

The background of the slide is Salvador Dalí's famous painting 'The Persistence of Memory'. It depicts a landscape with melting pocket watches, a somnolent figure in the foreground, and a group of figures in the distance. The title 'Biologia Molecular: Breve Histórico' is superimposed over the center of the painting.

Biologia Molecular: Breve Histórico

“O objetivo da Biologia Molecular é encontrar, na estrutura de macromoléculas, interpretações para os fundamentos da vida”

Jacques Monod

Biologia Molecular: definições

".... Não é bem uma técnica, mas uma abordagem, uma abordagem do ponto de vista das chamadas ciências básicas com a idéia predominante de buscar, abaixo das grandes manifestações da biologia clássica, o plano molecular correspondente.

Está particularmente preocupada com as formas das moléculas biológicas... é predominantemente tri-dimensional e estrutural - o que não quer dizer, entretanto, que seja um mero refinamento da morfologia - precisa, ao mesmo tempo, perguntar sobre a gênese e função"

W.T. Astbury, Nature 190, 1124 (1961)

DNA Unit

Definition of molecular biology

by Sir John Kendrew

From The Encyclopedia of Molecular Biology (Blackwell 1994):

O termo Biologia Molecular parece ter sido utilizado pela primeira vez por Warren Weaver em um relatório de 1938 para a Fundação Rockefeller: "Entre os estudos para os quais esta Fundação dá suporte há uma série em um campo relativamente novo, que pode ser chamado de *Biologia Molecular*".

Astbury utilizou o termo um ano depois, em 1939, passando a ser cada vez mais comum.

Em 1956 foi utilizado pela primeira vez no nome de uma instituição (Laboratório de Biologia Molecular de Cambridge, originalmente chamado de Unidade para o estudo de estruturas moleculares em sistemas biológicos).

Em 1959 foi utilizado pela primeira vez no nome de uma revista científica, Journal of Molecular Biology

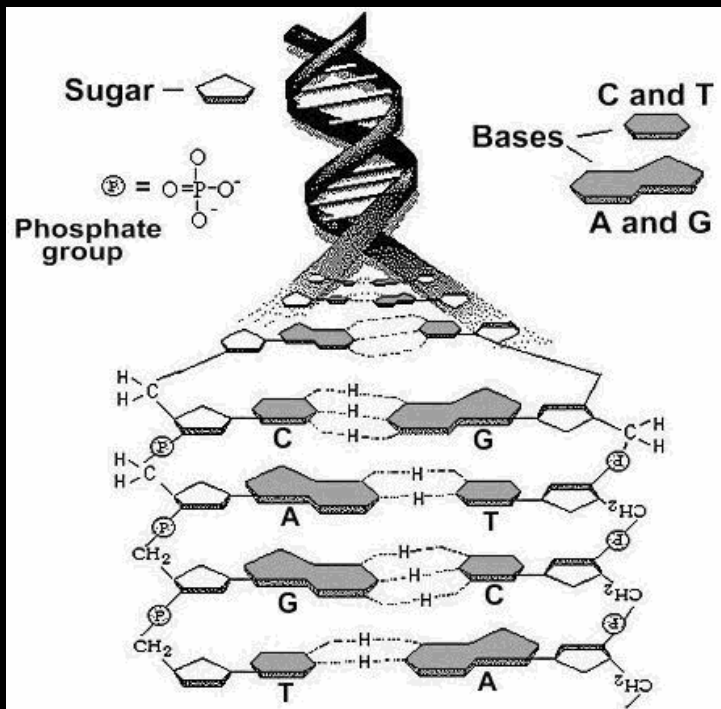
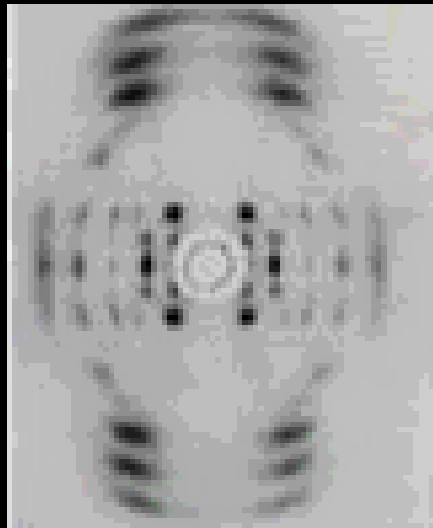
Em 1963 foi utilizado pela primeira vez no nome de uma organização internacional, European Molecular Biology Organization



Conformação + Informação = Biologia Molecular

“Inicialmente haviam duas escolas de Biologia Molecular. A primeira era composta por aqueles primariamente interessados na estrutura tri-dimencional, ou **conformação**, de macromoléculas de importância biológica, especialmente as proteínas, e cuja técnica de escolha era a cristalografia por raio-X. Exemplos são Astbury, Bernal e Pauling. Talvez o primeiro experimento de Biologia Molecular tenha sido a demonstração por Asbury, em 1929, de que o padrão de difração por raio-X e, conseqüentemente, a estrutura do cabelo humano mudava quando este era esticado. Um pouco mais tarde vieram aqueles interessados na **informação** biológica e sua replicação. Estes formavam o que se poderia chamar de escola uni-dimensional, cujos praticantes eram Delbruck e Luria. As duas escolas, que tinham pouco a ver uma com a outra no início, começaram a ter conexões ativas no início dos anos 50 quando ficou claro que o DNA era o material genético, e quando um dos membros da **escola informacional** - Watson - veio para o laboratório de Cambridge que era o centro da **escola conformacional**, e trabalhou com Crick na estrutura do DNA. Desde aquela época as duas escolas se tornaram cada vez mais entrelaçadas uma com a outra e com outros campos, e hoje as fronteiras entre bioquímica, genética, biologia molecular e biofísica se tornaram cada vez menos definidas”.

Sir John Kendrew



Depois da dupla hélice

BIOTECNOLOGIA

**PROJETOS
GENOMA**

Sequenciamento

Clonagem

Genômica

TERAPIA GÊNICA

**DESENVOLVIMENTO
RACIONAL DE DROGAS**

PCR

Proteômica

**DIAGNÓSTICO
MOLECULAR**

**TRANSFORMAÇÃO
DA MEDICINA**

DNA
↓
RNA
↓
PROTEÍNA



... MAS TUDO COMEÇOU A BEM MAIS DO QUE
50 ANOS...

1859 Charles DARWIN

1865 Gregor MENDEL

1869 Friedrich MIESCHER

1910 Thomas MORGAN

1941 George BEADLE

1944 Frederick SANGER

1944 AVERY, MACLEOD & McCARTY

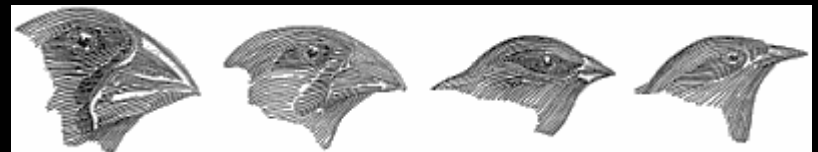
1952 HERSHEY & CHASE



1859: A origem das espécies

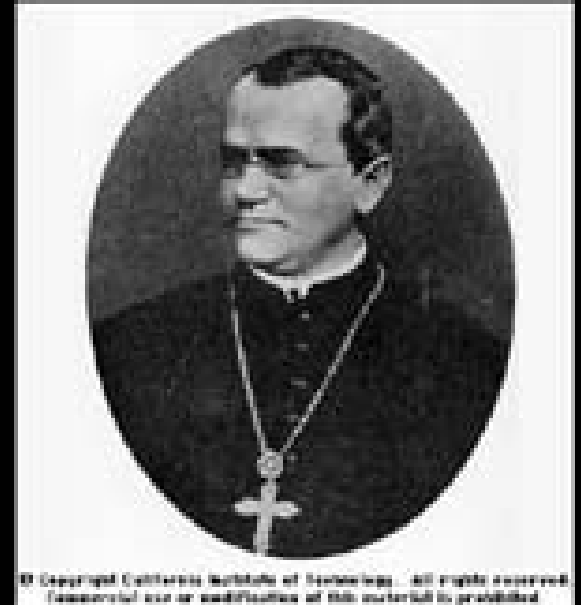
seleção natural

Darwin publica sua teoria sobre a origem das espécies através de seleção natural, mas não consegue explicar os mecanismos hereditários mediadores da seleção natural



Charles Darwin
(1809-1882)

Johann Gregor Mendel (1822 - 1884)



1865: publicou os resultados dos experimentos realizados com ervilhas entre 1856 e 1863. Unidades de informação, invisíveis, são responsáveis pelas características observadas; estes ‘fatores’, mais tarde chamados de *genes*, são passados de geração em geração. Seus resultados não foram apreciados até sua redescoberta em 1900.



Courtesy of Herm Courvoisier, Portrait-Sammlung, University of Basel.
Noncommercial, educational use only.

Friedrich Miescher (1844 - 1895)

Em 1869, isolou
DNA (*nucleína*) a
partir de pus e,
mais tarde, de
esperma de salmão

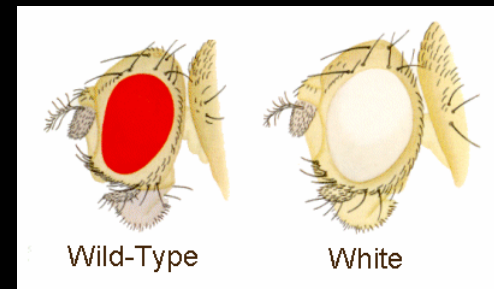
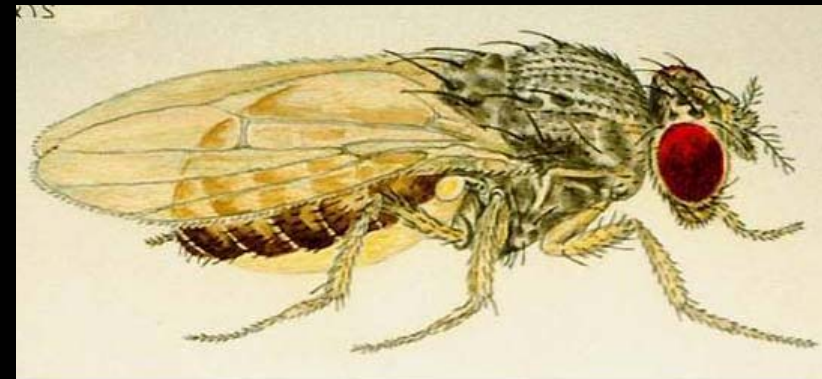


Courtesy of the University of Tübingen Library, Tübingen, Federal Republic of Germany.
Noncommercial, educational use only.



Thomas Hunt Morgan (1866 - 1945)

c. 1910: Através do seu trabalho com a mosca *Drosophila melanogaster*, desenvolveu as idéias e forneceu as provas para a teoria cromossômica da hereditariedade.



Um gene > uma proteína

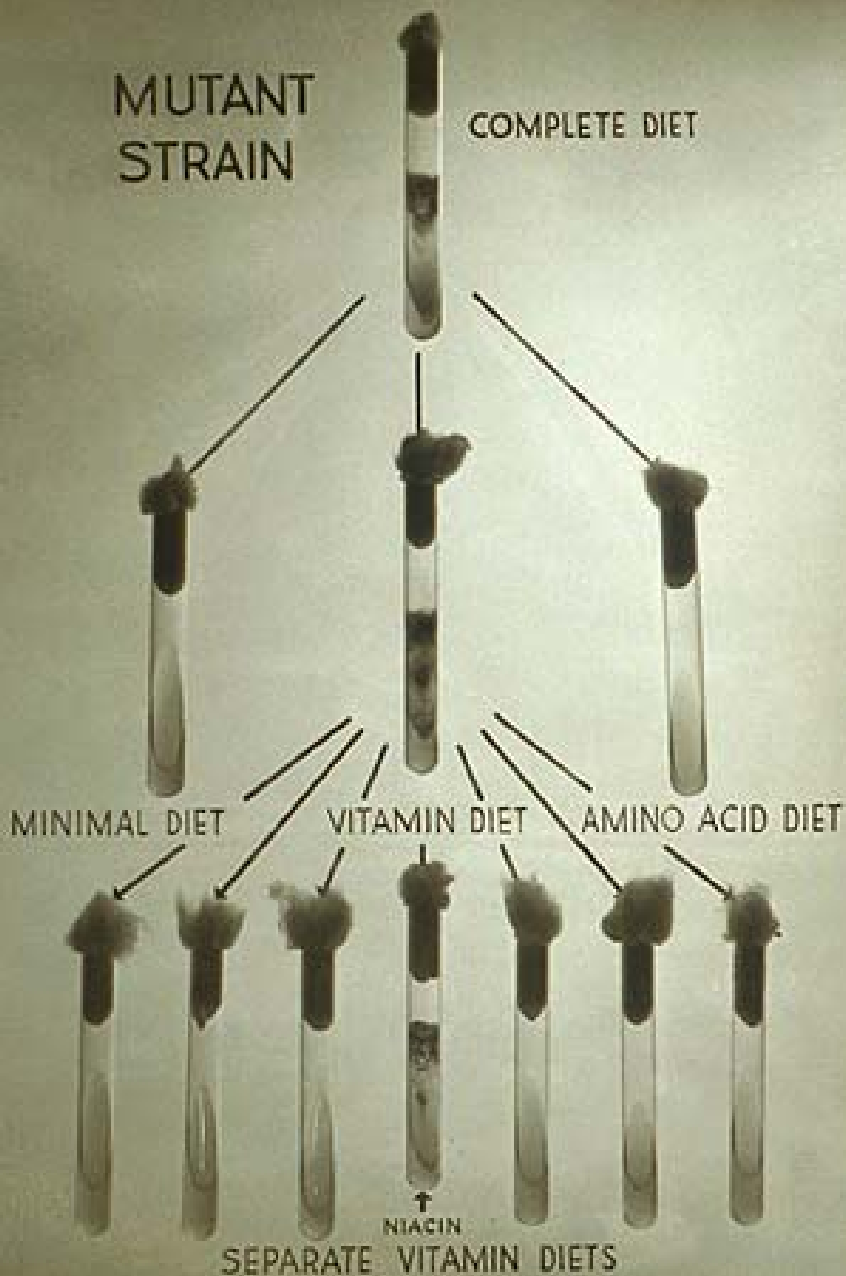
Beadle, G.W. and Tatum, E. (1941) Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 27:499-506

George Beadle (1903 – 1989)

Utilizando o fungo *Neurospora*,
estudaram mutantes incapazes de
crescer em meio não suplementado
(mutantes auxotróficos)



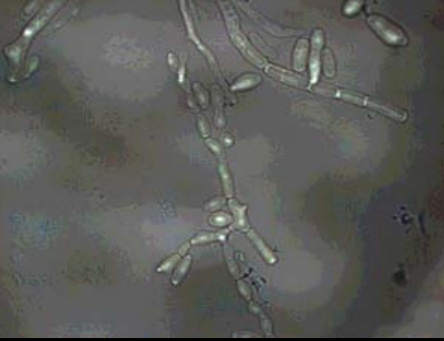
Courtesy of Stanford University Archives.



