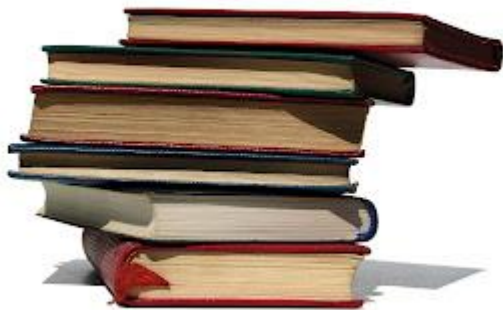


# ESTUDOS DAS ÔMICAS: GENÔMICA VS TRANSCRIPTÔMICA E METAGENÔMICA

## Aula 7

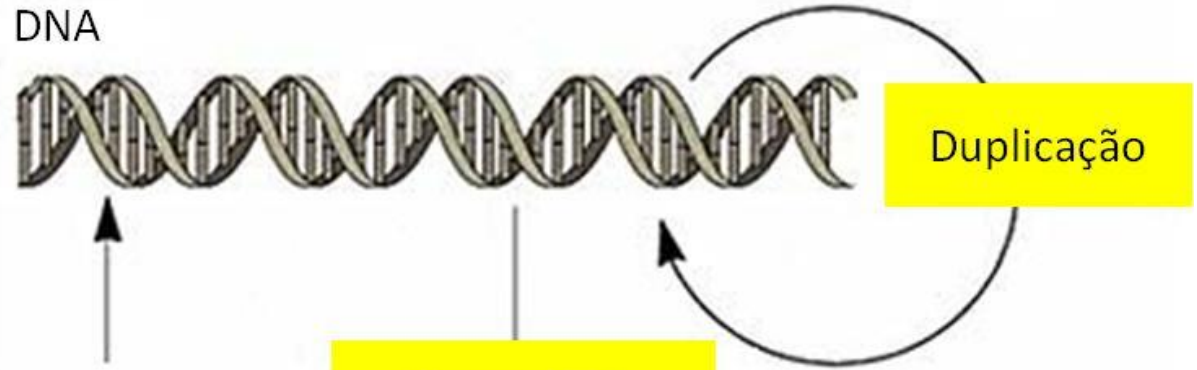
LGN232 – Genética Molecular



Maria Carolina Quecine  
Departamento de Genética  
mquecine@usp.br

# DOGMA DA BIOLOGIA CELULAR

**Genoma**



Transcriptase  
Reversa

Transcrição

**Transcriptoma**



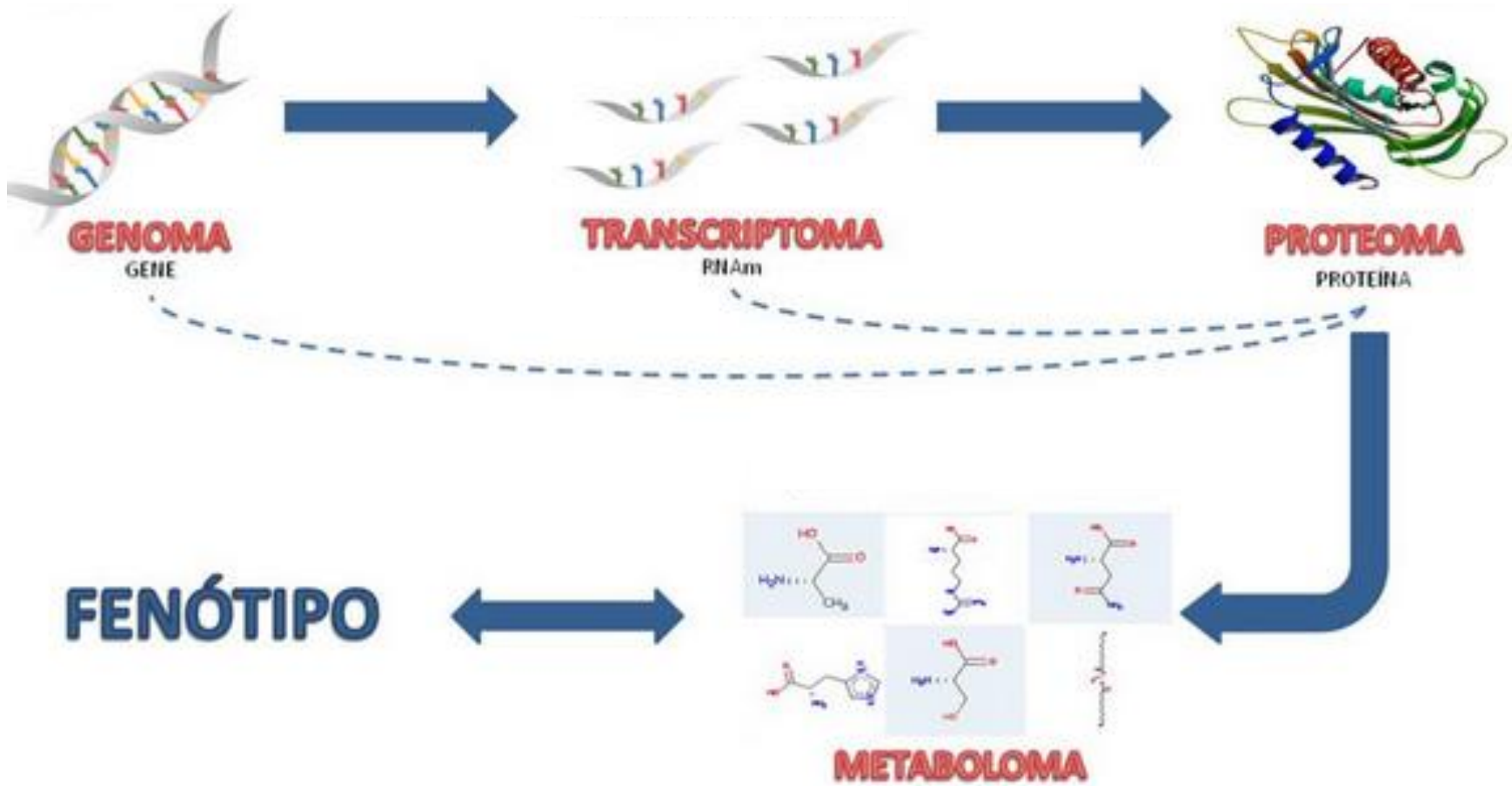
Tradução

**Proteoma**

Proteína

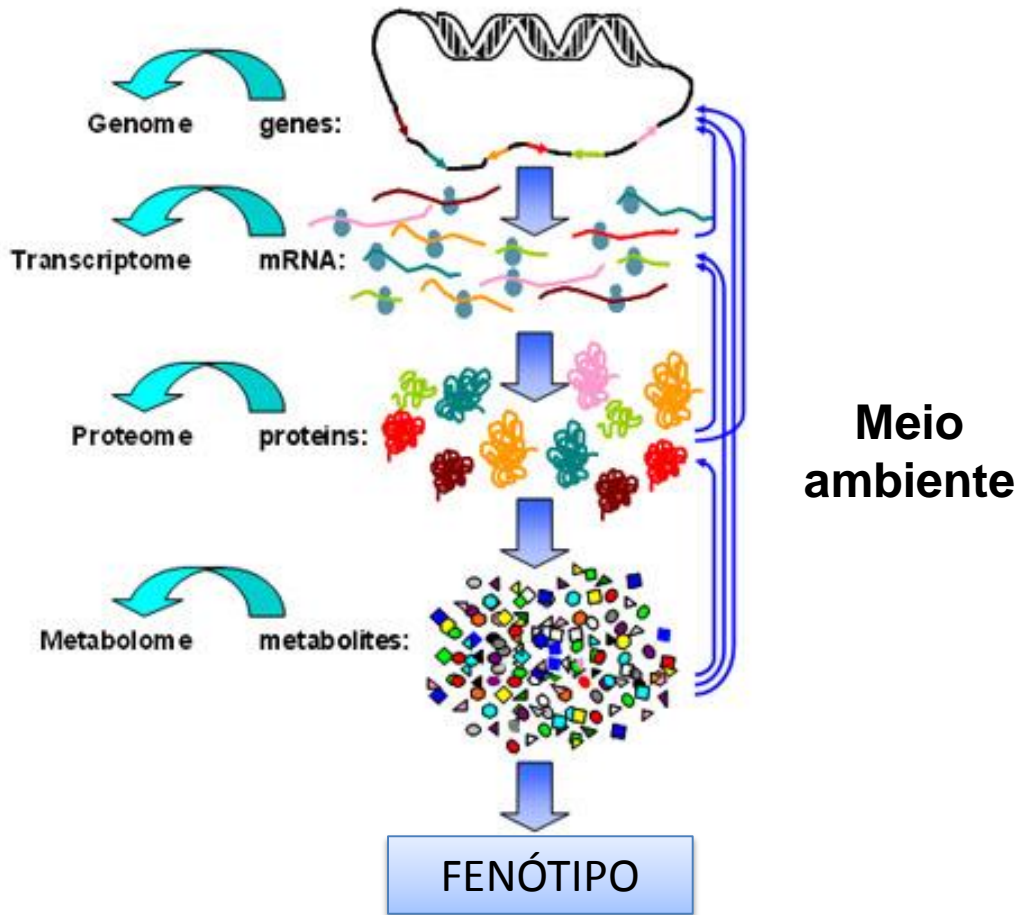


# O FENÔMENO DAS ÔMICAS



E tem muito mais: epigenoma, lipidoma, interatoma, etc...

Avanços tecnológicos dos últimos anos permitiram o surgimento de uma nova era nas pesquisas: **A Era das Ômicas.**



**Em um organismo  
somente o genoma  
permanece constante,  
independente do estágio  
de desenvolvimento,  
tecido e ou condição  
ambiental!**

conjunto de todas as características observáveis – que são influenciadas tanto por seu genótipo quanto pelo ambiente



