretamente via INCT, acrescentamos um grande aporte de financiamentos adicionais que fizeram com que o laboratório pudesse ser completado em termos das técnicas inicialmente propostas. Em particular, a chamada EMU (equipamentos multiusuários) da FAPESP praticamente dobrou o investimento inicial e a Unicamp, através de chamadas de infra-estrutura, financiou a maior parte da obra do Laboratório Sede.

***Highlights* das pesquisas desenvolvidas no INFABiC**

Listamos abaixo uma série de artigos científicos, capítulos de livros e uma patente, de uma média de 130 artigos publicados por ano (relatórios disponíveis no site do INFABiC).

(1) Emprego de FRET-FLIM

Pereira MBM, Santos AM, Gonçalves DC, Cardoso AC, Consonni SR, Gozzo FC, P. Oliveira SL, Figueiredo AR, Cepeda AOT, Ramos CHI, de Thomaz AA, Cesar CL, Franchini KG (2014) “ α B-crystallin interacts with and prevents stress-activated proteolysis of focal adhesion kinase by calpain in cardiomyocytes. **Nature Communications** (accepted for publication).

FRET is quite sensitive to the distance between the donor and the acceptor fluorophores. This makes FRET one of the best indicators of the interaction between proteins. FRET in live cells is the only way to show that the interaction happens due to the real biological process and not because of the sample processing. Care must be taken in FRET measurements due to some optical artifacts as well. Just the observation of acceptor emission is not enough to prove that FRET has happened. It is now accepted that the most robust way to observe FRET is to use the shortening of the donor lifetime, observed with FLIM, a technique known as FRET-FLIM. Our team proved the interaction between Focal Adhesion Kinase (FAK) with α B-crystallin in live cardiomyocytes cells using FRET. FAK overexpression protects cardiomyocytes depleted of α B-crystallin against the stretch induced apoptosis. Our studies define a role for α B-crystallin in controlling FAK function and cardiomyocyte survival through the prevention of calpain-mediated degradation of FAK.

(2) **Estudos de Anatomia Patológica:** O INFABiC publicou uma sequência de sete^{8,9,10,11,12,13,14} trabalhos utilizando TPEF+SHG+THG+FLIM em câncer de ovário, mama, cólon e para caracterizar a doença osteogenesis imperfecta.

⁸ Adur J, DSouza-Li L, Pedroni MV, Steiner CE, Pelegati VB, de Thomaz AA, Carvalho HF, Cesar CL. The severity of Osteogenesis imperfecta and type I collagen pattern in human skin as determined by nonlinear microscopy: proof of principle of a diagnostic method. PLoS One. 2013 8(7):e69186.

⁹ Adur J, Pelegati VB, de Thomaz AA, D'Souza-Li L, Assunção MC, Bottcher-Luiz F, Andrade LA, Cesar CL. Quantitative changes in human epithelial cancers and osteogenesis imperfecta disease detected using nonlinear multicontrast microscopy. J Biomed Opt. 2012 17(8): 081407-1.

¹⁰ Adur J, Pelegati VB, de Thomaz AA, Baratti MO, Almeida DB, Andrade LA, Bottcher-Luiz F, Carvalho HF, Cesar CL. Optical biomarkers of serous and mucinous human ovarian tumor assessed with nonlinear optics microscopies. PLoS One. 2012 7(10):e47007

¹¹ Adur J, Pelegati VB, Costa LF, Pietro L, de Thomaz AA, Almeida DB, Bottcher-Luiz F, Andrade LA, Cesar CL. Recognition of serous ovarian tumors in human samples by multimodal nonlinear optical microscopy. J Biomed Opt. 2011 16(9): 096017

¹² Adur J, Carvalho HF, Cesar CL, Casco VH. Nonlinear optical microscopy signal processing strategies in cancer. Cancer Inform. 2014 Apr 2;13:67-76

¹³ Pelegati VB, Adur J, De Thomaz AA, Almeida DB, Baratti MO, Andrade LA, Bottcher-Luiz F, Cesar CL. Harmonic optical microscopy and fluorescence lifetime imaging platform for multimodal imaging. Microsc Res Tech. 2012 Oct;75(10):1383-94

