

LGN0232 - Genética Molecular

**Estudos das “Ômicas”:
Genômica x Transcritômica e
Metagenômica**

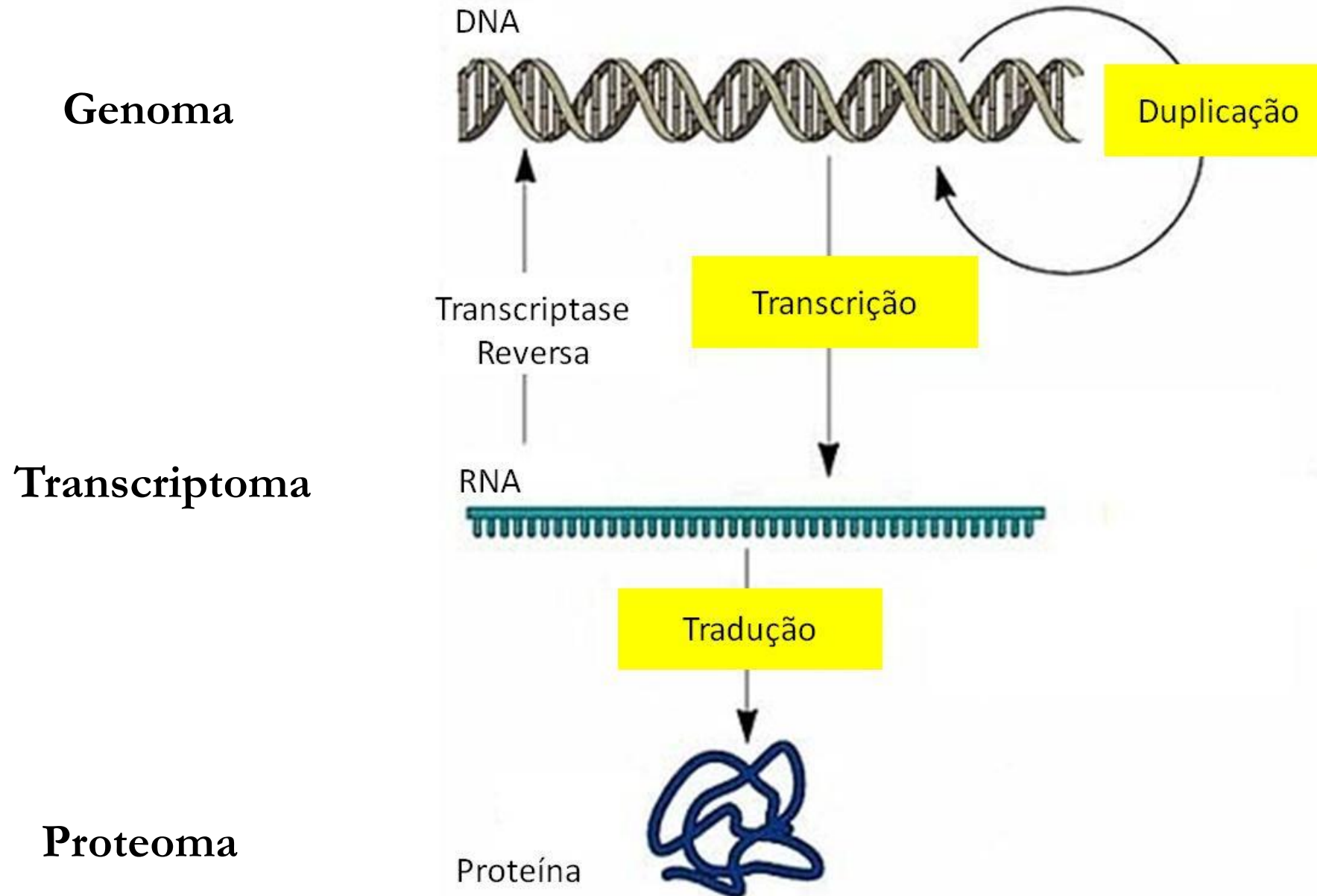
6^a aula

Antonio Figueira

CENA

figueira@cena.usp.br

Dogma Central da Biologia Molecular



O que seria Ômica?

O que seria Ômica?

Todos os constituintes considerados coletivamente

Gene – Genoma (Genomic)

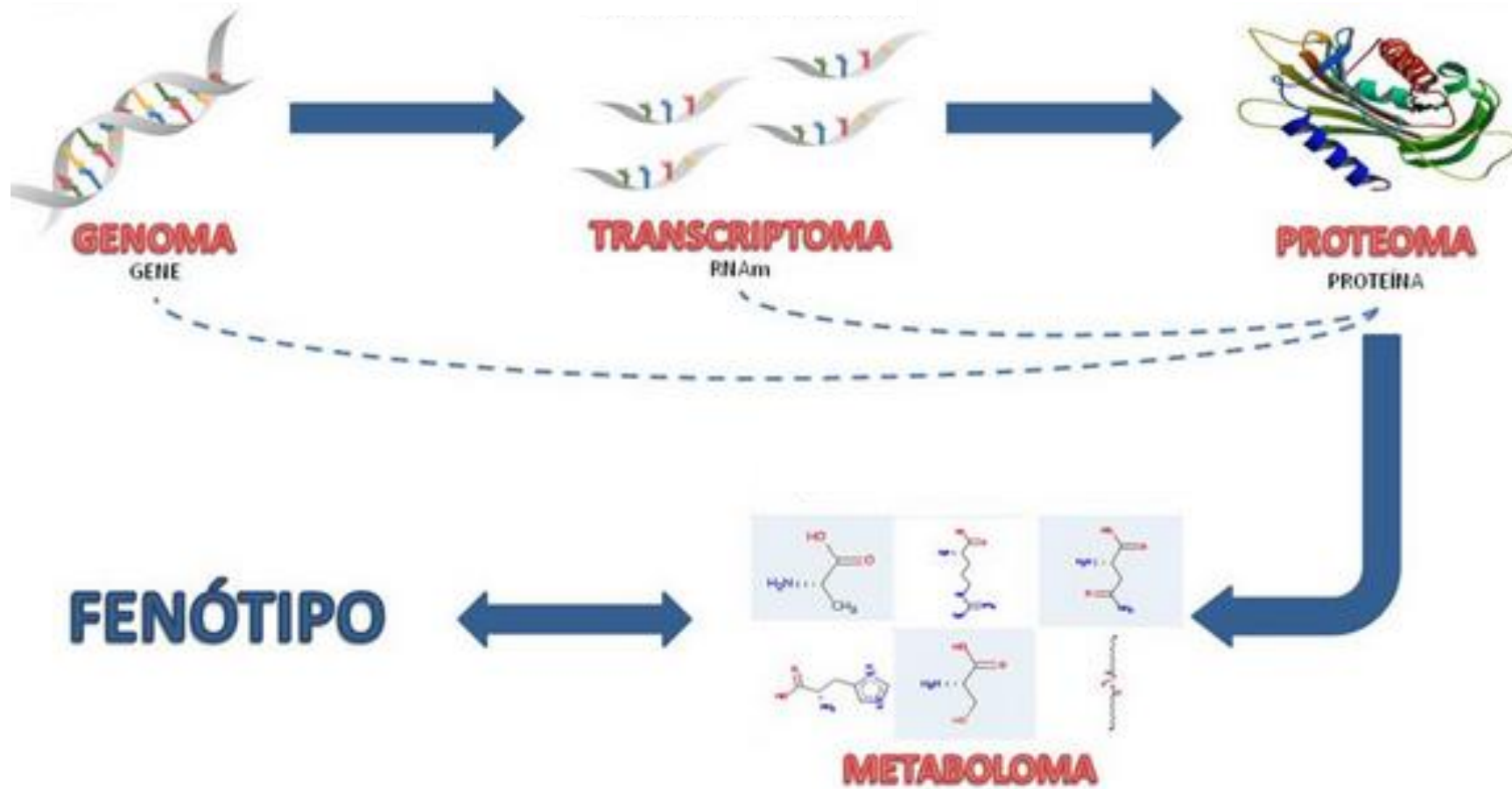
Transcrito – Transcritoma (Transcriptomic)

Proteína – Proteoma (Proteomic)

...



O que seriam Ômicas?



E há mais: epigenoma, lipidoma, interactoma, etc...

	Name	Target
Genomics	Genomics	Genes (DNA sequence)
	Epigenomics	Modification of DNA and DNA-binding proteins
Transcriptomics ¹	Transcriptomics	mRNA
	ncRNAomics	non-coding RNA (including microRNA)
Proteomics	Proteomics	Proteins
	Phosphoproteomics	Protein phosphorylation
	Localizomics ²	Protein localization
	Fluxomics ²	Protein flux
	Interactomics ²	Protein-protein interaction
	Structural Proteomics	Protein structure
	Metabolomics	
Metabolomics	Metabolomics	Metabolites
	Lipidomics	Lipids
	Aminomics	Amino acids
Others	Glycomics	Sugar chains
	Cytomics	Cells
	Populomics	Human population
	Exposomics	Environmental exposure ³

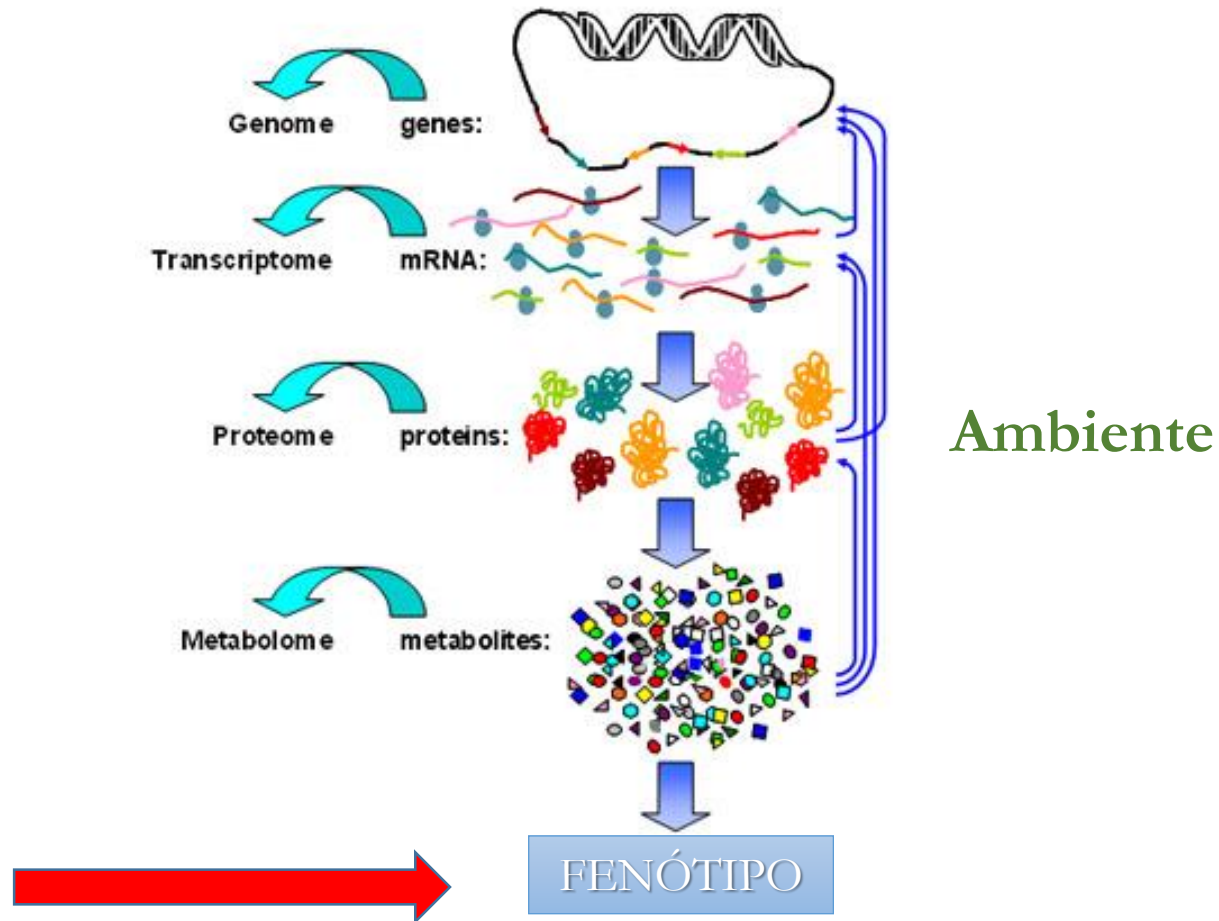
Four major categories and their subcategories are shown.

