



## Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2017 004956 6

### Dados do Depositante (71)

---

Depositante 1 de 1

**Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO

**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica

**CPF/CNPJ:** 48031918000124

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa

**Endereço:** Rua Quirino de Andrade, 215

**Cidade:** São Paulo

**Estado:** SP

**CEP:** 01049-010

**País:** Brasil

**Telefone:** 11 56270217

**Fax:** 11 56270103

**Email:** auin@unesp.br

## Dados do Pedido

---

**Natureza Patente:** 10 - Patente de Invenção (PI)

**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** MÉTODO DE OBTENÇÃO DE BACTERIOCINAS, BACTERIOCINAS E USO DAS MESMAS

**Resumo:** A presente invenção descreve um método de obtenção de bacteriocinas, mais especificamente, peptídeo antimicrobiano LeuA1, análogo à Leucocina A, bem como o referido peptídeo (conforme definido na Seq. Id. nº 2). Ainda, esta invenção provê o uso do referido peptídeo antimicrobiano LeuA1 como conservante biológico natural de alimentos.

**Figura a publicar:** 1

## Dados do Procurador

---

### Procurador:

**Nome ou Razão Social:** Fabíola de Moraes Spiandorello

**Numero OAB:** 244141SP

**Numero API:**

**CPF/CNPJ:** 13521027813

**Endereço:** Rua Faustina Barbosa Stackfleth, 149, Parque Centenário

**Cidade:** Jundiaí

**Estado:** SP

**CEP:** 13214-773

**Telefone:** (11) 992340347

**Fax:**

**Email:** spianfm@terra.com.br

## Dados do Inventor (72)

---

### Inventor 1 de 2

**Nome:** SAULO SANTESSO GARRIDO

**CPF:** 26954660809

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Professor do ensino superior

**Endereço:** Rua Prof. Francisco Degni, nº 55, Quitandinha

**Cidade:** Araraquara

**Estado:** SP

**CEP:** 14800-060

**País:** BRASIL

**Telefone:** (11) 339 37904

**Fax:**

**Email:** auin@unesp.br

### Inventor 2 de 2

**Nome:** ALINE BUDA DOS SANTOS VAZ

**CPF:** 32617787842

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Estudante de Pós Graduação

**Endereço:** Rua Prof. Francisco Degni, nº 55, Quitandinha

**Cidade:** Araraquara

**Estado:** SP

**CEP:** 14800-060

**País:** BRASIL

**Telefone:** (11) 339 37901

**Fax:**

**Email:** auin@unesp.br

## Documentos anexados

---

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	17AUIIN002 - LeuA1 - GRU.pdf
Procuração	PROCURACAO UNESP LEOPOLDO-FABIOLA 2017.pdf
Portaria	DOESP_Nomeacao_Valentini_Nobre.pdf
Relatório Descritivo	17AUIIN002 - LeuA1 - Relatorio Descritivo.pdf
Reivindicação	17AUIIN002 - LeuA1 - Reivindicacoes.pdf
Desenho	17AUIIN002 - LeuA1 - Desenhos.pdf
Resumo	17AUIIN002 - LeuA1 - Resumo.pdf

## Sequências Biológicas

---

- Declaro que a informação contida na 'Listagem de Sequências' apresentada em formato eletrônico está limitada ao conteúdo da matéria revelada pelas sequências de aminoácidos e/ou de nucleotídeos divulgadas no pedido de patente, conforme depositado

Tipos de Sequências Biológicas	Nome
Código de barras do código de controle em formato PDF	CB_20170313_134707.pdf
Listagem de Sequências Biológicas em formato TXT	Listagem - Peptídeo LeuA1_ST25.txt
Código de controle em formato XML	Listagem - Peptídeo LeuA1_ST25.txt.xml

## Acesso ao Patrimônio Genético

---

- Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

## Declaração de veracidade

---


- Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

**FUNDAÇÃO PARA O DESENVOLVIMENTO DA UNESP Agência: 0239 Conta Corrente: 13-002549-6**

DETALHE DO COMPROMISSO			
<b>Convênio:</b>	0033-0239-004900019792	<b>Conta de Débito:</b>	0239-000130027340
<b>Tipo do Documento:</b>		<b>CPF/CNPJ do Fornecedor:</b>	
<b>Nome do Fornecedor:</b>	000009853INPI - INST. NACIONAL		
<b>No. compromisso banco:</b>	1024121000100009	<b>No. compromisso cliente:</b>	970572/DS1 1011
<b>Tipo de Pagamento:</b>	BLQ Outros		
<b>Código de Barras:</b>	00199536371000002216909705720218900000000007000		
<b>Valor Nominal:</b>	70,00		
<b>Desc./Abat.:</b>	0,00	<b>Juros:</b>	0,00
<b>Data de Vencimento:</b>	20/12/2016		
<b>Data de Pagamento:</b>	20/12/2016		
<b>Situação:</b>	Efetivado		
<b>No. Lista de Débito:</b>		<b>No. Protocolo:</b>	PGTFORN20122016900117254
<b>Autenticação:</b>	11CBC4EC36D9D9ECF254588		
<b>Valor a Pagar:</b>			<b>70,00</b>

**Central de Atendimento  
Santander Empresarial**4004-2125 (Regiões Metropolitanas)  
0800 726 2125 (Demais Localidades)**SAC 0800 762 7777  
Ouvidoria 0800 726 0322**

<b>BANCO DO BRASIL</b>	<b>001-9</b>	<b>RECIBO DO SACADO</b>
------------------------	--------------	-------------------------

<i>Local de Pagamento</i> <b>Pagável em qualquer Banco</b>					<i>Vencimento</i> <b>Contra-apresentação</b>
<i>Cedente</i> <b>INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial</b>					<i>Agência Código Cedente</i> <b>2234-9/333.028-1</b>
<i>Data do Documento</i> <b>01/12/2016</b>	<i>Nº. documento</i> <b>1609705720</b>	<i>Espécie doc.</i> <b>RC</b>	<i>Aceite</i> <b>N</b>	<i>Data Proces.</i> <b>01/12/2016</b>	<i>Nosso Número</i> <b>00.000.2.2.16.0970572.0</b>
<i>Uso Banco</i>	<i>Carteira</i> <b>18/027</b>	<i>Espécie</i> <b>RS</b>	<i>Quantidade</i>	<i>Valor</i>	<i>(-)Valor Documento</i> <b>RS 70,00</b>
<i>Número:</i> NN Complementar: <i>Peticionamento: Eletrônico</i>					<i>(-)Desconto Abatimento</i>
<i>Natureza:</i> 10 - Patente de					<i>(-) Outras deduções</i>
<i>Cod</i> Serviço <i>Petição Vinculada RPI Valor</i>					<i>(-)Mora Multa</i>
200 - Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT - - RS 70,00					<i>(+)Outros Acréscimos</i>
<i>OAB: 235031SP Procurador: Leopoldo Campos Zuaneti</i>					<i>(-)Valor Cobrado</i> <b>RS 70,00</b>
<b>Governo Federal - Guia de Recolhimento da União. GRU - Cobrança</b>					
<i>Sacado</i> <b>UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO</b>					
<b>Rua Quirino de Andrade, 215, São Paulo, BR/SP, 01049-010</b>					
<i>Sacador/Avalista</i>					

*Corte na linha pontilhada*

*Autenticação mecânica - Controle Cedente*

<b>BANCO DO BRASIL</b>	<b>001-9</b>	<b>00199.53637 10000.022169 09705.720218 9 00000000007000</b>
------------------------	--------------	---

<i>Local de Pagamento</i> <b>Pagável em qualquer Banco</b>					<i>Vencimento</i> <b>Contra-apresentação</b>
<i>Cedente</i> <b>INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial</b>					<i>Agência Código Cedente</i> <b>2234-9/333.028-1</b>
<i>Data do Documento</i> <b>01/12/2016</b>	<i>Nº. documento</i> <b>1609705720</b>	<i>Espécie doc.</i> <b>RC</b>	<i>Aceite</i> <b>N</b>	<i>Data Proces.</i> <b>01/12/2016</b>	<i>Nosso Número</i> <b>00.000.2.2.16.0970572.0</b>
<i>Uso Banco</i>	<i>Carteira</i> <b>18/027</b>	<i>Espécie</i> <b>RS</b>	<i>Quantidade</i>	<i>Valor</i>	<i>(-)Valor Documento</i> <b>RS 70,00</b>
<i>Instruções:</i>					<i>(-)Desconto Abatimento</i>
1. Valores expressos em reais.					<i>(-) Outras deduções</i>
2. Pagamento em cheque, anotar no verso o 'Nosso Número'.					<i>(+)Mora Multa</i>
3. Pagamento via SIAFI(OB-FATURA): Identificar na 'ob' o 'Nosso Número'.					<i>(+)Outros Acréscimos</i>
4. Vencimento contra apresentação.					<i>(-)Valor Cobrado</i> <b>RS 70,00</b>
<i>OAB: 235031SP Procurador: Leopoldo Campos Zuaneti</i>					
<b>Governo Federal - Guia de Recolhimento da União. GRU - Cobrança</b>					
<i>Sacado</i> <b>UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO</b>					
<b>Rua Quirino de Andrade, 215, São Paulo, BR/SP, 01049-010</b>					
<i>Sacador/Avalista</i>					



*Corte na linha pontilhada*

*Autenticação mecânica - Ficha de Compensação*

- GRU ÚNICA: a GRU apresentada ao INPI, como comprovante da retribuição, deve ser única. Não utilize cópias desta GRU para outro pagamento.- PAGAMENTO: o pagamento da GRU deve ser providenciado no PRAZO ADMINISTRATIVO, regulamentado em lei ou Ato Normativo próprio.