One of the first paper on this subject was devoted to the instrumentation to acquire multimodal images using TPEF+SHG+THG+FLIM, proving that all optical signals obey the expected rules for each NLO method. THG was the harder methodology because it happened below 350 nm where microscope optics did not transmit any light. We modified the microscope designing a special detection scheme to acquire THG images. This paper was important to assure the reviewers that we had good quality images without optical artifacts. We then used this multimodal platform to understand ovary, breast and colon cancer and a genetic disease called Osteogenesis imperfecta. We have shown that TPEF+SHG+THG patterns are maintained in H&E-stained tissue sections, and that FLIM signatures are preserved in non-stained paraffin blocks, stored for decades. This means it is possible to re-evaluate a library of existing pathological case biopsies with these new techniques, opening up the possibility to perform retrospective studies that, otherwise, would require several years of follow up. Collagen network of extracellular matrix is deeply remodeled in cancer processes, which makes SHG a very valuable diagnostic technique, especially using the SHG/TPEF ratio to obtain the ageing index called SAAID. THG provides images of the nuclei and tissue interface. Numerical automatic processing of acquired images can be used to quantify pattern changes. Fourier transform can provide the collagen fiber orientation, alignment and organization. Moreover, texture analysis using Grey Level Co-occurrence Matrix provides a set of scoring methods such as correlation, energy, entropy, anisotropy that can be used to discriminate stromal components of serous, mucinous, endometrioid and mixed ovarian tumors, as well as to distinguish normal, benign, borderline, and malignant tumors according to the distribution of collagen fibers and compression levels within the extracellular matrix. The epithelium/stromal interface, such as the transformation of epithelial surface, was observed with THG while the overall fibrillar tissue architecture was observed with SHG. Cancer cells enhanced metabolism can be evaluated with FLIM, making the combination of FLIM+TPEF+SHG+THG a very powerful technique to understand cancer processes. We also observed that mucinous cancer FLIM images are very different from non-mucinous ones. Actually, any abnormal cell proliferation and

¹⁴ Adur J, Pelegati VB, de Thomaz AA, Baratti MO, Andrade LA, Carvalho HF, Bottcher-Luiz F, Cesar CL. Second harmonic generation microscopy as a powerful diagnostic imaging modality for human ovarian cancer. *J Biophotonics*. 2014 Jan;7(1-2):37-48

collagen assembly can be observed with NLO-FLIM multimodal method. The endothelium family was re-evaluated for colorectal cancer using NLO microscopy and we found collagen changes in early stages of cancer disease development, correlated with significant differential gene expression and protein localization, suggesting ET-2 as an early marker of colon cancer development. Osteogenesis Imperfecta is a genetic disease that affects collagen production causing easily brittle bones and other tissue anomalies. The conventional diagnostic is very invasive, bone biopsy, and time consuming, requiring genetic tests. However, the modification of collagen patterns is easily assessed on the body surface. We showed that a simple skin biopsy using TPEF+SHG can not only distinguish the diseased from the normal tissue, but also discriminate among OI types and severity.

(3) Formação de biofilmes bacterianos

R. Janissen, D. M. Murillo, B. Nizab, P. K. Sahoo, M. M. Nobrega, C.L.Cesar, M. L. A. Temperini, Hernandez F. Carvalho, A. A. de Souza, M. A. Cotta (2014) Phenotypic changes and spatiotemporal distribution of extracellular polysaccharides mediate *Xylella fastidiosa* adhesion and biofilm architecture. Submetido.

Bacterial biofilms represent tremendous challenges in medicine and pathology due to the ability of the colony to protect its individuals. We decided to observe the dynamics of biofilm formation of *Xylella fastidiosa*, a bacterium that causes diseases in important crops such as citrus and grape. We realized that the blur in the normal confocal microscopy image came from the rotation movement of bacterias attached to the surface. Using the much faster image acquisition rate of a confocal spinning disk system we obtained high quality images that revealed details of biofilm assembly. We observed distinct phases of biofilm formation and altered cell phenotypes, apparently bridging individual colonies. These observations were confirmed by AFM and electron microscopy as well as by confocal Raman spectroscopy.