¹ Transcriptomics can be regarded as a subcategory of genomics.

² Corresponding omics of metabolites can also be the targets. In addition, omics analysis of protein-metabolite interaction may be possible.

³ Borrell, 2011

Avanços tecnológicos recentes permitiram o surgimento da Era das Ômicas



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

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



Diferentes estímulos podem afetar diretamente o transcritoma, o proteoma e o metaboloma.



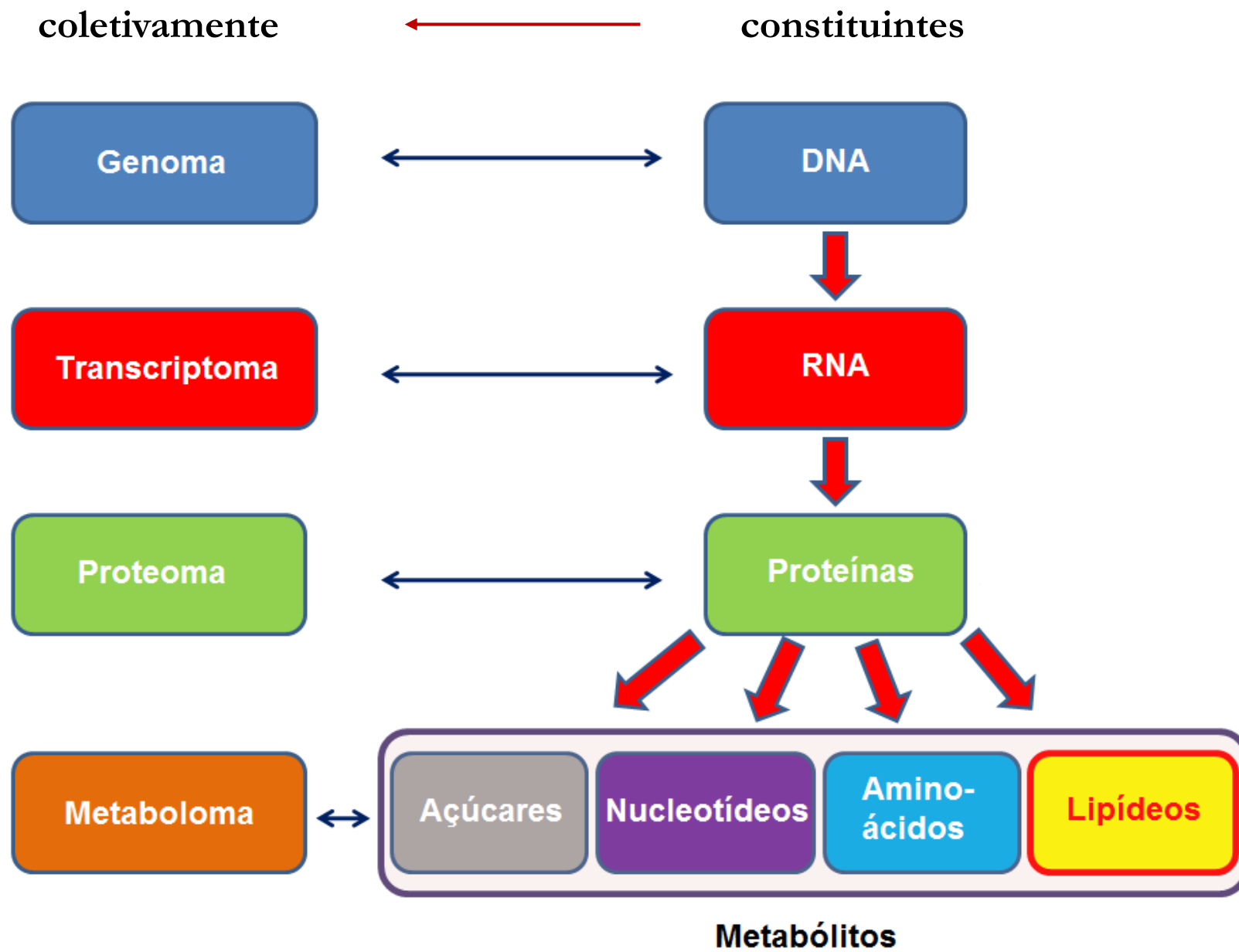
Definindo Conceitos

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**.

Transcritoma: conjunto completo de **transcritos** (RNAs mensageiros, RNAs ribossômicos, RNAs transportadores e os microRNAs) de um dado organismo, órgão, tecido ou linhagem celular. Portanto, 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 dada condição biológica

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

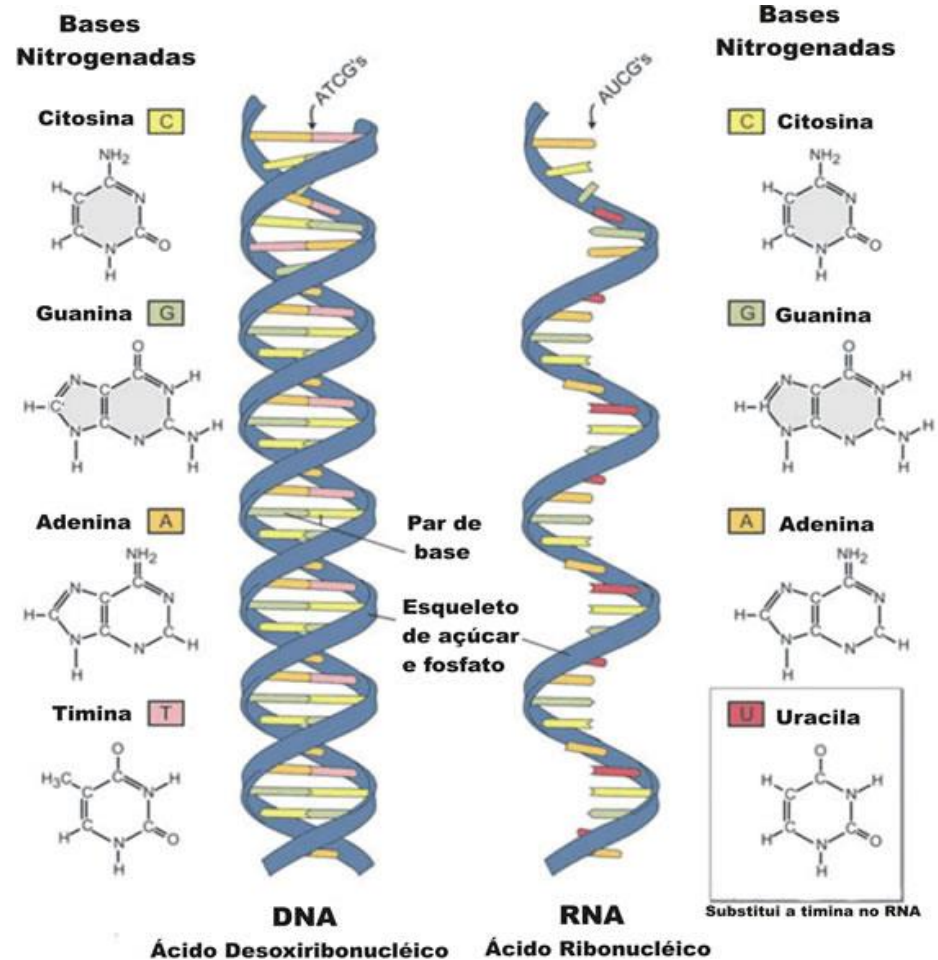


DNA e RNA

São **ácidos nucleicos**, encontrados em todas as células. Estão envolvidos na transmissão de **caracteres hereditários** e na produção de proteínas

1- O que são?

2- Qual a estrutura?



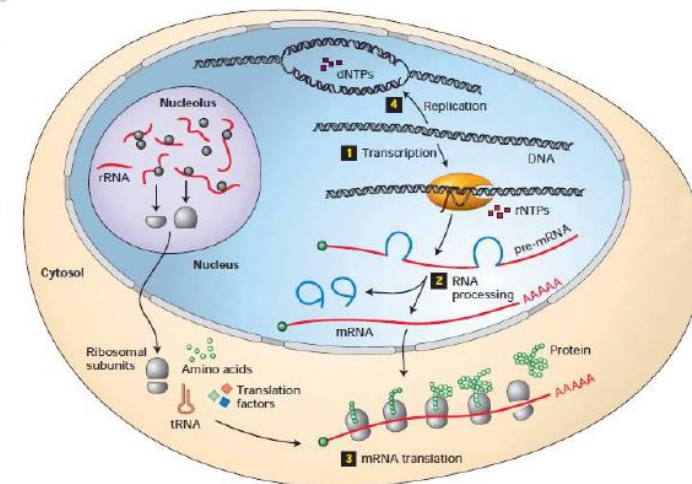
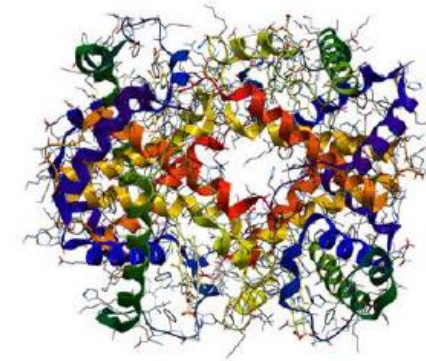
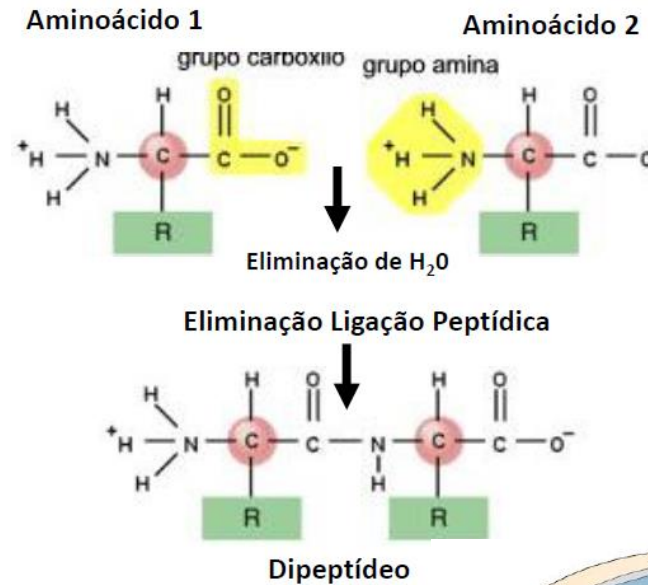
Proteínas

1- O que são?

2- Qual a estrutura?

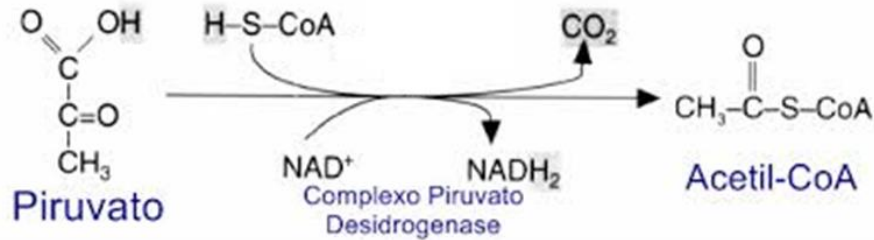
São moléculas orgânicas de estrutura complexa e Massa Molecular elevada. São sintetizados pelos organismos vivos através de ligações peptídicas covalentes entre aminoácidos.