Fungos expostos à radiação perdem a capacidade de produzir certos nutrientes,

... sendo incapazes de crescer em meio mínimo.

O crescimento é restaurado pela adição ao meio de cultura de um suplemento específico



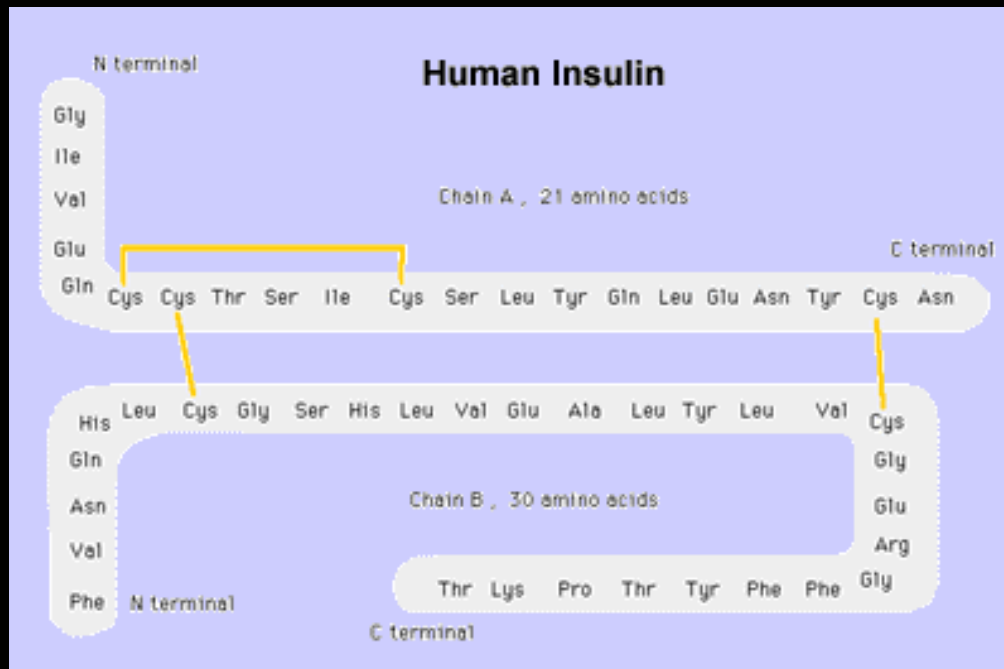
Cada etapa metabólica é catalizada por uma enzima específica, cuja produção está sob a responsabilidade de um único gene.

Uma mutação no gene altera a atividade da proteína.

“One gene : one enzyme” hypothesis



1944 - **Frederick Sanger**: sequência de aminoácidos da insulina bovina





George
Beadle

Edward
Tatum

Frederick
Sanger

Joshua
Lederberg

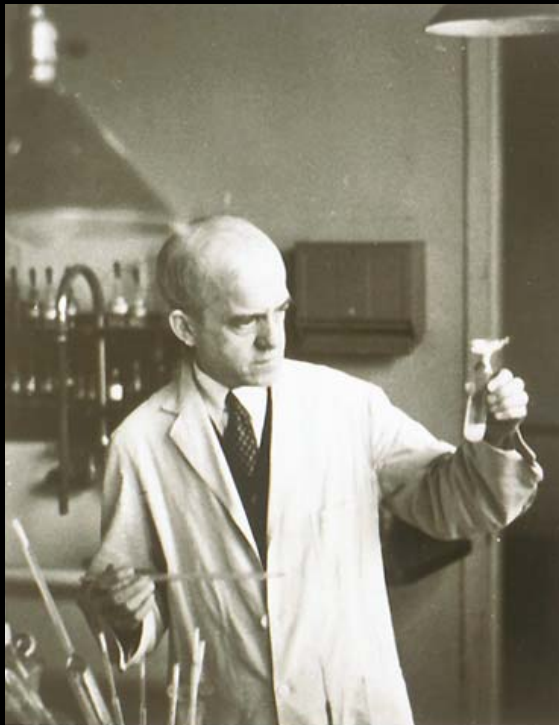
Prêmio Nobel de 1958

O gene é composto de DNA

Rockefeller Institute
Início dos anos 40

Avery, O., MacLeod, C. and McCarty, M. (1944) Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. *J. Exp. Med.* 79: 137-158.

Experimentos dos anos 20 mostravam que cepas bacterianas não patogênicas podem se tornar infecciosas quando misturadas com uma cepa virulenta inativada por calor (“transforming principle”)



Courtesy of the Rockefeller Archive Center.
Noncommercial, educational use only.

Oswald Avery (1877 – 1955)



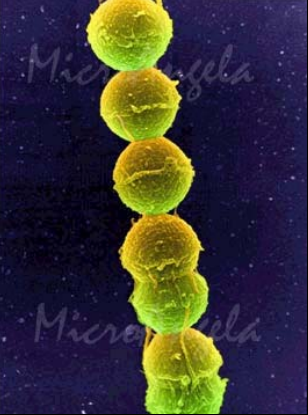
Courtesy of the Rockefeller Archive Center.
Noncommercial, educational use only.

Colin MacLeod



Courtesy of the Rockefeller Archive Center.
Noncommercial, educational use only.

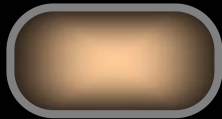
Maclyn McCarty (1911-)



A bactéria *Pneumococcus* mata camundongos causando pneumonia, e sua virulência é determinada pelo tipo de polissacarídeo capsular.



Liso vivo = virulento



Liso morto = avirulento



Rugoso vivo = avirulento



+



Liso morto + *rugoso* vivo



“transforming principle” = resistente à tratamento com proteases mas destruído por DNase

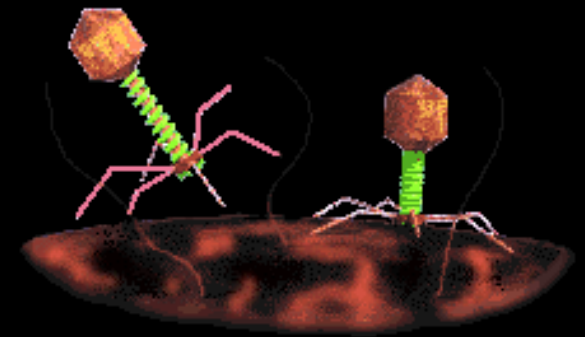
O DNA é o material genético

Hershey, A.D. And Chase, M. (1952). Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J. Gen. Physiol.* 36: 39-56.

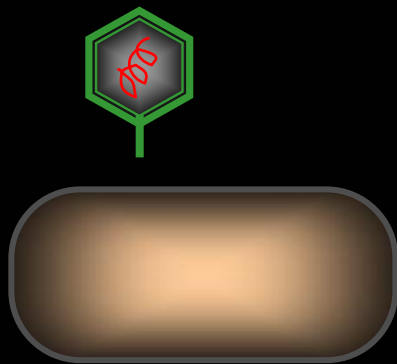


Courtesy of Cold Spring Harbor Laboratory Archives. Noncommercial, educational use only.

Experimento com bacteriófagos
provando que o DNA, e não
proteína, é o material genético



Martha Chase &
Alfred Day Hershey (1908-1997)



liquidificador



centrifugação



32P

DNA é o material genético

Estrutura do DNA

Cavendish Laboratory, Cambridge, UK

Início dos anos 50

Watson, J.D. and Crick, F.H.C. (1953) Molecular structures of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* **171**: 737-738.

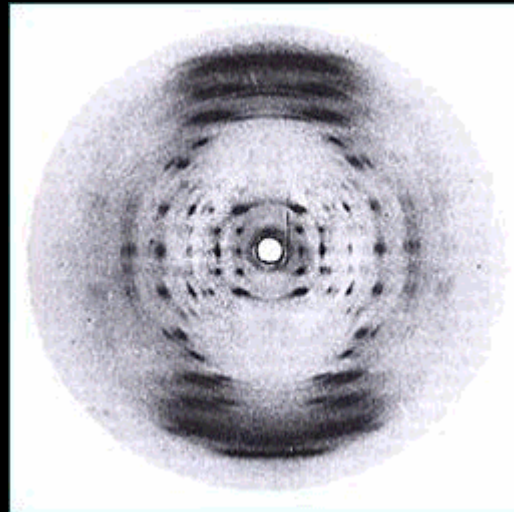
Watson, J.D. and Crick, F.H.C. (1953) Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature* **171**: 964-967.



Francis Crick

James Watson

Propuseram,
em 1953,
a estrutura do
DNA



The first X-ray photograph of crystalline DNA in the A form. 1952

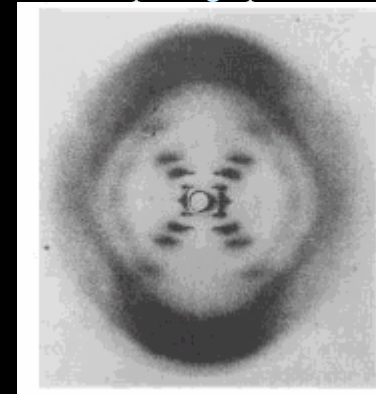


... quem obteve a foto foi a Dra. Rosalind Franklin, e embora eles tenham citado outros de seus trabalhos, os Drs. Watson e Crick não atribuíram a ela o crédito por esta foto ou outros de seus resultados utilizados por eles no seu artigo.

A imagem de Raio-X, numerada como fotografia 51, mostrava um padrão de difração distinto. No trem de volta à Cambridge naquela noite, o Dr. Watson desenhou no seu jornal os detalhes que ele lembrava da figura, pistas sobre os ângulos e espaçamentos dentro da hélice. Ao chegar em casa ele já havia decidido que a estrutura mais provável era a de uma dupla-hélice, e que ele e Francis Crick deveriam construir um modelo para ver se os pedaços se encaixavam.

Foi a Dra. Franklin, e não o seu colega Dr. Wilkins, que criou a foto 51, uma imagem do que era conhecido como forma B do DNA. O Dr. Wilkins, que não se entendia bem com a Dra. Franklin, mostrou a foto ao Dr. Watson sem o conhecimento dela. Os Drs. Watson e Crick também utilizaram um relatório que a Dra. Franklin havia escrito, entregue a eles por Max Perutz, um colega e membro de um comitê científico.

B form
photograph 51



Contribuições para o modelo :

Erwin Chargaff: Quantificou as bases nitrogenadas adenina, timina, citosina e guanina em diferentes organismos e demonstrou existir uma razão constante entre A/T e C/G

Evidência para pareamento entre as bases nas duas fitas de DNA

Rosalind Franklin: Paralelamente a Watson e Crick, realizou estudos de difração de raios-X com DNA.

Seus dados foram fundamentais à proposição da estrutura da dupla hélice.

Linus Pauling: Descreveu a estrutura de hélice para proteínas.

Mostrou que estrutura de hélice era possível.

Frederick Sanger: Desenvolveu o método de sequenciamento de proteínas e relatou a sequência da insulina.

Evidência de que proteínas não eram polímeros simples, dependendo necessariamente de um código.