**Diferentes estímulos podem afetar diretamente o transcriptoma, o proteoma e o metaboloma.**



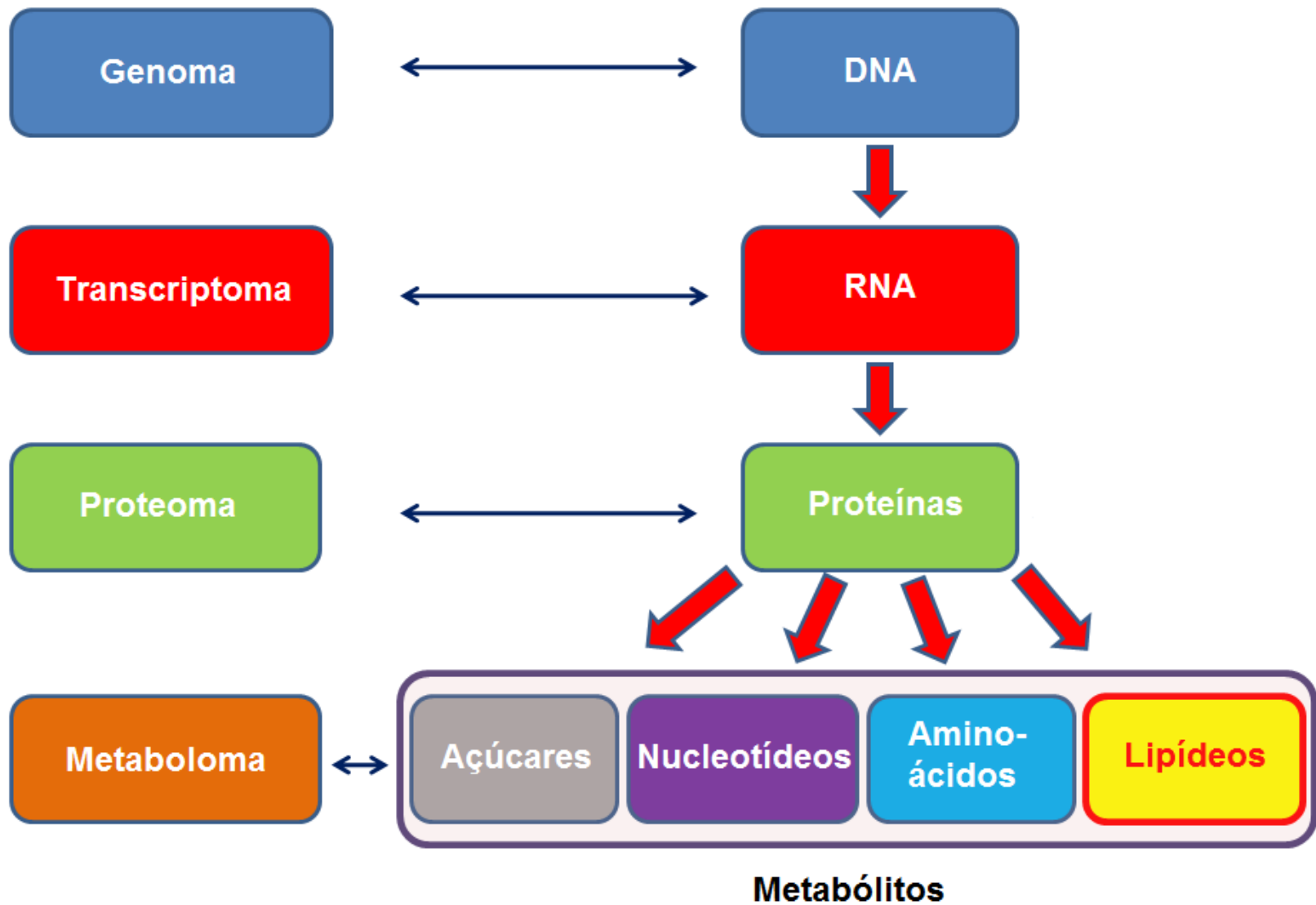
# DEFININDO ALGUNS CONCEITOS

**Genoma:** toda a informação hereditária de um organismo que está codificada em seu DNA (ou, em alguns vírus no RNA). Isto inclui tanto os genes como as sequências não-codificadoras.

**Transcriptoma:** conjunto completo de transcritos (RNAs mensageiros, RNAs ribossômicos, RNAs transportadores e os microRNAs) de um dado organismo, órgão, tecido ou linhagem celular. Portanto, ele é o reflexo direto da expressão dos genes.

**Proteoma:** conjunto de todas as proteínas em uma célula, organela fluido biológico, tecido ou organismo em um dado momento.

**Metaboloma:** conjunto de todos os metabólitos em uma célula, fluido biológico, tecido ou organismo.

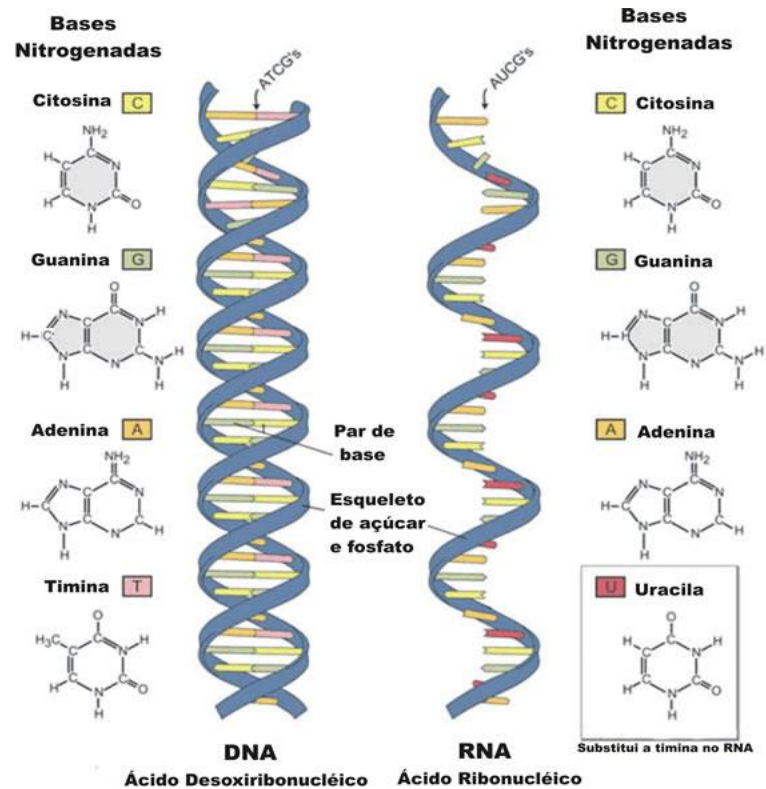


# DNA E RNA:

1- O que são?

2- Qual a estrutura?

São ácidos nucléicos, encontrados em todas as células. Esses estão envolvidos na transmissão de caracteres hereditários e na produção de proteínas



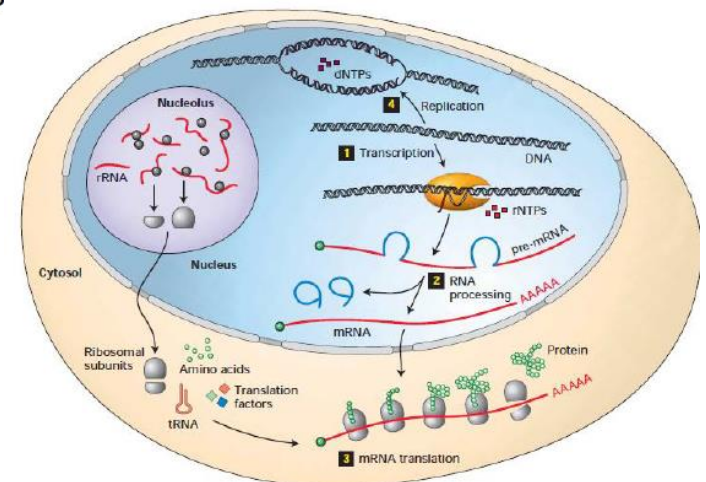
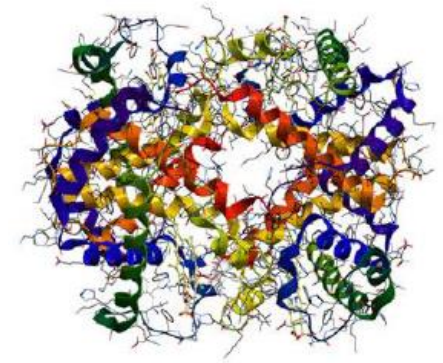
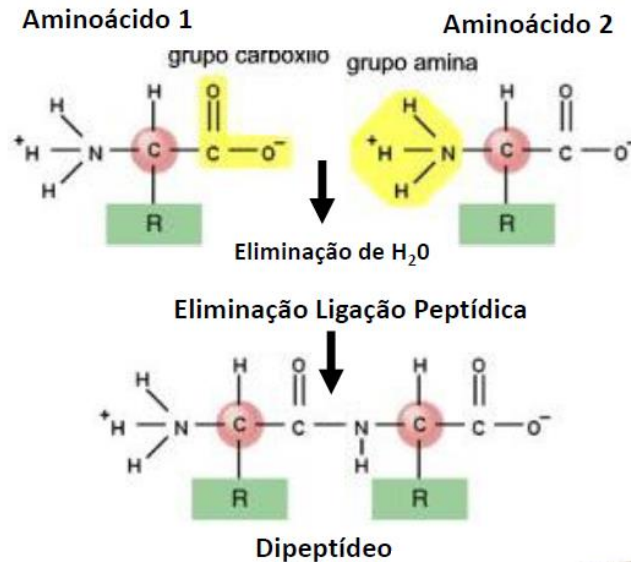


# Proteínas:

1- O que são?

2- Qual a estrutura?

São moléculas orgânicas de estrutura complexa e Massa Molecular elevada. São sintetizados pelos organismos vivos através de ligações peptídicas covalentes entre aminoácidos. Funções: Enzimas, anticorpos, componentes estruturais.



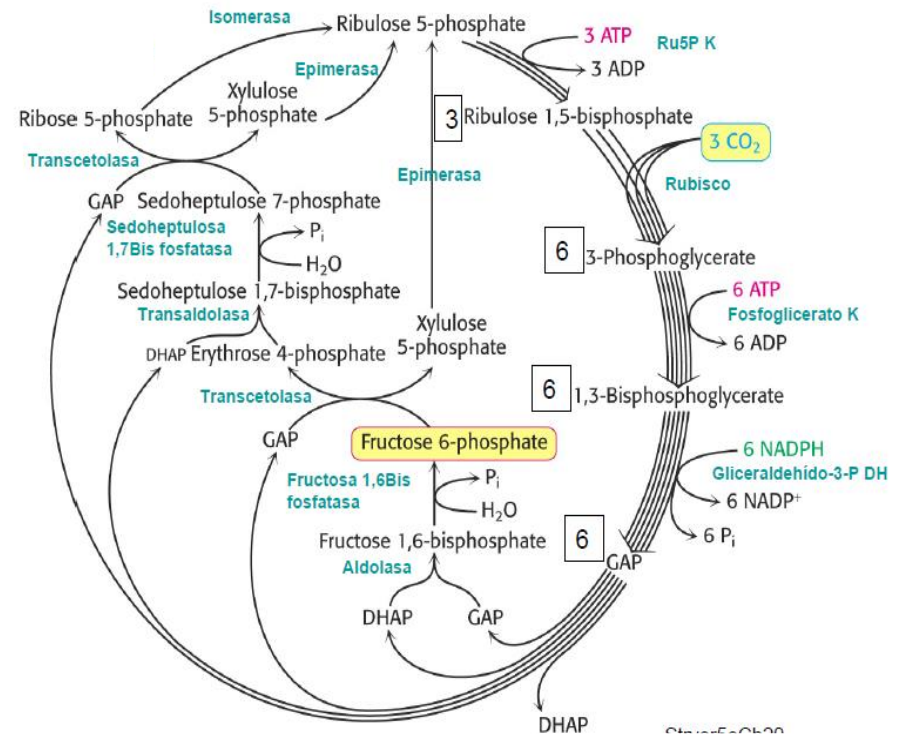
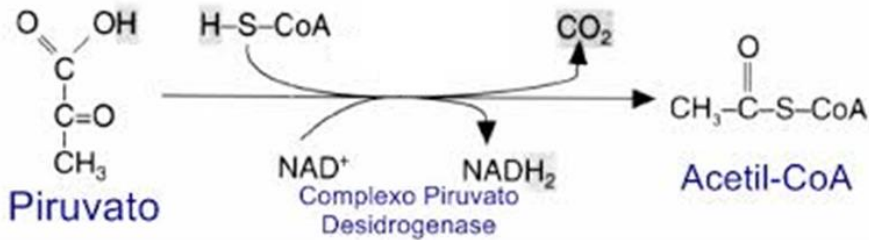
# Metabólitos:

1- O que são?

2- Qual a estrutura?