Funções: enzimas, anticorpos, componentes estruturais



Metabólitos

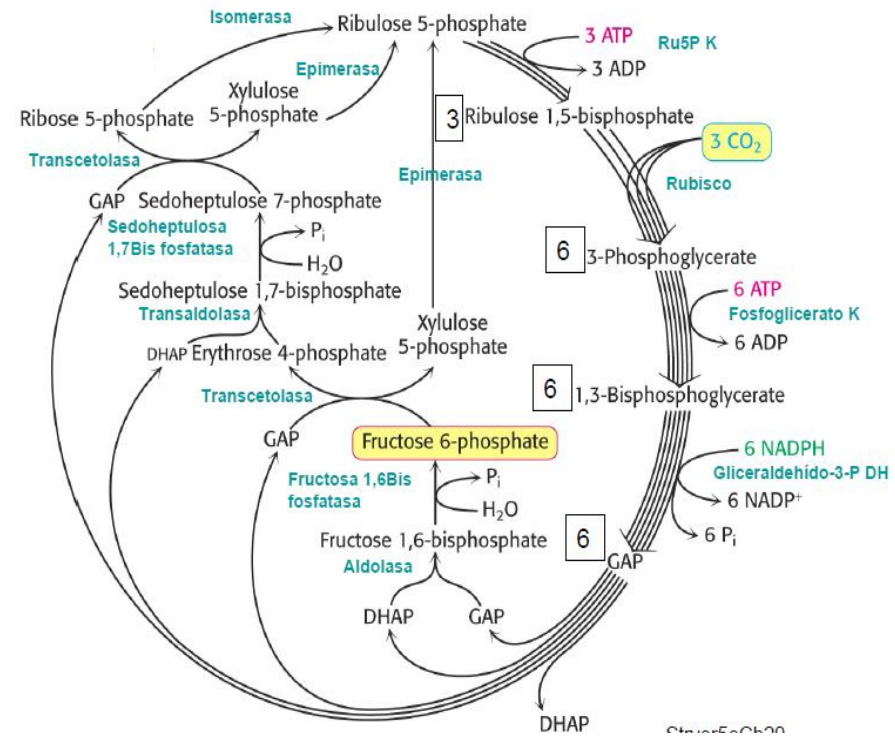
Metabólitos são os intermediários (substratos, cofatores) e produtos do metabolismo!



1- O que são?

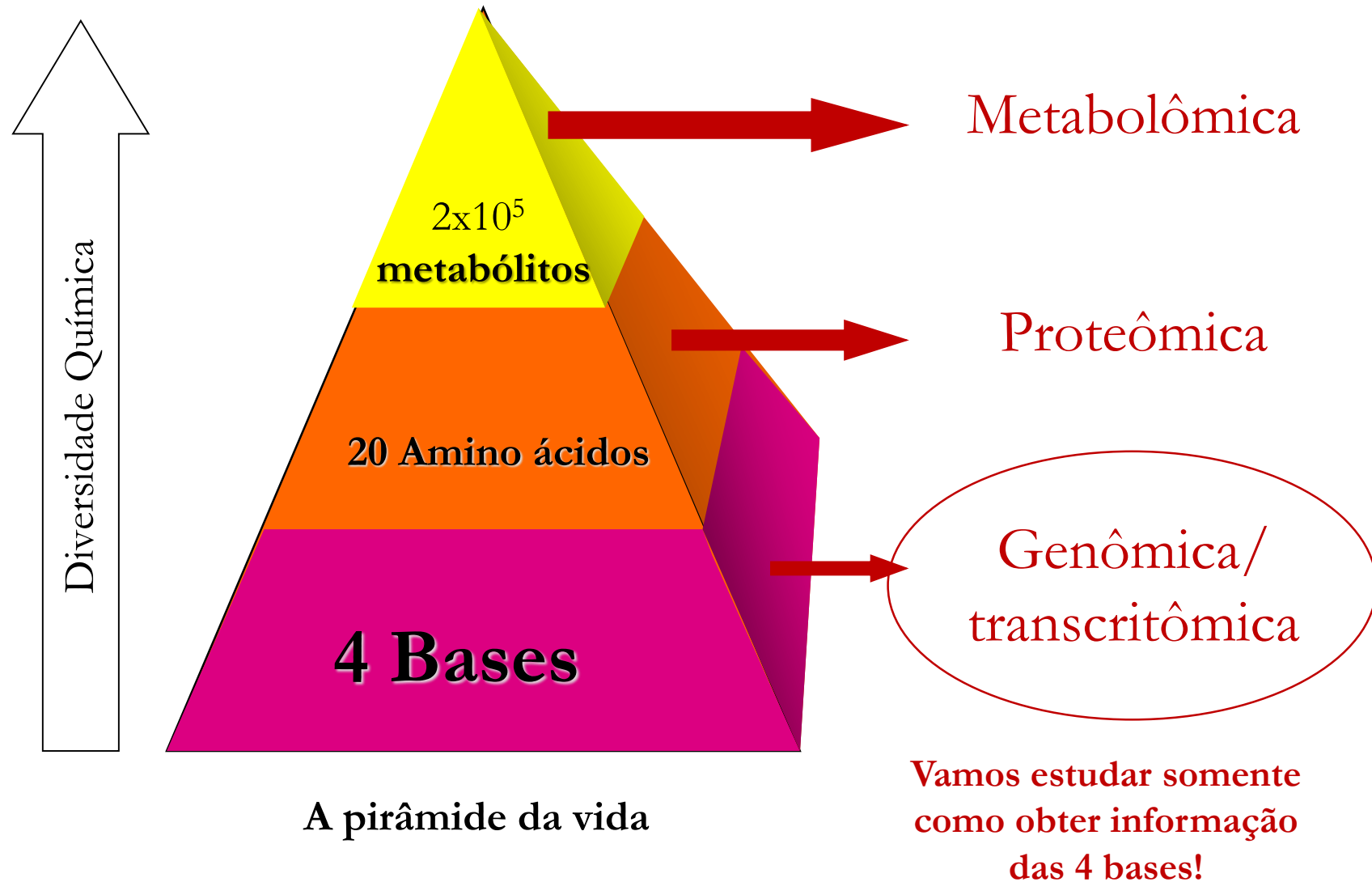
2- Qual a estrutura?

Carboidratos
Álcoois
Aminoácidos
Ácidos orgânicos
Lipídios



Ciclo de Calvin

Dificuldades do estudos de Ômicas





As ômicas: Integrando a bioinformação

O papel da bioinformática em expansão

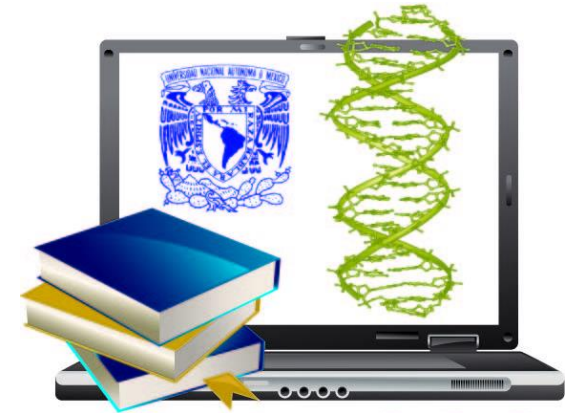
Dr. Eliseu Binneck
*Consultor/Pesquisador na área de Bioinformática
Embrapa Soja, Londrina – PR.
binneck@cnpso.embrapa.br*

Imagens cedidas pelo autor

**Como estudar o
Genoma e o Transcritoma?**

Sequenciamento de DNA e RNA

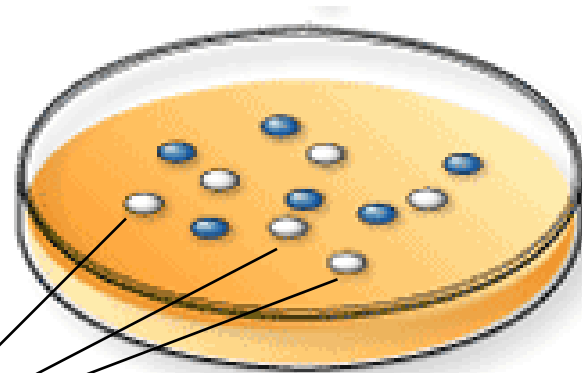
Método clássico:



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.

