Universidade de São Paulo
Escola de Engenharia de Lorena
Departamento de Biotecnologia

Curso: Engenharia Ambiental

Biologia - 2022

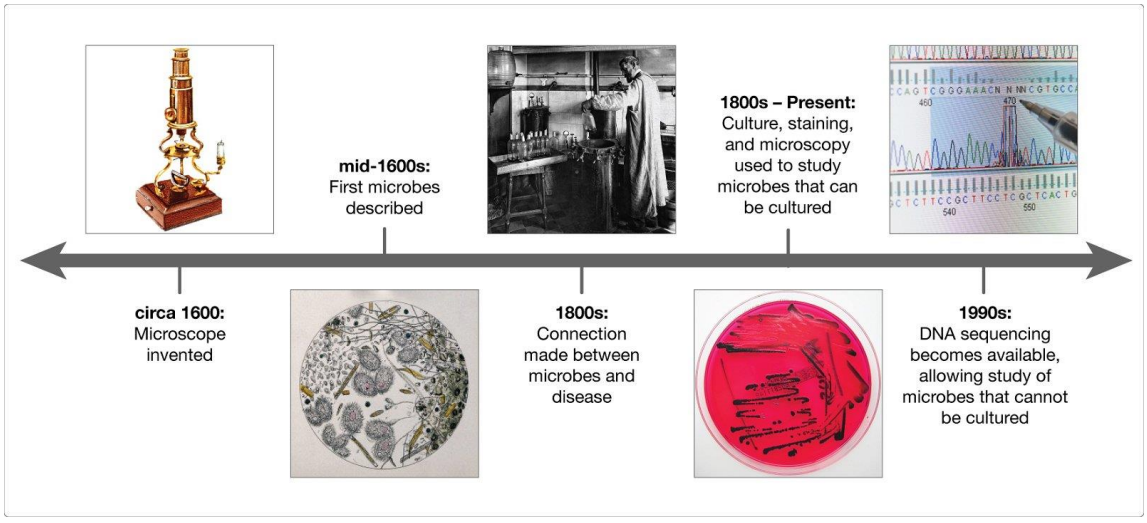
(LOT2045)

Prof: Tatiane da Franca Silva

tatianedafranca@usp.br

1

Como estudar as células?

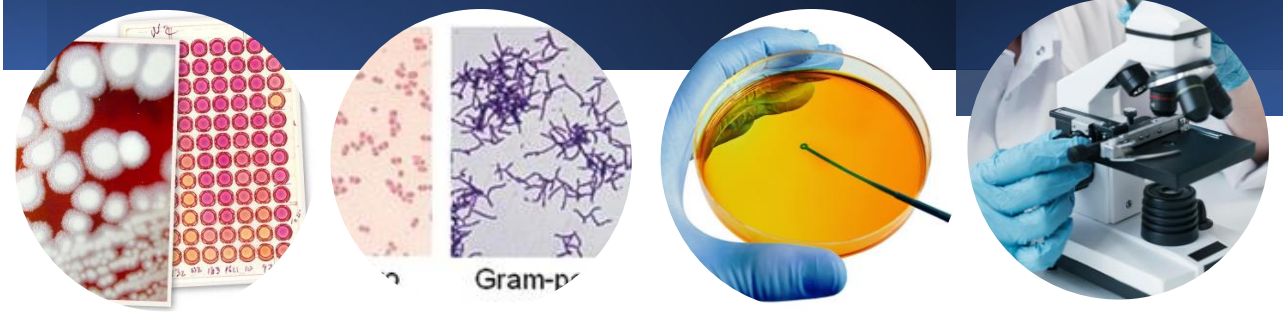


2

https://learn.genetics.utah.edu/content/cells/scale/

3

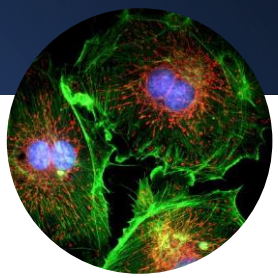
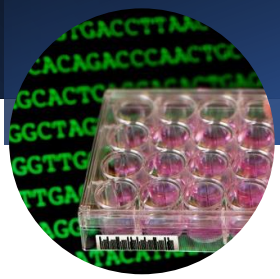
Técnicas tradicionais



- Caracterização morfológica e Bioquímica
- Isolamento e Cultivo
- Microscopia

4

Técnicas Moleculares

- Estudos com o RNA ribosomal (16S e 18S)
- Identificação de Espécies – DNA Barcode
- Moléculas marcadoras

5

Ciência da Metagenomica


- Estudo dos microrganismos e suas comunidades no contexto de seu habitat natural.

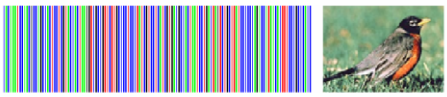
- Mais de 10.000 genomas microbianos podem se sequenciados em um único experimento.