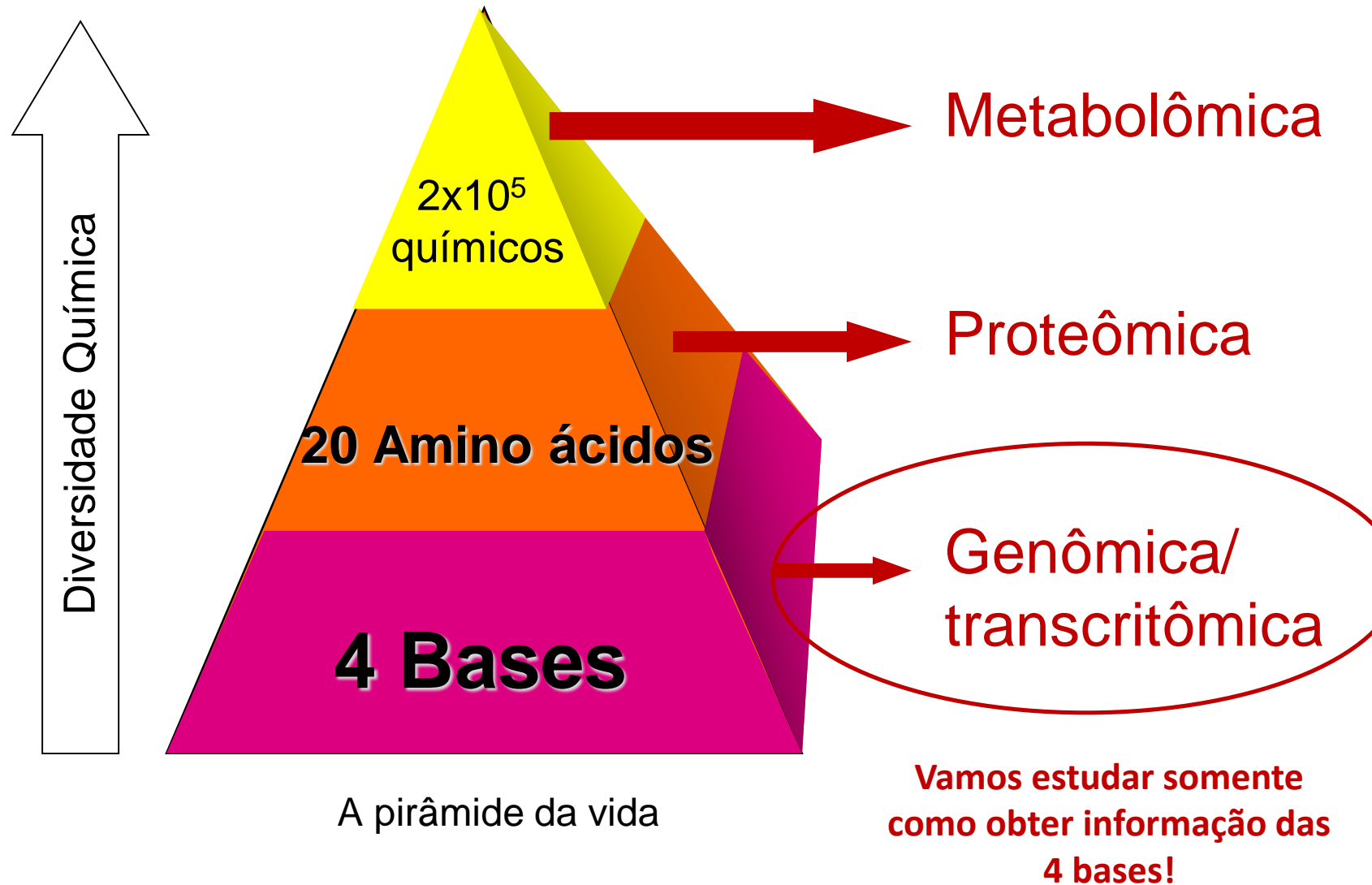
R1: Metabólitos são os intermediários (substratos, cofatores) e produtos do metabolismo!

Carboidratos  
Alcoois  
Aminoácidos  
Ácidos orgânicos  
Lipídios



**Ciclo de Calvin**

# DIFICULDADE DOS ESTUDOS DAS “ÔMICAS”



# VALE A PENA LER!!!



## As ômicas: Integrando a bioinformação

O papel da bioinformática em expansão

**Dr. Eliseu Binneck**

*Consultor/Pesquisador na área de Bioinformática*

*Embrapa Soja, Londrina - PR.*

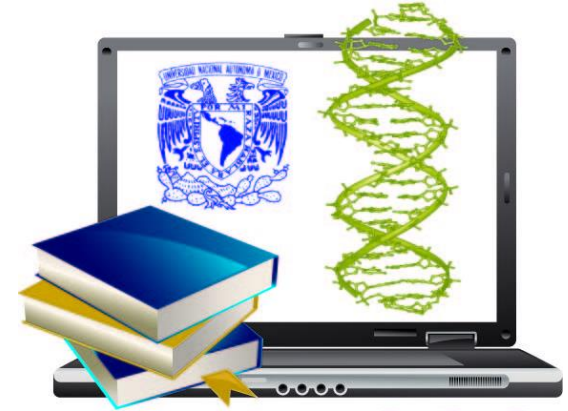
*[binneck@cnpso.embrapa.br](mailto:binneck@cnpso.embrapa.br)*

Imagens cedidas pelo autor

# MAS COMO EU ESTUDO O GENOMA E TRANSCRIPTOMA?



# SEQUENCIAMENTO DE DNA E RNA

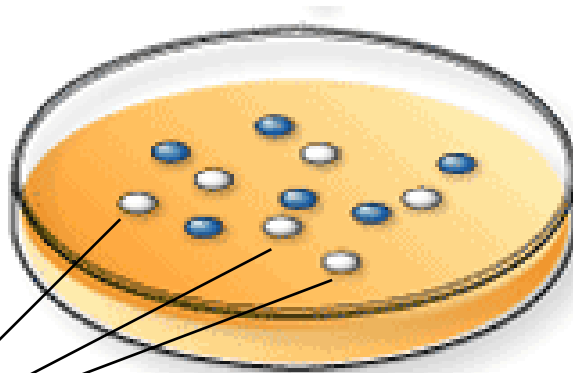


## Método clássico:

**Biblioteca Genômica:** coleção de clones de DNA representando o genoma de um organismo

**Biblioteca de cDNA:** coleção de clones com insertos de DNA complementar (cDNA), sintetizados a partir de moléculas de mRNA de uma célula

*Clone: uma coleção de moléculas ou células, todas idênticas a uma molécula ou célula original.*



Colônias brancas  
contêm moléculas de  
DNA recombinante

Clones

# BIBLIOTECAS GENÔMICAS





# CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS GENÔMICAS

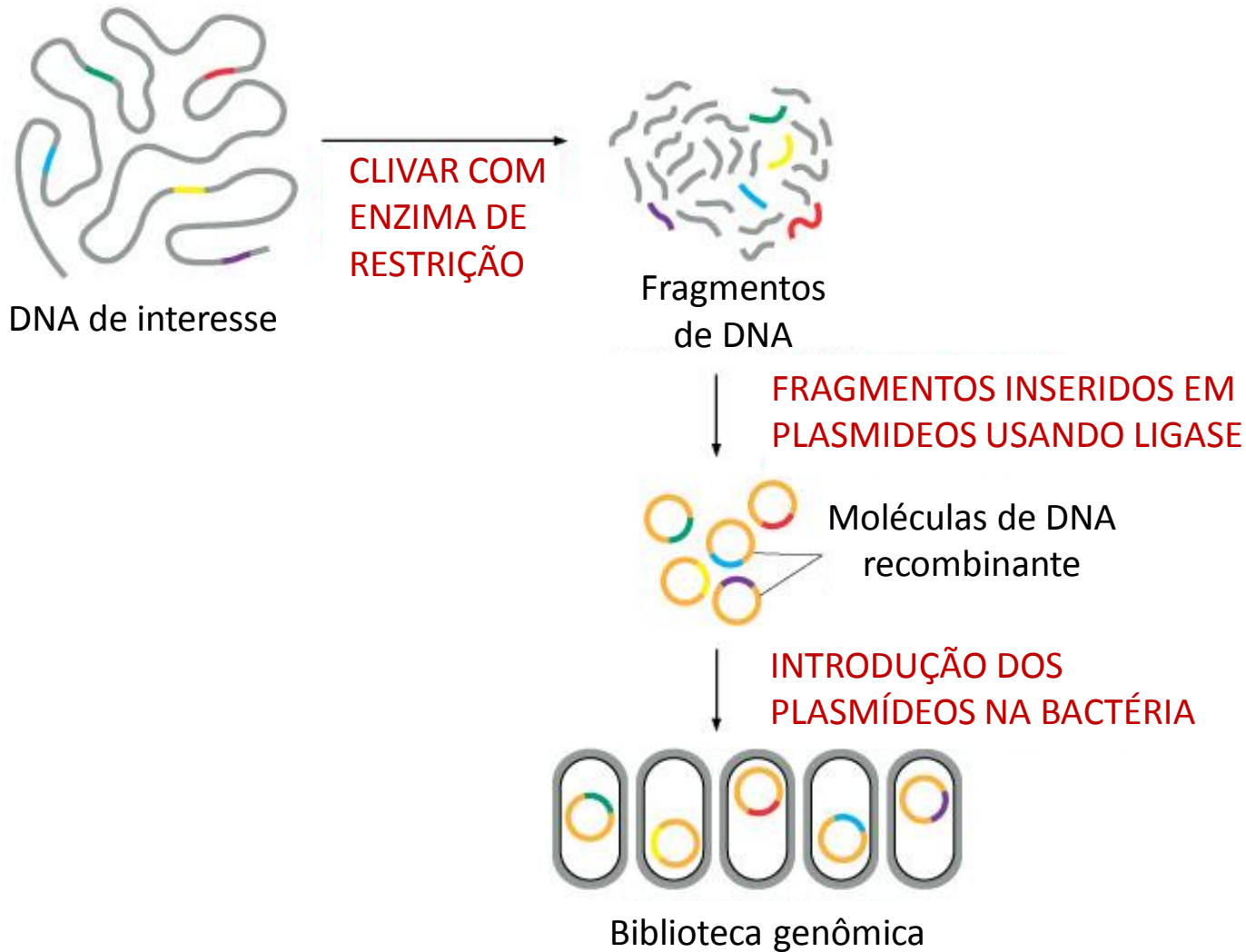
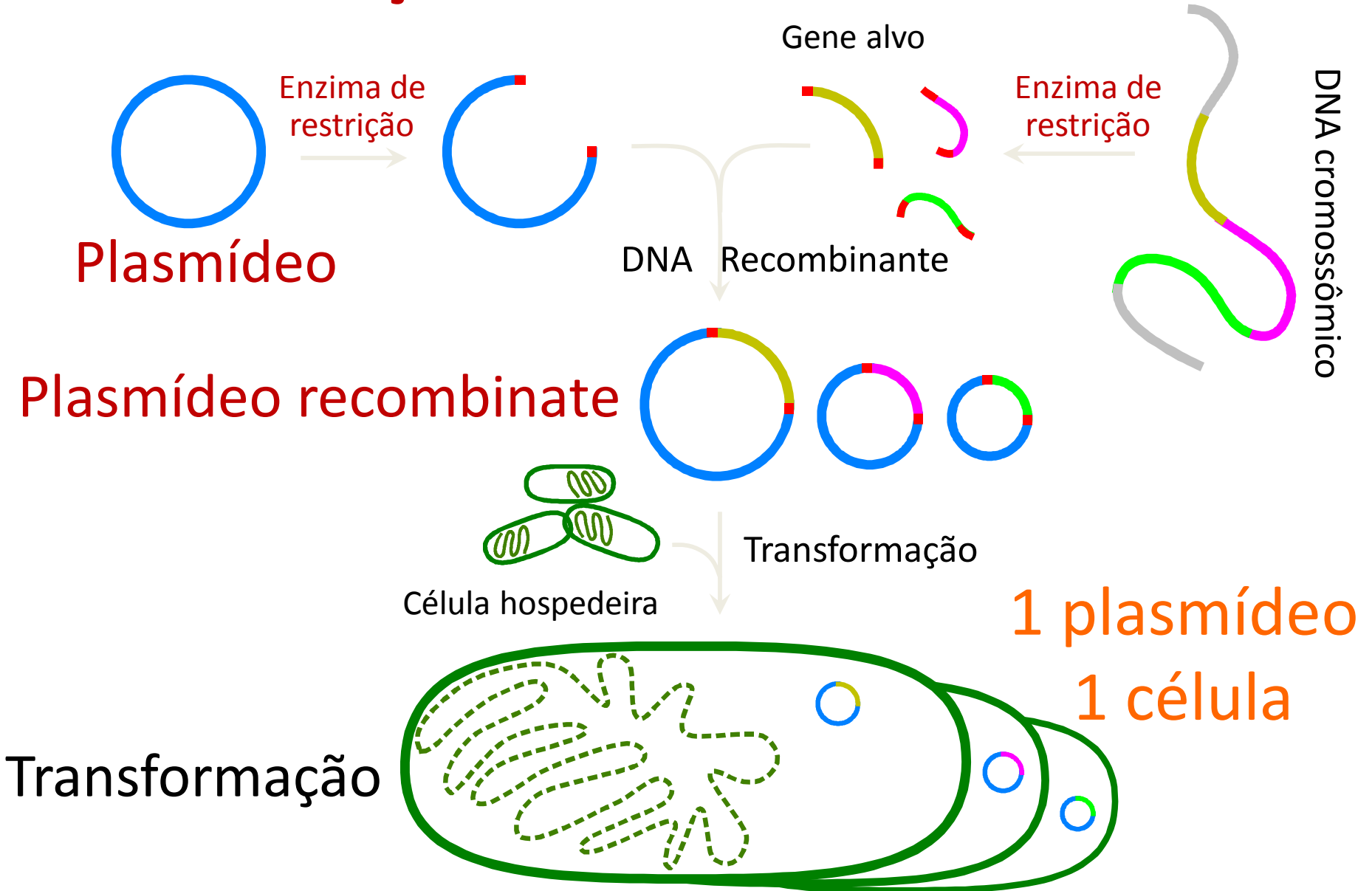
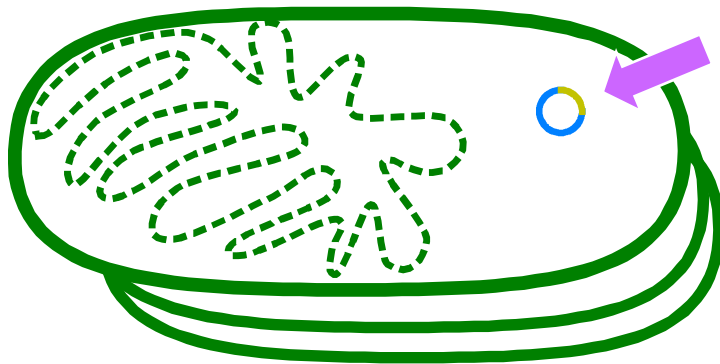