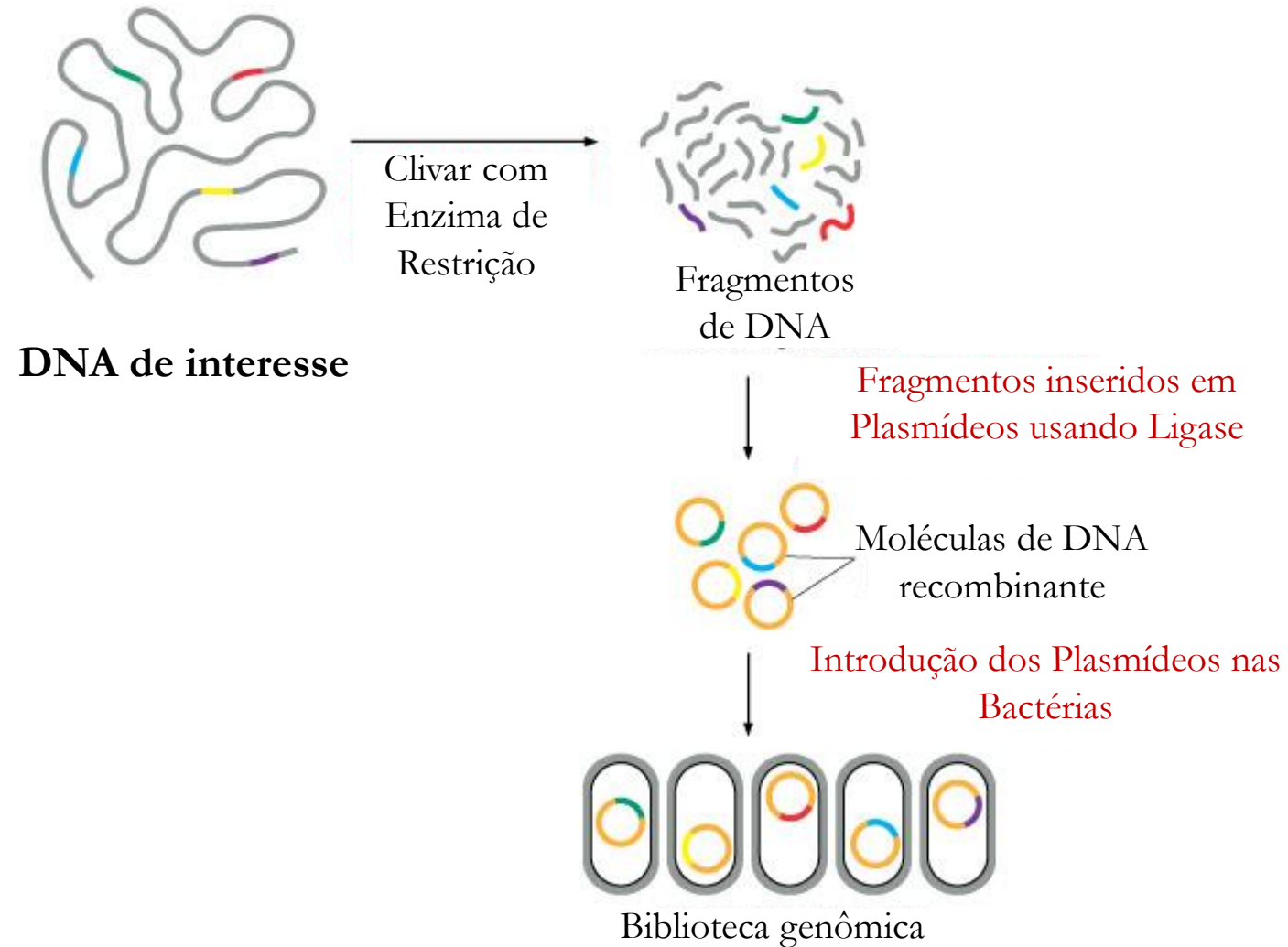


Colônias brancas
contêm moléculas de
DNA recombinante

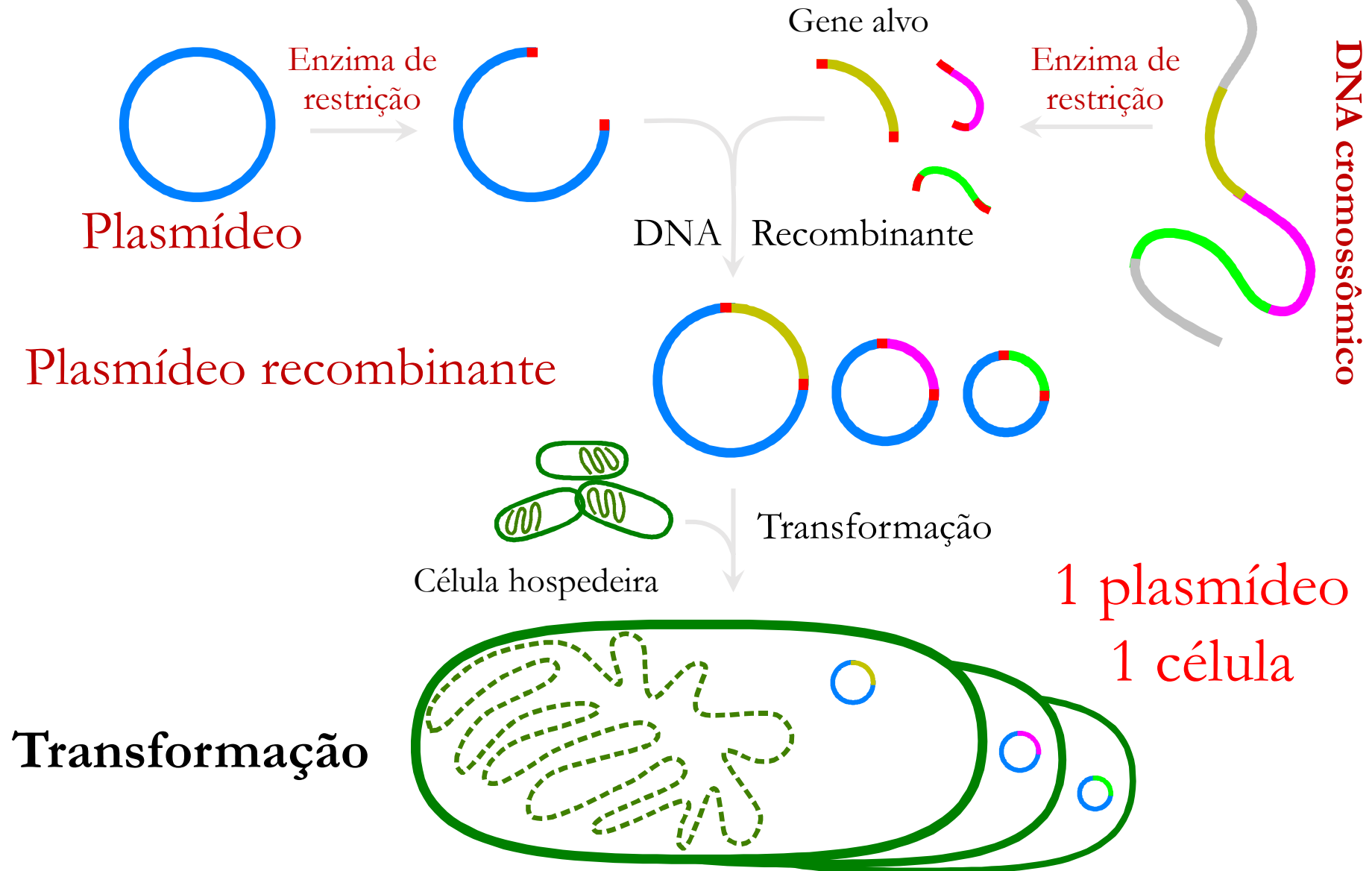
Clones

Bibliotecas Genômicas

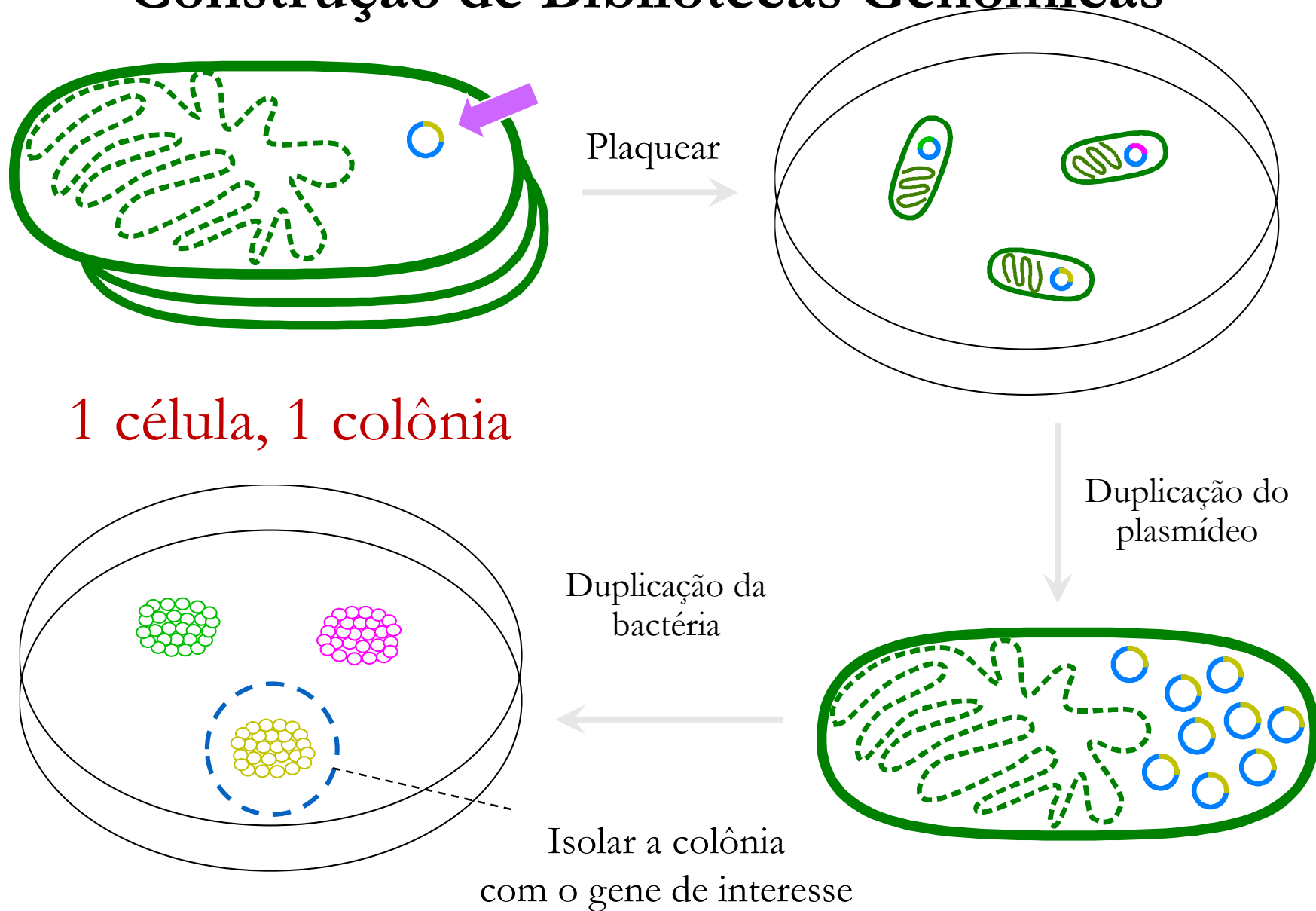
Construção de Bibliotecas Genômicas



Construção de Bibliotecas Genômicas



Construção de Bibliotecas Genômicas

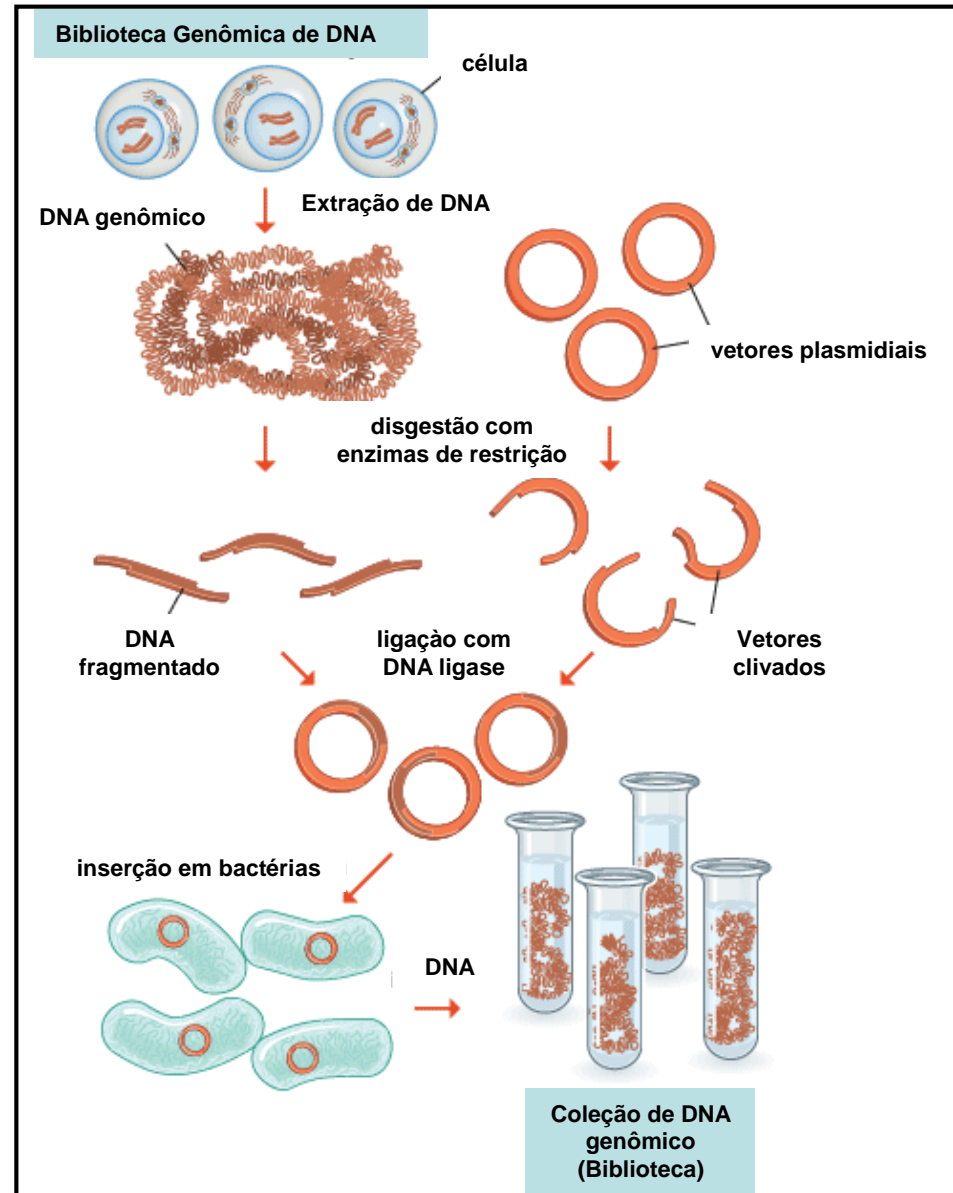


Construção de Bibliotecas Genômicas

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)



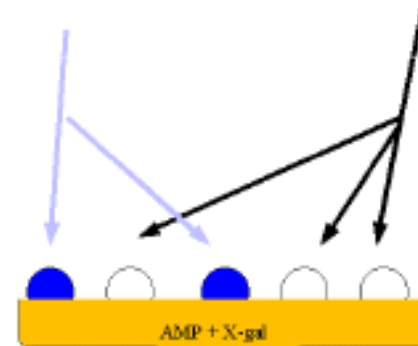
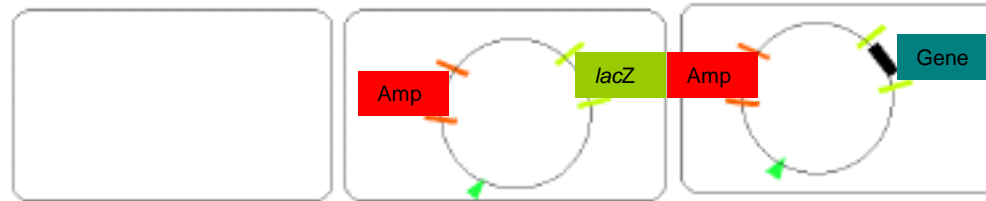
Seleção de Clones Transformantes