**PROCURAÇÃO**

Por este instrumento, a **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"**, autarquia estadual de regime especial, criada pela Lei nº 952 de 30/01/1976, com sede na Rua Quirino de Andrade, nº 215, Centro, CEP 01049-010, São Paulo/SP, inscrita no CNPJ do MF sob o nº 48.031.918/0001-24, doravante designada simplesmente **UNESP**, neste ato representada por seu Magnífico Reitor, de acordo com o Art. 34 de seu Estatuto, Prof. Dr. **SANDRO ROBERTO VALENTINI**, brasileiro, solteiro, professor universitário, portador do RG nº 10.289.419-X SSP/SP, inscrito no CPF/MF sob o nº 083.891.058-02, ou quem legalmente o substitua, nomeia e constitui seus procuradores, **1) LEOPOLDO CAMPOS ZUANETI**, brasileiro, advogado, devidamente inscrito na Ordem dos Advogados do Brasil Seção de São Paulo sob o número 235.031; e **2) FABIÓLA DE MORAES SPIANDORELLO**, brasileira, advogada, devidamente inscrita na Ordem dos Advogados do Brasil Seção de São Paulo, Subseção de Jundiaí sob o número 244.141, ambos lotados junto à Agência UNESP de Inovação, outorgando-lhes poderes para representá-la perante o Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI, para o fim de requerer e processar direitos de propriedade intelectual, tais como patentes de invenção, de modelos de utilidade, desenhos industriais, registros de marcas de produto, de serviço, coletivas ou de certificação, de indicações geográficas, cultivares, direitos de autor, de programas de computador e mantê-los em vigor com amplos e ilimitados poderes para assinar petições, autorizações para cópia, termos de cessão de direitos, acordos de gestão e compartilhamento de propriedade intelectual, documentos diversos relacionados ao processo administrativo de proteção de direitos de propriedade industrial, incluindo, mas não se limitando, aos documentos já utilizados pelo INPI, bem como àqueles que vierem a ser adotados e utilizados para instrução processual de patentes, modelos de utilidades, marcas, desenhos industriais e programas de computador, pagar taxas, retribuições, impostos, fazer prova de uso das invenções patenteadas ou das marcas registradas, efetuar pagamentos e receber restituições, dando as respectivas quitações, apresentar oposições, recursos, réplicas, desistir, renunciar, anotar, averbar contratos de licença e transferências de tecnologia, elaborar notificações extrajudiciais, requerer prorrogação dos prazos de proteção, fazer declarações, opor, protestar, impugnar, recorrer, pedir reconsideração, manifestar-se sobre oposições e recursos, obter vista de processos, cumprir exigências, apresentar defesas escritas ou orais, desistir, replicar, transigir, receber, juntar e retirar documentos, requerer caducidade e contestar pedido de caducidade, requerer e contestar nulidade administrativa e licença compulsória, preencher qualquer tipo de formalidade, requerer anotação e averbação de cessão, alterações de nome e de sede, proceder à publicação de editais de chamamento para instruir, elaborar, firmar e acompanhar contratos de transferência de tecnologia e/ou licenciamento com exclusividade ou não, e praticar para o fim mencionado todos os atos necessários perante as autoridades administrativas competentes no Brasil em benefício da Outorgante.

Este instrumento é válido até 31 de janeiro de 2018.

São Paulo, 24 de janeiro de 2017.



**SANDRO ROBERTO VALENTINI**,  
REITOR

Artigo 1º - É declarada de utilidade pública a Associação Maestro Custódio Possidônio Martins, com sede em Apiaí.  
 Artigo 2º - Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação.  
 Palácio dos Bandeirantes, 28 de novembro de 2016.  
**GERALDO ALCKMIN**  
*Marcelo Fernando Elias Rosa*  
 Secretário de Justiça e da Defesa da Cidadania  
*Samuel Moreira da Silva Junior*  
 Secretário-Chefe da Casa Civil  
 Publicada na Assessoria Técnica da Casa Civil, aos 28 de novembro de 2016.

## Atos do Governador

### DECRETO(S)

#### DECRETOS DE 28-11-2016

**Dispensando**, a pedido e a partir de 25-11-2016, João Batista Moraes de Andrade, RG 3.704.467-9, da função de Diretor Presidente da Fundação Memorial da América Latina.  
**Designando**, Irineu Ferraz Cavalho, RG 6.951.115-9, Chefe de Gabinete, da Fundação Memorial da América Latina, para responder pelo expediente da Presidência da Fundação.

**Nomeando**, com fundamento no § 1º do art. 7º da Lei 952-76, e nos termos do art. 30 do Estatuto da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Unesp, aprovado pelo Dec. 29.720-89, e alterações:

**Sandro Roberto Valentini** para exercer a função de Reitor da **aludis Universidade**, com mandato de 4 anos, a partir de 16-1-2017;  
**Sérgio Roberto Nobre** para exercer a função de Vice-Reitor da **aludis Universidade**, com mandato de 4 anos, a partir de 16-1-2017.

### DESPACHOS DO GOVERNADOR

#### DESPACHOS DO GOVERNADOR, DE 28-11-2016

No processo SE-542-2016 (SG-118.809-16), sobre ressarcimento de débito: "Diante dos elementos de instrução constantes dos autos, em especial da representação do Secretário da Educação e da Cota 255-2016, da Assessoria Jurídica do Gabinete do Procurador Geral do Estado, autorizo que o ressarcimento do débito do Município de Itapólis para com o Estado, decorrente da não aprovação de contas dos adiantamentos feitos ao Convênio celebrado em 2-7-2011, exercícios 2012, 2013 e 2015, faça-se em 24 parcelas mensais e consecutivas, observadas as normas legais e regulamentares atinentes à espécie e as recomendações assinaladas no pronunciamento do órgão jurídico-consultivo."

No processo SE-1046-2016 (SG-118.810-16), sobre ressarcimento de débito: "Diante dos elementos de instrução constantes dos autos, em especial da representação do Secretário de Estado da Educação e da Cota 253-2016, da Assessoria Jurídica do Gabinete do Procurador Geral do Estado, autorizo que o ressarcimento do débito do Município de Garça para com o Estado, decorrente da não aprovação de contas referente ao exercício de 2015 do adiantamento do Convênio celebrado em 5-7-2011, faça-se em 24 parcelas mensais e consecutivas, observadas as normas legais e regulamentares atinentes à espécie e as recomendações assinaladas no pronunciamento do órgão jurídico-consultivo."

No processo GBMar-16.075-16 (SG-107.997-16), sobre contratação de guarda-viagem: "A vista dos elementos de instrução do processo, com fundamento no inc. I do art. 1º da LC 1.093-2009, regulamentada pelo Dec. 54.682-2009, bem como das manifestações das Secretarias de Planejamento e Gestão e da Fazenda, autorizo, comprovada a necessidade temporária de excepcional interesse público, a Polícia Militar do Estado de São Paulo a adotar as providências necessárias para a realização de processo seletivo simplificado, visando à contratação de 600 Guarda-Viagem, por tempo determinado e pelo prazo máximo de 5 meses, correspondente ao período de novembro/2016 a março/2017, tendo por limite o valor dispendido no período relativo à contratação anterior (nov/2015 a mar/2016), de modo que não haja expansão das despesas a serem cobertas pelo órgão, obedecidos os demais preceitos legais e regulamentares atinentes à espécie."