Figure 10-23 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

# CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS GENÔMICAS

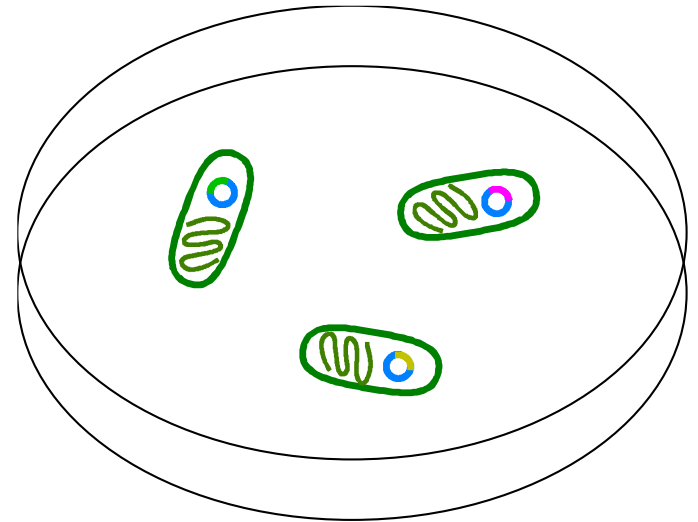


# CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS GENÔMICAS



1 célula, 1 colônia

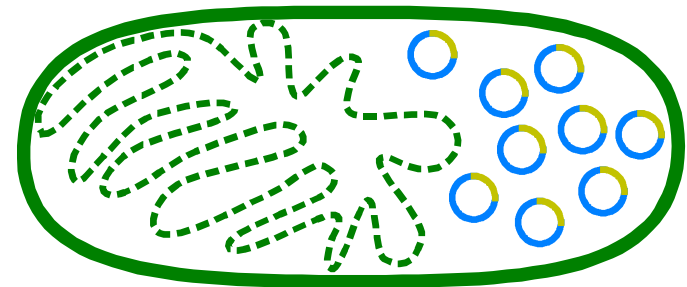
Plaquear



Duplicação do plasmídeo



Duplicação da bactéria



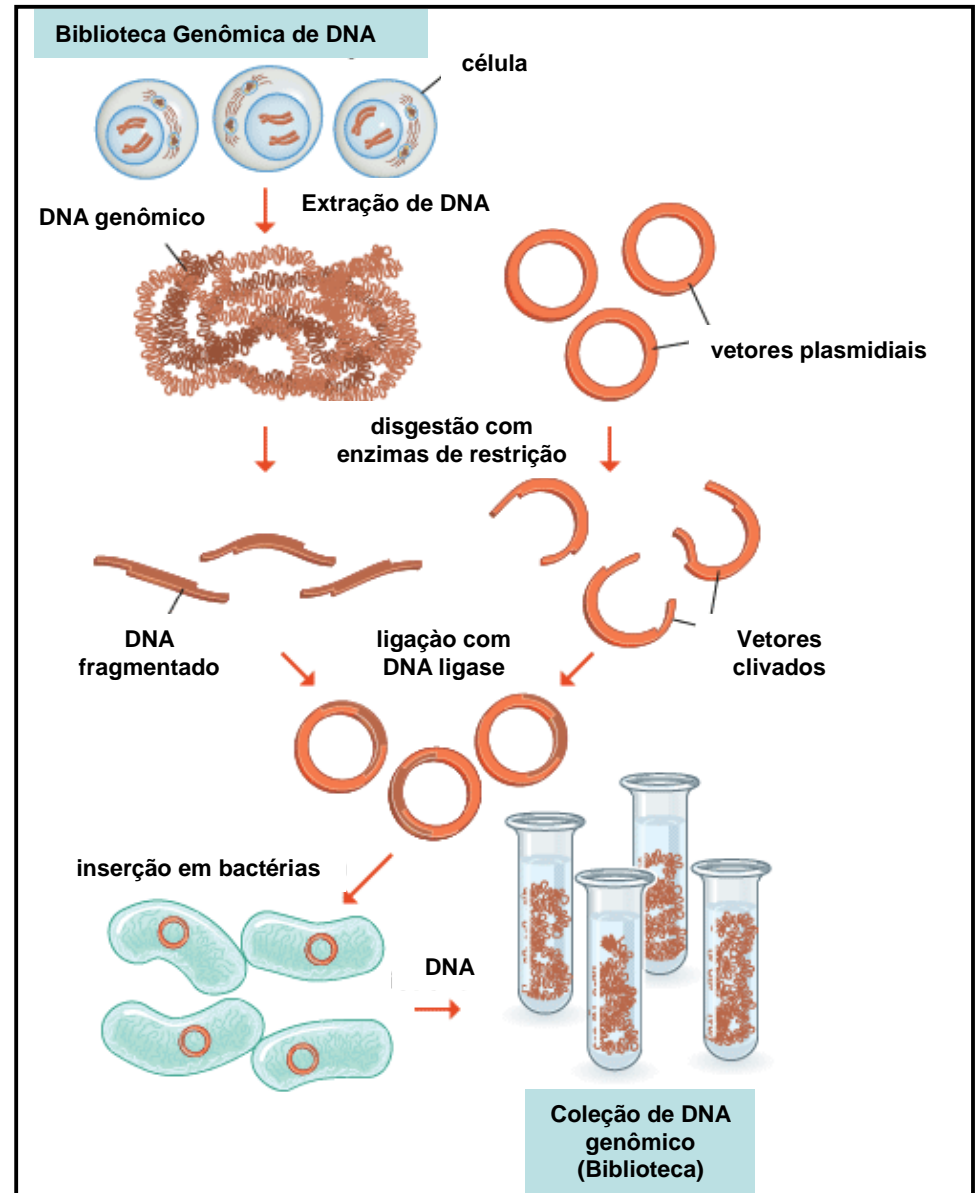
Isolar a colônia com o gene de interesse

# CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS GENÔMICAS

Esquema básico para construção de uma biblioteca genômica

## Etapas:

- 1) Extração de DNA
- 2) Fragmentação do DNA
- 3) Ligação em vetores
- 4) Inserção em bactérias
- 5) Multiplicação (clones)



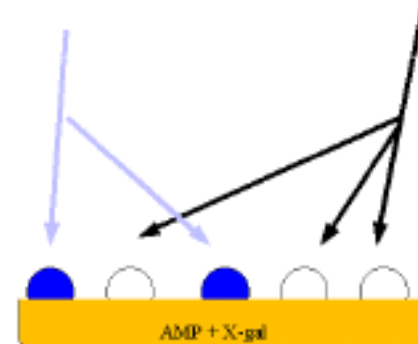
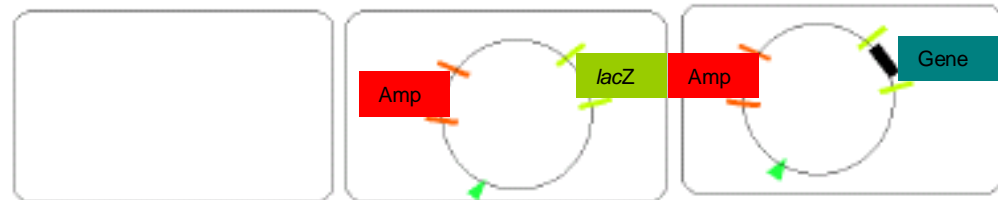
# SELEÇÃO DE CLONES TRANSFORMANTES

## Célula bacteriana

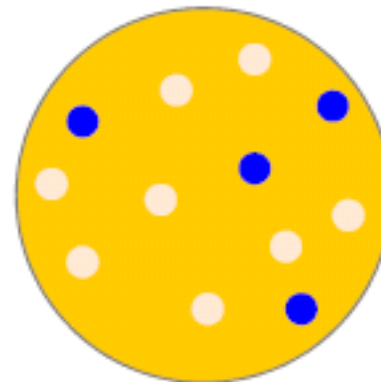
Transformação

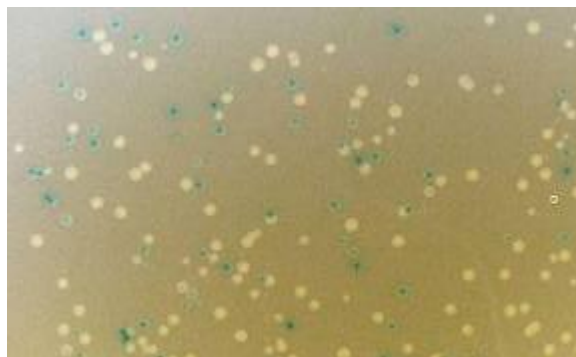
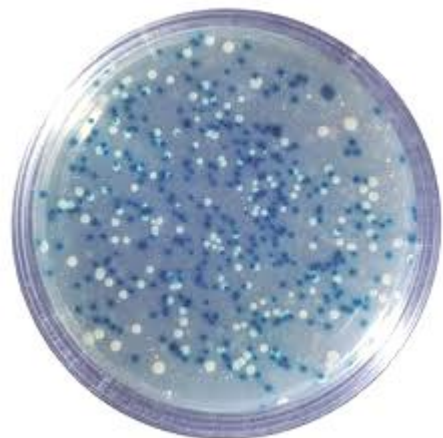