Célula bacteriana

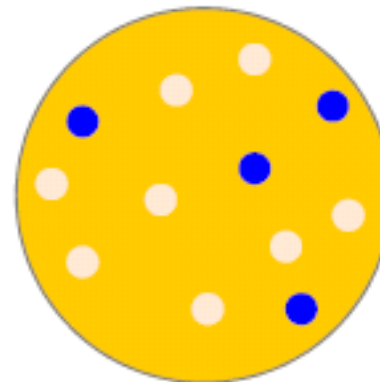
Transformação

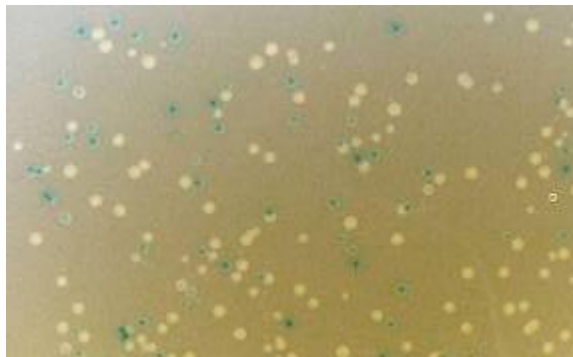


3 possibilidades

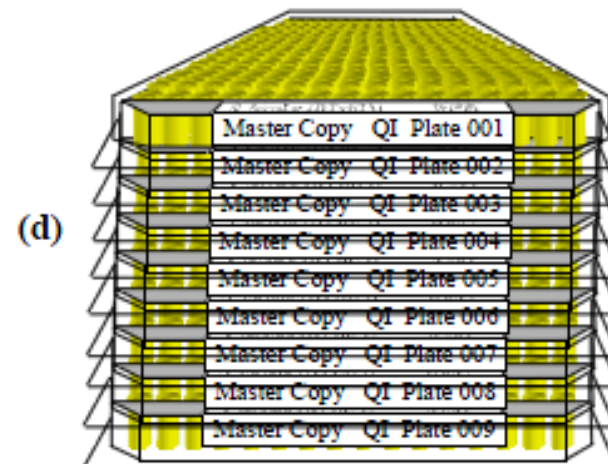
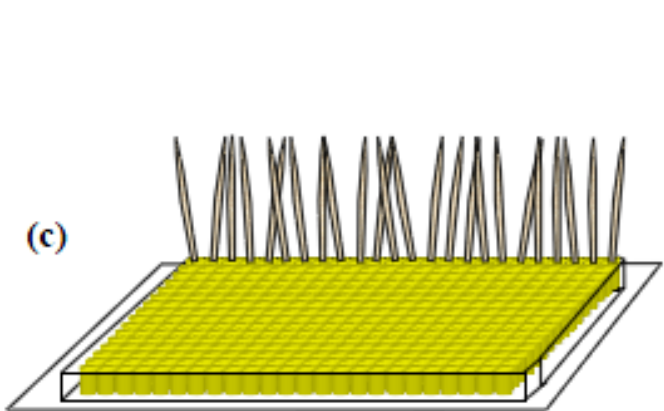
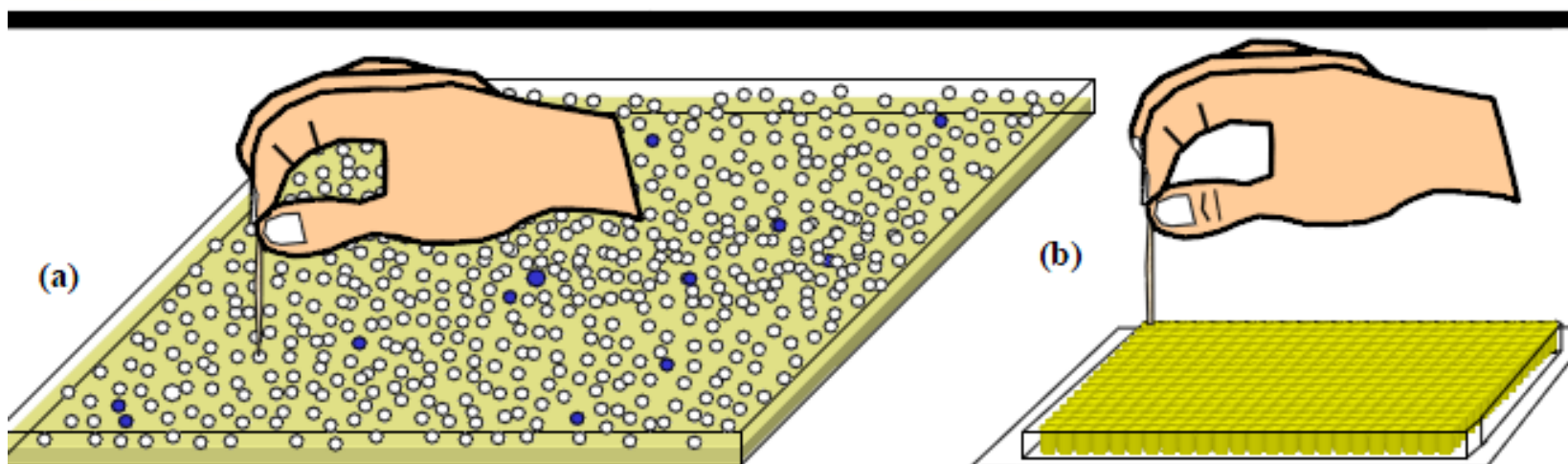


Clones com e
sem insertos

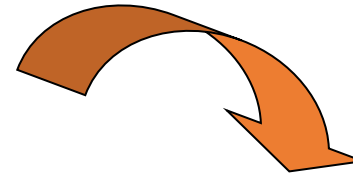
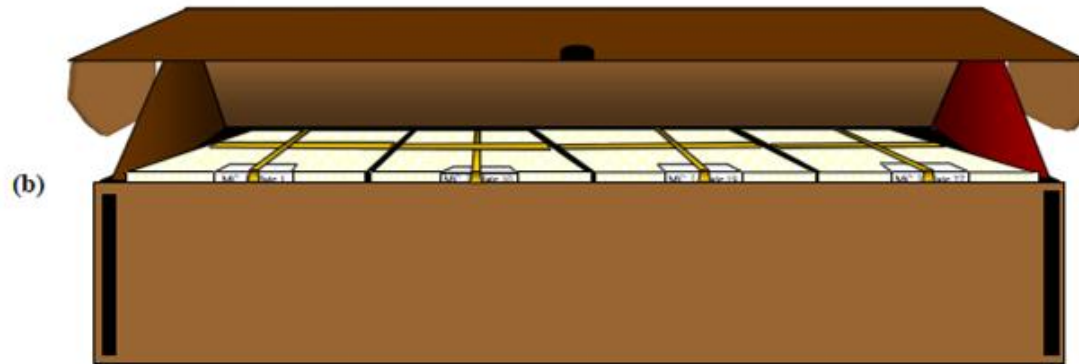
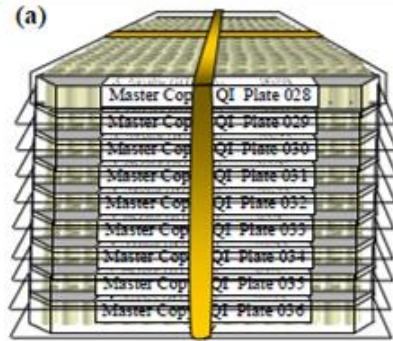




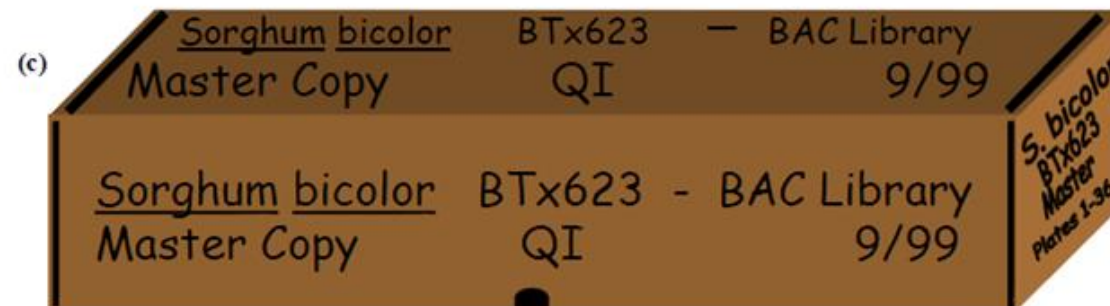
Construção de Bibliotecas Genômicas



Construção de Bibliotecas Genômicas



Freezer -80 °C



DG Peterson 10/99

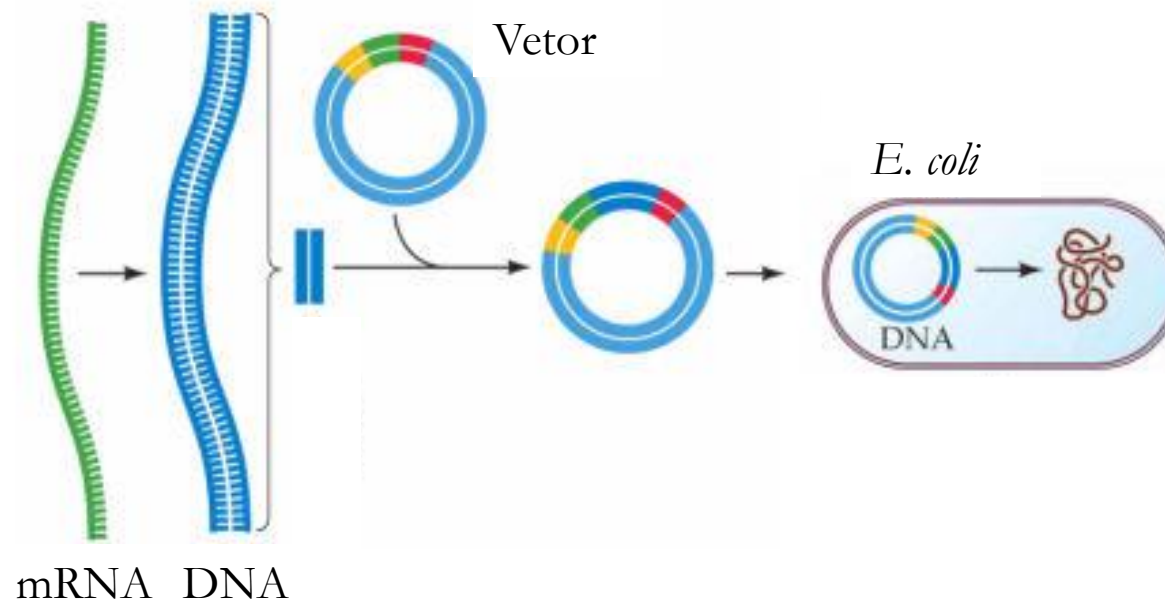


Bibliotecas de cDNA

Construção de Bibliotecas de cDNA

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

*cDNA: DNA complementar ao mRNA



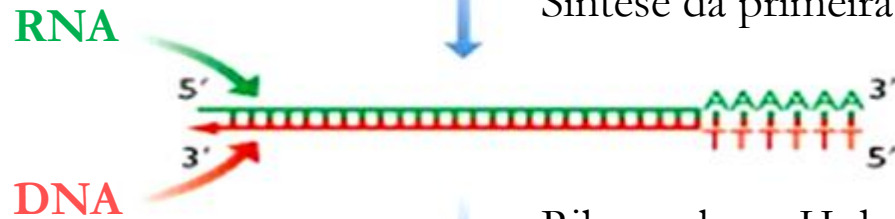
SÍNTESE DE cDNA

mRNA 5'-----3' Cauda poli (A)

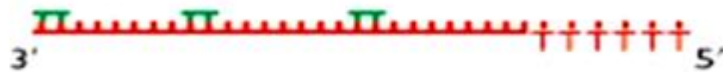
TTTTTT
Primer oligo (dT)