Prêmio Nobel 1962



Wilkins

Perutz

Crick

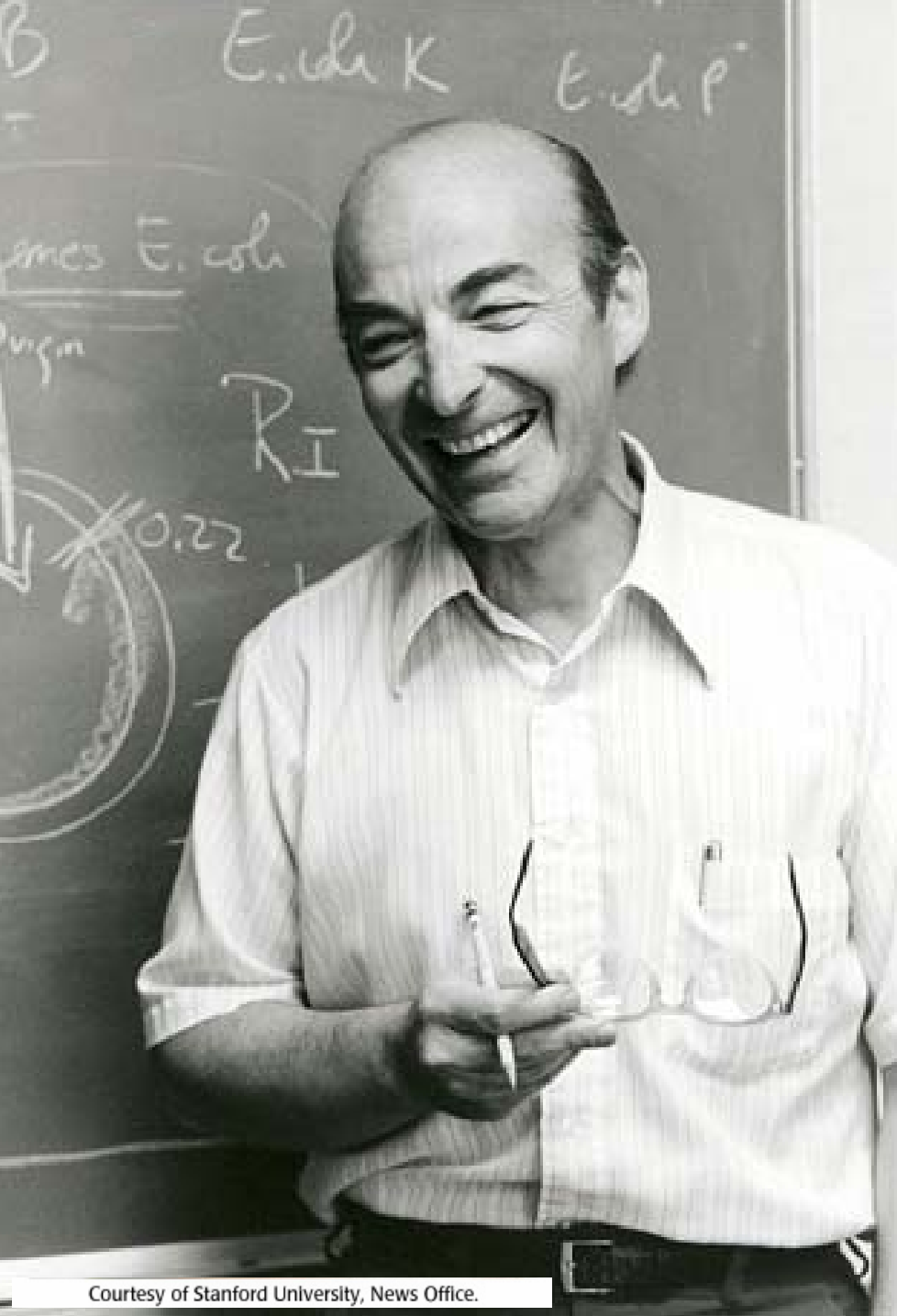
Steinbeck

Watson

Kendrew

“Não nos passou despercebido
que o pareamento específico que
nós postulamos sugere,
imediatamente, um possível
mecanismo para o processo de
cópia do material genético”.

Watson e Crick, 1953



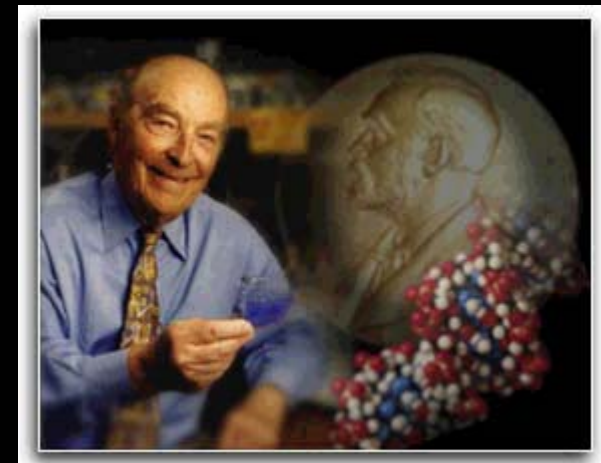
Courtesy of Stanford University, News Office.

1957: DNA polimerase

Arthur Kornberg

Isolou DNA Polimerase
Desenvolveu sistema *in vitro*
Enzima necessita dos 4 nucleotídeos
e de molde de DNA para síntese

Prêmio Nobel em 1959, junto
com Uchoa (síntese de RNA)



Replicação semi-conservativa do DNA

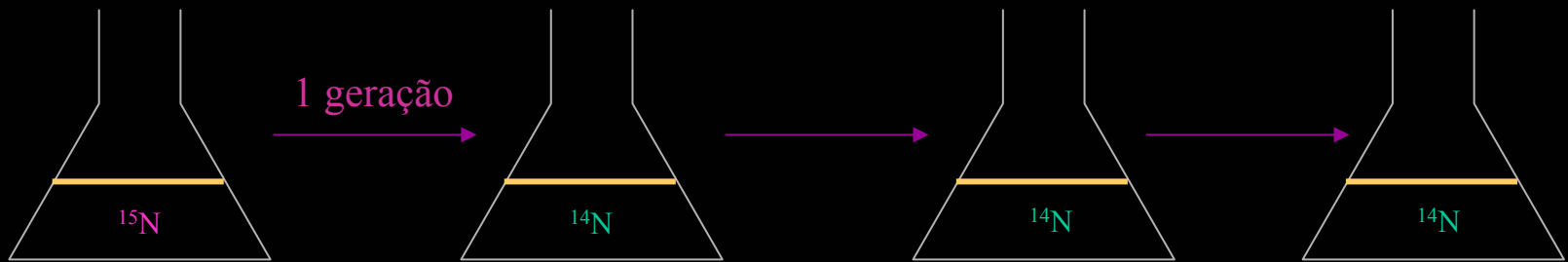
Meselson, M. and Stahl, F. W. (1958) The replication of DNA in *E. coli*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **44**: 671-682.

O experimento mais bonito
em Biologia...

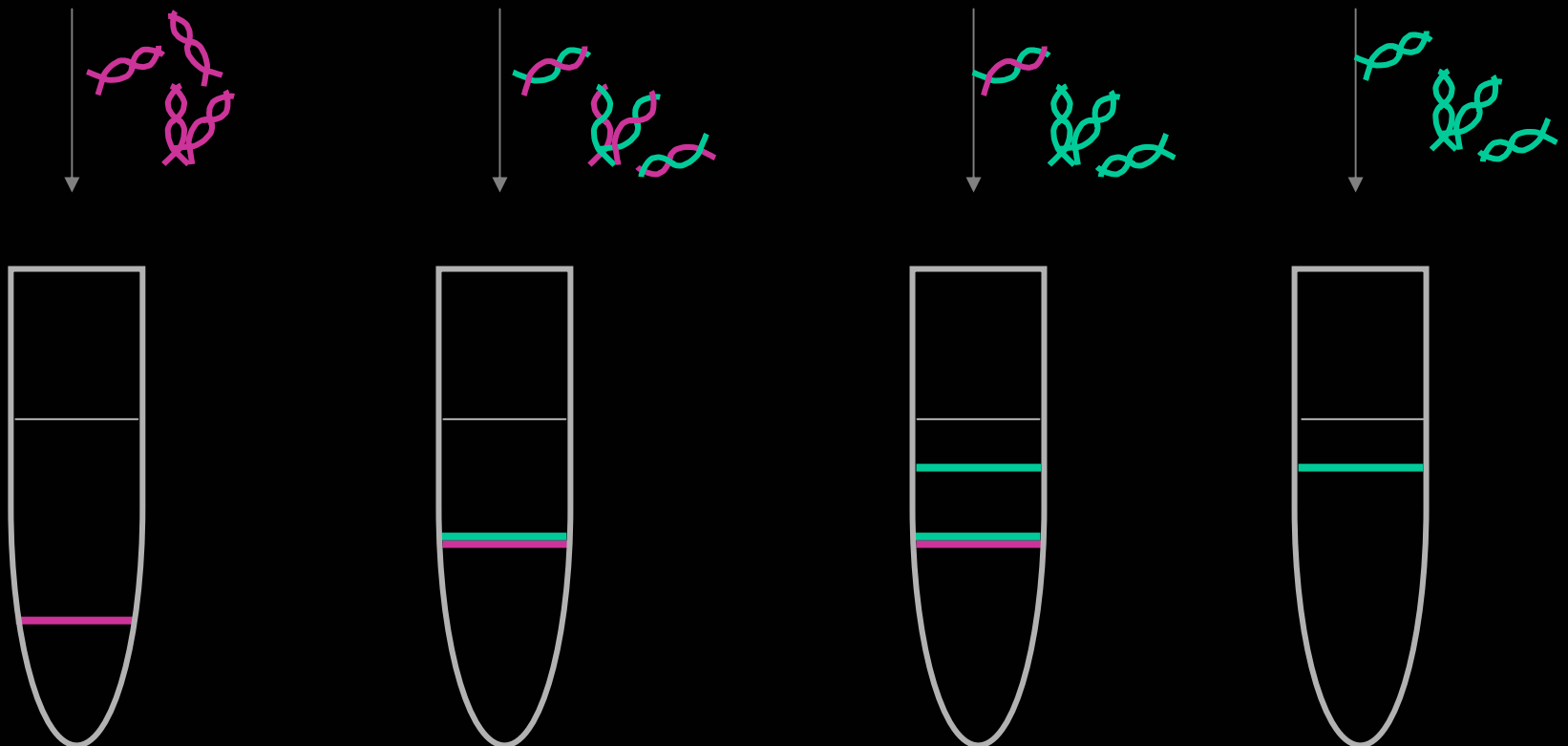
Matthew Meselson
& Franklin Stahl



Courtesy of Dr. M. Meselson, Harvard University.



Escherichia coli cultivada em meio contendo ^{15}N (isótopo pesado de ^{14}N).
 Transferida para meio contendo ^{14}N



Nesse ponto, a estrutura do DNA era conhecida, sabia-se que a molécula servia de molde para sua própria replicação, mas não eram conhecidos os mecanismos pelo qual o DNA exercia uma influência específica sobre a célula.

A Ciência está muito bem equipada para responder à pergunta “Como?” mas fica terrivelmente confusa quando se pergunta “Por Quê?”

Erwin Chargaff

A idéia do “adaptador”

...o que me incomoda é que eu não consigo imaginar *nenhuma* estrutura (de qualquer ácido nucleico) que possa agir como um molde direto para aminoácidos.

..... O que a estrutura do DNA apresenta (e provavelmente o RNA também) é um padrão específico de pontes de hidrogênio, e pouca coisa mais.

... Cada aminoácido combinaria quimicamente, através de uma enzima específica, com uma molécula pequena que, possuindo uma superfície de pontes de hidrogênio, se associaria especificamente com o molde de ácido nucleico

F. Crick, 1955

RNA : o que se sabia então?

Mais difícil de se trabalhar do que DNA (fita simples, embora isto não fosse conhecido na época)

Não possui estrutura definida como o DNA

Sensível à degradação, não tendo sido até então isolado como moléculas longas. Pensava-se tratar de moléculas pequenas.

Os vários tipos de RNA que existem em uma célula (rRNA, tRNA e mRNA) complicavam a interpretação dos resultados, já que a existência de diferentes tipos era desconhecida e ninguém sabia como diferenciá-los.

“So it isn’t surprising that whenever anybody tried to establish something, it always seemed to be *funny*.” (F. Crick)

RNA : evidências



Paul Zamecnik

Ensaio *in vitro* utilizando extrato de células de fígado de rato capaz de realizar síntese de proteínas. Adicionou aminoácidos radioativos e identificou ribossomos associados aos polipeptídeos marcados. Definiu ribossomos como organelas citoplasmáticas aonde ocorre a síntese proteica, compostos de RNA e proteínas. Identificou outro tipo de RNA, solúvel, associado aos aminoácidos não incorporados.

