

Projeções de neurônios detectam odores no fundo do nariz

Dimensões do olfato

Exuberantes tons de frutas e flores, especialmente violetas; caráter vegetal e levemente apimentado com aroma de bosque; levemente frutado, com notas minerais terrosas, associadas a nuances aromáticas de couro e chocolate.

Algumas descrições especializadas de vinhos parecem um exercício mirabolante de imaginação, mas são também testemunho de um faro apurado. E a maneira como o olfato consegue detectar essas sutilezas não fica atrás em extravagância. A organização tridimensional do material genético parece ser responsável pela capacidade singular de cada neurônio olfatório de produzir apenas um tipo de receptor para moléculas odorantes, segundo estudo recente da bioquímica Bettina Malnic, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP). “O DNA genômico não está espalhado ao acaso dentro da célula como uma porção de espaguete em um prato de sopa”, compara a pesquisadora. Assim como outros estudos feitos nas últimas décadas, a novidade deixa claro que o funcionamento do olfato é ainda mais complexo do que as descrições dos *sommeliers*, e para entendê-lo também é necessário pensar fora da norma.

Os neurônios olfatórios têm uma particularidade em relação às outras células do corpo, que têm na superfície uma grande diversidade de receptores capazes

Estruturas dentro do núcleo explicam funcionamento genético dos neurônios especializados em detectar odores

Maria Guimarães

de reconhecer moléculas em seu entorno. Entre os mil genes, aproximadamente, que em camundongos abrigam o código para receptores de odorantes (são cerca de 400 nos seres humanos), apenas um está ativo num determinado neurônio. E mais do que isso: apenas uma das duas cópias do gene, ou alelos, está ativa. Essa especialização é essencial para o mapeamento dos cheiros no cérebro – todos os neurônios que têm sua superfície salpicada por um determinado tipo de receptor mandam projeções para uma mesma região do cérebro, que reconhecerá o aroma correspondente. Por essa razão, o buquê complexo de uma taça de vinho ativa uma série de receptores diferentes que, por sua vez, atingem diversas áreas especializadas no cérebro. Esse mapeamento do olfato em termos de receptores e de como a recepção se organiza no cérebro rendeu o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina aos norte-americanos Linda Buck e Richard Axel em 2004, e vem ocupando Bettina ao longo de sua carreira.

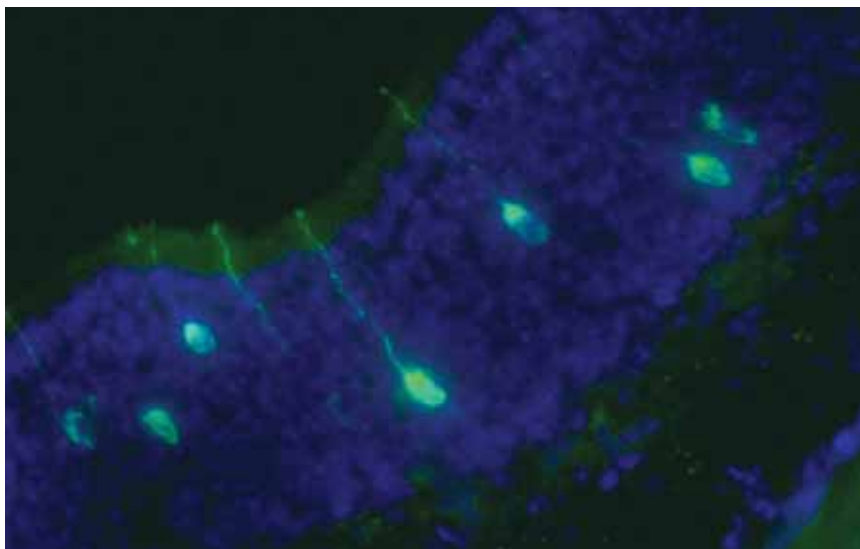
Há alguns anos, ela descobriu que as moléculas odorantes se encaixam em mais de um receptor, embora estes sejam

muito específicos (ver Pesquisa FAPESP nº 155). São moléculas com várias pontas, cada uma delas com um encaixe diferente. Por se conectarem a mais de um neurônio, cada molécula de cheiro é capaz de ativar mais de uma área no cérebro. Esse código complexo

é o que permite que se detecte um amplo repertório aromático, por meio da combinação da ação de vários receptores.