3 possibilidades

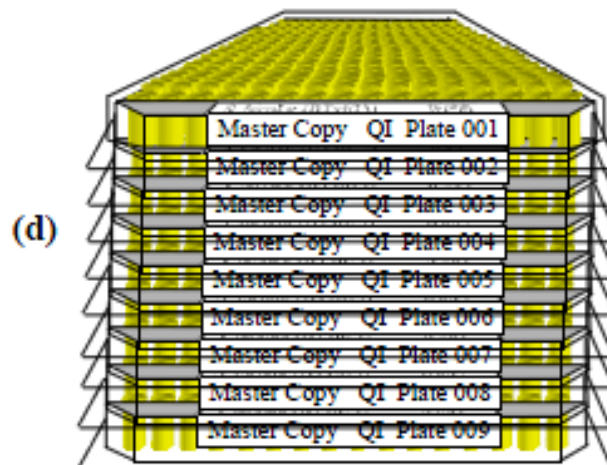
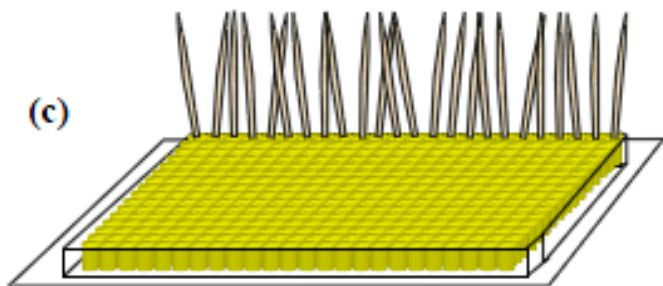
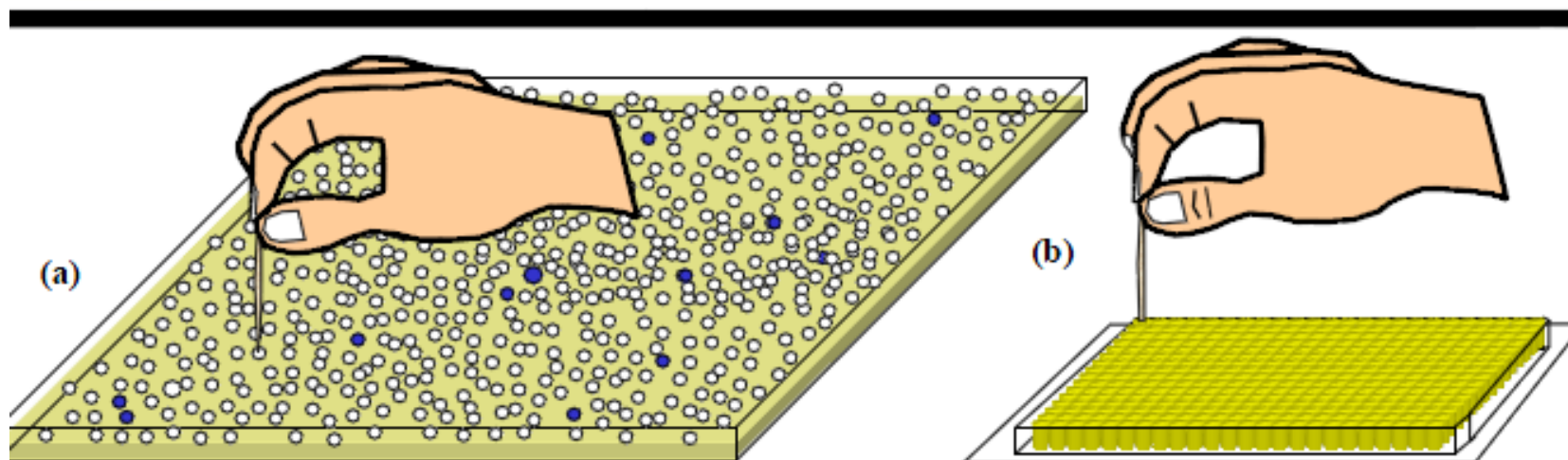


Clones com e  
sem insertos

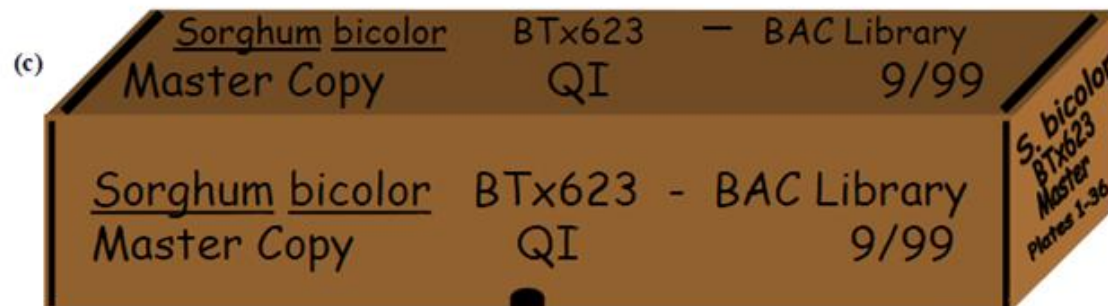
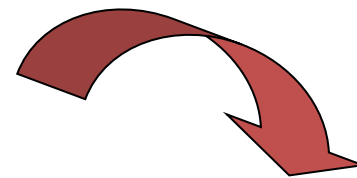
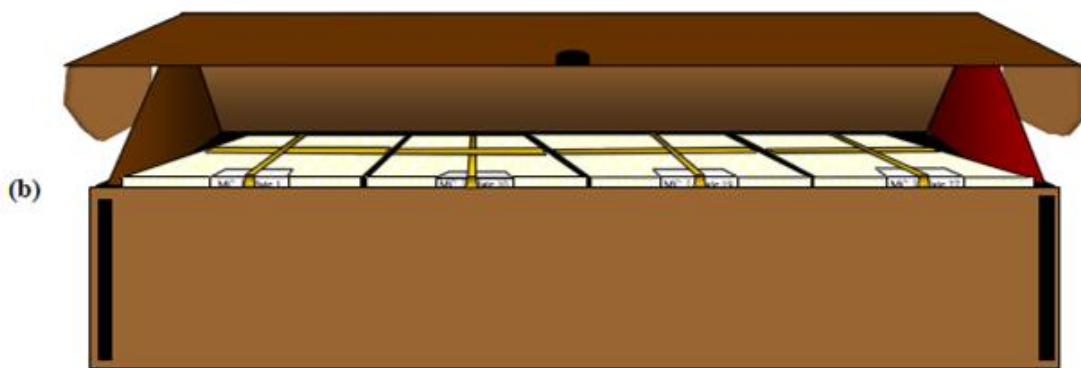
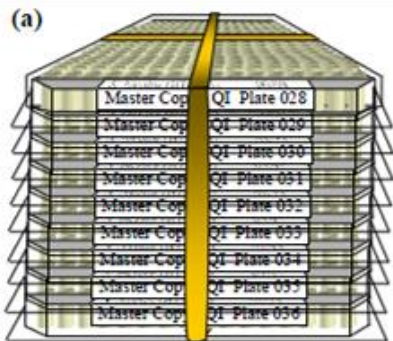




# Construção de Bibliotecas Genômicas



# CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS GENÔMICAS



DG Peterson 10/99

Freezer -80 °C



# BIBLIOTECAS DE cDNA

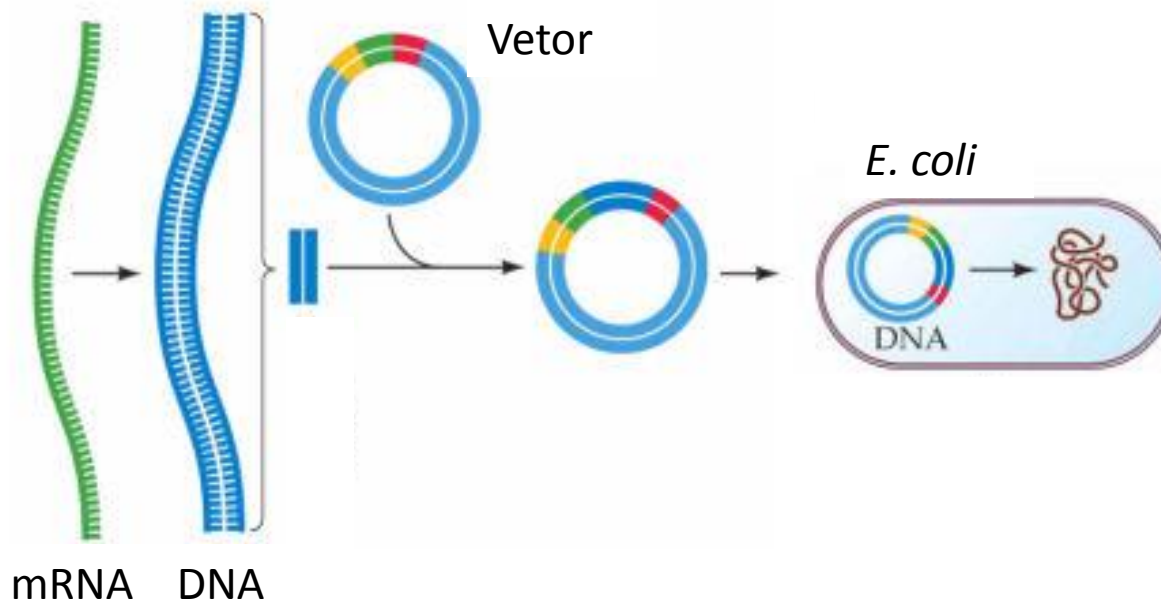




# CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS DE cDNA

**cDNA** : DNA sintetizado a partir do mRNA usando a enzima *transcriptase reversa*.

\*cDNA: DNA complementar ao mRNA



mRNA



Cauda poli (A)

# SÍNTESE DE cDNA

TTTTTT

Primer oligo (dT)



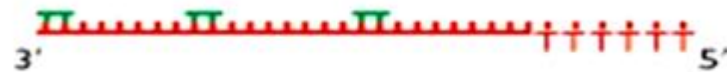
Síntese da primeira fita de DNA pela transcriptase reversa

RNA



DNA

Ribonuclease H degrada RNA



Síntese da segunda fita de DNA pela DNA polimerase I



Finalização da síntese da segunda fita de DNA



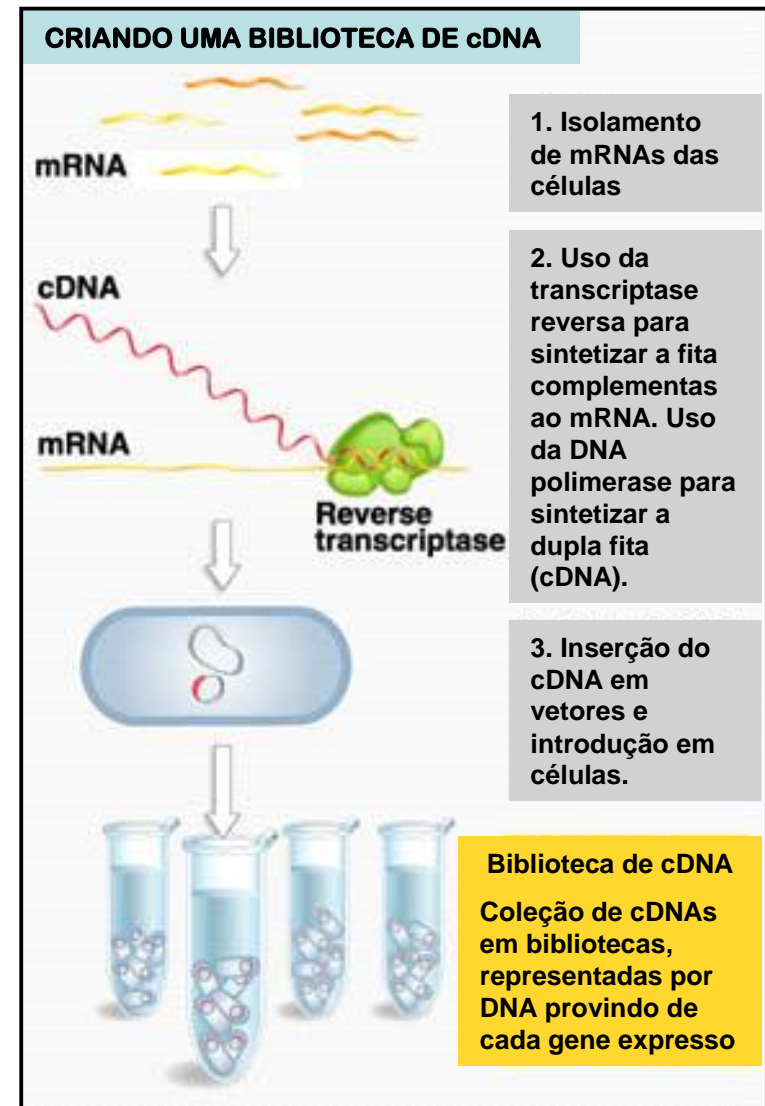
# CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS DE cDNA