Descreveu a ativação de aminoácidos por aminoacil-tRNA sintetases na fração celular solúvel. Os aminoácidos primeiro se encontravam ligados a RNAs de baixo peso molecular e depois eram transferidos para proteínas nos ribossomos.
RNA solúvel – mais tarde chamado de tRNA



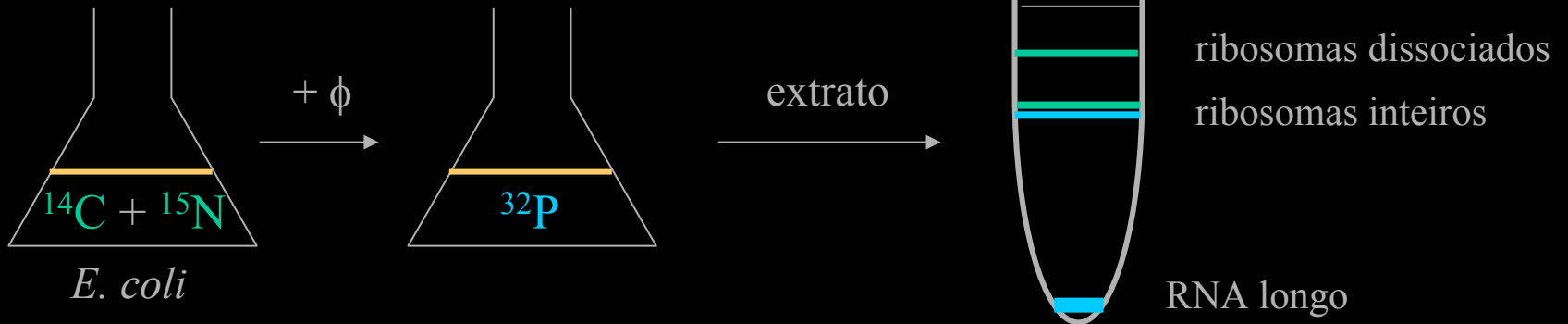
Mahlon Hoagland

RNA : evidências

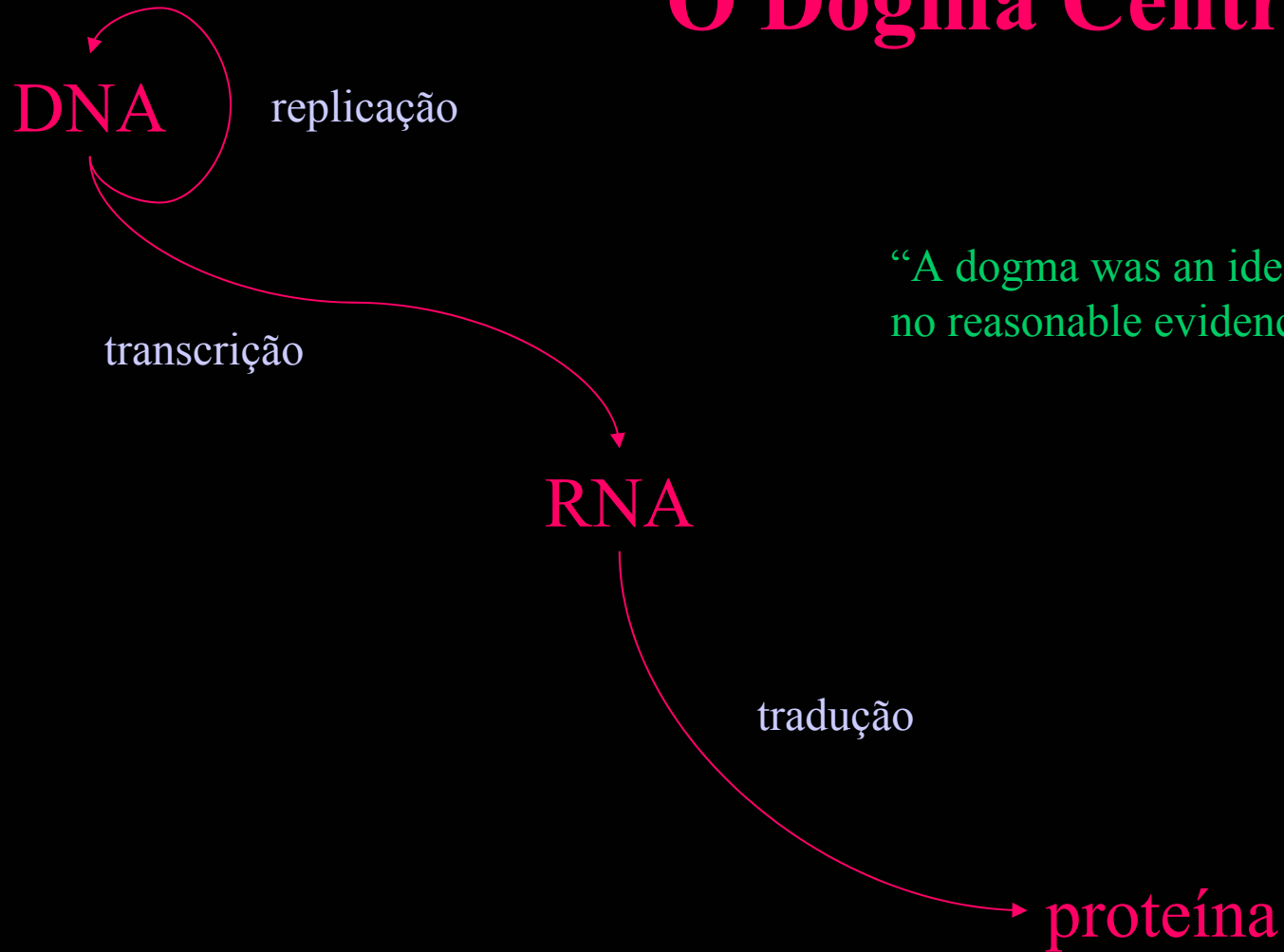


Sydney Brenner

Junto com Meselson e François Jacob, identificou um terceiro tipo de RNA, instável, que transmite a mensagem do DNA.



‘O Dogma Central’



“A dogma was an idea with
no reasonable evidence.”
F. Crick

The Operon

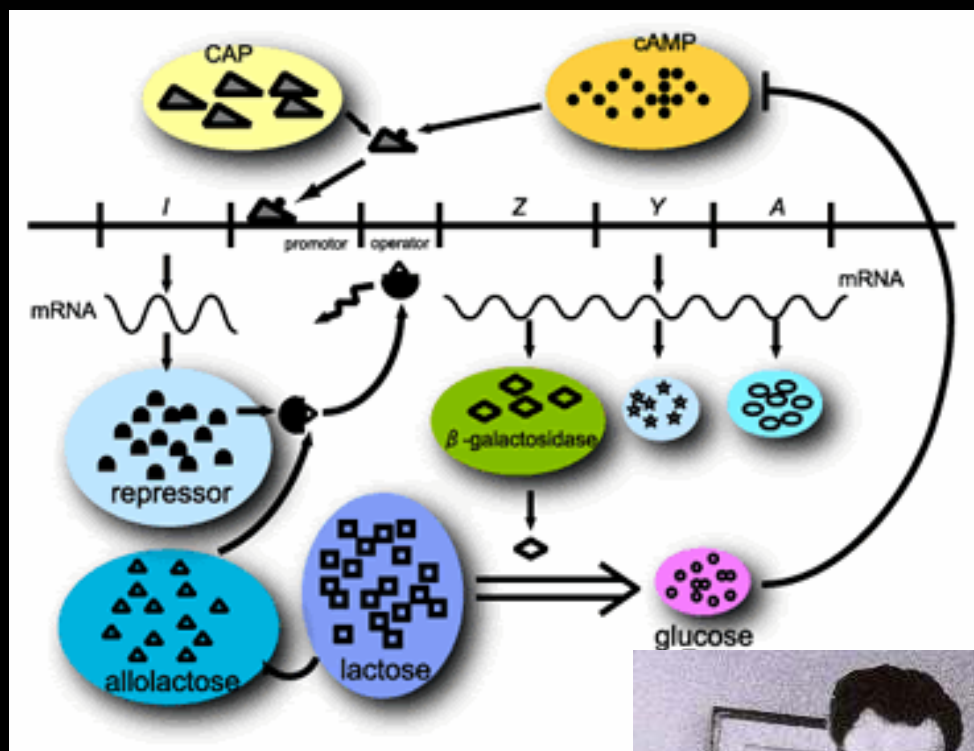


François Jacob



Jacques Monod

François Jacob & Jacques Monod
Genetic regulatory mechanisms
in the synthesis of proteins
J Mol Biol 3:318-356, 1961

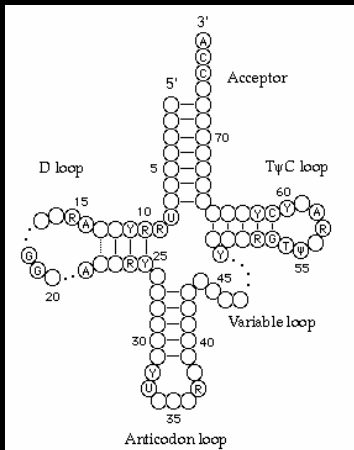


O código

Sintetizou RNAs compostos de uma única base e usou extratos de *E. coli* para fazer tradução *in vitro*, fornecendo aminoácidos marcados. (50 códons)

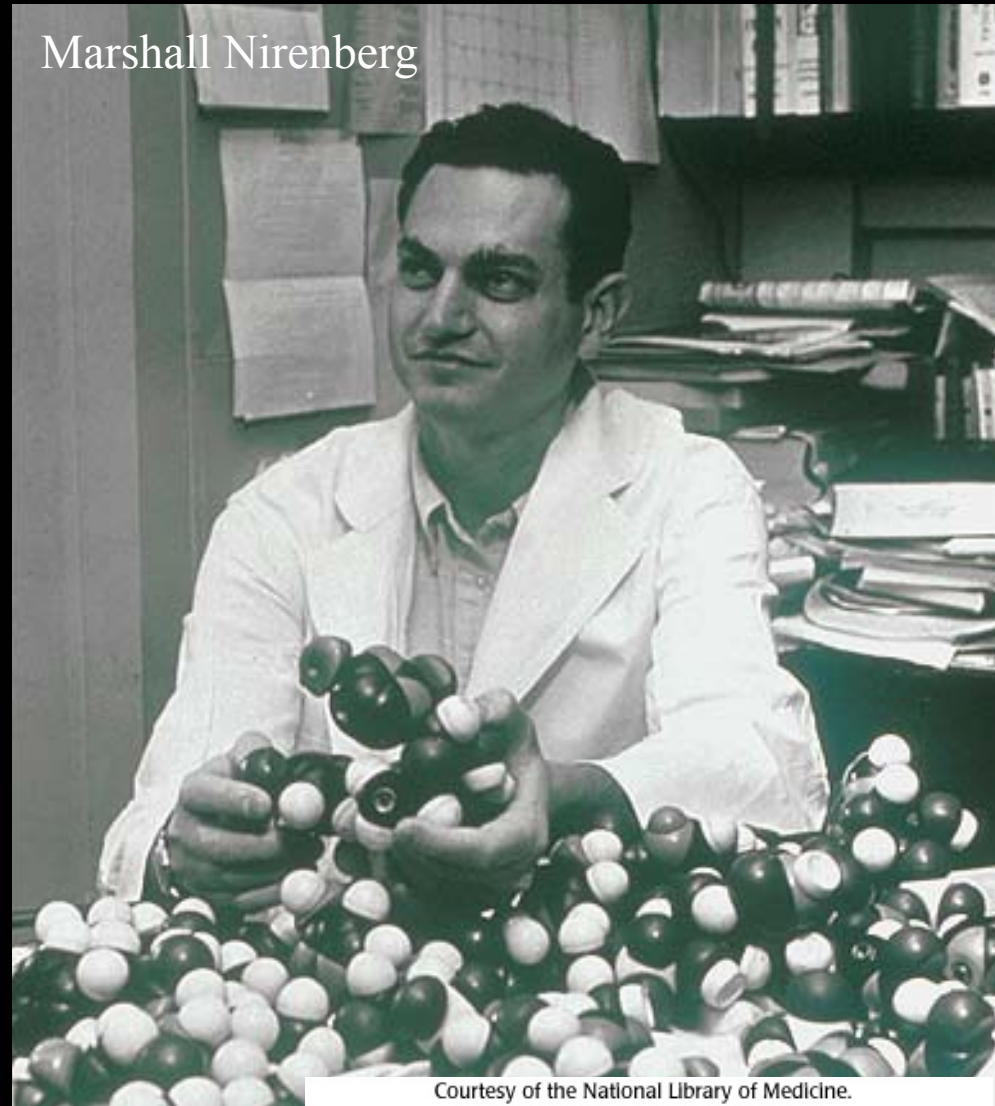
UUU = Fenilalanina

Phil Leder decifrou resto do código genético



Em 1962 Robert Holley resolveu a estrutura do tRNA

Marshall Nirenberg



Courtesy of the National Library of Medicine.

Vírus reverterem a direção do dogma central



David Baltimore e Howard Temin, trabalhando com vírus, demonstram em 1971 a presença de uma transcriptase reversa viral capaz de sintetizar DNA dupla fita a partir de um molde de RNA.

Esta descoberta tornou possível copiar genes ativos, isto é, mRNA

1972: Primeira molécula recombinante

Jackson, D.A., Symons, R.H. & Berg, P. Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of simian virus 40: Circular SV40 DNA molecules containing lambda phage genes and the galactose operon of *Escherichia coli*. *Proc Nat Acad Sci USA* **69**, 2904-2909 (October 1972).

Em 1980, Paul Berg dividiu o Prêmio Nobel de Química com Walter Gilbert e Frederick Sanger, por seus 'estudos fundamentais sobre a bioquímica de ácidos nucleicos, em particular do DNA recombinante'.





ENZIMA DE RESTRIÇÃO

H.O. Smith, K.W. Wilcox, e T.J. Kelley
isolaram a primeira endonuclease de
restrição específica (1968).

B. Weiss and C.C. Richardson
isolaram a DNA ligase (1966),

DNA LIGASE

1973: DNA recombinante



Courtesy of Dr. S. Cohen, Stanford University. Noncommercial, educational use only.

Stanley Cohen

Plasmídeos e resistência



Courtesy of Genentech, Inc. Noncommercial, educational use only.

Herbert Boyer

Enzimas de restrição

Clonagem de um gene de sapo em *Escherichia coli*

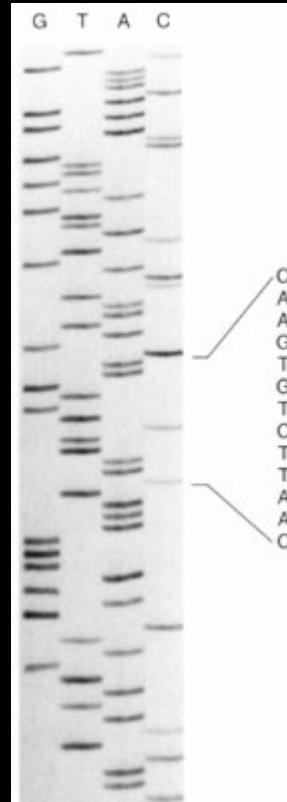
O gene é uma sequência definida de nucleotídeos

Sanger, F. and Coulson, A. R.. (1975) A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J. Mol. Biol.* **94**: 444-448.