(4) Caracterização de mobilização de actina nuclear utilizando FRAP e FLIP

Alexandre Bruni-Cardoso, Viginia A Spencer, Emily Chen, Hidetoshi Mori, Hernandes F Carvalho, Mina J Bissell (2014) Signaling from ECM to nuclear actin leaves to quiescence through exportin-6. Submetido

Neste trabalho, a dinâmica da actina nuclear e sua relação com estados específicos da progressão tumoral foram investigados em modelos em cultura de células. Em particular, do ponto de vista deste projeto, foram empregadas as técnicas de FRAP e FLIP para determinar se o mecanismo de controle do acúmulo da actina nuclear dependia da importação ou exportação nuclear, concluindo que o segundo processo é o fator preponderante.

(5) Aspectos da regulação do metabolismo por cálcio em *Trypanosoma brucei*

O transportador uniporter de cálcio foi localizado nas mitocôndrias e demonstrado atuar de forma decisiva no metabolismo/bioenergética de *T. brucei*, sensibilizando o parasita à apoptose¹⁵. Este trabalho foi publicado na importante revista **Nature Communications**.

(6) Hibridação in situ e microscopia confocal na localização da expressão de receptores de interleucinas no hipotálamo

A participação do INFABiC foi também determinante em dois outros artigos, publicados pelo grupo do Prof. José Barreto C. Carvalheira. No primeiro, publicado na ***Plos Biology***¹⁶, contribuímos na realização de experimentos com hibridação in situ para mostrar que os mesmos neurônios hipotalâmicos expressavam os receptores para IL10 e IL6, o que não pode ser respondido simplesmente pela imunocitoquímica.

¹⁵ Huang G, Vercesi AE, Docampo R (2013) Essential regulation of cell bioenergetics in *Trypanosoma brucei* by the mitochondrial calcium uniporter. **Nat Commun** 4: 2865

¹⁶ Ropelle ER, Flores MB, Cintra DE, Rocha GZ, Pauli JR, Morari J, de Souza CT, Moraes JC, Prada PO, Guadagnini D, Marin RM, Oliveira AG, Augusto TM, Carvalho HF, Velloso LA, Saad MJ, Carvalheira JB (2010) IL-6 and IL-10 anti-inflammatory activity links exercise to hypothalamic insulin and leptin sensitivity through IKKbeta and ER stress inhibition. **PLoS Biol.** 8(8). pii: e1000465.

(7) Correlação entre inflamação e progressão do câncer de cólon

Neste artigo, publicado na revista *Gastroenterology*¹⁷, contribuímos no processamento para identificação e contagem de pólipos intestinais e para a caracterização histológica das etapas da progressão do câncer de cólon, em modelo combinado de indução tumoral e inflamação.

(8) Determinação dos aspectos estruturais do receptor para interleucina 7 em leucemia

Zenatti PP, Riberio D, LiW, Zuurbier L, Silva MC, Paganin M, Tritapoe J, Hixon J, Silveira AB, Cardoso BA, Srmento LM, Correia N, Toribio ML, Kobarg J, Hosrtmann, Pieters R, Brandalise SR, Ferrando AA, Mijerink JP, Durum SK, Yunes JA, Barata JT. Oncogenic IL7R gain-of-function mutations in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nature Genetics* 43: 932-939 (2011).

(9) Utilizando microfabricação para utilizar células como carreadores de fármacos.

Explorando a possibilidade de criar “mochilas celulares” para carregamento de células com cargos específicos nas suas superfícies, os a Dra. Roberta Polak e a Profa. Marisa Beppu, em colaboração com o MIT, determinaram¹⁸ que a utilização de uma camada formada por ligação entre lectina-polissacarídeo (em particular o par jacalina-mucina) permite a rápida liberação do cargo com a utilização de um açúcar competidor.

¹⁷ Flores MB, Rocha GZ, Damas-Souza DM, Osório-Costa F, Dias MM, Ropelle ER, Camargo JA, de Carvalho RB, Carvalho HF, Saad MJ, Carvalheira JB (2012) Obesity-induced increase in tumor necrosis factor- α leads to development of colon cancer in mice. *Gastroenterology* 143(3):741-753

¹⁸ Polak R, Crouzier T, Lim RN, Ribbeck K, Beppu M, Pitombo RNM, Cohen RD, Rubner MF (2014) Sugar-mediated disassembly of mucin/lectin multilayers and their use as pH-tolerant, on-demand sacrificial layers. *Biomacromolecules* 15: 3093-3098.