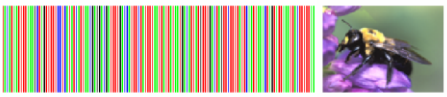
6

DNA *barcoding*

❖ Proposta: Uma maneira simples de identificar espécies pelo DNA

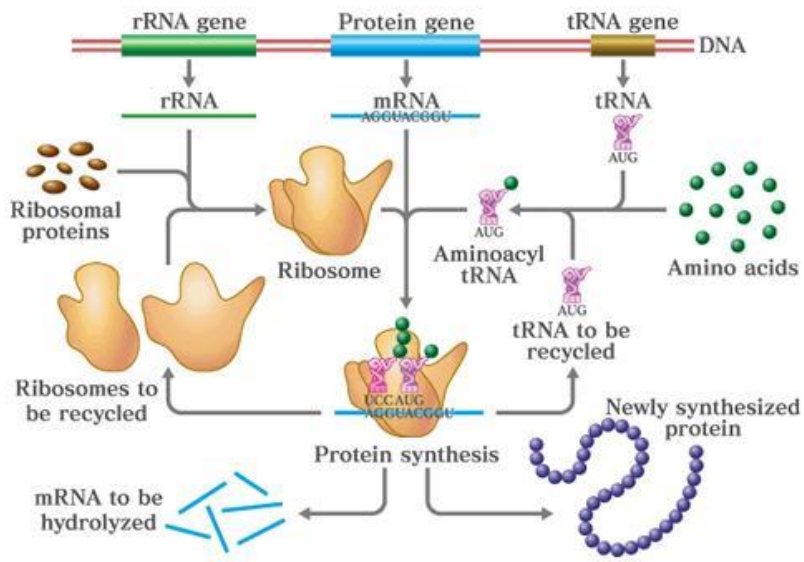
❖ Região do DNA curtas e padronizadas para identificar espécies de plantas, animais, fungos e microrganismos