Método de sequenciamento de DNA baseado em terminação de cadeia por incorporação de ddNTPs

Maxam, A.M. and Gilbert, W. (1977) A new method of sequencing DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **74**: 560-564.

Método químico de sequenciamento de DNA.



Fred Sanger

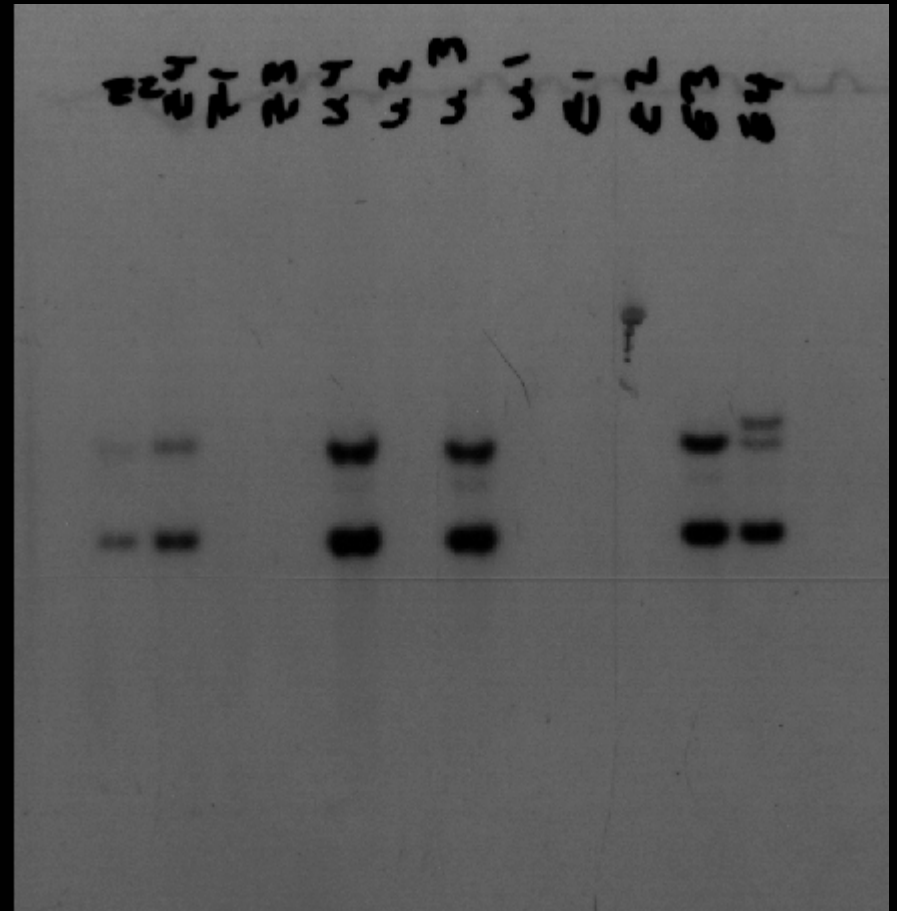
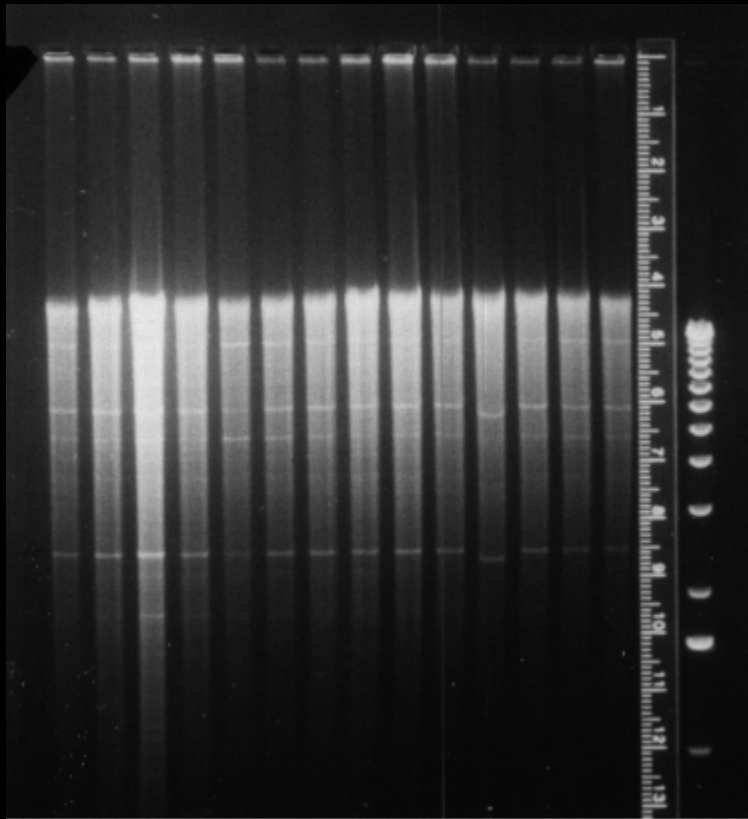


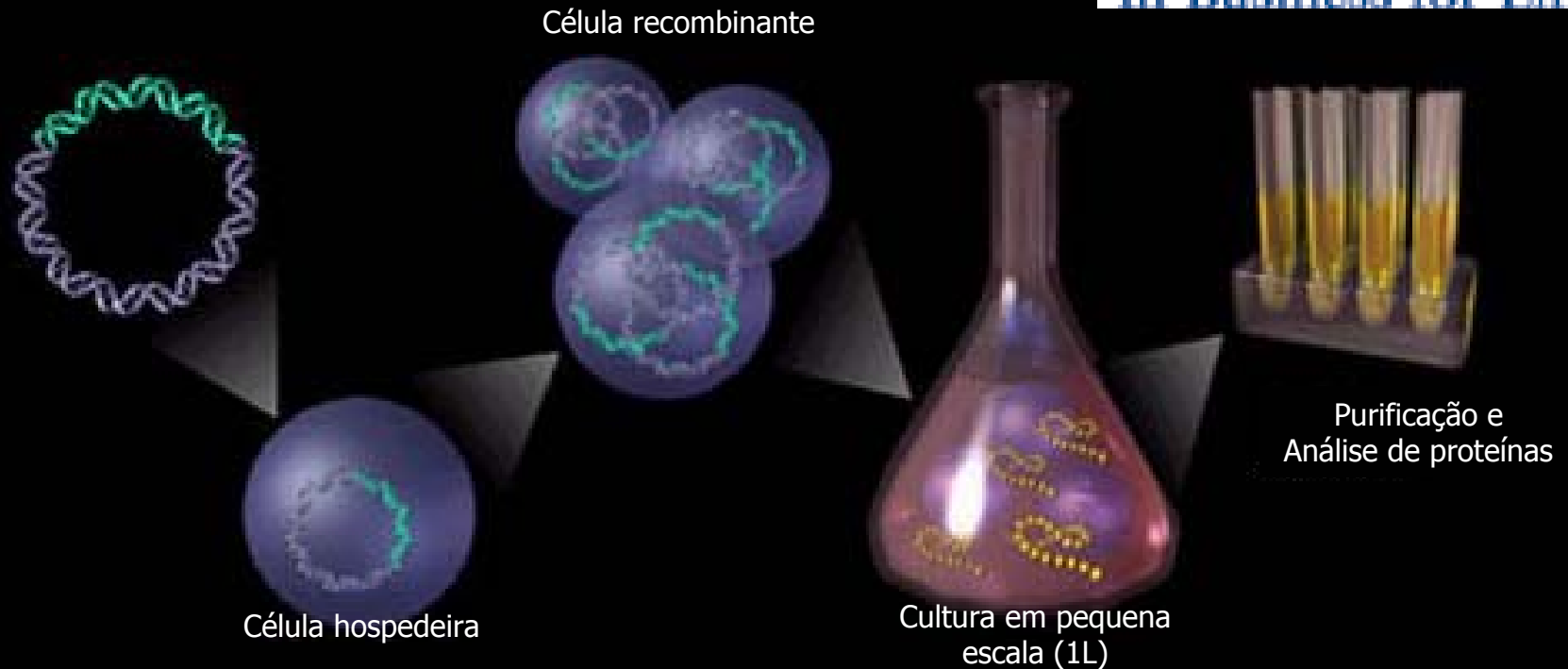
Courtesy of Dr. F. Sanger, MRC, Cambridge.
Noncommercial, educational use only.

Sanger recebeu o Nobel duas vezes : a primeira, nos anos 50, pelo sequenciamento de proteínas (insulina) e a segunda pelo sequenciamento de DNA, em 1980.

1975 - ‘Southern Blotting’

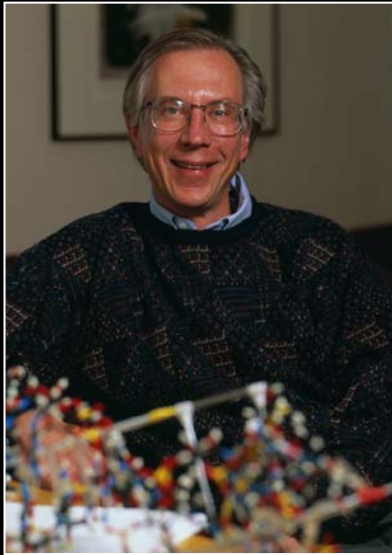
E.M. Southern. (1975) "Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis." J. Mol. Biol. 98: 503.





- 1976 Fundada por Robert Swanson and Herber Boyer
- 1977 Produção da primeira proteína humana (somatostatina) em um hospedeiro microbiano (*E.coli*)
- 1978 Clonagem da insulina humana
- 1979 Clonagem do hormônio de crescimento humano
- 1982 Primeira droga recombinante lançada no mercado (insulina humana)
- 1982 Produção laboratorial do fator de coagulação VIII

O RNA como primeira molécula genética

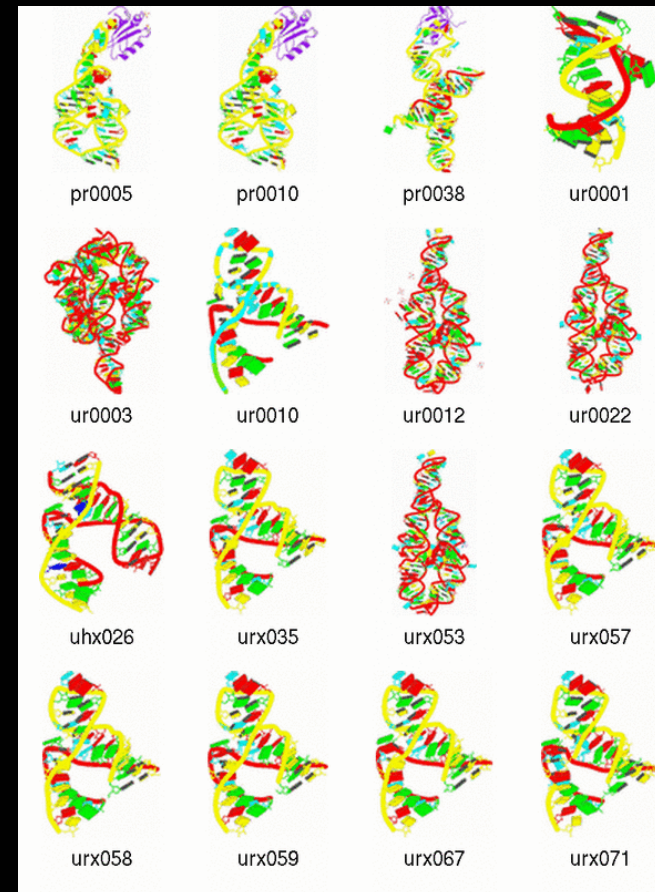


Tom Cech



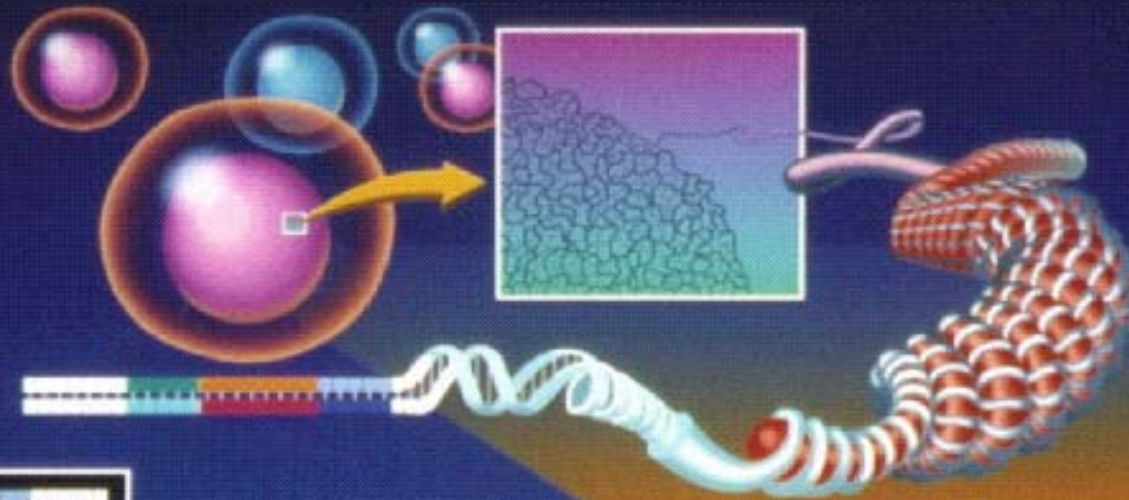
Sydney Altman

Cech e Altman demonstram, independentemente, que o RNA pode possuir atividade autocatalítica (“self-splicing”) e descrevem *ribozimas*.