## Casa Civil

### GABINETE DO SECRETÁRIO

#### Despacho do Secretário, de 23-11-2016

No processo CC 34660-2016, em que é interessada Casa Civil, sobre pagamento por indenização à Empresa Armazém Turismo e Eventos-ME, devido a fornecimento de refeições não constantes em contrato inicialmente celebrado: "À vista dos elementos que instruem os autos, notadamente o contido no Relatório Final apresentado pela Comissão de Auração Preliminar, às fls. 316f/26, complementado às fls. 334f/35; no qual verifiquei que não houve má-fé por parte dos envolvidos, bem como inoocorrência de eventual ilegalidade; o Parecer da Consultoria Jurídica da Secretaria de Governo 478-2016, às fls. 338f/43, que se manifestou pela Viabilidade do Pagamento, uma vez preenchidos todos os requisitos indicados nos incs. I a IV do art. 1º do Dec. 40.177-95; bem como o despacho da Chefia de Gabinete, às fls. 344f/46, no qual com fulcro no art. 265, parágrafo 3, da Lei 10.261-66, com redação dada pela LC 942-2003, propôs o arquivamento da Auração Preliminar, tendo em vista que não ficou caracterizado ilícito administrativo; e, com fundamento no princípio geral do direito que prescreve o enriquecimento sem causa, autorizo o pagamento à empresa Armazém Turismo e Eventos - Lda - ME, a título indenizatório, da importância de R\$ 13.500,00, decorrente da prestação de serviços de fornecimento de 300 refeições, sem cobertura contratual, no dia 19 de março do corrente ano, no Hotel Fazenda Hipica Atibaia/SP, aos participantes da III Conferência Estadual LGBT. Comunicue-se a Corregedoria Geral da Administração, conforme disposto no art. 1º, V, alínea (a), do Dec. 53.334-2008."

## Governo

### FUNDO SOCIAL DE SOLIDARIEDADE DO ESTADO DE SÃO PAULO

#### CHEFIA DE GABINETE

**Extrato de 2º Termo de Aditamento ao Convênio**  
 Convênio FUSSESP 216/2014 - Processo FUSSESP 37236/2014.

Parecer CJ: 198/2016

Participes: Fundo Social de Solidariedade do Estado de São Paulo e o Município de Buritama, por meio de seu Fundo Social de Solidariedade.

**Cláusula Primeira:** O 1º termo de aditamento ao convênio suscitado, celebrado em 23-12-2014 e o Plano de Trabalho que o integra, juntados, respectivamente, às fls. 85 a 88 e 73 a 75 dos autos do Processo FUSSESP 37236/2014, ficam retificados para constar que serão capacitados 6 e não 8 turnos por meio da

avença ora aditada, ficando restabelecido, assim, o número de turnos previsto no instrumento originário do ajuste.

**Parágrafo Primeiro** - À vista do contido no "captu" desta cláusula fica retificada a cláusula primeira do aludido 1º termo de aditamento para constar que será transferido ao CONVENENTE, no total, a quantia de R\$ 7.320,00.

**Parágrafo Segundo** - Os recursos financeiros remanescentes, sob a responsabilidade do FUSSESP, serão transferidos ao CONVENENTE de acordo com o Plano de Trabalho que integra o presente termo de aditamento, plano esse juntado às fls. 220 a 228 dos autos do Processo FUSSESP 37236/2014.

**Cláusula Segunda:** A cláusula segunda do mencionado 1º termo de aditamento fica também retificada para constar que o valor correto do convênio é de R\$ 56.992,63, dos quais R\$ 28.282,63 a cargo do FUSSESP e R\$ 28.710,00 a cargo do CONVENENTE.

**Cláusula Terceira:** A carga horária inerente ao Curso de Assistente de Cabeleireiro, ministrado no âmbito do Projeto "Escola de Beleza" fica reduzida a partir da 3ª turma, em conformidade com o plano de trabalho a que se refere o § 2º da cláusula primeira deste termo.

**Cláusula Quarta:** A cláusula sexta do convênio original, alterada pelo 1º termo de aditamento, sofre nova modificação e passa a vigorar com a seguinte redação:

"Cláusula Sexta: O prazo de vigência do presente convênio é de 42 meses, contados da data de assinatura do presente instrumento."

Data de assinatura: 28-11-2016.

### CASA MILITAR

#### Resolução CMIL 17-610 - Cedec, de 28-11-2016

*Edita o Plano Preventivo de Defesa Civil para erosão costeira, inundações costeiras e enchentes/alagamentos causados por eventos meteorológicos-oceanoográficos extremos como ressacas do mar e marés altas*

Considerando as atribuições legais consubstanciadas nos Decretos Estaduais nº 40.151, de 16-06-95 e nº 48.526, de 04-03-04, deste Secretário Chefe da Casa Militar e Coordenador Estadual de Defesa Civil;

Considerando que a Coordenadoria Estadual de Defesa Civil (CEDEC) desenvolve, de acordo com as peculiaridades de cada região, planos preventivos e de contingência visando à minimização de desastres;

Considerando o aumento do número, da frequência e da magnitude de eventos meteorológicos-oceanoográficos extremos, como as ressacas do mar e as marés altas anômalas na costa do Estado de São Paulo, em especial desde o final da década de 1990;

Considerando que 52% das praias do Estado de São Paulo se encontram em risco alto e muito alto de erosão costeira;

Considerando os efeitos desses perigos costeiros, traduzidos em elevados prejuízos socioeconômicos e diversos tipos de transtornos à população, ao patrimônio público e privado, aos serviços e ao meio ambiente;

Considerando a necessidade da articulação do Sistema Estadual de Defesa Civil, para que, em conjunto com os municípios localizados nessas áreas, possam enfrentar as situações adversas em razão desses eventos meteorológicos-oceanoográficos extremos, resolve:

**Artigo 1º** - Editar o Plano Preventivo de Defesa Civil (PPDC) para erosão costeira, inundações costeiras e enchentes/alagamentos causados por eventos meteorológicos-oceanoográficos extremos (ressacas do mar e marés altas), que passa a vigorar nos termos desta resolução e seus anexos.

**Parágrafo único** - O PPDC a que se refere o "captu" deste artigo abrange os quatro setores costeiros do Estado de São Paulo, englobando as Coordenadorias Regionais de Defesa Civil de Registro (REDECI-1), Baixada Santista (REDECI-2) e São José dos Campos e Litoral Norte (REDECI-3).

**Artigo 2º** - O Plano Preventivo de Defesa Civil (PPDC) para erosão costeira, inundações costeiras e enchentes/alagamentos causados por eventos meteorológicos-oceanoográficos extremos (ressacas do mar e marés altas) tem a seguinte composição:

I - Órgão Central: a Casa Militar, representada pela Coordenadoria Estadual de Defesa Civil (CEDEC);

II - Órgãos Regionais: as Coordenadorias Regionais de Defesa Civil de Registro (REDECI-1), Baixada Santista (REDECI-2) e São José dos Campos e Litoral Norte (REDECI-3);

III - Órgãos Setoriais: a Marinha do Brasil; o Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), o Instituto Oceanográfico (IO) da Universidade de São Paulo, o Instituto Geológico (IG), Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC), o Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT), o Departamento de Ciências do Mar da Universidade Federal de São Paulo, o Centro de Estudo e Pesquisas sobre Desastres (CEPED/USP), o Corpo de Bombeiros e a Polícia Ambiental do Estado de São Paulo.

IV - Órgãos Municipais: as Prefeituras Municipais envolvidas no Plano de Contingência, representadas pelas respectivas Coordenadorias Municipais de Defesa Civil (COMDECs).

V - Entidades privadas com reconhecida atuação na área.

**Artigo 3º** - Caberá às Coordenadorias Municipais de Defesa Civil envolvidas neste plano, apoiar as respectivas Coordenadorias Regionais de Defesa Civil, a edição de planos preventivos e de contingência específicos para cada município, em consonância com os pressupostos presentes nos anexos desta resolução.

**Artigo 4º** - O período de vigência desse plano será ininterrupto, devendo suas ações serem delatadas conforme avisos e boletins emitidos pelos órgãos setoriais.