Síntese da primeira fita de DNA pela transcriptase reversa



Ribonuclease H degrada RNA



Síntese da segunda fita de DNA pela DNA polimerase I



Finalização da síntese da segunda fita de DNA



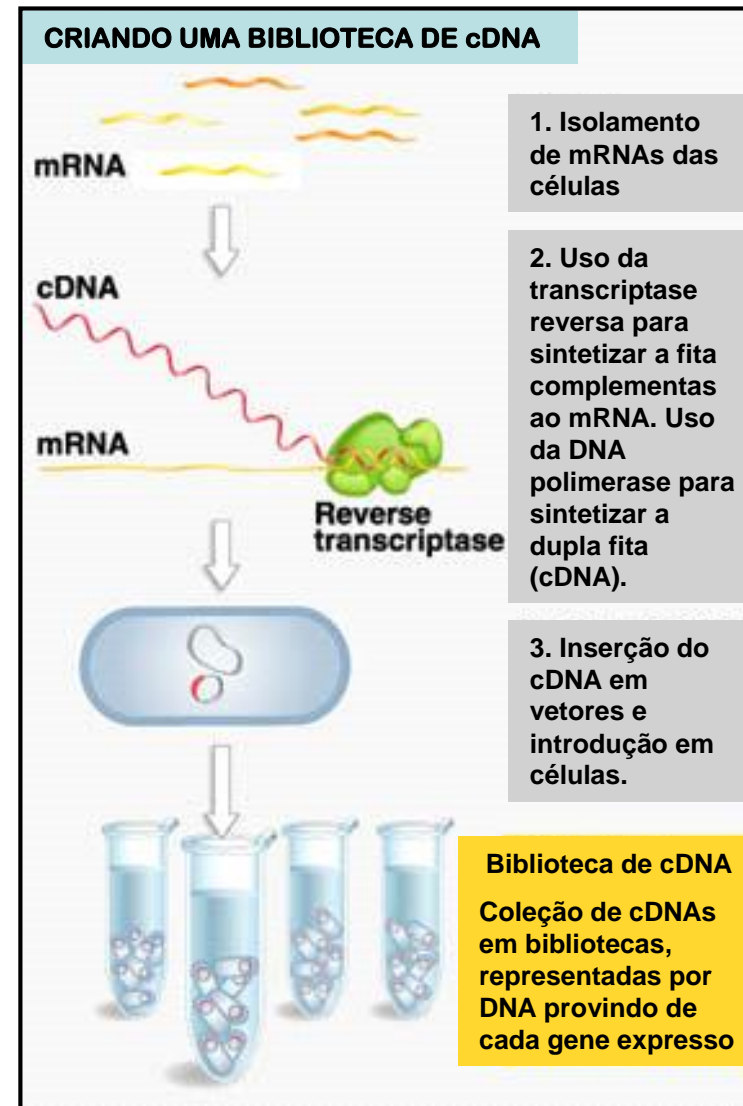
Construção de Bibliotecas de cDNA

Esquema básico para construção de uma biblioteca de cDNA

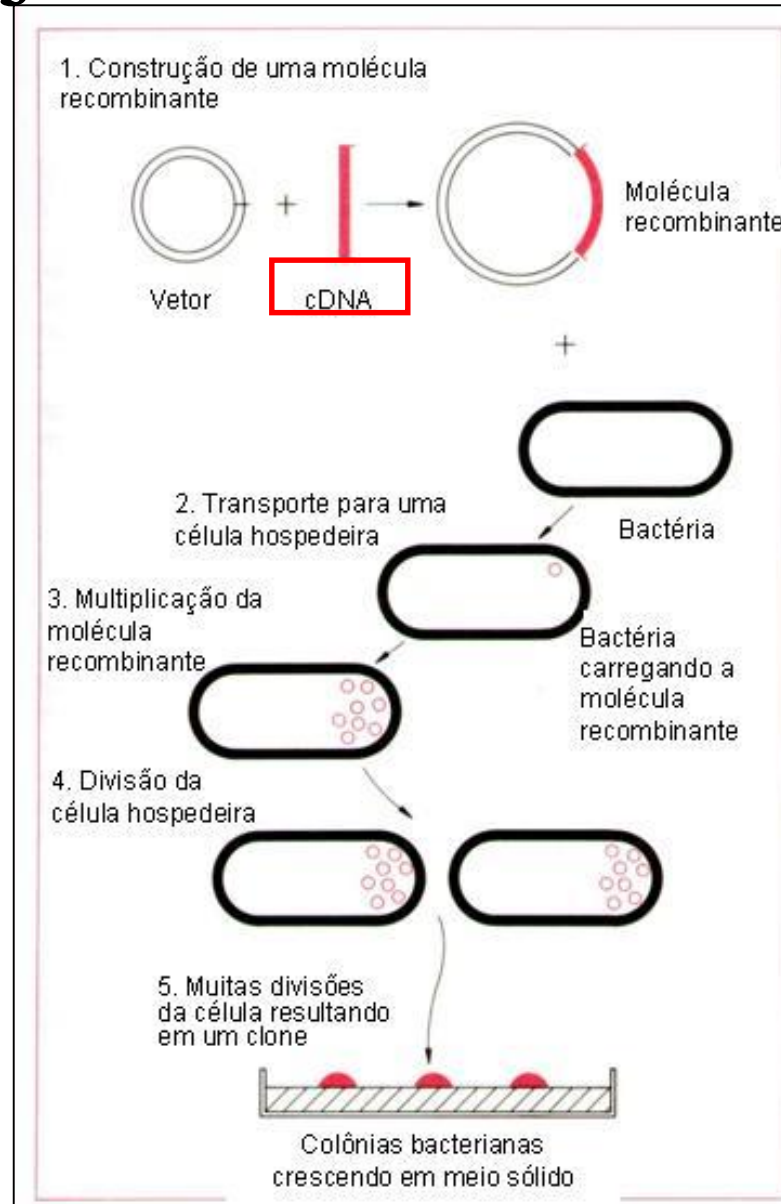
Etapas:

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

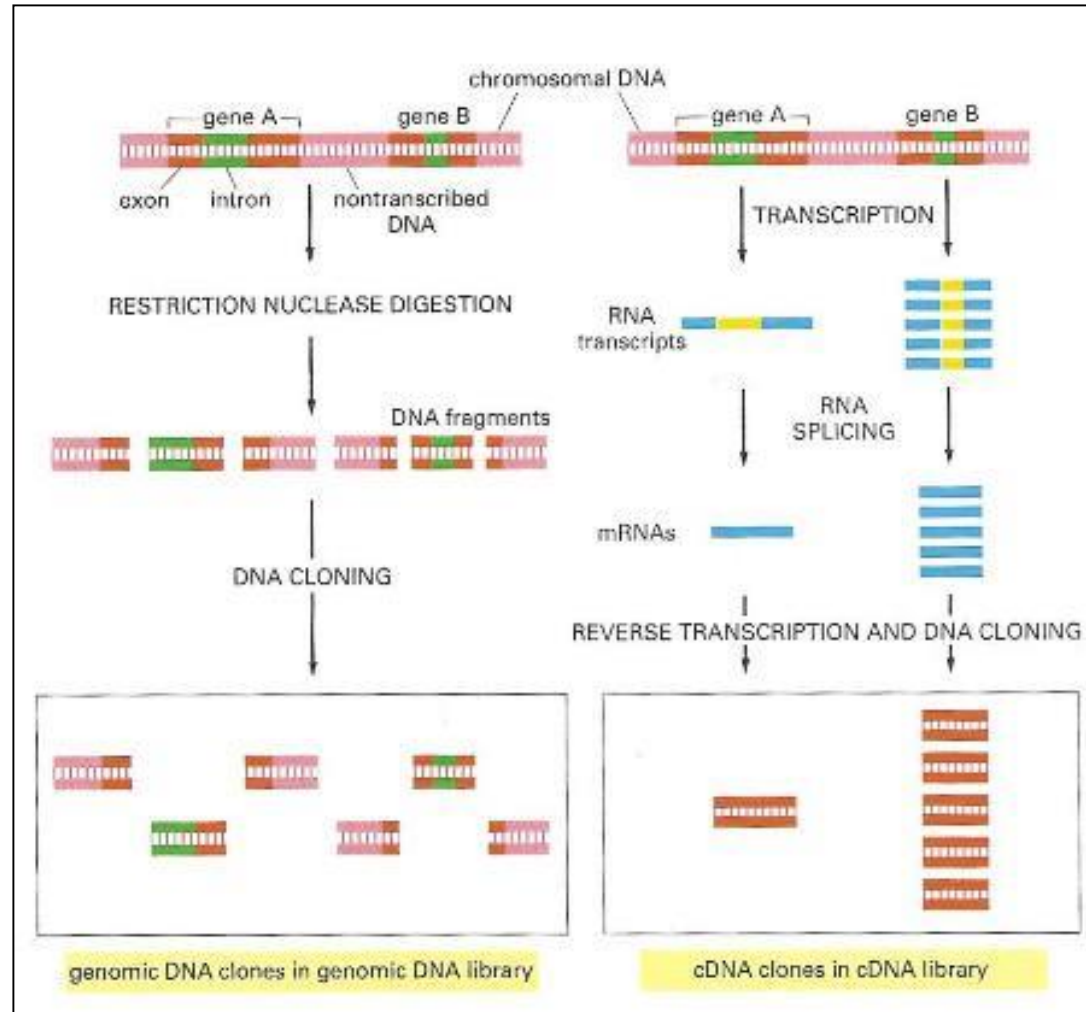
Vantagem: somente os genes expressos são selecionados.



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!

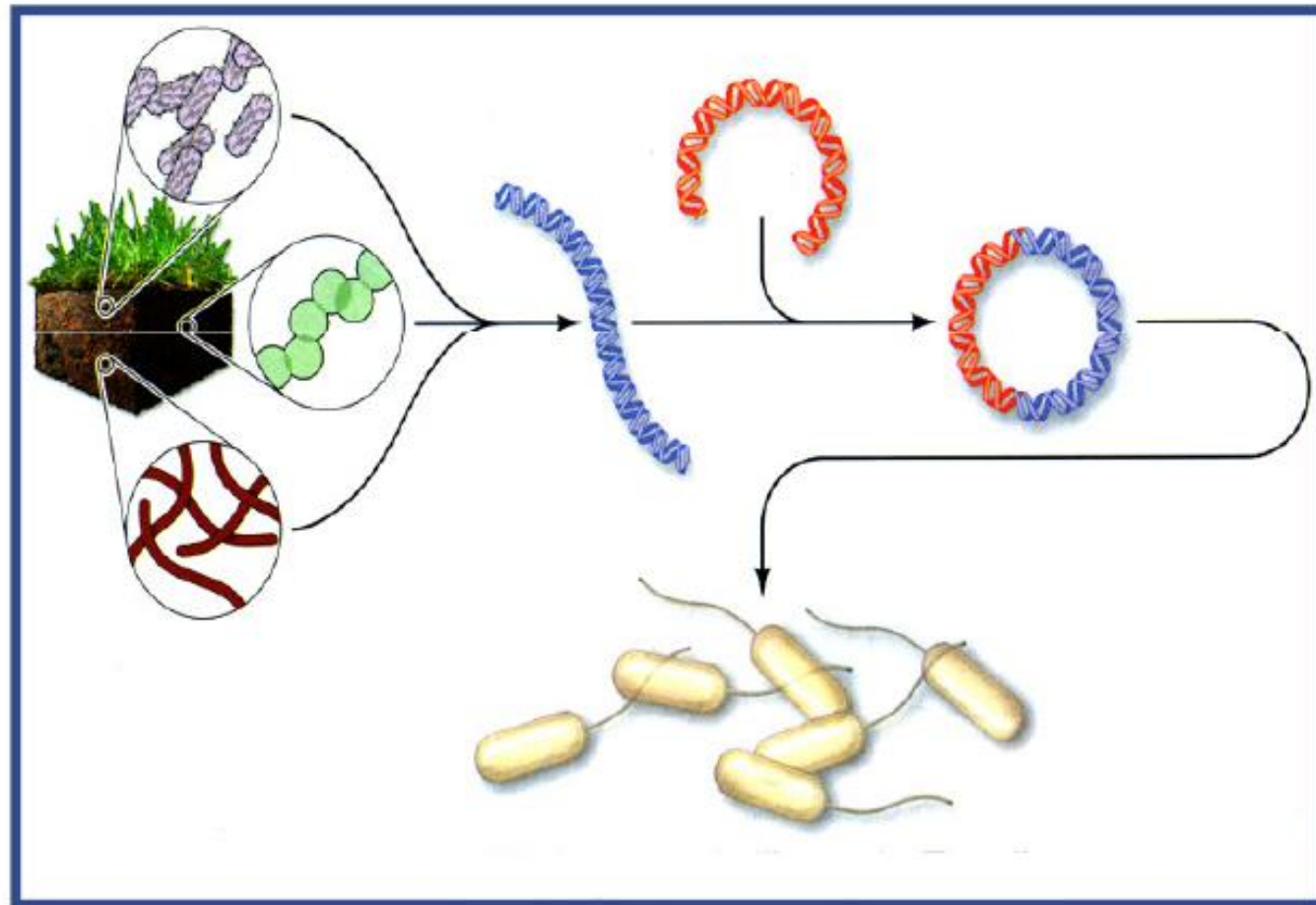
O que é METAGENÔMICA?