7

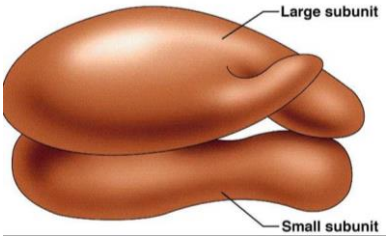
Principais tipos de RNAs na célula

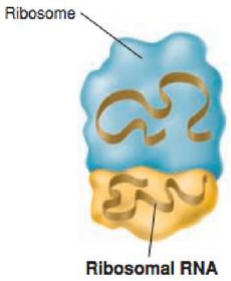


9

Filogenia Molecular- Gene do RNA ribossomal

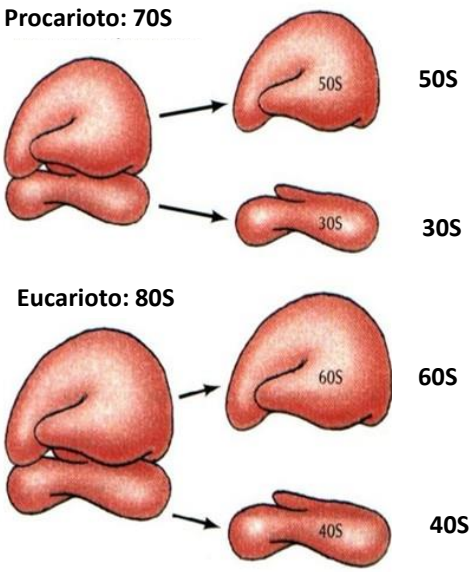
Ribossomo = Proteína + rRNA





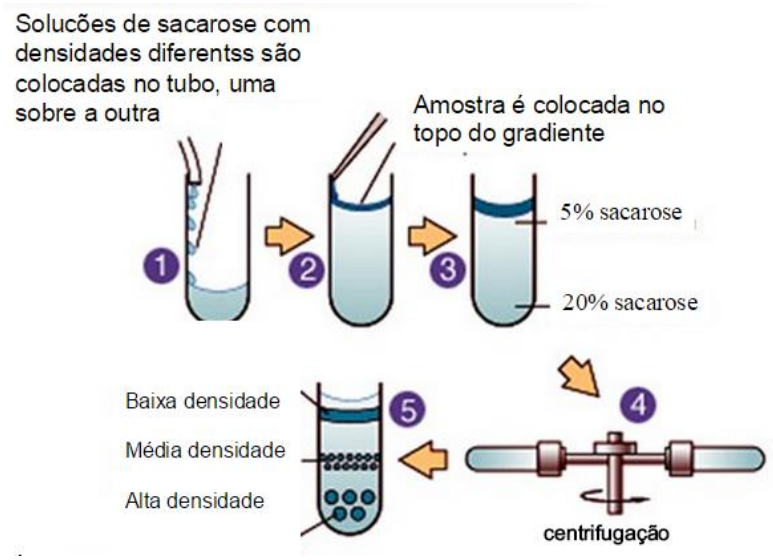
10

Ribossomo Procarioto X Eucarioto



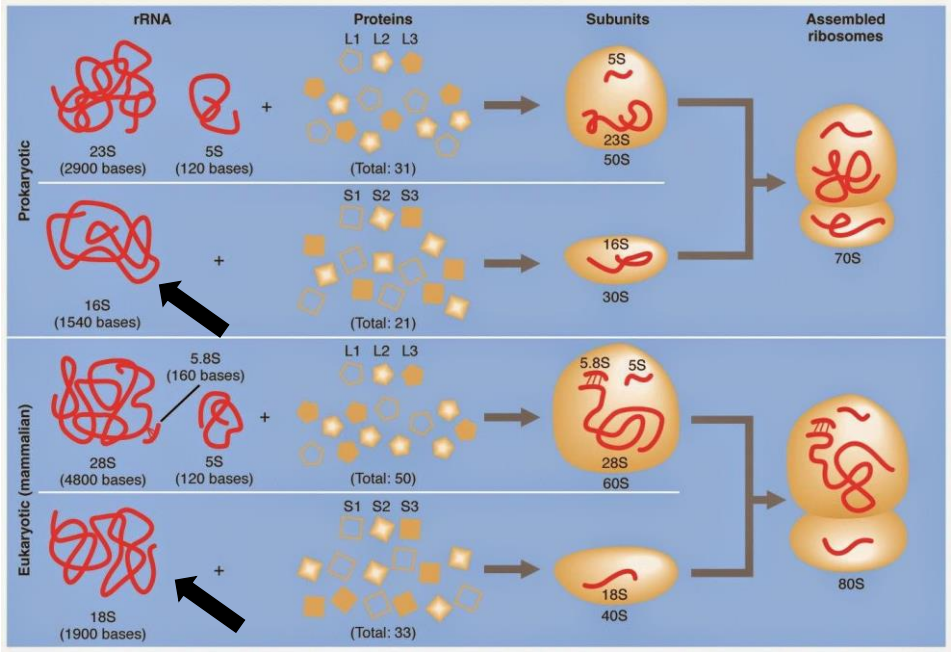
11

Valor S



12

As Frações do Ribossomo



13

Análise do gene do RNA ribossomal

- Ferramenta para análise de diversidade
- Identificação de espécies, sem cultivo
- Exemplos:

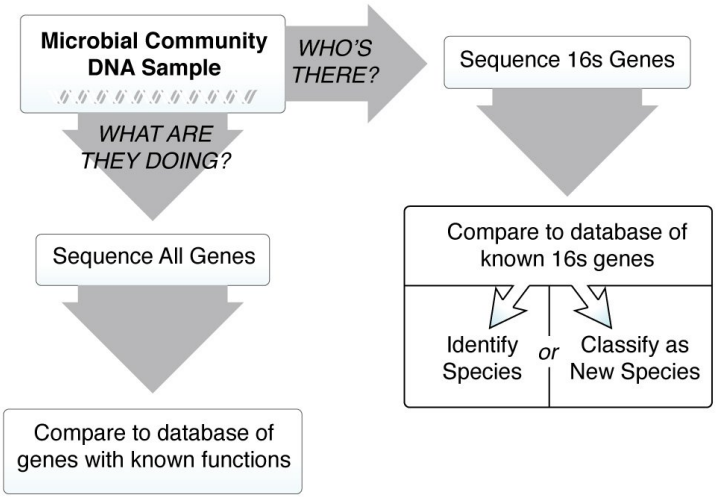
Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity

Seung Yeo Moon-van der Staay*†, Rupert De Wachter‡ & Daniel Vaulot*‡

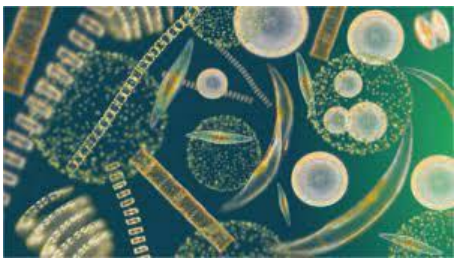
Metagenomic and Small-Subunit rRNA Analyses Reveal the Genetic Diversity of Bacteria, Archaea, Fungi, and Viruses in Soil[V]

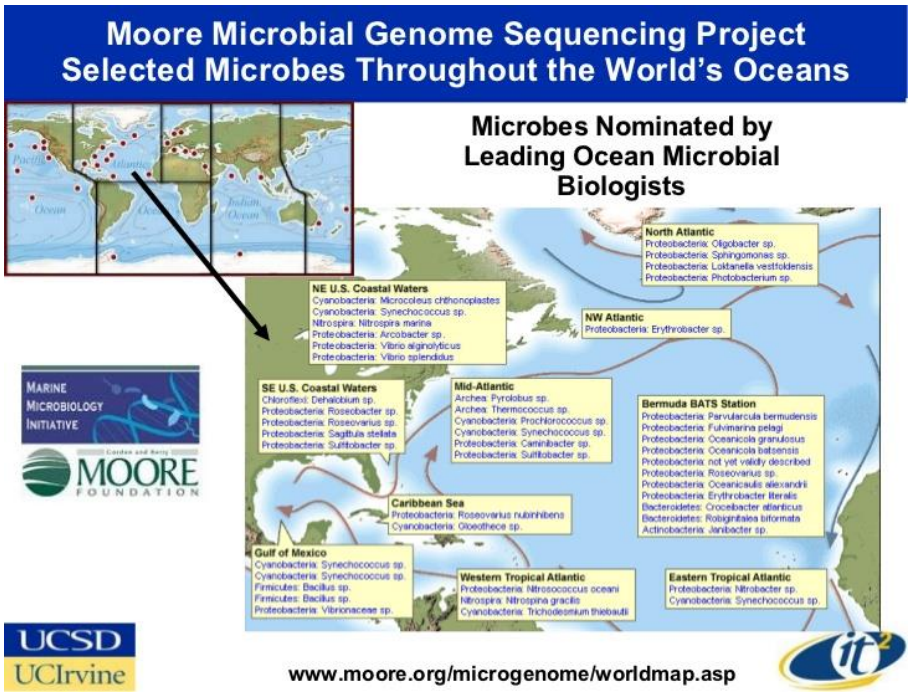
Noah Fierer,[1,2]* Mya Breitbart,[3] James Nulton,[4] Peter Salamon,[4] Catherine Lozupone,[5] Ryan Jones,[1] Michael Robeson,[1] Robert A. Edwards,[6,7] Ben Felts,[4] Steve Rayhawk,[4] Rob Knight,[8] Forest Rohwer,[6,7] and Robert B. Jackson[9,10]

Metagenômica e RNA Ribossomal



Collecting sea water samples from the Sargasso Sea for the whole genome shotgun sequencing of microbial populations. (Photo supplied by The Center for the Advancement of Genomics.)