(10) Patente de sondas fluorescentes para localização da atividades de fosfatases

Em colaboração com a Dra. Anita Marsaioli, do Instituto de Química da Unicamp, submetemos o pedido de depósito de patente de uma sonda fluorescente para determinação de atividade de fosfatases em células vivas. O pedido de patente recebeu número BR 10 2014 015963 0 e o artigo “**Fluorogenic probe to detect multi-enzymatic cascade reactions triggered by serine/threonine phosphatases**” encontra-se submetido para publicação.

(11) Livros e capítulos publicados

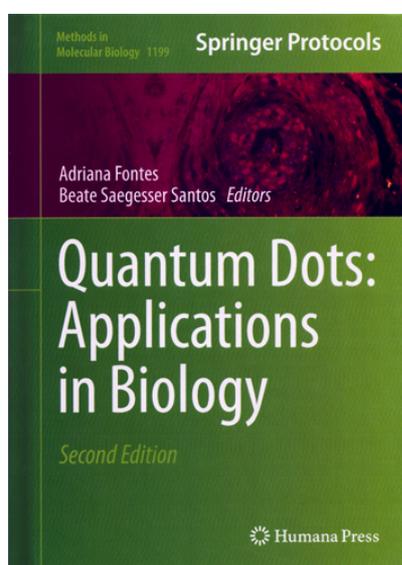


Sinalização de Cálcio: Bioquímica e Fisiologia Celulares

Ed. Rodrigo R. Resende, Silvia Guatimosim e Maria de Fátima Leite

Capítulo:

1. Fotônica Aplicada à Biologia Celular
Ana Maria de Paula e Carlos Lenz Cesar

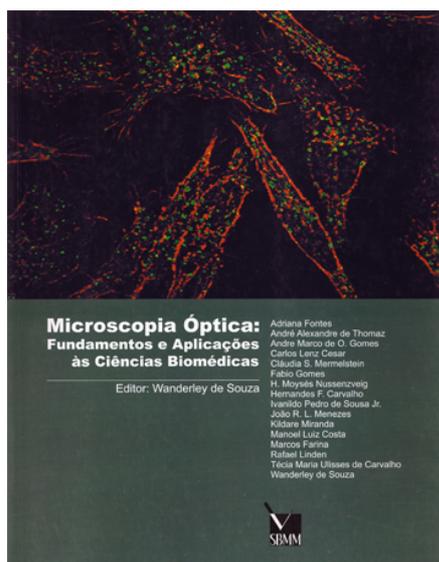


Quantum Dots: Applications in Biology

Ed. Adriana Fontes e Beate Saegesser Santos

Capítulos:

1. Quantum Dots as Biophotonics Tools
Carlos Lenz Cesar
6. Measuring the Hydrodynamic Radius of Quantum Dots by Fluorescence Correlation Spectroscopy
André Alexandre de Thomaz, Diogo B. Almeida e Carlos Lenz Cesar



Microscopia Óptica: Fundamentos e Aplicações às Ciências Biomédicas

Ed. Wanderley de Souza

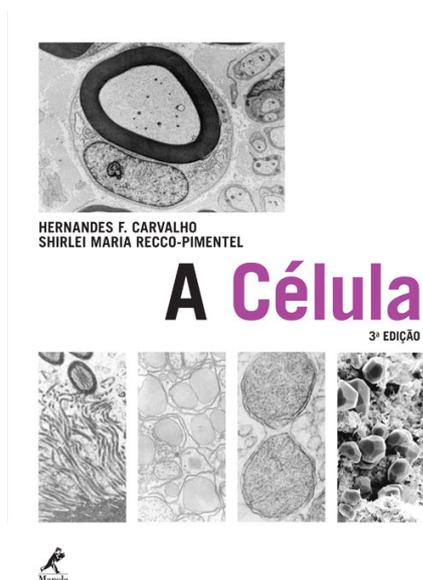
Capítulos:

V. Fluorescência

*Adriana Fontes, André Alexandre de Thomaz,
Carlos Lenz Cesar e Hernandes F. Carvalho*

XII. Microscopia de Fluorescência de Alta Resolução

*Adriana Fontes, André Alexandre de Thomaz,
Carlos Lenz Cesar e Wanderley de Souza*