Esquema básico para construção de uma biblioteca de cDNA

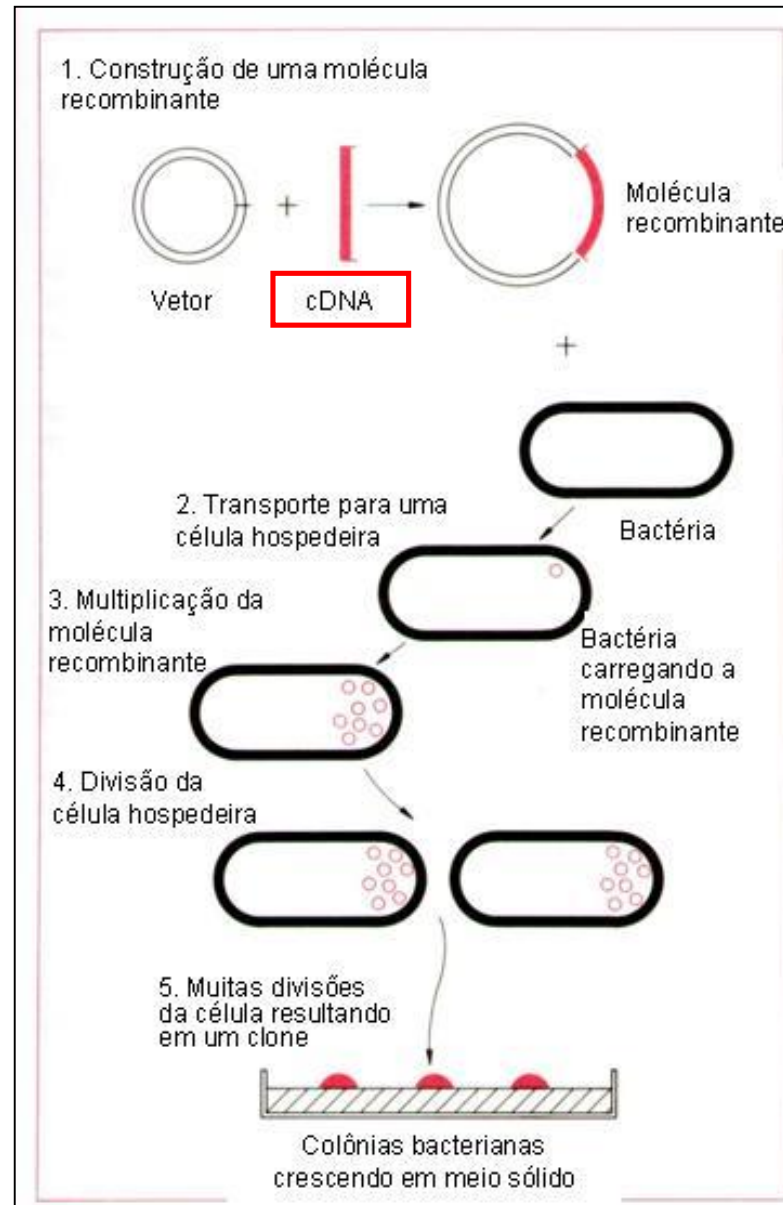
## Etapas:

- 1) Extração de **mRNA**
- 2) Síntese de **cDNA**
- 3) Ligação em vetores
- 4) Inserção em bactérias
- 5) Multiplicação (clones)

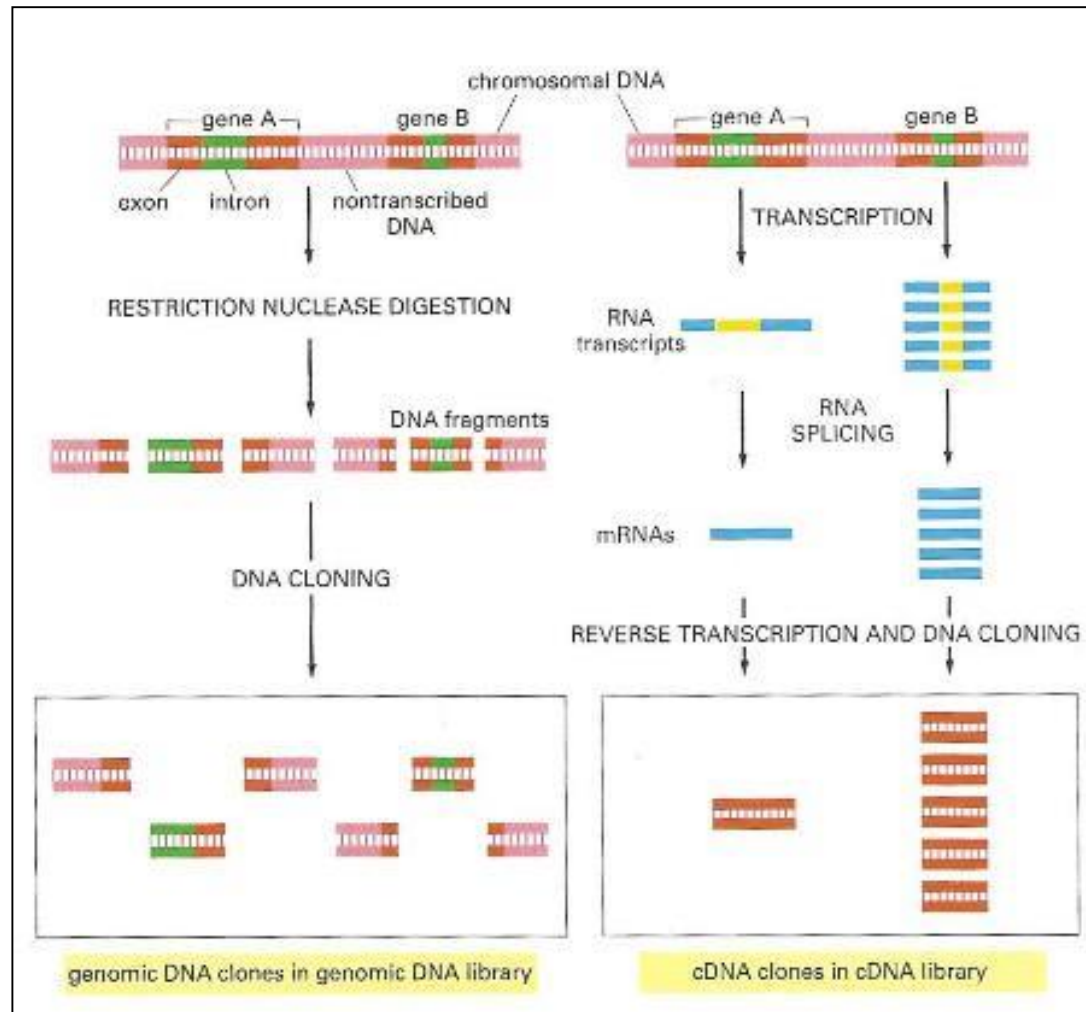
**Vantagem:** somente os genes expressos são selecionados.



# CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS DE cDNA



# BIBLIOTECA GENÔMICA X BIBLIOTECA DE cDNA



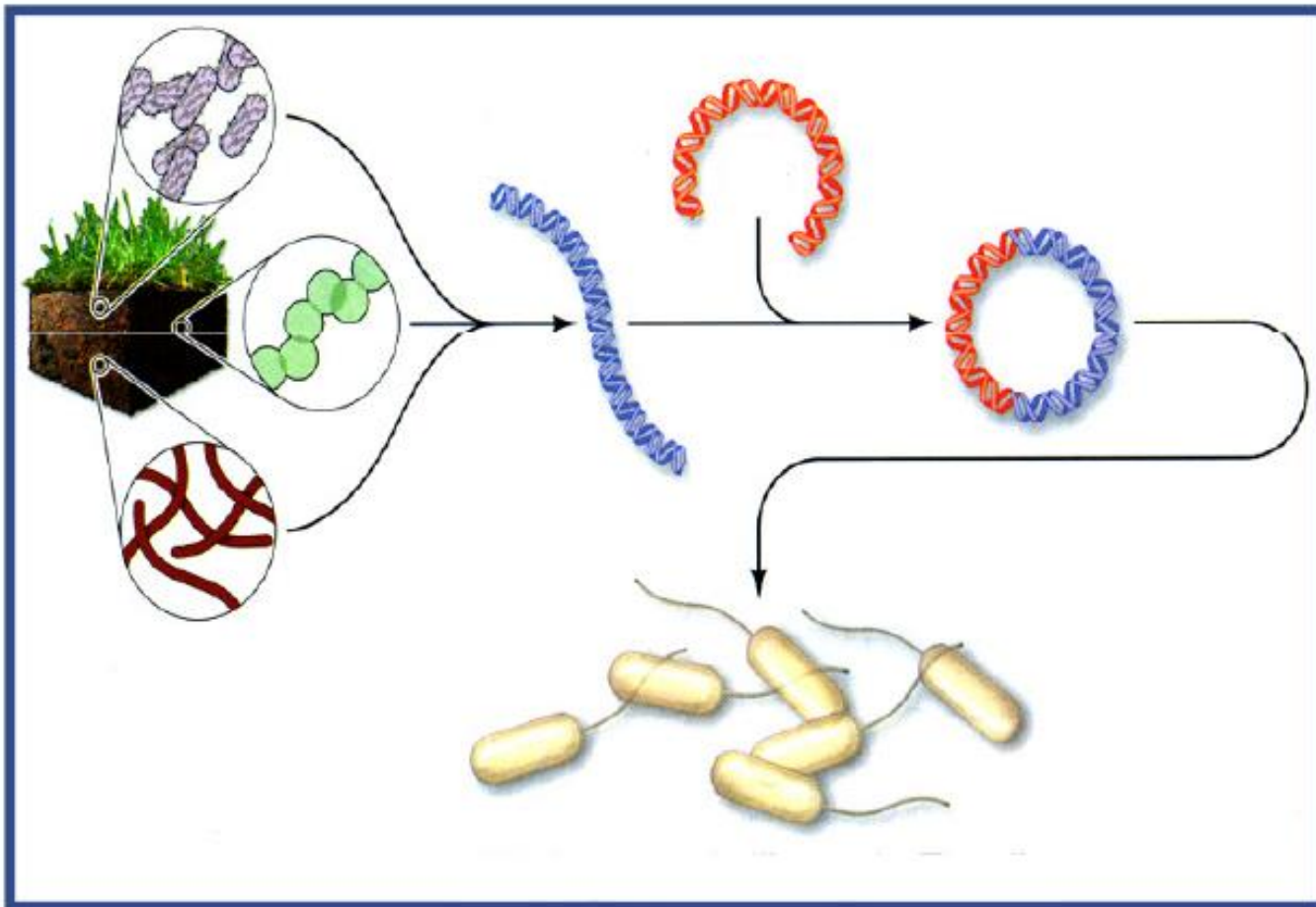
# Qual é a melhor biblioteca de DNA ou de cDNA?