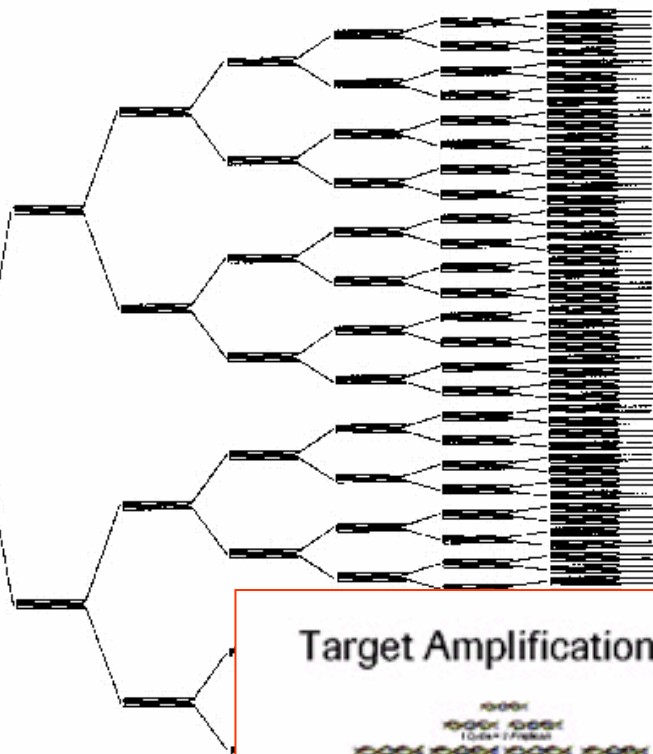
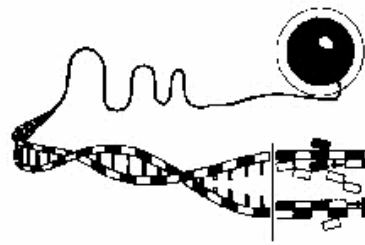
PCR : “polymerase chain reaction”

Saiki, R.M., Scharf, S.J., Faloona, F., Mullis, K.B, Horn, G. T., Erlich, H.A. and Arnheim, N. (1985) Enzymatic amplification of beta-globin sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* **230**: 1350-1354.

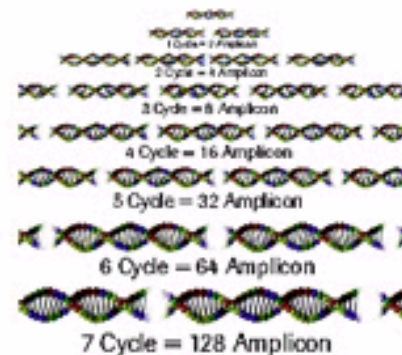




Kary Mullis (Cetus Corp.) – 1987
 Permite obter, *in vitro*, grandes
 quantidades de uma sequência
 específica de DNA.



Target Amplification

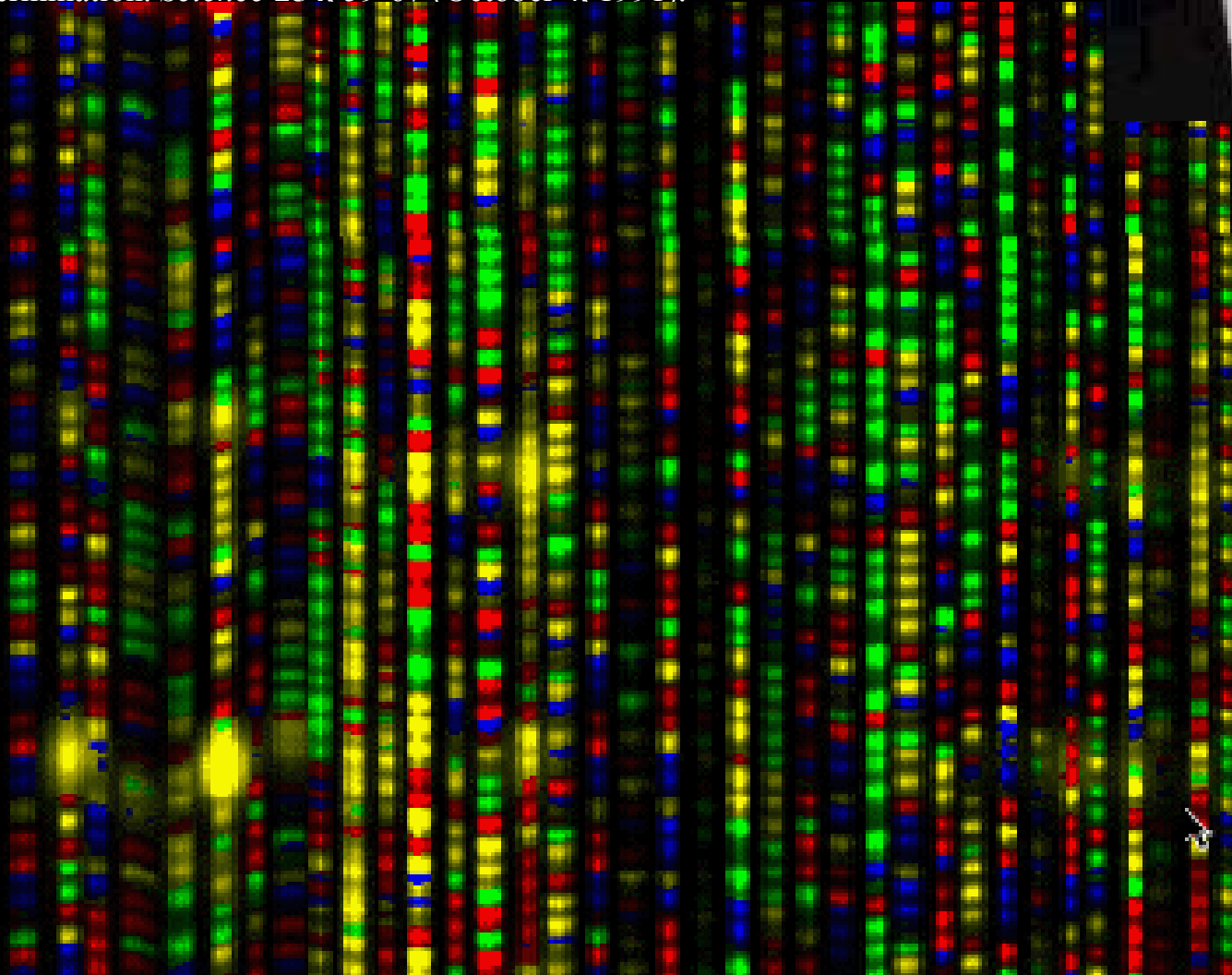


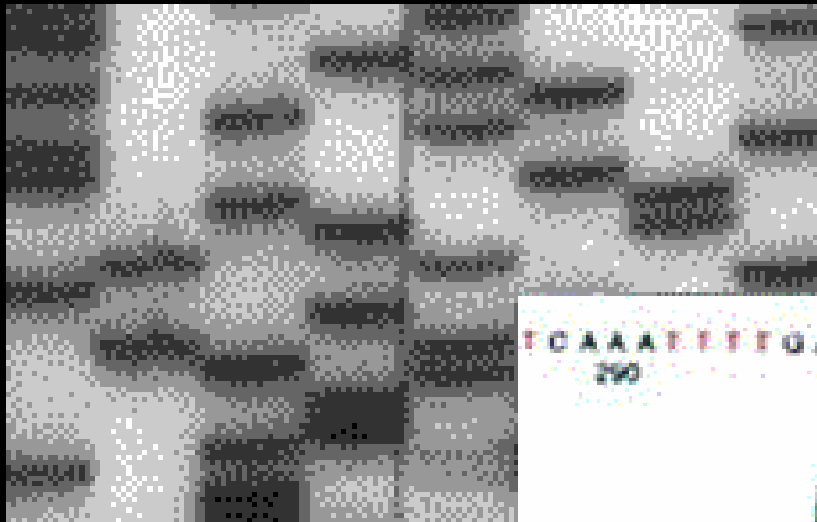
No. of Cycles	No. Amplicon Copies of Target
1	2
2	4
3	8
4	16
5	32
6	64
20	1,048,576
30	1,073,741,824

1986 - Secuenciador Automático de DNA (Leroy Hood)

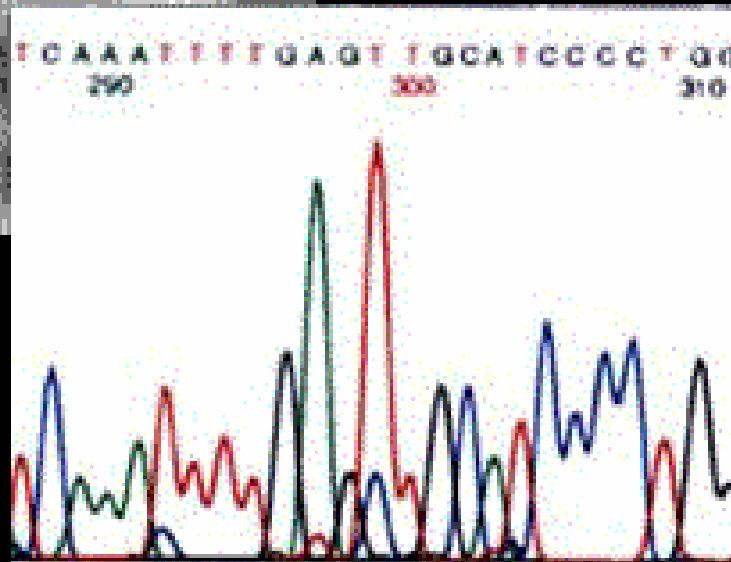
Lloyd M. Smith et al. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature* **321**, 674-679 (June 12, 1986).

T. Hunkapiller, R. J. Kaiser, B. F. Koop, L. Hood. Large-Scale and automated DNA sequence determination. *Science* **254**, 59-67 (October 4, 1991).





Sequenciamento manual

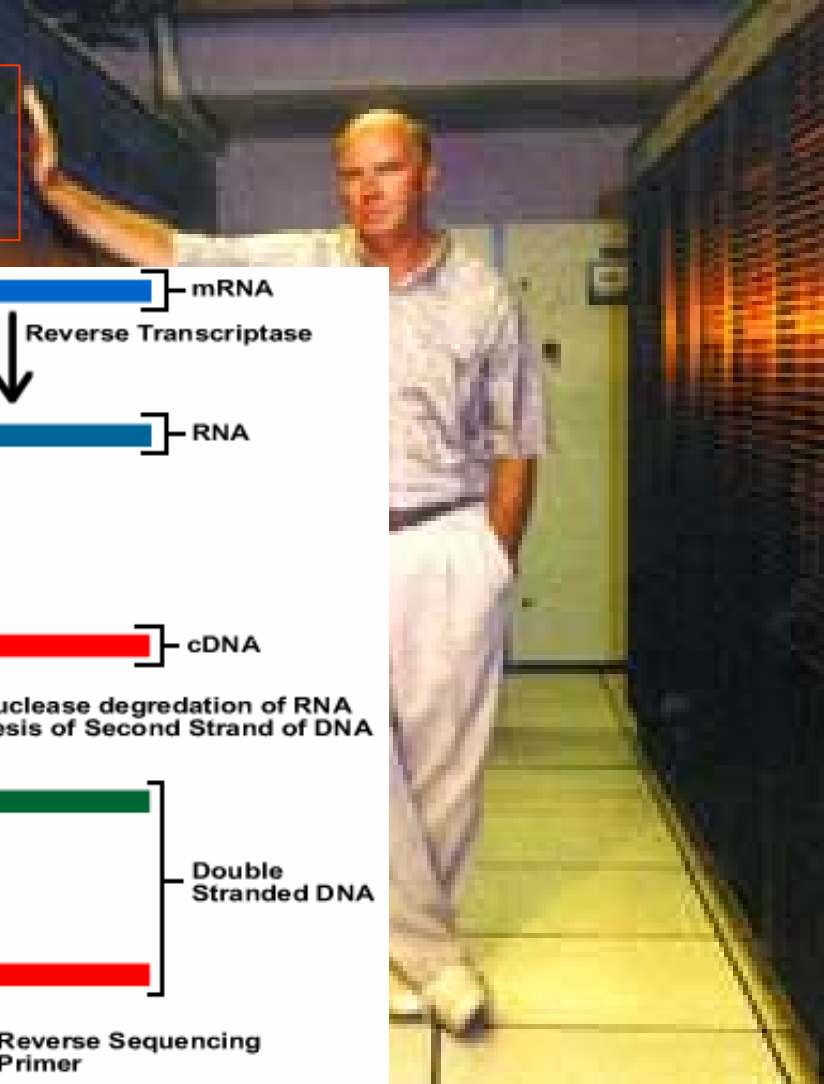
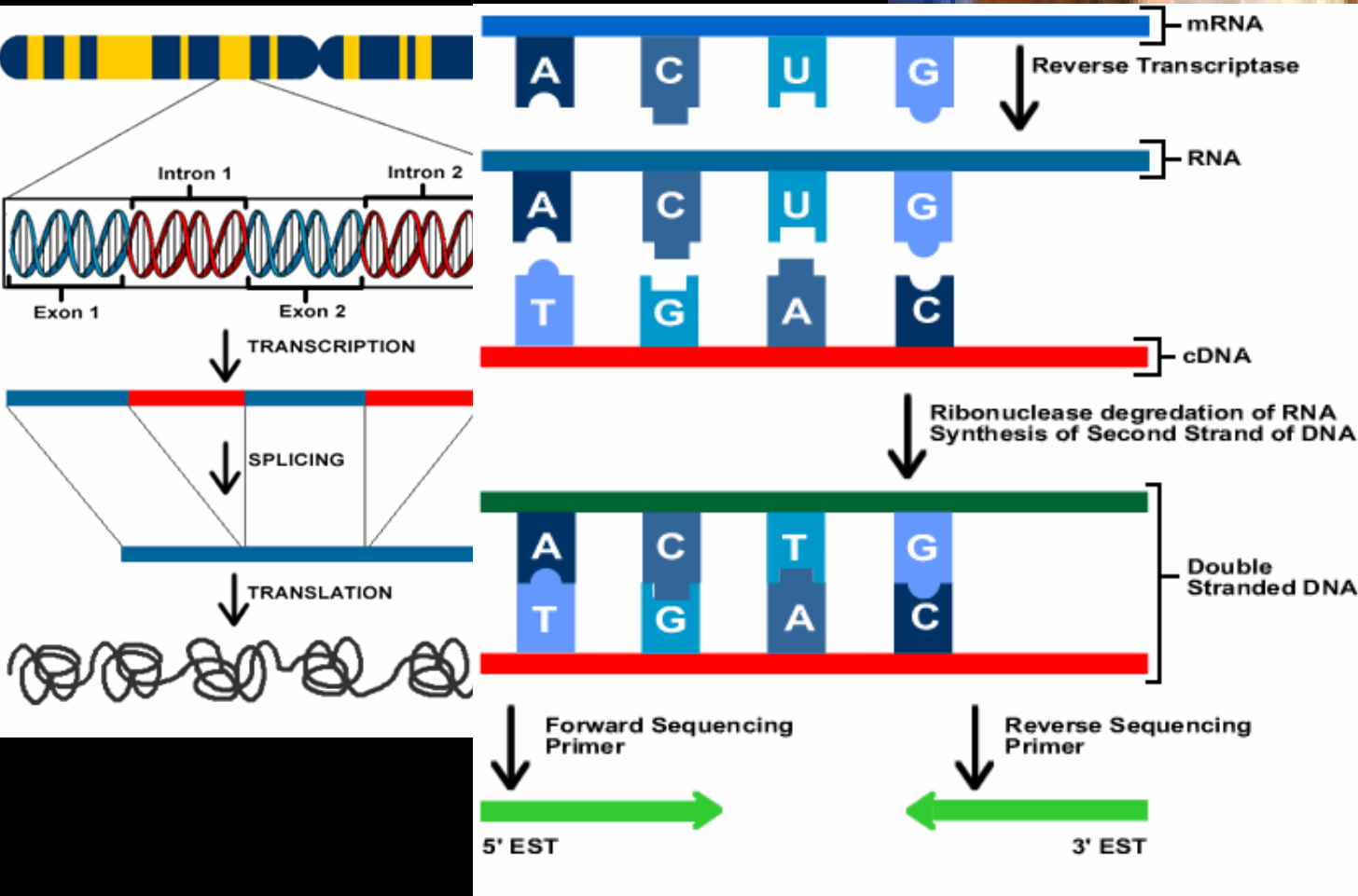