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

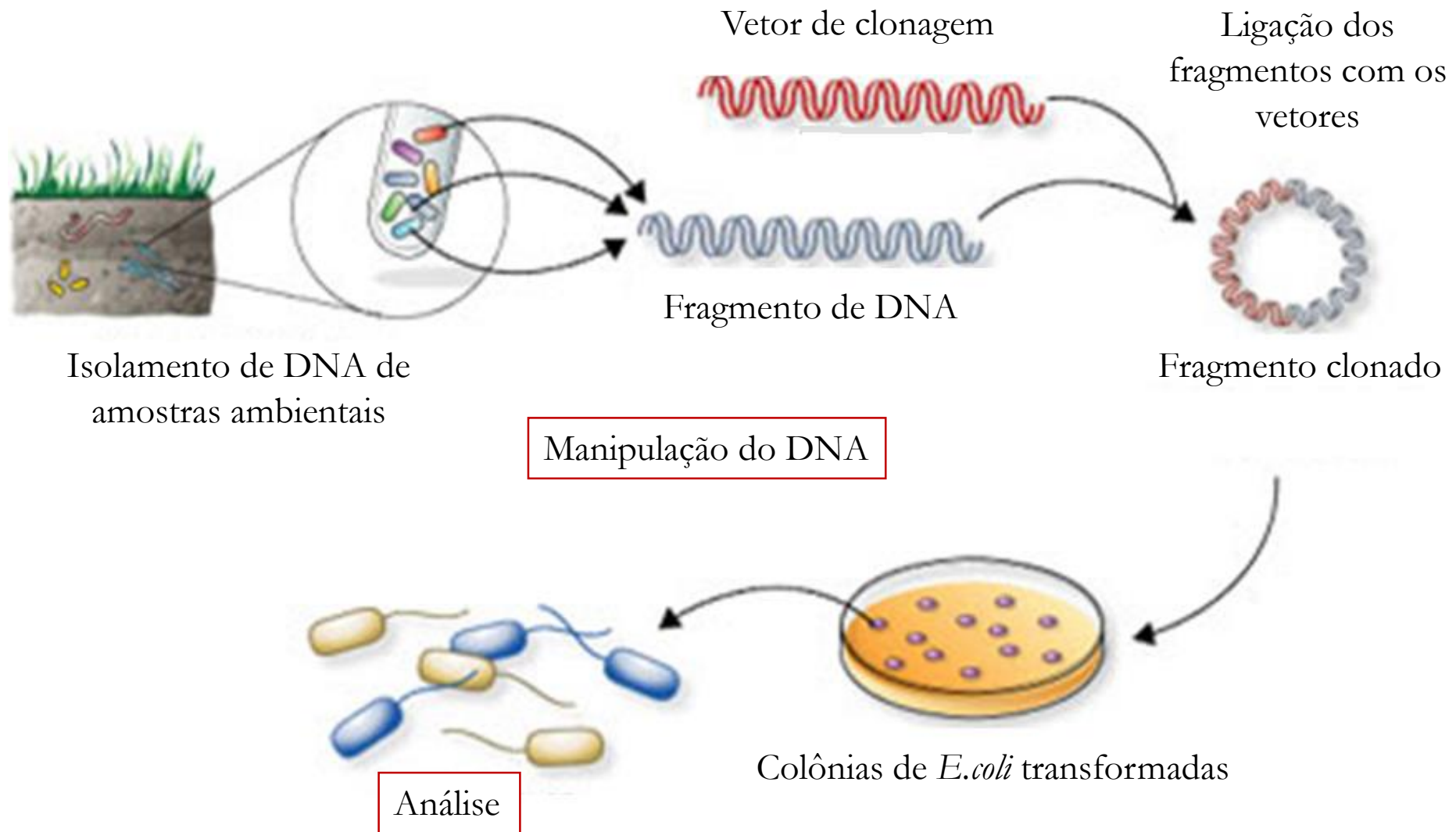
Específico para cada condição ambiental e biológica

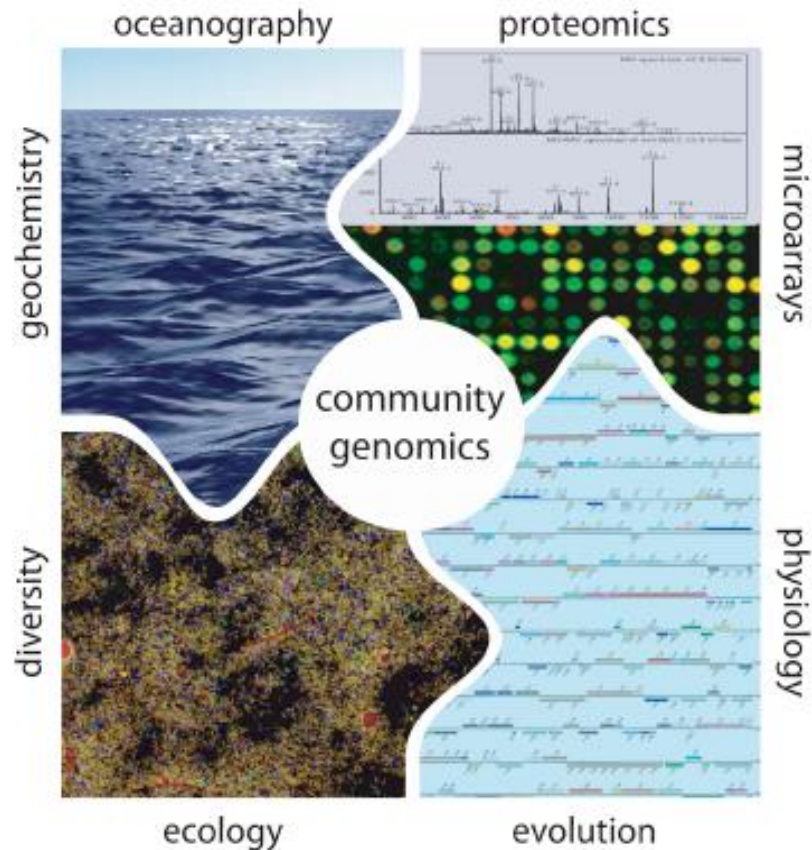
O que é METAGENÔMICA?

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



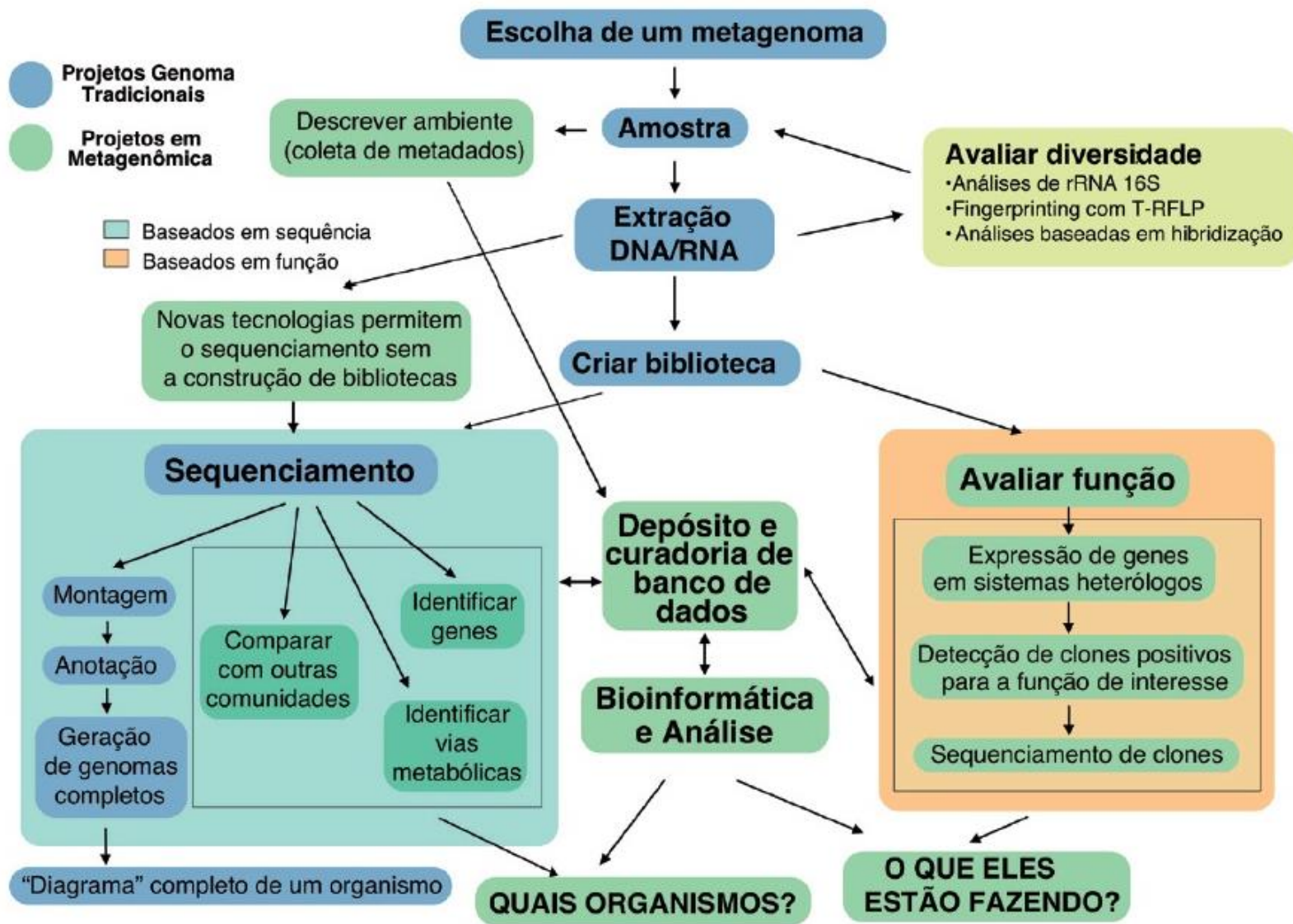
Construção de Biblioteca METAGENÔMICA





Questões básicas

- Quem está na amostra?
- Que funções estão presentes?
 - Avaliação quantitativa (abundância)
 - Metagenômica comparativa



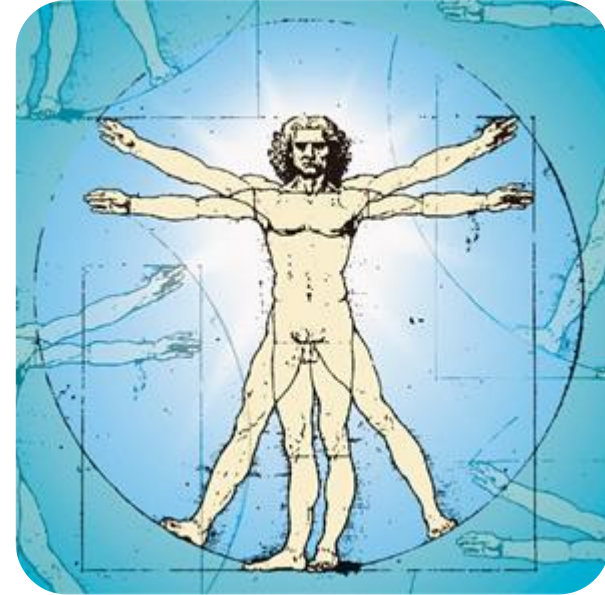
COMPLEXIDADE MICROBIANA



10^9 células microbianas
por grama

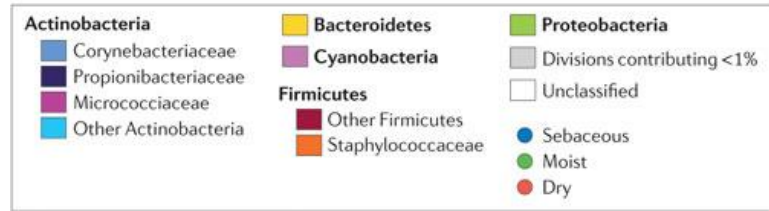
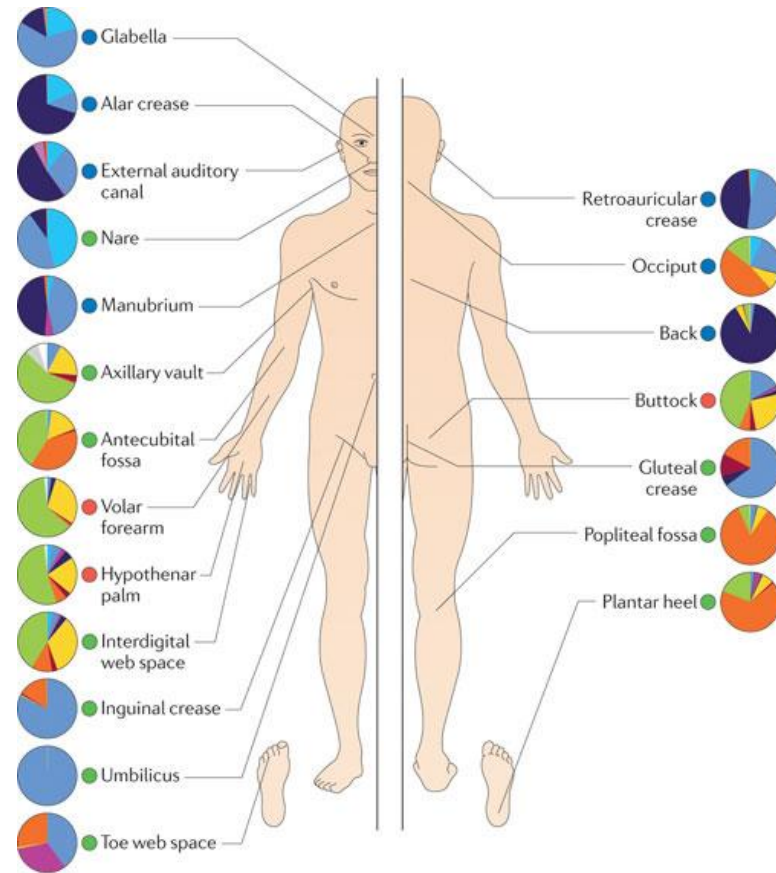