#### ANEXO I

Normas e procedimentos do Plano Preventivo de Defesa Civil (PPDC) para erosão costeira, inundações costeiras e enchentes/alagamentos causados por eventos meteorológicos-oceanoográficos extremos (ressacas do mar e marés altas)

#### TÍTULO I

##### Disposições Preliminares

**Artigo 1º** - O Plano Preventivo de Defesa Civil (PPDC) para erosão costeira, inundações costeiras e enchentes/alagamentos causados por eventos meteorológicos-oceanoográficos extremos (ressacas do mar e marés altas), tem como objetivo principal aperfeiçoar as ações das Coordenadorias Regionais e Municipais de Defesa Civil na minimização dos efeitos desses eventos no âmbito dos quatro setores costeiros do Estado de São Paulo.

**Artigo 2º** - O Plano se baseia na adoção de medidas para conhecimento antecipado das ocorrências de eventos extremos especificados no artigo anterior, nas ações dos órgãos de defesa civil e nas edições de Planos de Contingência para os municípios sujeitos a esses eventos.

**Artigo 3º** - Para efeito desta resolução, seguem as seguintes considerações e conceitos:

I - Eventos Meteorológicos-Oceanoográficos Extremos: Marés Meteorológicos Positivos e Ressacas do Mar

Eventos associados à influência de fatores meteorológicos (ciclones extratropicais, frentes frias), oceanoográficos (sobreelevação do nível do mar e ondas energéticas), astronômicos (marés de sizígia e de equinócio) e sazonais (efeito esteatérico devido ao aquecimento do oceano durante o verão). Quanto maior o número de fatores ocorrendo em conjugação, maiores serão os impactos, os efeitos danosos e os prejuízos na zona costeira. s principais perigos gerados por esses eventos na costa são: erosão costeira, inundação costeira, enchentes e alagamentos.

#### II - Marés altas anômalas

Trata-se de um termo popular para se referir à sobreelevação do nível médio do mar devido à ocorrência de uma maré meteorológica positiva, em especial se conjugada a uma maré de sizígia. Pode ocorrer sem a atuação de forte agitação marítima, portanto sem associação com uma ressaca.

#### III - Erosão costeira

O resultado do conjunto de processos sedimentares que atuam na praia pelo ser medido por meio do seu balanço sedimentar que é, em outras palavras, a relação entre as perdas/saídas e os ganhos/entradas de sedimentos nessa praia. Quando o balanço sedimentar da praia for negativo, ou seja, quando a saída/perda de sedimentos for maior do que a entrada/ganho de sedimentos, haverá déficit sedimentar predominando assim o processo erosivo.

#### IV - Inundação costeira

Submersão temporária de terrenos marginais à linha de costa oceânica e estuarina/laguna, causada pela ocorrência de marés altas anômalas e ressacas.

V - Enchentes associadas a marés altas anômalas e ressacas

Submersão temporária de áreas marginais a cursos de água doce ou salobra na planície costeira, associada ao transbordamento do canal fluvial/pluvial devido à ocorrência de precipitação intensa e à incapacidade de escoamento das águas para o estuário/laguna, ou o canal de maré ou a praia, pelo efeito do empilhamento de água na costa/maré alta anômala.

VI - Alagamentos associados a marés altas anômalas e ressacas

Acúmulo de água em ruas, calçadas ou outras infraestruturas urbanas devido à extração da capacidade de escoamento de sistemas de drenagem urbana, em decorrência de precipitação intensa, maré alta anômala e ressaca (por galgamento sobre estruturas urbanas em áreas com erosão costeira acelerada).

#### VII - Vento Previsto do Quadrante Sul

Durante os eventos meteorológicos-oceanoográficos extremos os ventos sopram do quadrante sul, apresentando direções SW, SSW, S e SSE.

#### VIII - Altura e Direção de Ondas Significativas

A altura de uma onda marinha é definida como a diferença de nível entre a sua crista e o seu cavado. Como as alturas das ondas podem variar bastante, para se medir o estado do mar é utilizada a altura significativa das ondas, que corresponde à média do terço superior das ondas com maior altura registradas durante um período de tempo.

#### TÍTULO II

##### Do Funcionamento

##### CAPÍTULO I

##### Das Diretrizes Técnicas

**Artigo 4º** - O Plano Preventivo tem como base fundamental para erosão costeira:

1. Previsão de condições meteorológicas associadas à elevação do nível do mar junto à costa;
2. Elevação do nível do mar prevista (altura das ondas, elevação do mar e maré astronômica);
3. Mapa de risco à erosão costeira.

**Parágrafo único:** Para inundações costeiras e enchentes/alagamentos causados por eventos meteorológicos-oceanoográficos extremos (ressacas do mar e marés altas), o Plano tem como base:

1. Observação: Vento previsto do quadrante sul (SSW a SSE) até 60 km/h, ondas de quadrante sul (SSW a SSE) com altura significativa inferior a 2,0 metros e elevação de maré (astronômica mais meteorológica) prevista até 1,8 metros;
2. Atenção: Vento previsto do quadrante sul (SSW a SSE) entre 60 e 80 km/h, ondas de quadrante sul (SSW a SSE) com altura significativa de 2,0 a 3,0 metros ou elevação de maré (astronômica mais meteorológica) prevista entre 1,8 a 2,0 metros;
3. Mapa de risco a inundações costeiras e enchentes/alagamentos causados por marés altas e ressacas.

##### CAPÍTULO II

##### Da Estrutura

**Artigo 5º** - O Plano Preventivo para os perigos costeiros tratados nesta resolução está estruturado em 3 (três) níveis, incluindo, progressivamente, a possibilidade de ocorrências de ressacas e marés altas, a saber:

- I - Observação: Vento previsto do quadrante sul (SSW a SSE) até 60 km/h, ondas de quadrante sul (SSW a SSE) com altura significativa inferior a 2,0 metros e elevação de maré (astronômica mais meteorológica) prevista até 1,8 metros;
- II - Atenção: Vento previsto do quadrante sul (SSW a SSE) entre 60 e 80 km/h, ondas de quadrante sul (SSW a SSE) com altura significativa de 2,0 a 3,0 metros ou elevação de maré (astronômica mais meteorológica) prevista entre 1,8 a 2,0 metros;
- III - Alerta: Vento previsto do quadrante sul (SSW a SSE) acima de 80 km/h, ondas de quadrante sul (SSW a SSE) com altura significativa acima de 3,0 metros ou elevação de maré (astronômica mais meteorológica) prevista acima de 2,0 metros.

§ 1º - Para cada nível estão previstos procedimentos operacionais, que visam à minimização das consequências desses eventos.

##### CAPÍTULO III

##### Dos Procedimentos Operacionais

**Artigo 6º** - Os procedimentos operacionais de contingência previstos para os diferentes níveis, segundo o artigo 5º, são os seguintes:

- I - Nível de Observação
  - 1) Coordenadoria Estadual de Defesa Civil (CEDEC):
    - a) monitorar os critérios de vento e ondas do quadrante sul e elevação da maré;
    - b) acompanhar, através das REDECS, as Coordenadorias Municipais de Defesa Civil (COMDEC) na operação dos Planos de Contingência;
    - c) convocar, quando necessário, os órgãos envolvidos para avaliação da operação do Plano;
    - d) emitir informações meteorológico-oceanoográficas às REDECS e COMDECs.
  - 2) Coordenadoria Regional de Defesa Civil (REDEC):
    - a) atender à convocação da CEDEC, para reunião dos órgãos envolvidos;
    - b) acompanhar as Coordenadorias Municipais de Defesa Civil (COMDEC) na operação dos Planos de Contingência;
    - c) acompanhar as previsões, avisos e alertas emitidos pela CEDEC.
  - 3) Coordenadorias Municipais de Defesa Civil (COMDECs):
    - a) acompanhar as previsões, avisos e alertas emitidos pela CEDEC.
    - b) elaborar e desenvolver o Plano de Contingência Municipal para os perigos costeiros associados a eventos meteorológico-oceanoográficos extremos.
- II - Nível de Atenção
  - 1) Coordenadoria Estadual de Defesa Civil (CEDEC)
    - a) proceder a totalidade dos itens definidos para o nível de observação;
    - b) convocar reunião dos órgãos envolvidos, quando da mudança do nível, se for o caso;
    - c) registrar as informações acerca das vitórias de campo efetuadas pelas Coordenadorias Municipais de Defesa Civil (COMDECs);
    - d) comunicar o evento ao REDEC, COMDEC e órgãos de apoio, por meio de SMS e boletim meteorológico;
    - e) comunicar ao REDEC e COMDEC, por meio de SMS a mudança de nível do Plano.
  - 2) Coordenadoria Regional de Defesa Civil (REDEC)
    - a) proceder a totalidade dos itens definidos para o nível de observação;
    - b) informar à CEDEC as vitórias de campo realizadas pelas COMDEC.
  - 3) Coordenadorias Municipais de Defesa Civil (COMDEC)
    - a) proceder a totalidade dos itens definidos para o nível de observação;
    - b) enviar alertas para a população e veículos de comunicação;
    - c) adotar as medidas previstas nos respectivos planos de contingência municipal.
- III - Nível de Alerta
  - 1) Coordenadoria Estadual de Defesa Civil (CEDEC)
    - a) proceder a totalidade dos itens definidos para o nível de atenção;
    - b) atualizar os meios logísticos e operacionais suplementares às COMDEC, quando solicitados;
    - c) comunicar ao REDEC, COMDEC e órgãos de apoio, por meio de SMS a mudança de nível do Plano.
  - 2) Coordenadoria Regional de Defesa Civil (REDEC)

a) proceder a totalidade dos itens definidos para o nível de atenção.