A Célula

Editora Manole; 3a. Edição 2013

Ed. *Hernandes F. Carvalho e Shirlei Maria Recco-Pimentel*

16. Explicitação do potencial tecnológico

Entendemos que a atuação do INFABiC ultrapassa a simples colaboração cineteífica entre os membros de sua equipe, também envolvendo a transferência de tecnologias entre a sede e os diferentes laboratórios associados. Se até o momento da submissão desta proposta a atuação do INFABiC se baseou fortemente na interação entre Física e Biologia, a formação da equipe atual agrega uma série de expertises que serão empregadas na solução de problemas específicos e na realização dos megaprojetos. Além disto, identificamos potencial para disponibilizar tecnologias diversas para a comunidade em geral, incluindo empresas.

Na presente configuração, o INFABiC pode utilizar a prestação de serviços de pequena monta (via FUNCAMP-UNICAMP); convênios específicos com empresas ou a criação de uma Sociedade de Propósito Específico (SPE¹⁹) para disponibilizar:

- (1) Análises de imagens diversas, incluindo extração de parâmetros de migração celular (Figura 3a).
- (2) moldes para “stamping” com proteínas adesivas ou antiadesivas e placas (vidro ou plástico) para cultivo celular sobre micropadrões (Figura 3b e c).
- (3) mochilas celulares em configurações diversas (Figura 3d).
- (4) sondas fluorescentes customizadas.
- (5) superfícies fotogravadas e/ou funcionalizadas (inclui pontas de AFM, lamínulas para cultivo celular ensaios de degradação de MEC) (Figura 3e).
- (6) microfluídica sob demanda (Figura 3f).
- (7) cultivos em matrizes 3D.
- (8) ensaios de zimografia para determinação de gelatinases.

¹⁹ A SPE é uma sociedade com personalidade jurídica, escrituração contábil própria e demais características comuns às empresas limitadas ou Sociedades Anônimas. É também uma sociedade patrimonial que pode adquirir bens móveis, imóveis e participações
<http://www.portaldopreendedor.gov.br/legislacao/sociedade-de-proposito-especifico-spe>

- (9) ensaios ecotoxicológicos utilizando Zebrafish como modelo.
- (10) conjugação de proteínas (anticorpos, lectinas e outras proteínas) com sonda fluorescentes, incluindo metais fluorescentes como Tórbio e Európio.
- (11) assessoria em imunocitoquímica multicolor e histoquímica.
- (12) assessoria em microscopia confocal.
- (13) treinamento técnico nas diversas áreas de domínio de nossos membros.
- (15) Uso de lantanídeos como sondas para condições ambientais, em particular em sistemas de microfluídica.
- (16) Preparo de *quantum dots* sob demanda.

Pretendemos expandir nossa atuação para oferecer

- (1) Construções para expressão de proteínas recombinantes em bactérias, em leveduras, em células de mamíferos (CHO, HEK293) ou em células de inseto.
- (2) Construções específicas para observações de organelas celulares.
- (3) Sistemas para infecção com lentivírus, para construções grandes de genes repórteres ou expressão heteróloga.