Para os seres humanos, que não são reconhecidos por seu faro apurado, acreditava-se que esse repertório fosse da ordem de 10 mil odores. Recentemente, porém, um estudo de pesquisadores da Universidade Rockefeller, nos Estados Unidos, aumentou em muito essa estimativa. Os pesquisadores norte-americanos fizeram uma série de misturas com 10, 20 ou 30 componentes a partir de um repertório de 128 moléculas odorantes, e testaram a capacidade de voluntários de nariz bem treinado distinguírem entre elas, segundo artigo publicado em março na *Science*. A partir desses resultados, uma série de cálculos levou à cifra de 1 trilhão de estímulos olfativos. Bettina não acredita que esse número deva ser tomado de forma muito literal, mas é importante por ser várias ordens de grandeza superior à estimativa anterior. “Contraria a noção de que o olfato não é importante para seres humanos”, reflete a brasileira.

O que até agora não se conhecia era o mecanismo de silenciamento dos genes que ficam inativos em cada um dos neurônios



No epitélio nasal de camundongo transgênico, neurônios em que o gene P2 está ativo aparecem em verde fluorescente

quatro genes, vimos que em grande parte dos núcleos havia um alelo junto à heterocromatina e outro não”, conta Bettina. Como controle, os pesquisadores monitoraram também o gene de uma proteína olfatória que está sempre ativo: este estava associado à heterocromatina apenas em 20% dos núcleos examinados. A bioquímica da USP ainda fala com cautela, mas acredita que os resultados podem explicar a inativação sistemática de um dos alelos dos genes para receptores de odores.

Um resultado intrigante foi que cerca de 45% das marcas fluorescentes para um dos genes estavam associadas à heterocromatina, e apenas outros 17% à eucromatina, onde deveriam estar os alelos ativos. Era uma indicação de que uma parte deles deveria estar associada a alguma outra estrutura.

Investigando mais a fundo, a equipe de Bettina viu que é necessário analisar dois tipos de heterocromatina para localizar as duas cópias de cada gene. A heterocromatina constitutiva, concentrada no miolo do núcleo, abriga pelo menos um dos alelos em grande parte das células. O outro costuma estar localizado junto à heterocromatina facultativa, que nos neurônios do olfato também se concentra numa área central do núcleo, formando como que um chapéu em torno da constitutiva. Conforme o gene estudado, em 60% ou 73% dos núcleos examinados pelo menos um dos alelos estava associado à heterocromatina facultativa. Como o nome indica, essa estrutura pode se descondensar e alterar suas propriedades, de maneira que os alelos localizados nela teriam a possibilidade de ser liberados para a ação. “O mecanismo dessa repressão mais plástica ainda é pouco estudado”, explica Bettina, que acredita que os dois tipos de hetero-

que lançam projeções para a superfície do epitélio no fundo do nariz. “Procuramos entender como o neurônio olfatório realiza a façanha de só ter a expressão de uma das duas cópias de um único gene, dessa maneira tão eficiente.” Para entender a regulação dos genes responsáveis pela construção dos receptores para moléculas de odor, Bettina analisa o núcleo dos neurônios como uma estrutura em que o material genético tem uma organização espacial precisa. “O núcleo não é uma sopa com todas as coisas jogadas ali, ele tem compartimentos, como se em cada sala uma função diferente fosse desempenhada”, explica.