Moore Microbial Genome Sequencing Project
Selected Microbes Throughout the World's Oceans
Microbes Nominated by Leading Ocean Microbial Biologists
North Atlantic
Proteobacteria: Oligobacter sp.
Proteobacteria: Sphingomonas sp.
Proteobacteria: Loktanella vestfoldensis
Proteobacteria: Photobacterium sp.
NE U.S. Coastal Waters
Cyanobacteria: Microcoleus chthonoplastes
Cyanobacteria: Synechococcus sp.
Nitrospira: Nitrospira marina
Proteobacteria: Arcobacter sp.
Proteobacteria: Vibrio alginolyticus
Proteobacteria: Vibrio splendidus
NW Atlantic
Proteobacteria: Erythrobacter sp.
SE U.S. Coastal Waters
Chloroflexi: Dehalobium sp.
Proteobacteria: Roseobacter sp.
Proteobacteria: Roseovarius sp.
Proteobacteria: Sagittula stellata
Proteobacteria: Sulfitobacter sp.
Mid-Atlantic
Archea: Pyrolobus sp.
Archea: Thermococcus sp.
Cyanobacteria: Prochlorococcus sp.
Cyanobacteria: Synechococcus sp.
Proteobacteria: Caminibacter sp.
Proteobacteria: Sulfitobacter sp.
Bermuda BATS Station
Proteobacteria: Parvularcula bermudensis
Proteobacteria: Fulvimarina pelagi
Proteobacteria: Oceanicola granulosus
Proteobacteria: Oceanicola batsensis
Proteobacteria: not yet validly described
Proteobacteria: Roseovarius sp.
Proteobacteria: Oceanicaulis alexandrii
Proteobacteria: Erythrobacter litoralis
Bacteroidetes: Croceibacter atlanticus
Bacteroidetes: Robiginitalea biformata
Actinobacteria: Janibacter sp.
Caribbean Sea
Proteobacteria: Roseovarius nubinhibens
Cyanobacteria: Gloeothece sp.
Gulf of Mexico
Cyanobacteria: Synechococcus sp.
Cyanobacteria: Synechococcus sp.
Firmicutes: Bacillus sp.
Firmicutes: Bacillus sp.
Proteobacteria: Vibrionaceae sp.
Western Tropical Atlantic
Proteobacteria: Nitrosococcus oceani
Nitrospira: Nitrospina gracilis
Cyanobacteria: Trichodesmium thiebautii
Eastern Tropical Atlantic
Proteobacteria: Nitrobacter sp.
Cyanobacteria: Synechococcus sp.
MARINE MICROBIOLOGY INITIATIVE
MOORE FOUNDATION
UCSD
UCIrvine
www.moore.org/microgenome/worldmap.asp

17


veja
Venezuela
Reforma da Previdência
Revista
Newsletter
Ciência
Código de barras da vida acelera identificação das espécies
Nos próximos quatro anos, 10% da biodiversidade brasileira será catalogada com ajuda da técnica conhecida como DNA barcoding
Por Tatiana Gerasimenko
6 maio 2016, 17h05 - Publicado em 17 jul 2011, 14h13
Análise de DNA ajudou a revelar uma nova espécie de Tetragonopterus, peixe que vive no rio Jari (Divulgação/VEJA)

18

Adulteração : É carne de Baleia ou não é?

As justificativas do Japão para liberar a caça de baleias após 30 anos de proibição

Andreas Illmer
Da BBC News

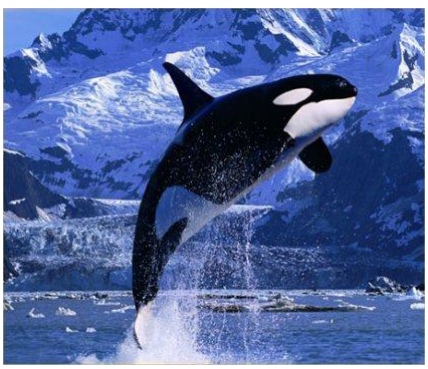
7 setembro 2018 Compartilhar

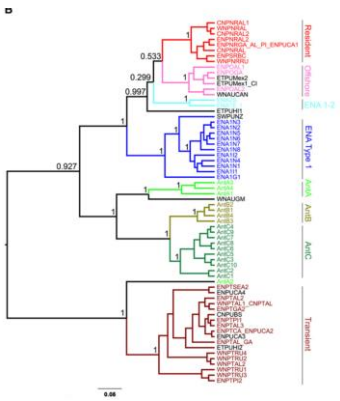
19

Research

Complete mitochondrial genome phylogeographic analysis of killer whales (*Orcinus orca*) indicates multiple species

Phillip A. Morin,[1,2,8] Frederick I. Archer,[1] Andrew D. Foote,[3,4] Julia Vilstrup,[3] Eric E. Allen,[2] Paul Wade,[5] John Durban,[5] Kim Parsons,[5] Robert Pitman,[1] Lewyn Li,[6] Pascal Bouffard,[6] Sandra C. Abel Nielsen,[3] Morten Rasmussen,[3] Eske Willerslev,[3] M. Thomas P. Gilbert,[3] and Timothy Harkins[7]