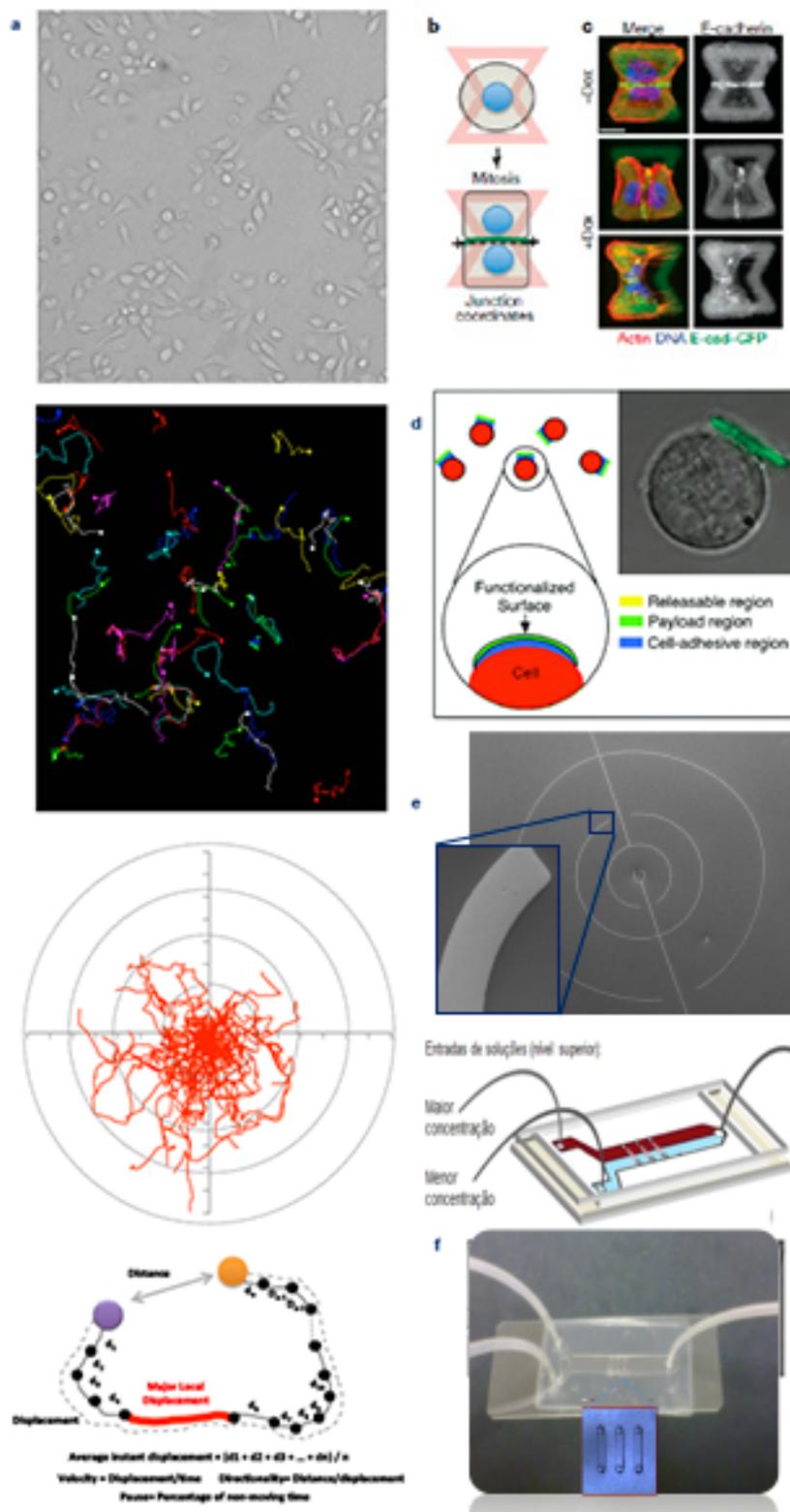


Figura 3. Exemplos de transferência de tecnologia a serem exploradas pelo INFABIC. (a) parâmetros de análise de imagem que incluem caracterização de migração celular; (b e c) Construção de micropadrões capazes de revelar aspectos específicos do comportamento celular, como polarização do fuso mitótico e alinhamento de junções de células epiteliais (Godinho et al. Nature 510: 167-171, 2014) (d) construção de mochilas celulares com configurações diversas (Swiston et al. Nano Lett 8: 4446, 2008) (e) construção de microeletrodos para aplicação de potenciais elétricos superficiais; (f) microfluídica customizada.

16. Detalhamento das ações de transferência de conhecimento para a sociedade

Ações de difusão

(1) **Curso Internacional de Treinamento Biologia Celular e Molecular** (IFCB/SBBC) simultâneo em três universidades (UFRJ, USP-SP e Unicamp), com transmissão simultânea para todo o território nacional, patrocinado pela Federação Internacional de Biologia Celular (IFCB) e pela *European Molecular Biology Organization* (EMBO)

(2) **Encarte no livro didático “A Célula”**, com proposta e resultados do INFABiC.

Integração dos **conteúdos programáticos de Biologia Celular e Molecular** das universidades brasileiras, em atividade centrada na Sociedade Brasileira de Biologia Celular (SBBC).

(3) Programa **“Biologia Celular para Crianças”**, a ser estruturado por membros da equipe da UNICAMP, da UFPR, da UFSC e dos três laboratórios associados do tipo II.