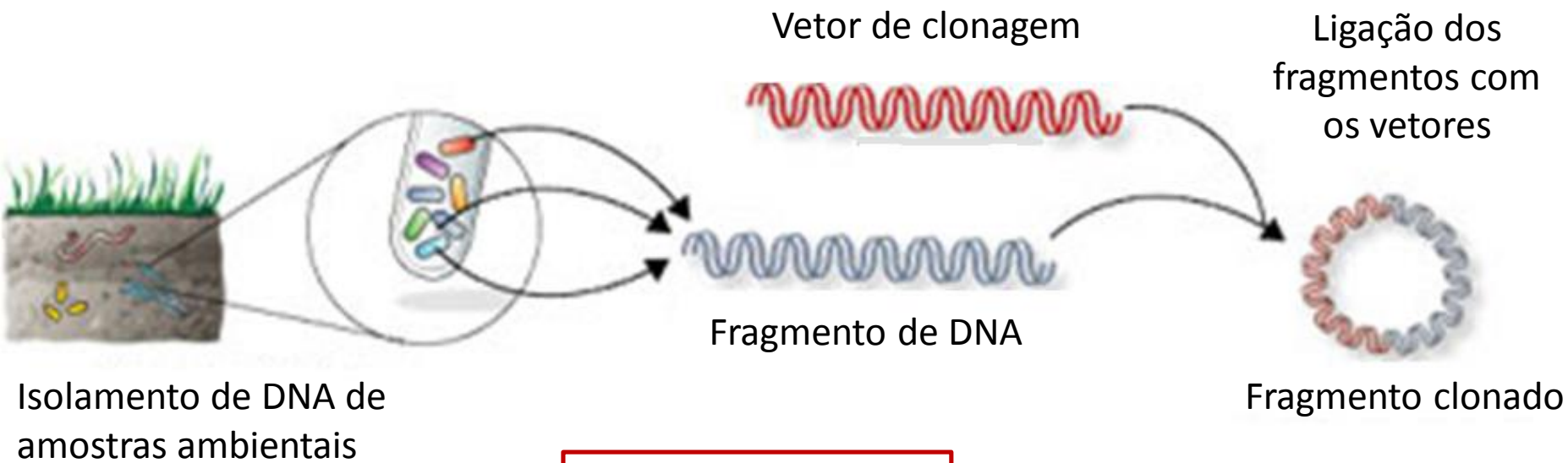
**Depende de seu objetivo!**

# CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECA METAGENÔMICA

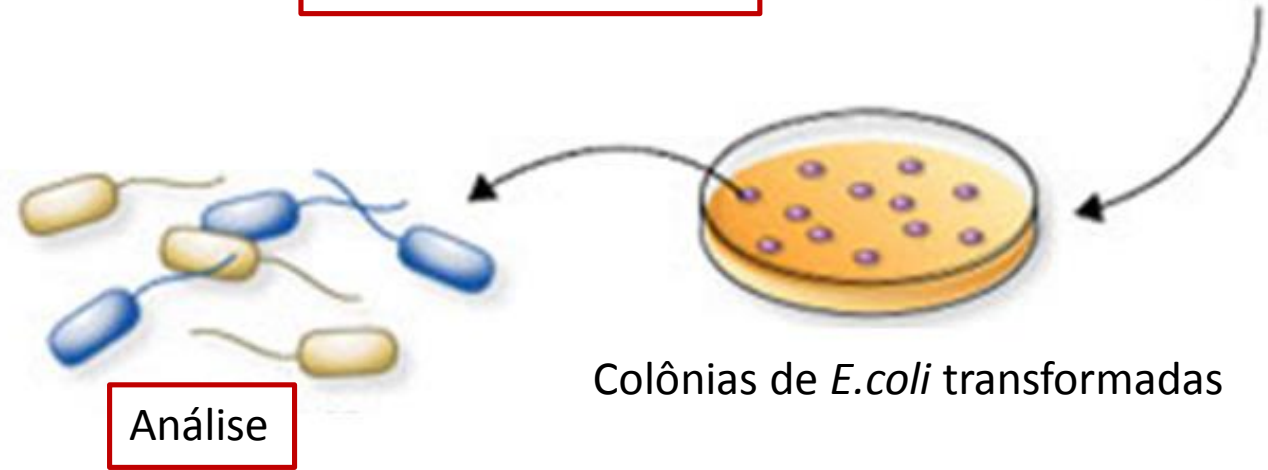
**Metagenoma** é o nome dado ao **genoma** coletivo da **microbiota** total encontrada em um determinado **habitat**.



# CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECA METAGENÔMICA

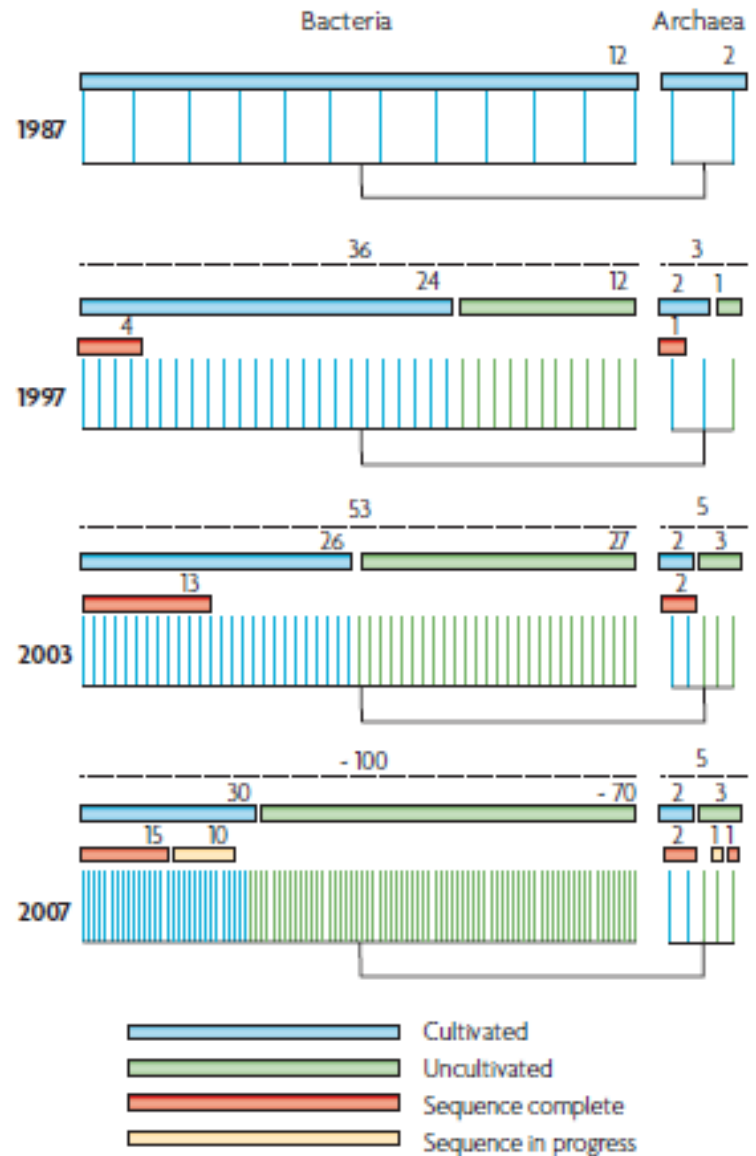


Manipulação do DNA





Dado desatualizado...muito mais em andamento...



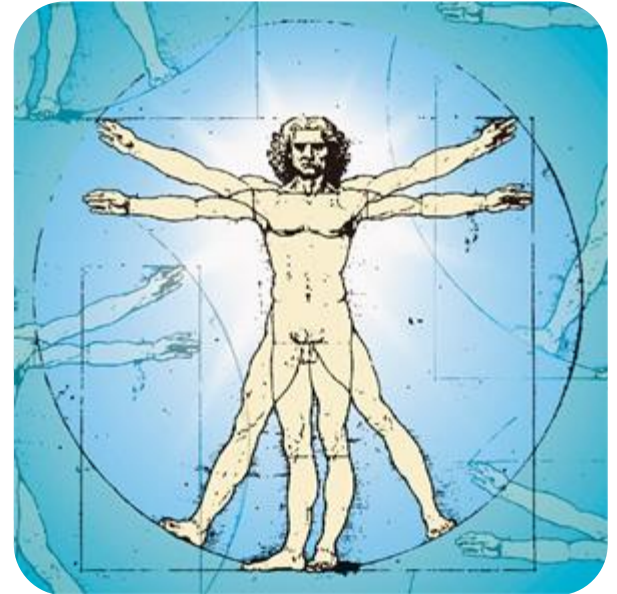
# COMPLEXIDADE MICROBIANA



***10<sup>9</sup> células microbianas  
por grama***

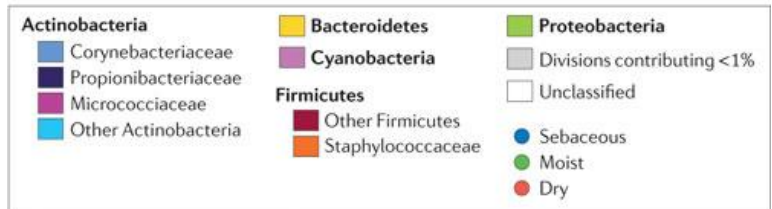
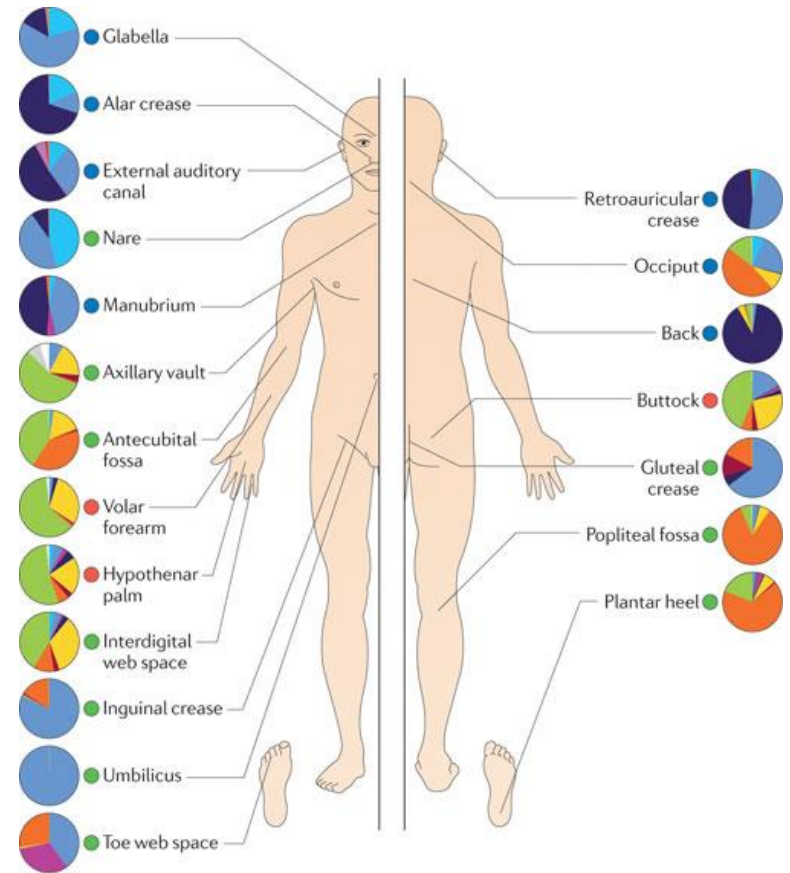