Sequenciamento
automático

Sequenciamento
capilar



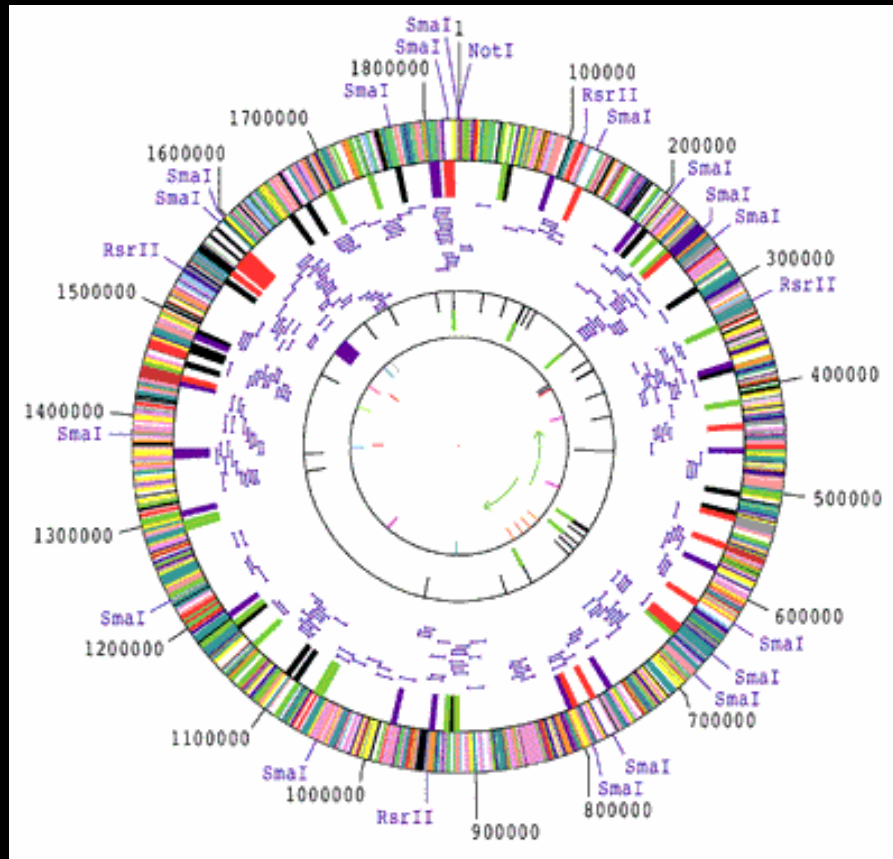
1991 - J.Craig Venter Expressed Sequence Tags



Adams, M.D., Kelley, J.M., Gocayne, J.D., Dubnick, M., Polymeropoulos, M.H., Xiao, H., Merril, C.R., Wu, A., Olde, B., Moreno, R., Kerlavage, A.R., McCombie, W.R., and Venter, J.C. Complementary DNA sequencing: "expressed sequence tags and the human genome project. *Science* **252**, 1651-1656 (1991).

1995: Primeiro genoma sequenciado

Haemophilus influenzae





1997 - 2003

A clonagem verdadeira começa com um animal adulto, possuidor de células diferenciadas ou somáticas.

Nas células somáticas, parte do DNA está *desligado* (não é expresso).

Os cientistas tiveram que descobrir um meio de *ligar* todo o DNA em uma célula somática para poder cloná-la.

Uma vez isto feito, foi possível transferir o DNA da célula somática (adulta) para uma célula-ovo, não fertilizada, da mesma espécie.

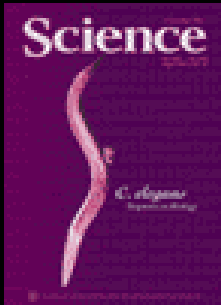
O produto são dois animais geneticamente idênticos: clones verdadeiros



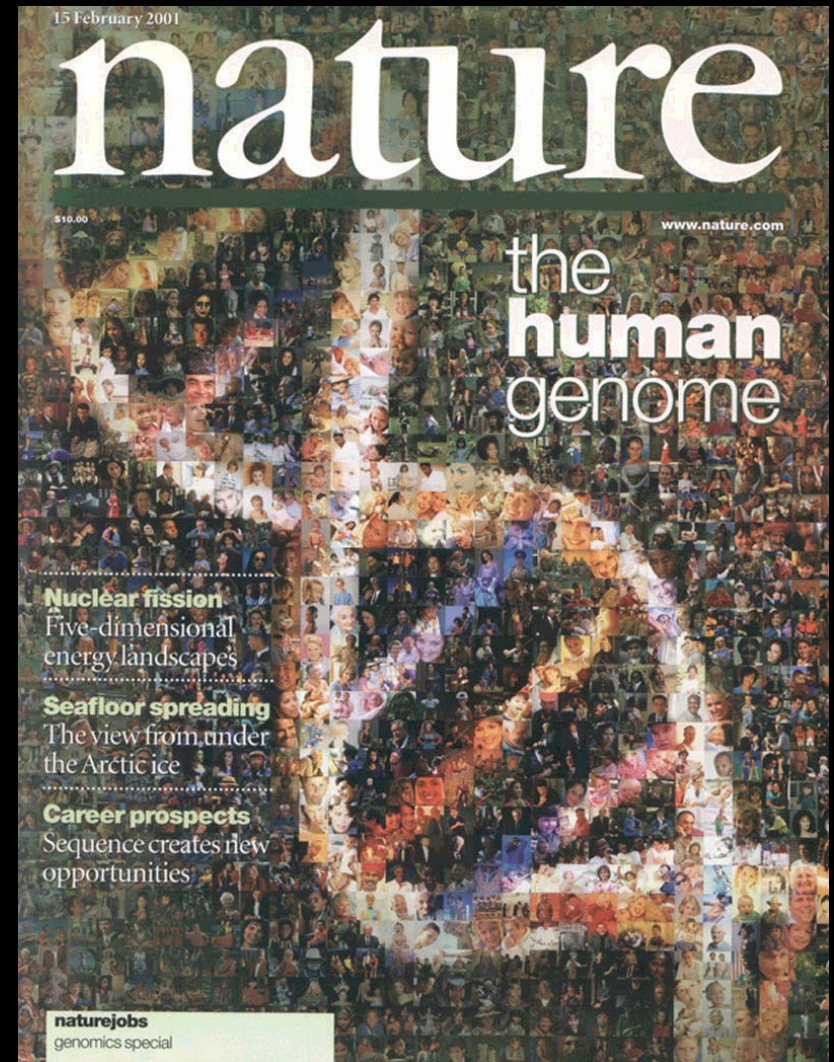


1998: *C. elegans* - primeiro genoma completo de um animal

A sequência genômica do nematódio de vida livre *Caenorhabditis elegans* está quase completa e representa o primeiro genoma de um organismo multi-celular a ser inteiramente sequenciado. O genoma tem aproximadamente 97 Mb de tamanho, e codifica cerca de 19.000 proteínas. O projeto de sequenciamento foi um esforço colaborativo entre o Genome Sequencing Center em St. Louis e o Sanger Center, em Hinxton, UK.



2000: Rascunho do genoma humano



Complete List of Organisms

<i>Aeropyrum pernix</i>	<i>Guillardia theta</i>	<i>Pyrococcus abyssi</i>
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Pyrococcus furiosus</i>
<i>Anabaena</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Pyrococcus horikoshii</i>
<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Halobacterium</i>	<i>Pyrolobus fumarii</i>
<i>Aquifex aeolicus</i>	<i>Helicobacter hepaticus</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i>
<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Rhodopirellula baltica</i>
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	<i>Homo sapiens</i>	<i>Rhodospseudomonas palustris</i>
<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Rickettsia conorii</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Rickettsia prowazekii</i>
<i>Bacillus halodurans</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Rickettsia siberica</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Leptospira interrogans</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	<i>Listeria innocua</i>	<i>Salmonella enterica</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Bdellovibrio bacteriovorus</i>	<i>Magnaporthe grisea</i>	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>
<i>Blochmannia floridanus</i>	<i>Mesorhizobium loti</i>	<i>Shewanella oneidensis</i>
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>	<i>Shigella flexneria</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Methanococcoides burtonii</i>	<i>Sinorhizobium meliloti</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Methanococcus jannaschii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Methanogenium frigidum</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Methanopyrus kandleri</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Brucella melitensis</i>	<i>Methanosarcina acetivorans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Brucella suis</i>	<i>Methanosarcina mazei</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Buchnera aphidicola</i>	<i>Mus musculus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Caenorhabditis briggsae</i>	<i>Mycobacterium bovis</i>	<i>Streptomyces avermitilis</i>
<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Mycobacterium leprae</i>	<i>Streptomyces coelicolor</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	<i>Sulfolobus solfataricus</i>
<i>Caulobacter crescentus</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Sulfolobus tokodaii</i>
<i>Chlamydia muridarum</i>	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	<i>Synechococcus</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Synechocystis</i>
<i>Chlamydophila caviae</i>	<i>Mycoplasma mycoides</i>	<i>Thermoanaerobacter tengcongensis</i>
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Mycoplasma penetrans</i>	<i>Thermoplasma acidophilum</i>
<i>Chlorobium tepidum</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Thermoplasma volcanium</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Mycoplasma pulmonis</i>	<i>Thermosynechococcus elongatus</i>
<i>Ciona intestinalis</i>	<i>Nanoarchaeum equitans</i>	<i>Thermotagoa maritima</i>
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Neurospora crassa</i>	<i>Tropheryma whipplei</i>
<i>Clostridium tetani</i>	<i>Nitrosomonas europaea</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Oceanobacillus ihayensis</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Corynebacterium efficiens</i>	<i>Onions yellows phytoplasma</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Coxiella burnetii</i>	<i>Oryza sativa</i>	<i>Vibrio vulnificus</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Wigglesworthia glossinidia</i>
<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Photobacterium luminescens</i>	<i>Wolinella succinogenes</i>
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	<i>Xanthomonas axonopodis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Plasmodium yoelii yoelii</i>	<i>Xanthomonas campestris</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Xylella fastidiosa</i>
<i>Fugu rubripes</i>	<i>Prochlorococcus marinus</i>	<i>Yersinia pestis</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	
<i>Gloeobacter violaceus</i>	<i>Pseudomonas syringae</i>	
	<i>Pyrobaculum aerophilum</i>	