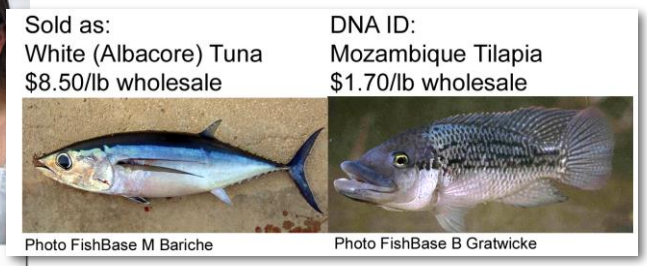




20

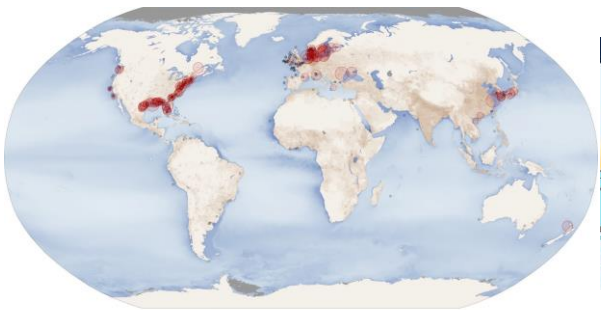
Kate Stoeckle e
Louisa Strauss
Trinity School, NYC

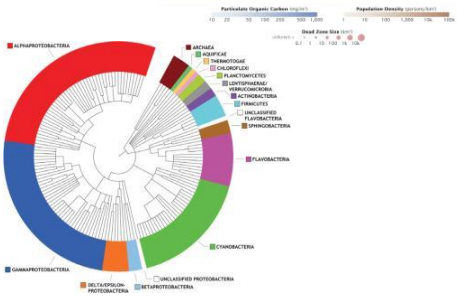
Figure 19B Katie Stoeckle (left) and Louisa Strauss uncover mislabeled fish in Manhattan.



21

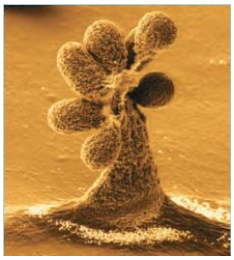
Projeto de Sequenciamento de Genomas Microbiano nos Oceanos