10^8 células
microbianas por mL

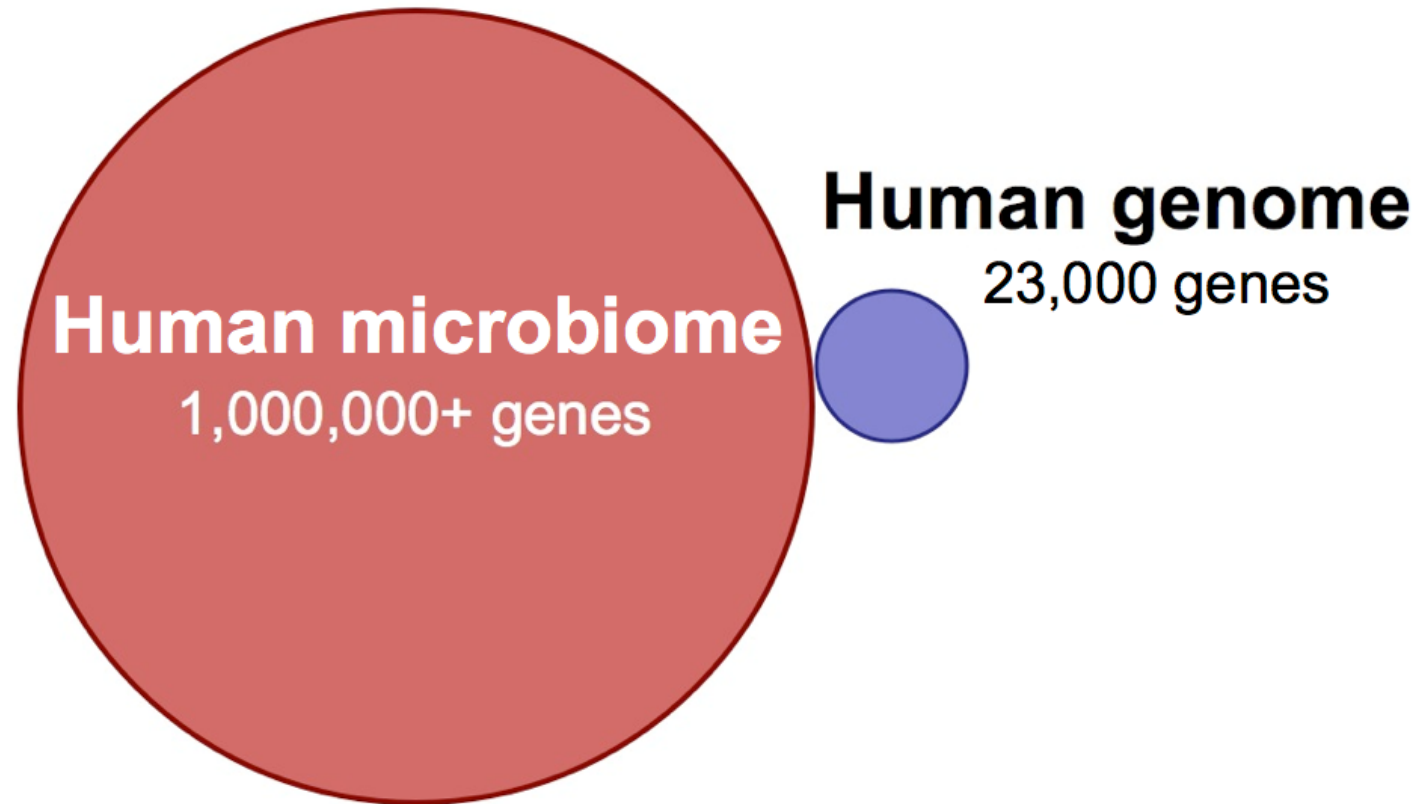


Mais células microbianas do
que células humanas

Microbioma



Microbioma



Microbioma



Microbioma



Microbioma - Aplicações

Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes

Gary D. Wu,^{1*} Jun Chen,^{2,3} Christian Hoffmann,^{4,5} Kyle Bittinger,⁴ Ying-Yu Chen,¹ Sue A. Keilbaugh,¹ Meenakshi Bewtra,^{1,2} Dan Knights,⁶ William A. Walters,⁷ Rob Knight,^{8,9} Rohini Sinha,⁴ Erin Gilroy,² Kernika Gupta,¹⁰ Robert Baldassano,¹⁰ Lisa Nessel,² Hongzhe Li,^{2,3} Frederic D. Bushman,^{4*} James D. Lewis^{1,2,3*}

www.sciencemag.org SCIENCE VOL 334 7 OCTOBER 2011

The ISME Journal (2012) 6, 1–10
© 2012 International Society for Microbial Ecology. All rights reserved 1751-7362/12
www.nature.com/ismej



ORIGINAL ARTICLE

Saliva microbiomes distinguish caries-active from healthy human populations

Fang Yang¹, Xiaowei Zeng², Kang Ning², Kuan-Liang Liu³, Chien-Chi Lo³, Wei Wang², Jie Chen², Dongmei Wang², Ranran Huang², Xingzhi Chang², Patrick S Chain³, Gary Xie³, Junqi Ling¹ and JianXu²

¹Department of Operative Dentistry and Endodontics, Guanghua School and Hospital of Stomatology and Institute of Stomatological Research, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong, China; ²Chinese Academy of Sciences, Qingdao Institute of Bioenergy and Bioprocess Technology, Qingdao, Shandong, China and ³Oralgen, B-6, Bioscience Division, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, NM, USA

Microbioma - Aplicações

Metagenomic Discovery of Biomass-Degrading Genes and Genomes from Cow Rumen

Matthias Hess,^{1,2*} Alexander Sczyrba,^{1,2*} Rob Egan,^{1,2} Tae-Wan Kim,³ Harshal Chokhawala,³ Gary Schroth,⁴ Shujun Luo,⁴ Douglas S. Clark,^{3,5} Feng Chen,^{1,2} Tao Zhang,^{1,2} Roderick I. Mackie,⁶ Len A. Pennacchio,^{1,2} Susannah G. Tringe,^{1,2} Axel Visel,^{1,2} Tanja Woyke,^{1,2} Zhong Wang,^{1,2} Edward M. Rubin^{3,2†}

www.sciencemag.org SCIENCE VOL 331 28 JANUARY 2011

Animal, page 1 of 18 © The Animal Consortium 2012
doi:10.1017/S1751731112000419



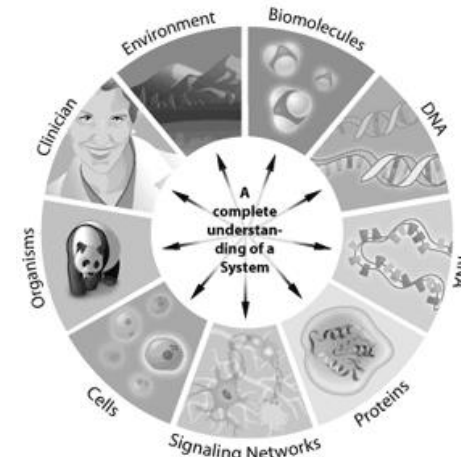
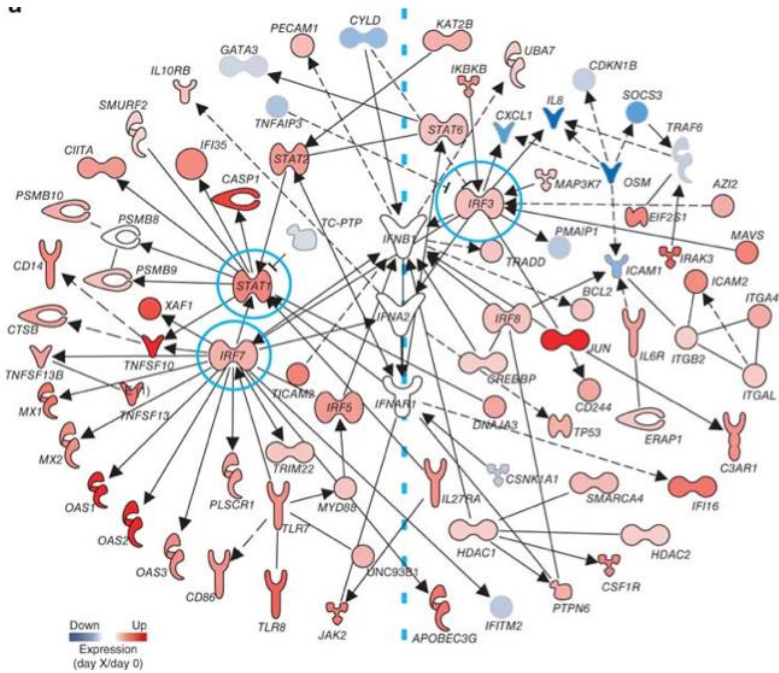
Rumen microbial (meta)genomics and its application to ruminant production

D. P. Morgavi^{1†}, W. J. Kelly², P. H. Janssen² and G. T. Attwood²

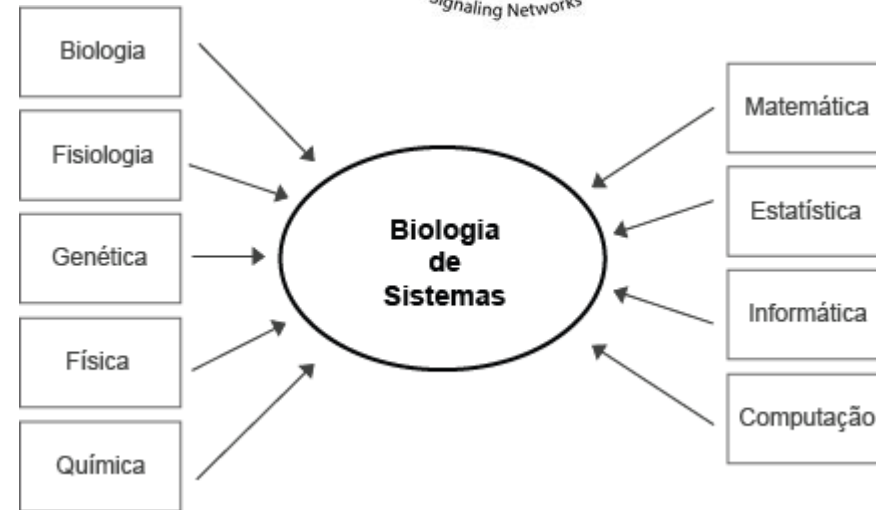
¹NRA, UR1213 Herbivores, Site de Theix, F-63122 Saint-Genès-Champagnelle, France; ²Ruminant Nutrition and Animal Health, AgResearch, Private Bag 11008, Palmerston North 4442, New Zealand

(Received 1 August 2011; Accepted 16 January 2012)

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.