3) Coordenadorias Municipais de Defesa Civil (COMDEC)
 a) proceder a totalidade dos itens definidos para o nível de atenção e adotar as medidas previstas nos respectivos planos de contingência municipal.

#### TÍTULO IV

##### Disposições Gerais

**Artigo 7º** - O Plano Preventivo encontra-se em condições de operacionalidade e sua implantação permite às Coordenadorias Municipais de Defesa Civil (COMDEC) a adoção de ações preventivas que visam minimizar ou até eliminar as consequências advindas da ocorrência de eventos.

#### ANEXO II

Procedimentos para a elaboração do Plano de Contingência Municipal para erosão costeira, inundações costeiras e alagamentos causados por eventos meteorológicos-oceanoográficos extremos (ressacas do mar e marés altas)

Para a edição dos Planos de Contingência de erosão costeira, inundações costeiras e alagamentos causados por eventos meteorológicos-oceanoográficos extremos (ressacas do mar e marés altas), deverão ser consideradas as seguintes ações, de forma a contemplar os aspectos locais/municipais e suas peculiaridades:

1. Mapear e monitorar as áreas sujeitas aos perigos costeiros citados nesta resolução;
2. Divulgar os alertas e boletins da CEDEC para a população municipal;
3. Deslocar agentes públicos para pontos estratégicos ou de interesse, suscetíveis aos eventos dessa resolução;
4. Mobilizar as equipes de serviços públicos para limpeza, reparos e desobstruções;
5. Determinar a evacuação de moradores dos locais;
6. Definir abrigos provisórios para a população afetada;
7. Determinar o isolamento de ruas e avenidas sujeitas a inundação costeira e enchentes/alagamentos;
8. Atualizar os dados e informações dos órgãos que compõem o sistema de contingência municipal;
9. Solicitar o apoio suplementar da CEDEC.

## Planejamento e Gestão

### GABINETE DO SECRETÁRIO

#### Extrato do 3º Termo Aditivo

PROCESSO SPDR 227/42012  
 CONTRATO 02/2012 - GS  
 LOCATÓRIO: SECRETARIA DE PLANEJAMENTO E GESTÃO  
 LOCADOR: YUNES - PARTICIPAÇÃO, ADMINISTRAÇÃO E NEGÓCIOS LTDA  
 CNPJ: 03.479.283/0001-94.  
 CLÁUSULA PRIMEIRA - DA PRORROGAÇÃO  
 O prazo de vigência do contrato fica prorrogado por mais 01 (um) mês, de 13-11-2016 a 12-12-2016.  
 CLÁUSULA SEGUNDA - DO VALOR E RECURSOS ORÇAMENTÁRIOS

O valor total estimado do presente contrato passa a ser de R\$ 420.344,80 para o período de 01 (um) mês, por o presente exercício, onerando a classificação orçamentária 04.122.2309.5515.0000, Natureza de Despesa 33.90.39.91, Unidade de Despesa 23.01.01.

CLÁUSULA TERCEIRA - DA RATIFICAÇÃO

Permanecem em vigor as demais cláusulas e condições contratuais não alteradas pelo presente instrumento e que não se revelem com o mesmo conteúdo. E por estarem assim, justas e acertadas, firmam as partes e presente instrumento na presença de duas testemunhas, que também o assinam para todos os fins e efeitos de direito.

ASSINATURA: 13-11-2016

### UNIDADE CENTRAL DE RECURSOS HUMANOS

#### Instrução Conjunta Uchr/Sp/rev 04, de 25-11-2016

A Unidade Central de Recursos Humanos - UCRH, da Secretaria de Planejamento e Gestão e a São Paulo Previdência - SPPREV, em razão da edição da Lei Complementar 669, de 20-12-1991 que instituiu o Adicional de Local de Exercício para os servidores do Quadro do Magistério - QM, com alterações posteriores, e Lei Complementar 687, de 7 de outubro de 1992 que instituiu o Adicional de Local de Exercício para os Servidores do Quadro de Apoio Escolar - QAE, e alterações posteriores, as quais abrangem servidores inativos, expedem a presente instrução conjunta:

- 1 - ADICIONAL DE LOCAL DE EXERCÍCIO - QUADRO DO MAGISTÉRIO - INATIVO - Para fins de demonstração dos valores percebidos pelos servidores a título de Adicional de Local de Exercício fica estabelecido o formulário INFORMATIVO, conforme Anexo integrante dessa Instrução.
- 1.0 - Do formulário INFORMATIVO - ARTIGO 1º DA LC 669/91, deverão constar:
  - 1.1 - Dados do órgão e unidade do servidor (Campo [1]);
  - 1.2 - Dados de identificação do servidor (Campo [2]);
  - 1.3 - Período(s) de recebimento da vantagem (Campo [3]);
  - 1.4 - Total (em dias) correspondente ao recebimento da vantagem (Campo [4]);
  - 1.5 - Coeficiente da Jornada/Carga Horária multiplicado pela UBV (Campo [5]);
  - 1.6 - Valor total (Campo [6]) = Total de [4] multiplicado pelo total de [5];
  - 1.7 - Total do tempo de contribuição para a aposentadoria (em dias conforme exemplo no rodapé do formulário) (Campo [7]);
  - 1.8 - Valor total dividido pelo tempo de contribuição (Campo [8]) = Total de [6] dividido pelo Total de [7];
  - 1.9 - Encaminçamento (Campo [9]). Deve ser preenchido com a data na qual o documento foi elaborado e a assinatura e carimbo do CHR/DIR.
- 2 - ADICIONAL DE LOCAL DE EXERCÍCIO - QUADRO DE APOIO ESCOLAR - INATIVO - Para fins de demonstração dos valores percebidos pelos servidores a título de Adicional de Local de Exercício fica estabelecido o formulário INFORMATIVO, conforme Anexo integrante dessa Instrução.
- 2.1 - Do formulário INFORMATIVO - ARTIGO 1º DA LC 687/92, deverão constar:
  - 2.1.1 - Dados do órgão e unidade do servidor (Campo [1]);
  - 2.1.2 - Dados de identificação do servidor (Campo [2]);
  - 2.1.3 - Período(s) de recebimento da vantagem (Campo [3]);
  - 2.1.4 - Total (em dias) correspondente ao recebimento da vantagem (Campo [4]);
  - 2.1.5 - Coeficiente multiplicado pela UBV (Campo [5]);
  - 2.1.6 - Valor total (Campo [6]) = Total de [4] multiplicado pelo Total de [5];
  - 2.1.7 - Total do tempo de contribuição para a aposentadoria (em dias, conforme exemplo no rodapé do formulário) (Campo [7]);
  - 2.1.8 - Valor total dividido pelo tempo de contribuição (Campo [8]) = Total de [6] multiplicado pelo Total de [7];
  - 2.1.9 - Encaminçamento (Campo [9]). Deve ser preenchido com a data na qual o documento foi elaborado e a assinatura e carimbo do CHR/DIR.
- 3 - Esta instrução entra em vigor na data de sua publicação, retroagindo seus efeitos à vigência das respectivas Leis Complementares.

UCRH/SPPREV em 25-11-2016



**MÉTODO DE OBTENÇÃO DE BACTERIOCINAS, BACTERIOCINAS E USO  
DAS MESMAS**

**Campo da invenção:**

[001] Esta invenção se insere no campo da biotecnologia e descreve um método de obtenção de bacteriocinas, mais especificamente, do peptídeo antimicrobiano LeuA1, análogo à Leucocina A, bem como o referido peptídeo.

[002] Adicionalmente, a invenção provê o uso do referido peptídeo antimicrobiano LeuA1 como conservante biológico natural de alimentos.