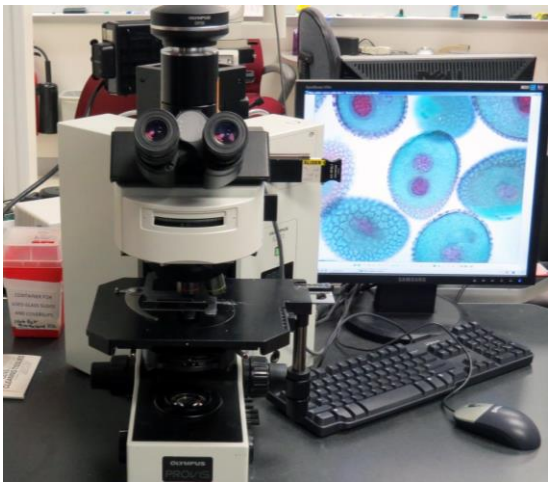




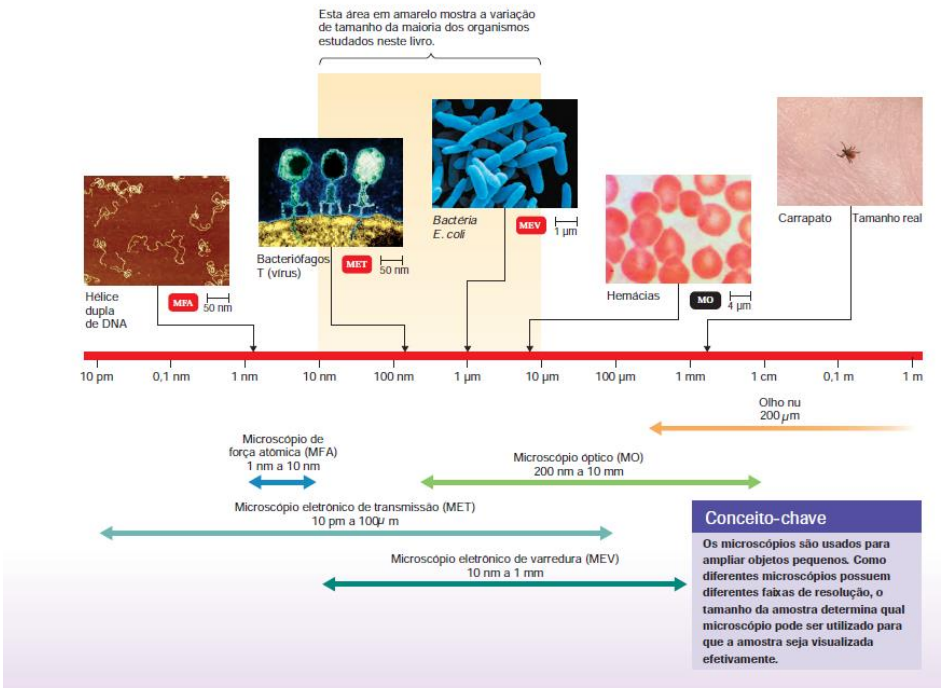
22

Microscopia





23



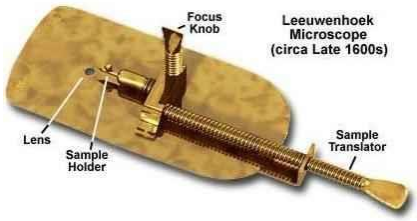
25

Microscópio

❖ Robert Hooke (1665): Termo Célula

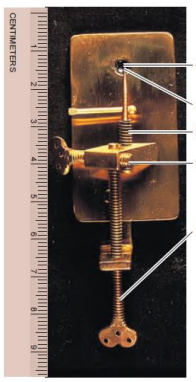
,

❖ Antony van Leeuwenhoek (1673): Desenvolvimento do Microscópio



26

(a) Van Leeuwenhoek utilizando seu microscópio



(b) Réplica de um microscópio

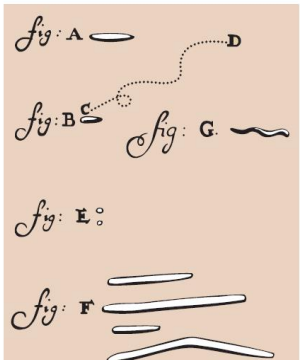
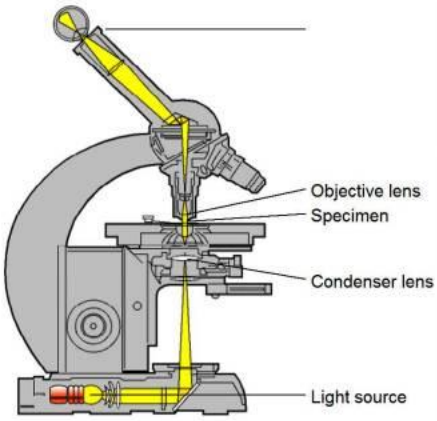


Figura 1.2 **Observações microscópicas de Anton van Leeuwenhoek.** **(a)** Ao segurar seu microscópio próximo a uma fonte de luz, van Leeuwenhoek conseguiu observar organismos vivos que eram muito pequenos para serem vistos a olho nu. **(b)** A amostra foi colocada na extremidade de um ponto ajustável e vista do outro lado através de lentes finas, quase esféricas. A maior ampliação possível com esse microscópio foi de cerca de 300x (vezes). **(c)** Alguns dos desenhos de bactérias de van Leeuwenhoek, feitos em 1683. As letras representam várias formas de bactérias. C-D representa a trajetória do movimento observado por ele.

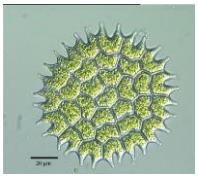
27

Microscópio Óptico

❖ Mais simples. Morfologia celular

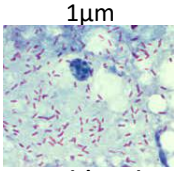


Colônia de Microalgas



100µm

1µm



Richettsia bactéria

28

Microscópio de Fluorescência

❖ Localização de moléculas específicas

❖ Fluoróforo

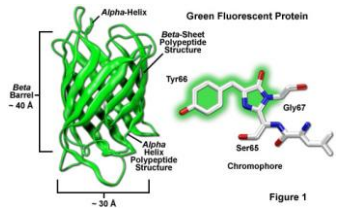
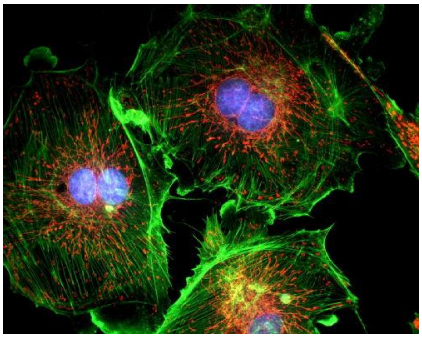


Figure 1



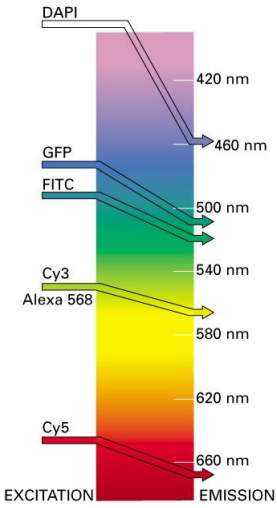


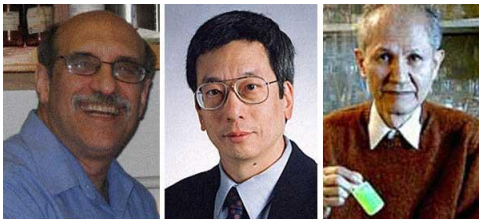
Figure 9–13. Molecular Biology of the Cell, 4t

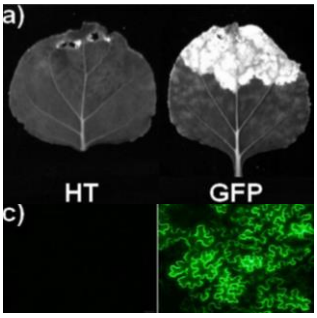
29

GFP - *Green Fluorescent Protein*

Aequorea Victoria

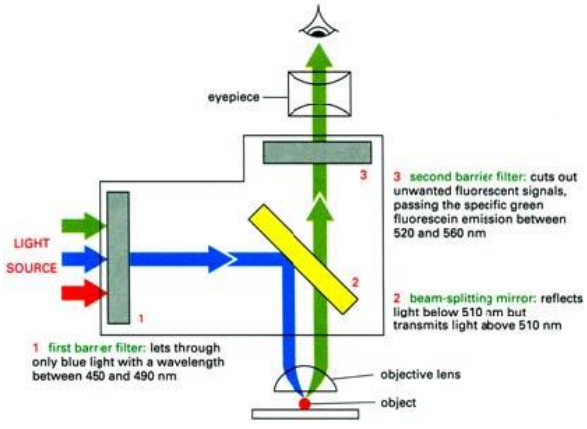
❖Prêmio Nobel, 1964.