***10<sup>8</sup> células  
microbianas por mL***



***Mais células microbianas do  
que células humanas***

# MICROBIOMA

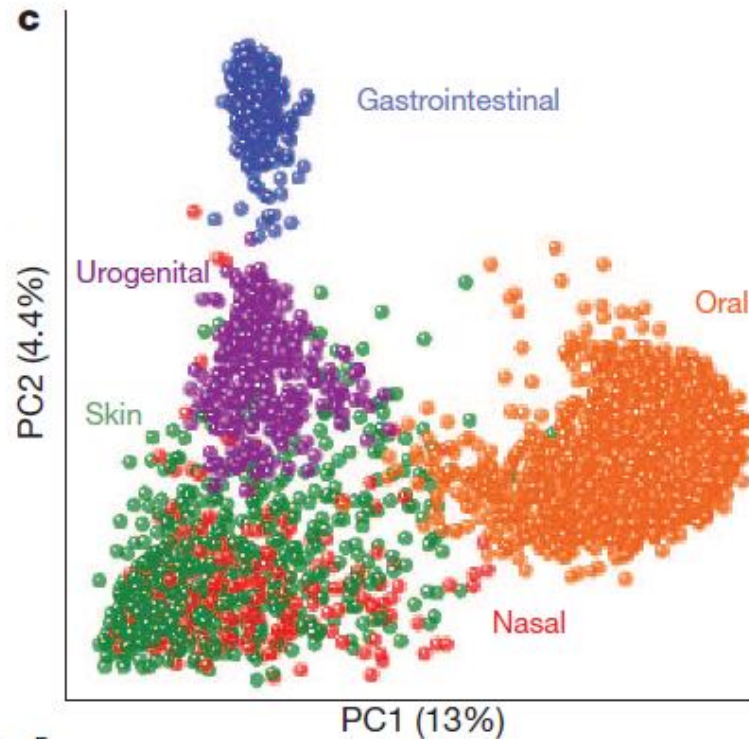


# MICROBIOMA

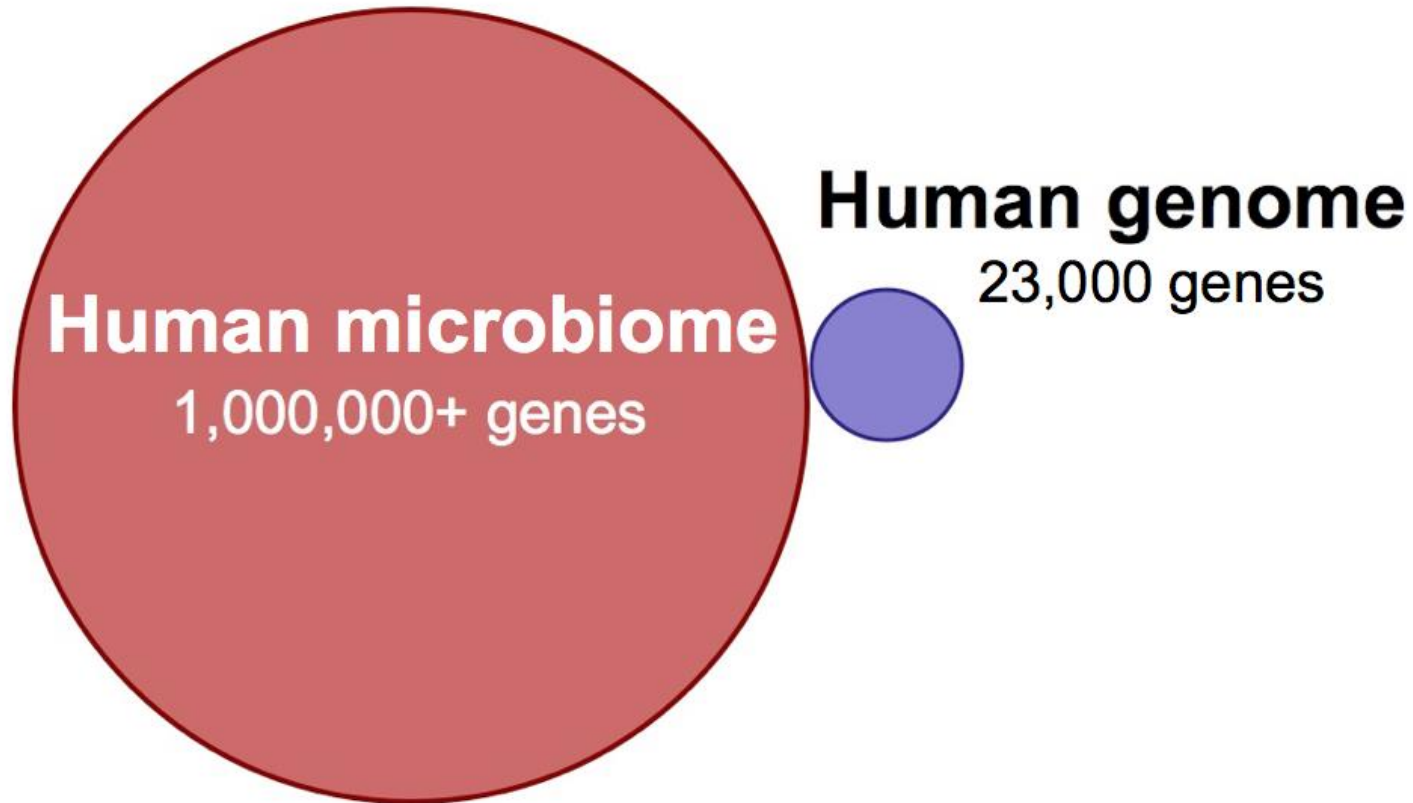


## Structure, function and diversity of the healthy human microbiome

The Human Microbiome Project Consortium\*



# MICROBIOMA



# MICROBIOMA



# MICROBIOMA



 earth  
microbiome project



# Why we need a National Living Soil Repository

Daniel K. Manter<sup>a</sup>, Jorge A. Delgado<sup>a,1</sup>, Harvey D. Blackburn<sup>b</sup>, Daren Hamel<sup>c</sup>, Adalberto A. Pérez de León<sup>d,e</sup>, and C. Wayne Honeycutt<sup>f</sup>

Soils are the keystone of healthy and vibrant ecosystems, providing physical, chemical, and biological substrates and functions necessary to support life. In particular, it's the extensive and elaborate matrix of soil microorganisms and other life forms that contributes to soil health and utility.

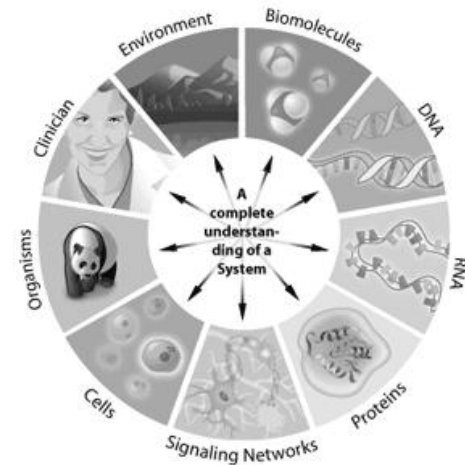
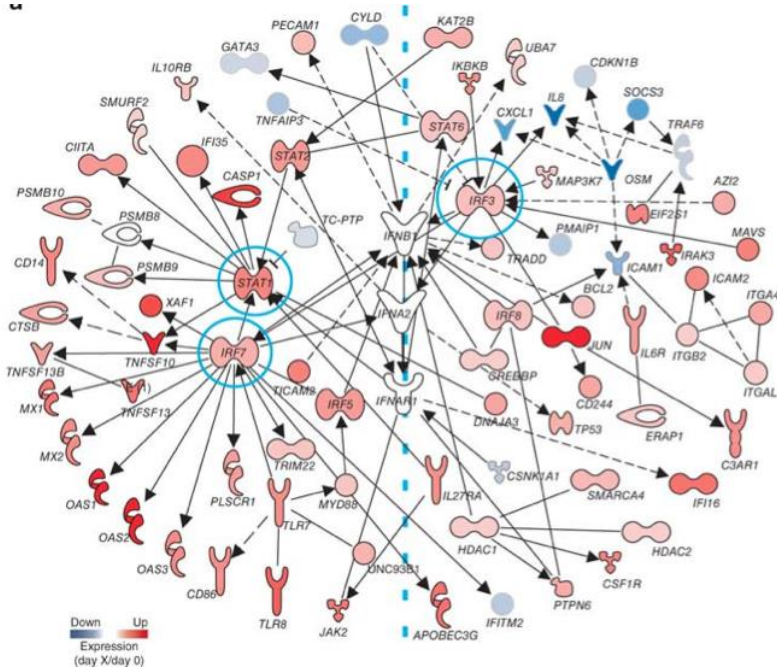
But soils are under constant threat from heavy use, changing climate, and in some cases poor management (1, 2). In view of soil's key role and threatened status, we believe that there is a need for the scientific community to undertake coordinated research and development efforts that will lead to a unique asset: a National Living Soil Repository (Fig. 1).

Already local and national soil archives have been shown to be of great utility for studying, analyzing, and documenting long-term environmental and ecological trends. For example, the historical soil archive at Hubbard Brook helped researchers discover the link between fossil fuels and acidification of rain and snow (3); the Rothamsted Sample Archive in the United Kingdom has shown a steady increase in dioxins during the last century (4). And yet, a soil repository/archive designed to preserve native biological diversity does

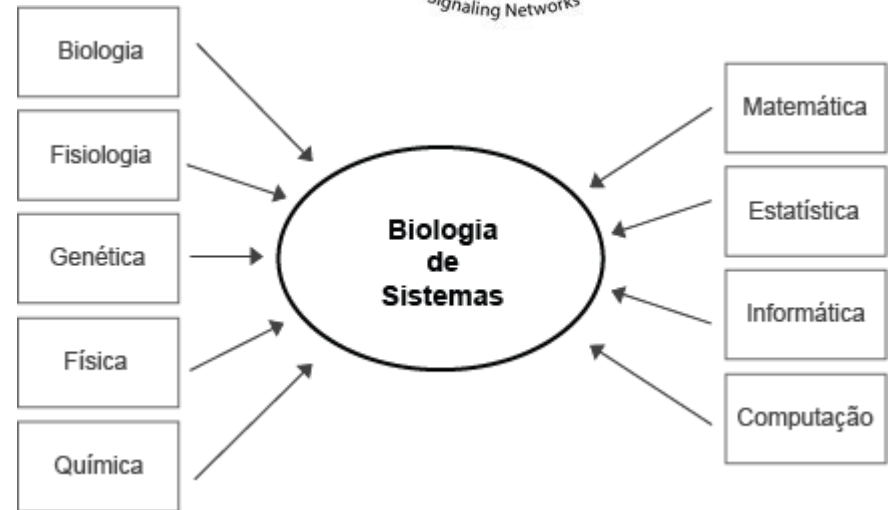




# O GRANDE DESAFIO: VISÃO TRADICIONAL X HOLÍSTICA



**Biologia de Sistemas!**



# ESTUDO DIRIGIDO

1. Conceito de ômicas;
2. Construção de biblioteca genômica;
3. Construção de biblioteca cDNA;
4. Conceito de metagenômica.

Sugestão de vídeo:

<https://www.youtube.com/watch?v=i-icXZ2tMRM>

**Capítulo 12 – Genômica- A revolução na análise dos genes**

**Capítulo 13 – Transcriptômica e Proteômica**

Menck, C.F.M.; Van Sluys, M.A. **Genética Molecular Básica: dos genes aos genomas.**

Editora Guanabara Koogan, 2017.

Documento Embrapa 284 – Metagenoma do solo do cerrado