ARQUITETURA

Em células de camundongos, o grupo da USP usou uma técnica conhecida como imuno-DNA Fish tridimensional, que permite localizar dentro do núcleo os genes de receptores olfativos. “É como se dividíssemos o núcleo em fatias, que podemos juntar e obter uma imagem tridimensional”, explica Bettina. O trabalho, publicado em fevereiro deste ano na *PNAS*, foi feito em grande parte pela bióloga Lucia Armelin-Correa, durante o pós-doutorado no laboratório de Bettina. Ela usou um microscópio de alta resolução para visualizar as estruturas do núcleo dos neurônios. O que viu foi uma organização inesperada de regiões em que o DNA é enovelado de maneira mais compacta – a heterocromatina –, em que o funcionamento dos genes é inibido, e de áreas ativas – a eucromatina –, em que o material genético tem fisicamente mais espaço para suas reações bioquímicas. Lucia, Bettina e outros integrantes do la-

boratório detectaram uma particularidade nos neurônios olfatórios: a heterocromatina está condensada numa esfera junto ao centro do núcleo, e não em vários pontos menores e periféricos, como em outros tipos de células.

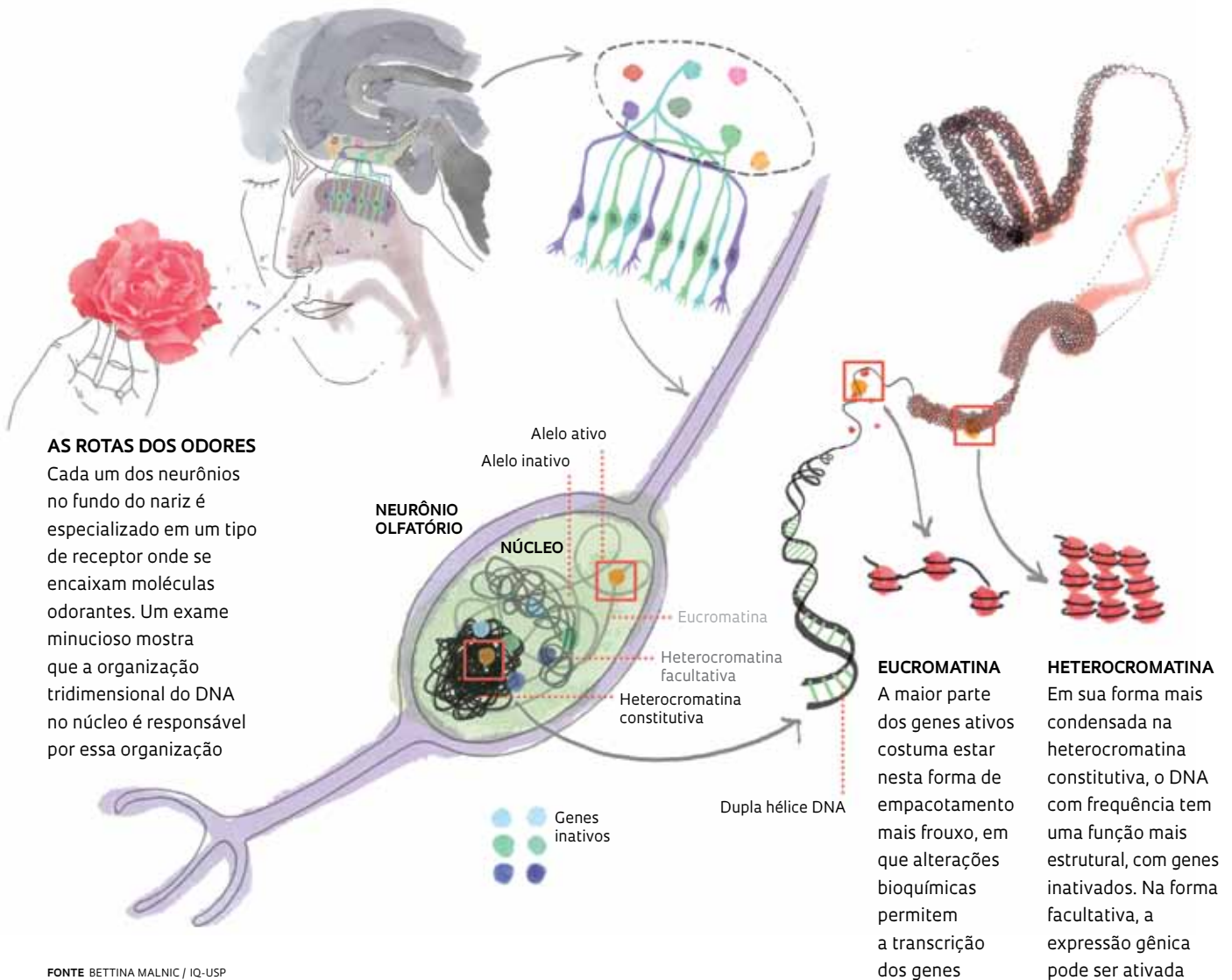
O resultado é compatível com o que foi observado pelo grupo do grego Stavros Lomvardas, da Universidade da Califórnia em São Francisco (UCSF), em artigo publicado no final de 2012 na *Cell*. Segundo o grupo norte-americano, que Bettina considera um bom competidor, essa paisagem tridimensional em que genes e sequências de regulação estão ora escondidos, ora expostos de acordo com o tipo de célula pode ser essencial para determinar as características específicas de cada tecido.