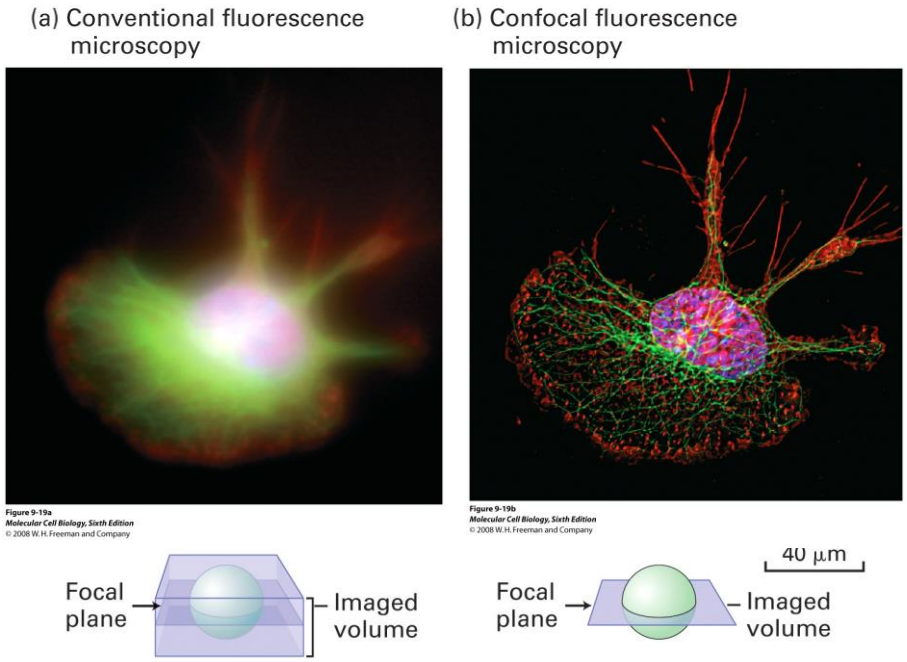


30

Microscópio de Fluorescência



31



32

Microscópio Eletrônico de Transmissão

- Maior resolução
- Utiliza feixe de elétrons
- Comprimentos de onda menores que a Luz.

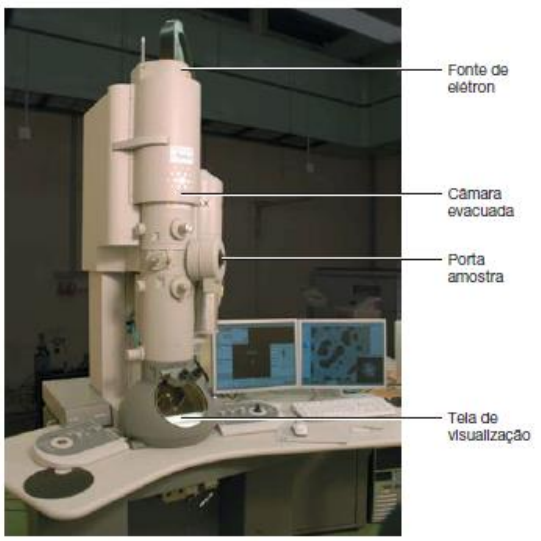
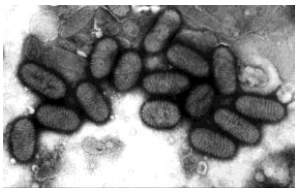


Figura 2.9 **Microscópio eletrônico.** Este instrumento abrange as funções de microscópio eletrônico de transmissão e de varredura.

Poxvirus



200nm

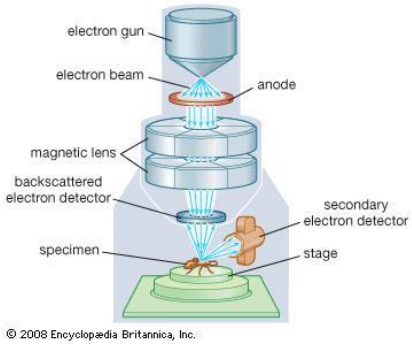
1nm

DNA

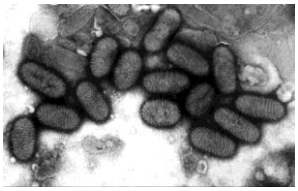
33

Microscópio Eletrônico de Transmissão

- Maior resolução
- Utiliza feixe de elétrons ao invés da Luz

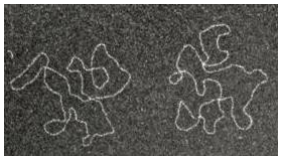


Poxvirus



200nm

1nm



DNA

34

Microscópio Eletrônico de Transmissão

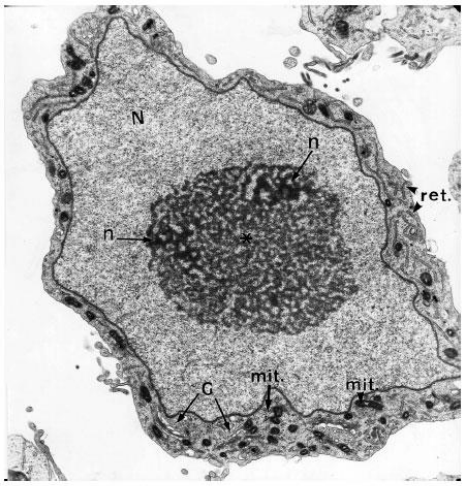
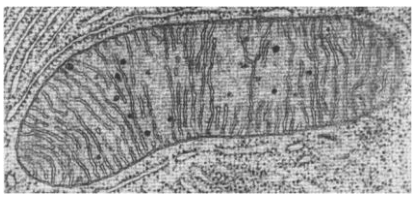