(4) Organização do XVIII Congresso da Sociedade Brasileira de Biologia Celular em conjunto com o Encontro Anual da FESBE, com a temática sugerida: **“Interfaces da Biologia Experimental”**

(5) Organização do **II Workshop “Na interface entre Física e Biologia”**, preferencialmente como atividade “fora da sede”, com negociações já iniciadas com a UFRJ.

17. Orçamento

Aplicação orçamentária

	Itens de dispêndio	
	Custeio	Valores em reais (R\$) (taxa dólar = 2.3) (taxa euro=3.0)
1	Diárias	150.000,00
2	Material de consumo importado	700.000,00
3	Material de consumo nacional	360.000,00
4	Passagens	200.000,00
5	Serviços de Terceiros (diversos)	410.000,00
6	Taxas de importação (18%) sobre item 2	126.000,00
7	Taxas de importação (18%) sobre itens 8-14	866.965,10
	Subtotal 1	2.812.965,10
	Material Permanente Importado	
8	1 microscópio equipado para superresolução sistema N-SIMS da Nikon ou Vutara 350 da Brucker	1.604.129,78 USD 697,447.73
9	3 microscópios Axiovert equipado para time lapse/videomicroscopia (UNICAMP, UNIFESP, UFSCAR)	873.144,00 EUR 291,048.00
10	3 microscópios Axiovert equipado para time lapse/videomicroscopia + sistema Apotome (UNICAMP; USP, UFG)	1.203.084,00 EUR 401,028.00
11	Licença permanente para softwares diversos	30.000,00
12	1 laser de femto-segundos, Insight da Spectra Physics ou equivalente	733.700,00 USD 319,000.00
13	4 mesas anti-vibratórias	232.415,00 USD 119,050.00
14	Acessórios ópticos diversos	140.000,00
	Subtotal 2	4.816.472,78
	Material Permanente Nacional	
15	Mobiliário para novo laboratório	100.000,00
16	Material bibliográfico	10.000,00
17	Computadores, estabilizadores, no-breaks	50.000,00
	Subtotal 2	160.000,00
	Bolsas	1.973.792,90
	Total Geral	9.763.230,78

Justificativa do orçamento

Diárias

Serão utilizadas para cobrir despesas de hospedagem e alimentação, durante atividades de pesquisadores atuando fora de sede; atividades do comitê de avaliação; palestrantes e convidados que visitem os laboratórios afiliados ao INFABiC.

Material de consumo importado

Será utilizado para a aquisição de material de consumo importado: plástico, descartáveis, reagentes, anticorpos, meios de cultura, animais dentre outros

Material de consumo nacional

Será utilizado na aquisição de material de consumo no mercado nacional: plástico, descartáveis, reagentes, meios de cultura, dietas, animais dentre outros

Passagens

Serão utilizadas para permitir o deslocamento dos pesquisadores entre os laboratórios afiliados ao INFABiC, assim como a participação em eventos científicos e a vinda de palestrantes para os eventos organizados pelo grupo. Permitirá também a vinda dos membros do Comitê de avaliação e a realização de missões destinadas aos laboratórios dos parceiros internacionais.

Serviços de terceiros

Justifica-se pela necessidade de contratação de serviços que não fazem parte das atividades diretas dos pesquisadores do INFABiC. Como exemplo, temos a montagem e manutenção da homepage, consertos gerais, transporte de equipamentos pesados. Visa também cobrir taxas de importação

Microscópio de Superresolução é o equipamento que promoverá o maior avanço em termos de tecnologia para os próximos seis anos do INFABiC, ao oferecer resolução na ordem de 20/60 nm lateral/axial e permitir a observação de células vivas, por

possuir sistema de controle ambiental. Utiliza ou iluminação estruturada ou *Single molecule switching nanoscopy*.

Sistemas de time-lapse/vídeo microscopia, permite controle ambiental para o acompanhamento de experimentos com células vivas, utilizando contraste simples e/ou fluorescência. Pode ser acoplado a sistema tipo Apotome, que permite aquisição de imagens equivalentes ao confocal, mas é bem menos oneroso. Como explicitado no projeto, estes sistemas serviram para (1) estimular a transição das pesquisas feitas com células fixadas para células vivas; (2) desonera os sistemas confocais onde eles existem (USP, UNICAMP e UNIFESP), permitindo emprego de maior tempo no uso de acessórios destinados a experimentos mais complexos e (3) amplia a base de usuários capacitados/interessados nas metodologias mais complexas, ao se depararem com os aspectos dinâmicos das células.