**Fundamentos da invenção:**

[003] Até alguns anos atrás, a descoberta de novas moléculas com atividade antimicrobiana era realizada por meio de abordagens empíricas e básicas.

[004] Os compostos eram sintetizados por metodologias trabalhosas e dispendiosas e a necessidade de obtenção de quantidades significativas de produtos para realização dos testes biológicos tornava todo o processo ainda mais demorado e custoso.

[005] A síntese de moléculas análogas àquelas naturais (derivados estruturais com algumas modificações pontuais) permitiu a realização de estudos químicos, físicos e bioquímicos de grande parte dos peptídeos biologicamente ativos conhecidos até o presente momento.

[006] O uso de peptídeos antimicrobianos, tais como as bacteriocinas, aparece como uma alternativa promissora aos agentes convencionais de combate.

[007] As bacteriocinas são sintetizadas no ribossomo da maioria das bactérias e apresentam a capacidade de eliminar bactérias proximamente relacionadas. Estas possuem diversas

estruturas químicas e o seu papel na imunidade inata é essencial.

[008] Estes peptídeos são geralmente pequenos (de 3 a 10 kDa) e são inativados por enzimas proteolíticas. Sabe-se, também, que em uma única bactéria, podem ser produzidos diversos peptídeos com estas características.

[009] O estudo das bacteriocinas começou em 1925, com a descoberta das colicinas produzidas pela *Escherichia coli*. Devido ao seu potencial de aplicação como conservante biológico natural, as bacteriocinas têm sido identificadas e caracterizadas, principalmente aquelas produzidas por bactérias lácticas.

[010] As bacteriocinas são empregadas na bioconservação de alimentos com o objetivo de controlar o desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes. Por serem descritas como um conservante natural, sua utilização em alimentos é muito promissora, já que os aditivos químicos têm sido vistos como vilões da indústria de alimentos, em virtude dos riscos de intoxicação que a ingestão constante dessas substâncias pode ocasionar.

[011] Dentre as bacteriocinas, encontram-se as nisinas, pediocinas, lacticinas, lactococinas, leucocinas, plantaricinas, enterocinas, carnobacteriocinas e outras. Em geral, são catiônicas e exibem propriedades anfipáticas, sendo a membrana bacteriana, na maioria das vezes, o alvo de sua atividade, diferindo-se em tamanho, alvo microbiano, modo de ação, liberação e mecanismos de imunidade.

[012] Pelo fato de as bactérias lácticas produtoras de bacteriocinas ocorrerem naturalmente em alimentos fermentados, a adição de peptídeos antimicrobianos como

aditivos alimentares tende a ser mais facilmente aceita pelas autoridades de saúde e pelos consumidores.

[013] Estudos demonstram que muitas bacteriocinas apresentam efeitos aditivos e sinérgicos em combinação com outros agentes antimicrobianos, incluindo preservativos químicos, compostos fenólicos naturais e outras proteínas antimicrobianas, dados relevantes quando a resistência microbiana é ressaltada. Conseqüentemente, a possibilidade de aplicação destes peptídeos antimicrobianos torna-se de grande interesse para a comunidade científica, já que são considerados seguros para a saúde humana e animal.

[014] Neste contexto, há interesse no desenvolvimento de tecnologias associadas às bacteriocinas em substituição aos conservantes químicos, bem como técnicas de isolamento, análise, purificação, identificação e quantificação dos mesmos.

[015] Sendo assim, a presente invenção provê um método de obtenção de bacteriocinas, em especial, a obtenção do peptídeo antimicrobiano LeuA1, bem como o referido peptídeo (aqui mostrado na Seq. Id. nº 2) e a aplicação deste como conservante biológico de alimentos de baixa toxicidade aos consumidores, a fim de controlar o desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes.

[016] O uso de conservantes em alimentos é um tópico recorrente em discussão pública já que, ao falar sobre eles, muitos consumidores associam à presença de produtos químicos nocivos nos alimentos. No entanto, os conservantes tornaram-se indispensáveis na indústria de alimentos.

**Estado da técnica:**

[017] Alguns documentos do estado da técnica descrevem

a obtenção de peptídeos microbianos e seu uso.

[018] O documento de anterioridade US5646014 descreve um agente antimicrobiano, o qual compreende um peptídeo obtido através da moricina isolada, sendo eficaz contra a ação de *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*.

[019] Em CN101870986, é descrito um método de obtenção do peptídeo antimicrobiano plectasin através da fermentação laboratorial, sendo este eficaz como agente inibitório de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus suis*.

[020] No PI0802371-9, é descrito um método de obtenção de bacteriocinas, mais especificamente nisina, a partir do cultivo de *Lactococcus lactis* em meio contendo soro de leite e / ou seus resíduos.

[021] Diferentemente, esta invenção provê um método de obtenção de bacteriocinas, mais especificamente, do peptídeo antimicrobiano LeuA1, bem como o referido peptídeo. Ainda, é previsto o uso do referido peptídeo antimicrobiano LeuA1 como conservante biológico natural de alimentos, uma vez que são capazes de inibir o crescimento de bactérias Gram negativas e não apresentam citotoxicidade para células eucarióticas.

**Sumário da invenção:**

[022] A presente invenção descreve um método de obtenção de bacteriocinas, em especial o peptídeo antimicrobiano LeuA1, análogo à Leucocina A, bem como o referido peptídeo.

[023] Ainda, esta invenção provê o uso do referido peptídeo antimicrobiano LeuA1 como conservante biológico natural de alimentos.

**Breve descrição das figuras:**

[024] A figura 1 é um esquema ilustrativo do método de obtenção de bacteriocinas da presente invenção.

[025] As Figuras 2A e 2B são uma predição da estrutura secundária da leucocina A e a estrutura primária do peptídeo sintetizado, em que o azul representa a cadeia  $\beta$  e o vermelho representa a  $\alpha$  hélice.

[026] As Figuras 3A e 3B mostram a inibição da atividade de superenovelamento do DNA pelo LeuA1, em que a linha A é o plasmídeo pBr322 relaxado controle; a linha B é o plasmídeo pBr322 relaxado e DNA girase (1U) na ausência de inibidor e a linha C é plasmídeo pBR322 relaxado, DNA girase (1U) e LeuA1 e os números 1, 2, 3 e 4 correspondem às concentrações ensaiadas 200, 100, 50 e 25  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , respectivamente.

[027] A Figura 4 representa graficamente a porcentagem de hemólise para diferentes concentrações dos peptídeos.

[028] A Figura 5 mostra a inibição enzimática com o LeuA1 em topoisomerase I humana, em que a linha A é o plasmídeo pBr322 superenovelado controle; a linha B é o plasmídeo pBr322 superenovelado e topoisomerase I (1U) na ausência de inibidor e a linha C é o plasmídeo pBR322 superenovelado, topoisomerase I (1U) e LeuA1 e os números 1, 2, 3 e 4 correspondem às concentrações ensaiadas 200, 100, 50 e 25  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , respectivamente.

**Descrição detalhada da invenção:**

[029] A presente invenção descreve um método de obtenção de bacteriocinas, em especial o peptídeo antimicrobiano LeuA1, análogo à Leucocina A (indicado na Seq. Id. n° 1), bem como o referido peptídeo, indicado na Seq. Id. n° 2.

[030] O método de obtenção desta invenção está ilustrado esquematicamente na Figura 1 e consiste de uma síntese em fase sólida compreendendo as etapas de:

- a) Alongamento da sequência peptídica;
- b) Clivagem; e
- c) Caracterização.

[031] A etapa (a) emprega o grupamento base-lábil Fmoc como protetor dos  $\alpha$ -amino grupos para a proteção das cadeias laterais de resíduos de aminoácidos trifuncionais, usando resina Fmoc-Ala-Wang e DIC/HOBT como agentes de condensação.

[032] Para o acoplamento dos aminoácidos, emprega-se excesso molar de 3 equivalentes para o Fmoc-aminoácido e 3 equivalentes para os reagentes de condensação em DCM:DMF (1:1 v/v) por 1 hora e meia a 2 horas. A eficiência das etapas de acoplamento é monitorada pelo teste de ninidrina e, quando positivo, o processo é repetido com 50% da quantidade inicial dos reagentes.

[033] Na etapa (b), a clivagem do peptídeo da resina e a desproteção dos grupos protetores das cadeias laterais é realizada com uma solução de clivagem (10 mL/g peptidil-resina) contendo TFA (94,5 %), água deionizada (2,5 %), etanoditiol (2,5 %) e tri-isopropilsilano (0,5 %), a 25°C por 2 h.