Figura 1 (X 19.000) - Hemócito (hialinócito) retirado da hemolinfa de *B.*

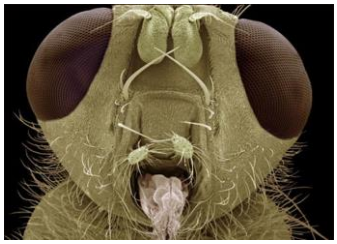


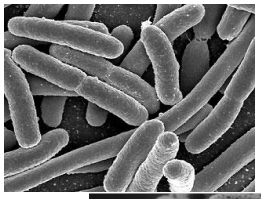
Mitocôndria

35

Microscópio Eletrônico de Varredura

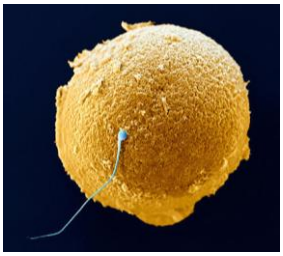
Mosca





Bactéria

Pólen



Óvulo sendo fecundado

36

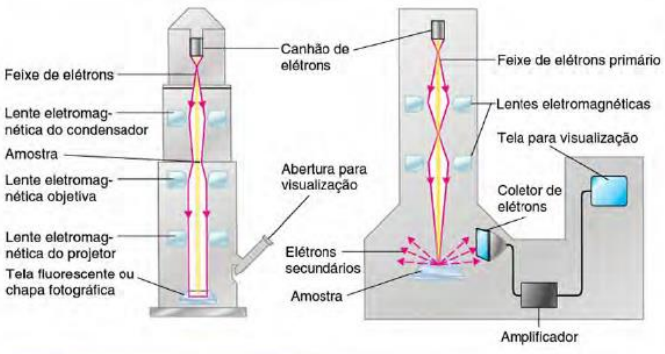
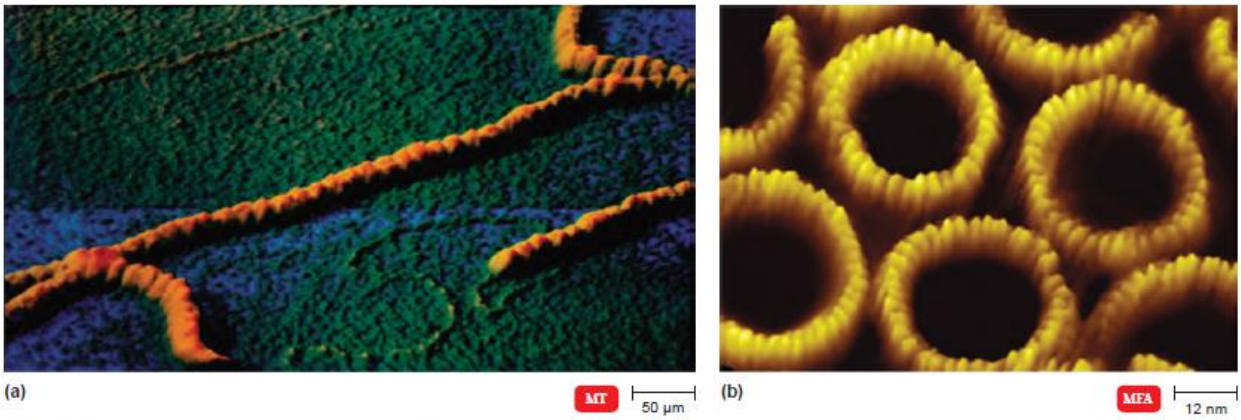


Figura 3.10 Microscopia eletrônica de transmissão e de varredura. As ilustrações mostram as trajetórias dos feixes de elétrons usados para criar imagens das amostras. As fotografias mostram um *Paramecium* visto com ambos os tipos de microscópios eletrônicos. Embora as micrografias eletrônicas normalmente sejam pretas e brancas, neste livro essas e outras micrografias eletrônicas foram coloridas artificialmente para dar ênfase.

37



Figura

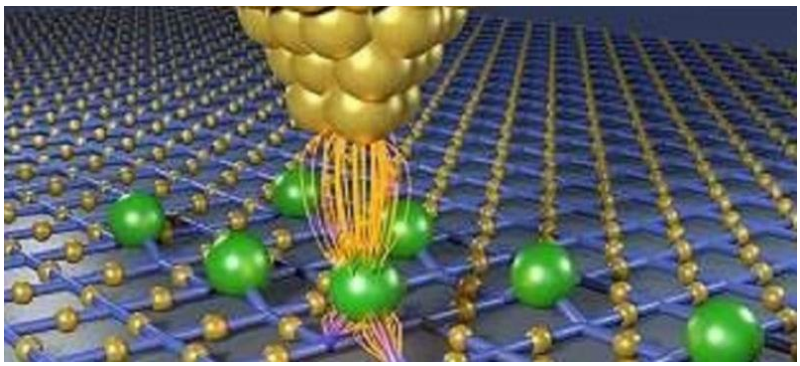
Outros tipos de Microscópios

- Força Atômica
- Tunelamento

Utilizam diferentes tipos de sondas para examinar a superfície da amostra

38

- Microscopia de tunelamento



40