Licença permanente para softwares diversos

Permitirá a aquisição de softwares específicos, para o funcionamento dos equipamentos ou gerais, de processamento de dados e de imagens.

Laser de femto-segundos. Esse laser fornece pulsos de femtosegundos, tipicamente de 100 fs, na faixa de 680 – 1300 nm, com potências médias acima de 600 mW alcançando 1600 mW em todo o intervalo de sintonização. O intervalo estendido até 1300 nm facilita a aquisição de THG e permite observações em grandes profundidades, se aproximando de 2 mm. O laser é completamente automatizado e inclui mecanismos de compensação de dispersão de velocidade de grupo para manter o pulso mais curto possível na amostra. Na versão dual será possível utilizá-lo também em microscopia CARS e excitação simultânea de dois fluoróforos. Permitirá a instalação dos microscópios equipados para óptica não linear no novo laboratório no Instituto de Biologia, uma vez que o laser atual pertence ao IFGW e será necessário para as atividades específicas e de prospecção de novas tecnologias.

Mesas antivibratórias são essenciais para evitar desalinhamentos dos laser nos microscópios. A técnica de AFM e *Tip-enhanced* com resolução de 10-20 nm requer uma plataforma com antivibração ativa colocada em cima da mesa antivibratória normal. Permitirá a instalação dos microscópios e equipamentos no novo laboratório no Instituto de Biologia, uma vez que as mesas atuais serão necessárias no laboratório de Biofotônica do IFGW.

Acessórios ópticos diversos. Todos os acessórios ópticos como: filtros, espelhos, detectores, foto-multiplicadoras, pequenos monocromadores, grades de difração, placas de onda etc. Acessórios de montagens ópticas como: bases, postes, estágios de translação automatizados x, xy e xyz, estágios de rotação etc. Componentes eletrônicos como placas controladoras dos estágios. Computadores com placas de controle de hardware e para manutenção do site do Instituto e armazenamento do banco de imagens. Trata-se de previsão para aquisição de peças de reposição, instrumentos ópticos de medidas, ambos necessários para manutenção, instalação e reinstalação dos equipamentos existentes.

Mobiliário para novo laboratório

O mobiliário solicitado servirá para terminar o acabamento e instalação do novo laboratório sede.

Material bibliográfico

Refere a previsão para a aquisição de material bibliográfico, principalmente livros técnicos e manuais.

Computadores, estabilizadores, no-breaks

Trata-se de previsão de equipamentos de suporte para o funcionamento dos equipamentos existentes e a serem adquiridos.

Bolsas

A solicitação de bolsas visa financiar membros da equipe em diversos estágios de formação (IC, Doutorado, pós-doutorado, recrutamento de jovens talentos do exterior), assim como de suporte à pesquisa (Treinamento técnico).

18. Bolsas a serem solicitadas de Fundações Estaduais

Treinamento Técnico FAPESP TT3 (10 bolsas por 12 meses cada)

19. Parcerias com empresas e órgãos públicos

Há contrato de colaboração com as empresas **TridSkin/Allergisa** e com a **Rhea Biotechnology**, ambas localizadas em Campinas.

20. Disponibilidade de infraestrutura

Laboratórios:

Laboratório sede do INFABiC (em fase final de construção)

Laboratório de Biofotônica do IFGW

Unidade de criação e manutenção de Zebrafish (**Danio Core**)

Equipamentos instalados:

Sistema de *spinning disk* (Andor Technologies)

Confocal NLO Zeiss 780 montado em microscópio “upright”

Confocal NLO Zeiss 780 montado em microscópio invertido

Sistema para microdissecção a laser (PALM-Zeiss)

Módulo para FLIM multicanal (Becker & Hickel)

Módulo de pinças ópticas (Molecular Machines)

Módulo para CARS

Recursos humanos:*Técnicos de nível superior*

Mariana Baratti (Bióloga, Doutora em Ciências) Contratado pela Unicamp

Vitor Pellegati (Físico, Mestre em Física) Contratado pela Unicamp

Assistente Administrativo

Ariane Tocci