Com uma sonda fluorescente que reconhece todos os genes que codificam os receptores olfatórios, a equipe de Lomvardas mostrou de maneira global que esses conjuntos moleculares estão agregados no compartimento que reprime a atividade, a heterocromatina. O grupo de Bettina fez uma análise mais detalhada e investigou a qual estrutura nuclear estão associadas quatro regiões do DNA com genes para receptores olfatórios, localizadas em três cromossomos diferentes. “Para todos os

“O núcleo não é uma sopa, ele tem compartimentos como se em cada sala uma função diferente fosse desempenhada”

Um mapa mais apurado do faro

A regulação da atividade do DNA determina receptores que caracterizam cada neurônio olfatório



FONTE BETTINA MALNIC / IQ-USP

cromatina trabalhem em conjunto para regular a expressão gênica de receptores de odores. “O padrão de distribuição dos dois tipos de heterocromatina indica que algo importante está acontecendo ali.”

Até agora, o trabalho respondeu a algumas perguntas e gerou muitas outras, com a possibilidade de ampliar o olhar para o genoma inteiro. Por enquanto, o estudo mostrou que a organização das heterocromatinas e da eucromatina pode ser diferente para cada tipo de célula, com um impacto importante na atividade genética. “As vizinhanças entre genes podem variar conforme o tecido”, diz Bettina.

Com ajuda dessas estruturas nucleares, o DNA pode se enovelar de maneira que genes que ficam muito distantes, quando se considera o fio esticado, acabem por estar juntos e possam funcionar em conjunto e influenciar um ao outro por meio das moléculas que produzem.

“O olfato é um modelo”, alerta a bioquímica. Para ela, os neurônios olfatórios são convenientes para esse tipo de estudo devido ao seu sistema de inativação dos genes. O que eles revelarem pode, ela espera, ajudar a entender a regulação do material genético nos outros tipos de células. ■

Projetos

1. Os mecanismos moleculares do olfato (nº 2011/51604-8); **Modalidade** Projeto Temático; **Pesquisadora responsável** Bettina Malnic (IQ-USP); **Investimento** R\$ 809.219,21 (FAPESP).

2. Regulação da expressão de genes de receptores olfatórios: estudo da arquitetura nuclear de neurônios olfatórios e do posicionamento relativo de alelos ativos e inativos (nº 2007/57734-5); **Modalidade** Bolsa no país – Regular – Pós-doutorado; **Pesquisadora responsável** Bettina Malnic (IQ-USP); **Bolsista** Lucia Maria Armelin-Correa; **Investimento** R\$ 222.662,28 (FAPESP).

Artigo científico

ARMELIN-CORREA, L.M. *et al.* Nuclear compartmentalization of odorant receptor genes. **PNAS**. v. 111, n. 7, p. 2782-87. 18 fev. 2014.