[034] O peptídeo *in natura*, cuja sequência está indicada na Seq, Id. n° 2, é precipitado com éter dietílico gelado e centrifugado por 4 vezes, em seguida, sendo liofilizado e purificado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

[035] Na etapa (c), a caracterização é realizada por

cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) - para análise dos aminoácidos - e por espectrometria de massa - para identificação dos peptídeos.

[036] Os análogos das leucocinas possuem grande potencial como conservadores naturais de alimentos, pois agem especificamente em células bacterianas, não possuindo ação citotóxica para células humanas e por serem degradadas pelas enzimas do trato gastrointestinal, os mesmos não alteram a microbiota normal humana.

### **Ensaio de Inibição Enzimática**

#### Ensaio de inibição do superenovelamento do DNA pela DNA girase

[037] Os estudos para avaliação da inibição da atividade de superenovelamento do DNA promovido pela DNA girase foram realizados de acordo com o seguinte protocolo:

[038] Uma unidade (U) de DNA girase foi incubada com plasmídeo pBR322 relaxado contendo os análogos peptídicos sintetizados, em concentrações variadas, em tampão de ensaio. A reação foi interrompida pela adição de solução de proteinase K (2,5 mg/mL) e posterior incubação.

[039] Em seguida, as amostras foram submetidas à análise por eletroforese em gel de agarose 1% em tampão TBE. As amostras foram aplicadas uma a uma nos poços do gel e submetidas à tensão constante de 24 V, à temperatura ambiente de 25 a 30°C, por 2 horas a 2 horas e meia. Ao término da corrida, o gel foi corado em tampão de corrida, contendo brometo de etídio (50 mg/mL). O gel foi, então, examinado em transiluminador de luz UV e fotografado com luz UV incidente.

[040] Os ensaios de eletroforese descritos

anteriormente foram realizados com o intuito de determinar as concentrações mínimas inibitórias de cada um dos peptídeos sintetizados, capaz de inibir a ação da DNA girase.

Ensaio de inibição do relaxamento do DNA pela Topoisomerase IV

[041] Em contraste à DNA girase, que possui atividade maior no superenovelamento negativo do DNA, a topoisomerase IV atua preferencialmente no relaxamento do DNA superenovelado positivamente, bem como no processo de desencadeamento do DNA.

[042] Assim, torna-se evidente de que a topoisomerase IV desempenha também importante papel no processo de replicação e que a DNA girase não deve ser o único alvo intracelular efetivo para os diversos agentes terapêuticos.

[043] Os ensaios para avaliação da inibição da atividade da topoisomerase IV, foram realizados incubando-se 1 unidade (U) da enzima com plasmídeo pBR322 superenovelado contendo cada um dos análogos peptídicos em concentrações variadas em tampão de ensaio. As amostras foram submetidas à análise por eletroforese em gel de agarose, nas mesmas condições descritas no item acima.

**Ensaio de inibição do crescimento bacteriano**

Ensaio de microdiluição em placas:

[044] A atividade de inibição antimicrobiana foi determinada pela técnica de diluição em microplacas com 96 orifícios, de acordo com a metodologia descrita na norma M7-A6 do Manual *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2006).

[045] Os orifícios das microplacas foram preenchidos



com CMH, acrescentados de 100µL das soluções do peptídeo nas concentrações de 50 µM a 200 µM. Adicionalmente, foram distribuídas suspensões dos microrganismos *Salmonella* sorovar Typhimurium (ATCC 6539), *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) em cada orifício das microplacas.

[046] Como controle positivo, a ciprofloxacina 100 µM foi utilizada. Também foram realizados o controle do meio de cultura, o controle de crescimento bacteriano e o controle do peptídeo.

[047] As microplacas foram incubadas em estufa por 20 a 30 horas e os testes foram realizados em triplicata. Após o período de incubação, as microplacas foram submetidas à leitura de absorvância a 595 nm, em espectrofotômetro de microplacas. A partir da leitura espectrofotométrica, foi determinada a porcentagem de inibição microbiana para cada microrganismo.

#### **Ensaios de Toxicidade do Peptídeo**

##### Ensaios de inibição do relaxamento do DNA pela Topoisomerase humana I

[048] A fim de verificar a possibilidade de ação tóxica do peptídeo desta invenção em células humanas, foram realizados ensaios de inibição enzimática com as enzimas topoisomerasas humanas (topoisomerase I).

[049] Assim como a topoisomerase IV bacteriana, a topoisomerase humana citada possui a função de relaxamento do DNA. Sendo assim, as condições dos ensaios realizados aqui foram semelhantes às descritas acima, porém com substituição das enzimas.

##### Estudos de atividade hemolítica

[050] O teste de atividade hemolítica do peptídeo também foi realizado com o intuito de investigar a toxicidade dos mesmos em células eucarióticas. Para os testes, foram utilizadas hemácias de sangue humano separadas do plasma por centrifugação e lavadas com tampão PBS. Depois da incubação, os tubos foram centrifugados e alíquotas de sobrenadante foram pipetadas em microplacas de 96 poços.

[051] A absorbância a 405 nm foi determinada usando leitor de microplaca. O valor de 100% de hemólise foi determinado utilizando suspensão celular misturada com Triton X-100 1% (v/v), enquanto que o valor de 0% de hemólise foi obtido utilizando suspensão celular com tampão PBS.

Design, síntese e caracterização dos análogos peptídicos das leucocinas

[052] A sequência peptídica sintetizada foi projetada tendo como base a estrutura secundária de leucocinas A-, B- e C-TA33a, proposta por Papathanasopoulos et al. (1998), para estudos de inibição de diferentes espécies bacterianas de interesse em alimentos, principalmente por atuarem em alvos intracelulares a partir de mecanismos ainda pouco elucidados.

[053] Para o design do peptídeo LeuA1, levou-se em consideração os aminoácidos que se estruturam em cadeia  $\beta$  da porção N-terminal e também os aminoácidos que se estruturam como a única  $\alpha$ -hélice da leucocina A-TA33a (Figuras 2A-B). Acredita-se que este peptídeo tenha capacidade de interagir com as topoisomerasas bacterianas, principalmente pela estrutura em  $\alpha$ -hélice.

**Resultados:**

[054] Os ensaios de inibição enzimática foram realizados com o intuito de avaliar a capacidade de inibição de cada peptídeo frente à DNA girase e Topoisomerase IV, as quais são excelentes alvos de ação para agentes antimicrobianos. O ensaio de eletroforese com DNA girase (Figura 3) revelou que o análogo LeuA1 não apresentou capacidade de inibição da enzima.

[055] A partir destes resultados preliminares, observam-se indícios de que esse peptídeo análogo da Leucocina A tenha alvo intracelular podendo atuar em vias metabólicas, principalmente por ter inibido a enzima Topoisomerase IV. Os resultados referentes à atividade antimicrobiana (Tabela 1) mostraram-se eficazes na inibição de bactérias, principalmente para *Staphylococcus aureus* (96% de inibição), mas também para *Listeria monocytogenes* (79%) e *Salmonella sorovar Typhimurium* (69%).

Tabela 1. Porcentagem de inibição.

<b>Concentração (<math>\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}</math>)</b>	<b><i>Listeria monocytogenes</i></b>	<b><i>Salmonella Tiphymurium</i></b>	<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>
<b>50</b>	19 $\pm$ 0,19	7 $\pm$ 0,07	14 $\pm$ 0,14
<b>100</b>	23 $\pm$ 0,22	22 $\pm$ 0,22	20 $\pm$ 0,19
<b>150</b>	74 $\pm$ 0,74	63 $\pm$ 0,63	89 $\pm$ 0,89
<b>200</b>	79 $\pm$ 0,79	69 $\pm$ 0,69	96 $\pm$ 0,95

[056] Como é possível observar, os valores de porcentagem de hemólise (Figura 4) para o peptídeo LeuA1, foi menor do que 10%, para as diversas concentrações testadas de 50 a 200  $\mu\text{M}$ . Este valor percentual é considerado mínimo, estando dentro do valor de segurança.

[057] Além da citotoxicidade frente às hemácias, foi

investigada a influência dos peptídeos antimicrobianos na inibição das enzimas humanas topoisomerase I e topoisomerase II, mais um ponto de referência para a citotoxicidade em células eucarióticas.

[058] Assim como a topoisomerase IV bacteriana, as topoisomerasas humanas citadas possuem a função de relaxamento do DNA. Sendo assim, as enzimas em contato com um DNA superenovelado, tendem a torná-lo relaxado.

[059] Na figura 5, observa-se que o análogo LeuA1 não apresentou atividade de inibição da ação da topoisomerase I humana em nenhuma das concentrações testadas.

[060] De acordo com os resultados expostos acima, os análogos das leucocinas possuem grande potencial como conservadores naturais de alimentos, pois agem especificamente em células bacterianas, não possuindo ação citotóxica para células humanas.

[061] Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidas no escopo das reivindicações anexas.

### REIVINDICAÇÕES

1. Método de obtenção de bacteriocinas **caracterizado** por consistir de uma síntese em fase sólida compreendendo as etapas de:

- a) Alongamento da sequência peptídica;
- b) Clivagem; e
- c) Caracterização.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de, na etapa (a), o acoplamento dos aminoácidos ser realizado empregando excesso molar de 3 equivalentes para o Fmoc-aminoácido e 3 equivalentes para os reagentes de condensação em DCM:DMF (1:1 v/v) por 1 hora e meia a 2 horas.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de, na etapa (b), a clivagem do peptídeo da resina e a desproteção dos grupos protetores das cadeias laterais ser realizada com uma solução de clivagem contendo 94,5 % de TFA, 2,5% de água deionizada, 2,5 % de etanoditiol e 0,5 % de tri-isopropilsilano a 25 °C por 2 h.

4. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de o peptídeo *in natura* ser precipitado com éter dietílico gelado e centrifugado por 4 vezes, seguido de liofilização e purificação por HPLC.

5. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de a caracterização ser realizada por HPLC e por espectrometria de massa.

6. Bacteriocinas, obtidas conforme o método definido nas reivindicações 1 a 5, **caracterizado** por ser uma leucocina tal como definida na Seq. Id. n° 2.

7. Uso das bacteriocinas, conforme definidas na reivindicação 6 e obtidas conforme o método definido nas reivindicações 1 a 5, **caracterizado** por ser como conservadores naturais de alimentos.



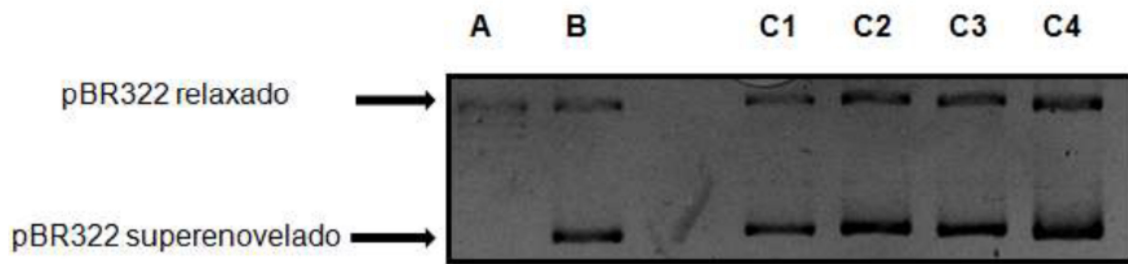


FIGURA 3A

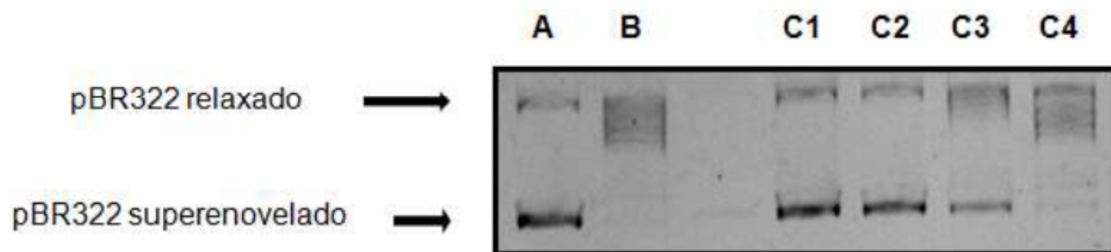


FIGURA 3B

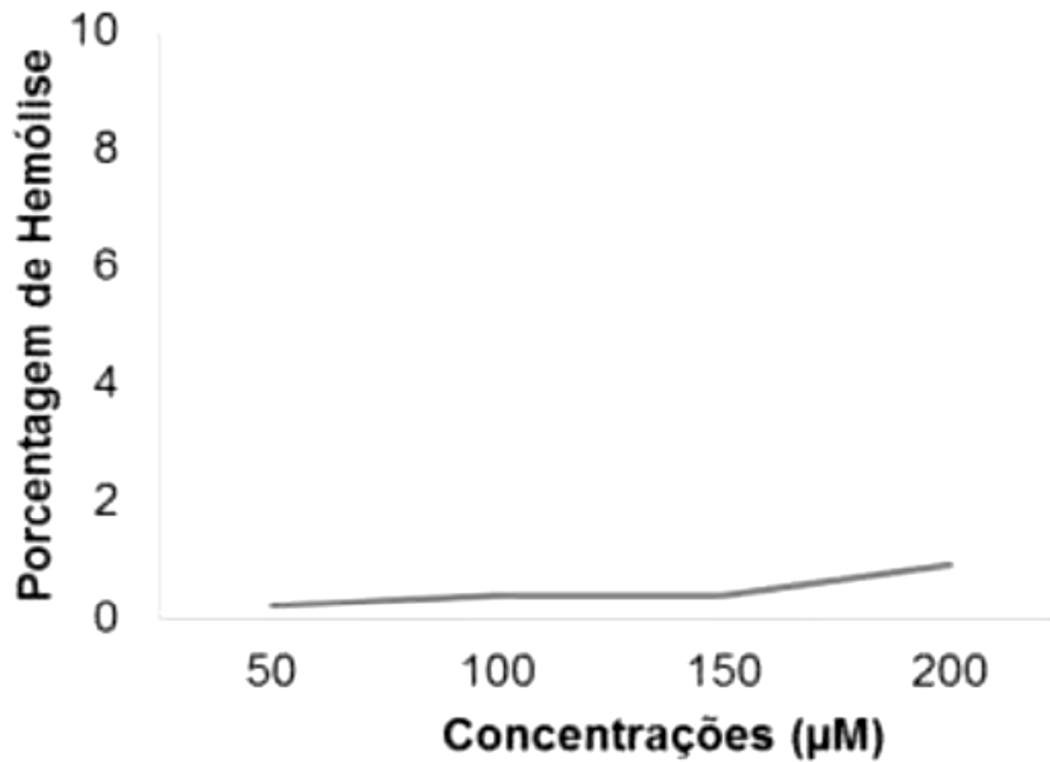


FIGURA 4



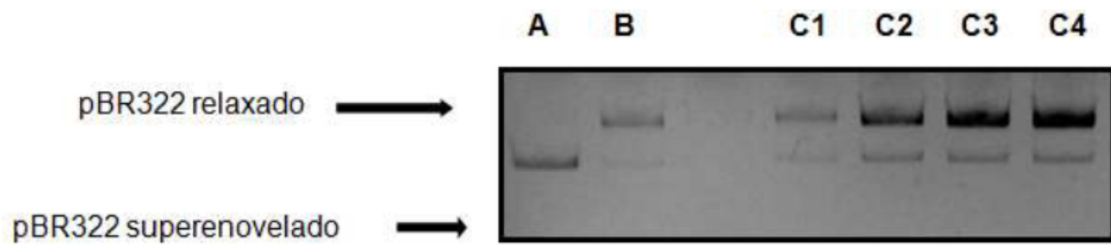


FIGURA 5

Resumo

**MÉTODO DE OBTENÇÃO DE BACTERIOCINAS, BACTERIOCINAS E USO  
DAS MESMAS**

A presente invenção descreve um método de obtenção de bacteriocinas, mais especificamente, peptídeo antimicrobiano LeuA1, análogo à Leucocina A, bem como o referido peptídeo (conforme definido na Seq. Id. nº 2).

Ainda, esta invenção provê o uso do referido peptídeo antimicrobiano LeuA1 como conservante biológico natural de alimentos.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

### Código de Controle

#### Campo 1



12C400DF1DB0FBCD

#### Campo 2



B3B82AB9DFCC32AE

#### Outras Informações:

- Nome do Arquivo: Listagem - Peptídeo LeuA1\_ST25.txt
- Data de Geração do Código: 13-03-2017
- Hora de Geração do Código: 13:47:07
- Código de Controle:
  - Campo 1: 12C400DF1DB0FBCD
  - Campo 2: B3B82AB9DFCC32AE