human



Drosophila



mouse



Vibrio cholera



C. elegans



Plasmodium



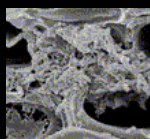
M. leprae



Neisseria



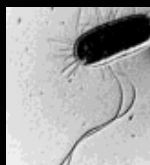
Arabidopsis



Xylella



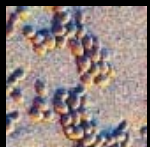
rat



E. coli



Buchenerasp



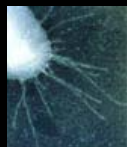
S. cerevisiae



Yersinia



S. pombe



Ralstonia

nature

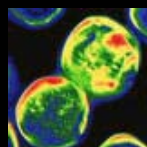
genomegateway



Rickettsia



Campilobacter



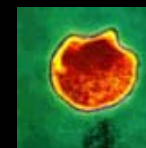
Archaeoglobus



Aquifex



M. tuberculosis



Chlamidia



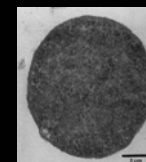
Helicobacter



Ureaplasma



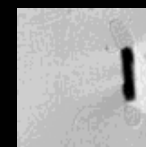
Borrelia



Thermoplasma



Bacillus



Thermotoga



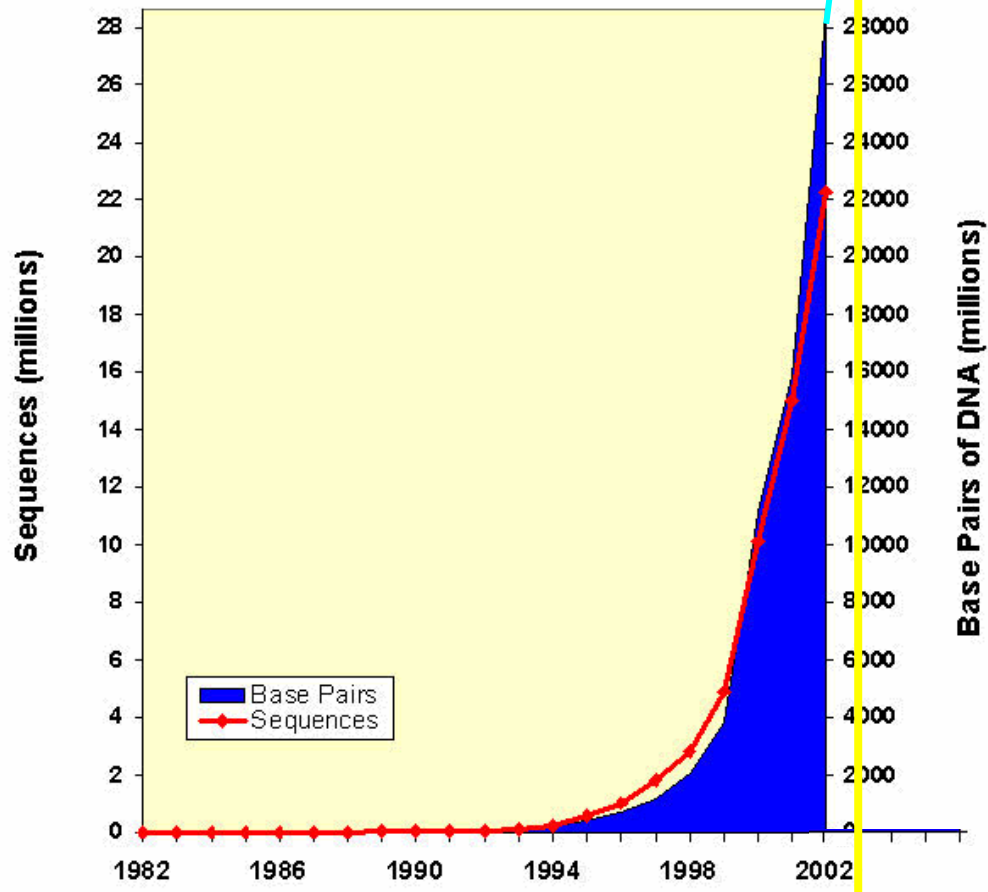
Salmonella



Pseudomonas

37 bilhões de bp

Growth of GenBank



Dezembro 2003

A era pós-genoma:

“É extraordinário que uma única amostra de mRNA, de um animal ou uma cultura infectada, possa fornecer informações precisas sobre a função dos genes tanto do patógeno quanto do hospedeiro”

Stanley Falkow
(sobre microarrays)

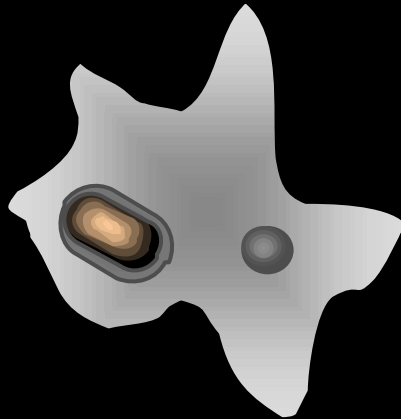
Trends in Microbiology, 8: 198-199, 2000.

Perfil comparativo de expressão gênica



Meio axênico

X



in vitro

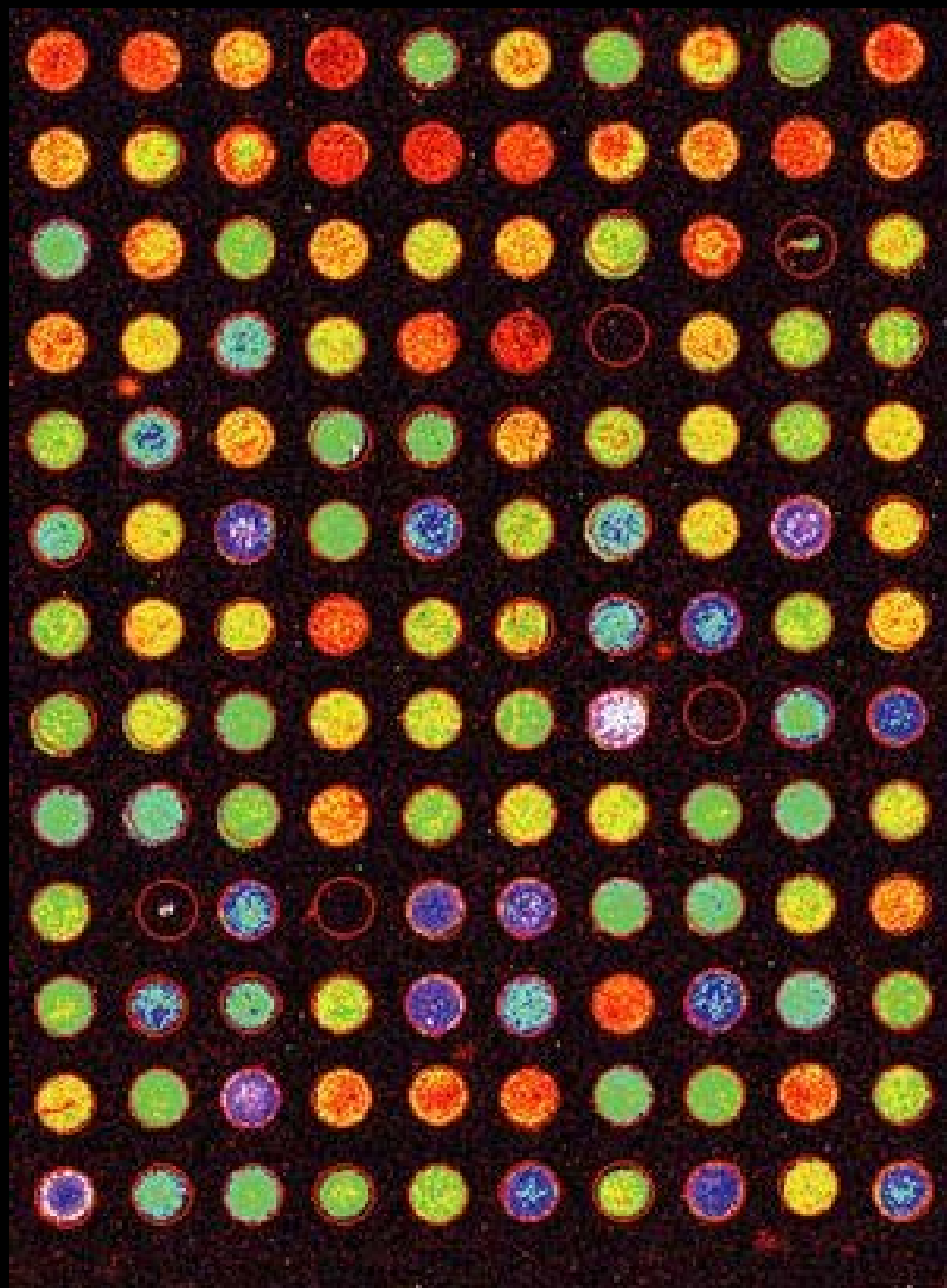
X



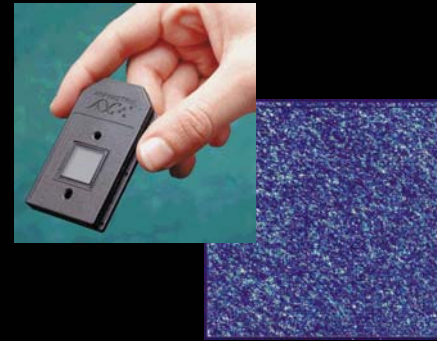
in vivo

Patógeno + hospedeiro

DNA microarrays:



DNA Chips

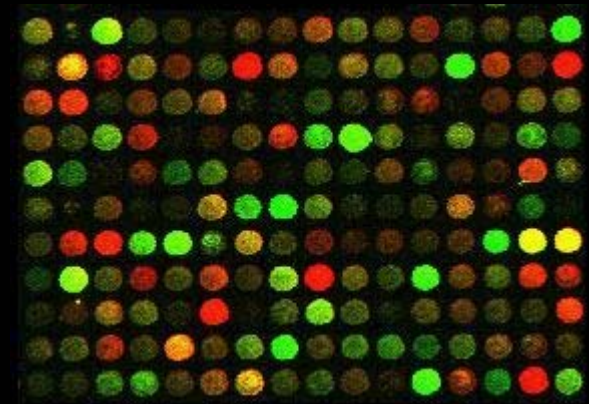


STEPHEN P. A. FODOR (1953-)

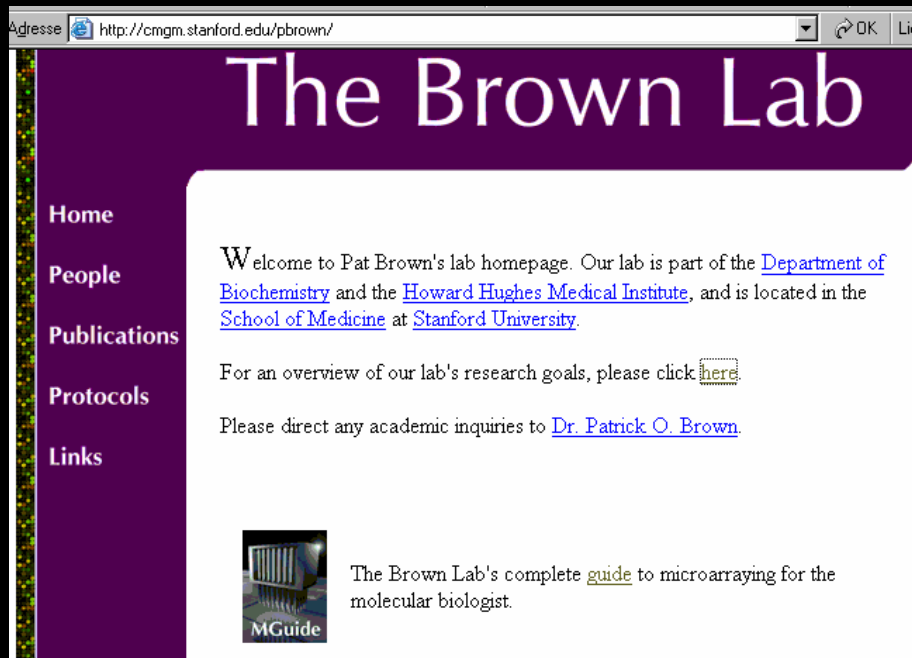
Fodor fez pós-doutorado na UC Berkeley e em 1989 foi trabalhar para a Affymax Research Institute em Palo Alto. Ele era responsável por desenvolver um processo para gerar arranjos (*arrays*) de alta densidade, miniaturizados, contendo compostos biológicos. Isso levou ao desenvolvimento do primeiro *chip* de DNA e das técnicas necessárias para ler e analisar os resultados para estudos genômicos em larga escala. O processo foi bastante refinado desde então e o sucesso desta tecnologia levou, em 1993, à criação de outra empresa, a Affymatrix Inc. Fodor é atualmente o CEO da Affymatrix.



1995 Stanford University - Pat Brown and Ron Davis



Desenvolveram um método para preparar chips de DNA no laboratório, “spotando” fragmentos inteiros de DNA em uma lâmina de microscópio. Também construíram um robô que utiliza tips para aplicar as gotinhas contendo DNA. O sítio web do laboratório em Stanford fornece instruções completas para a confecção de chips de DNA, tornando essa tecnologia acessível à comunidade científica.



Patrick O. Brown

Ph.D., 1980, M.D., 1982, Chicago.

Professor of Biochemistry

Email

pbrown@cmgm.stanford.edu

Web



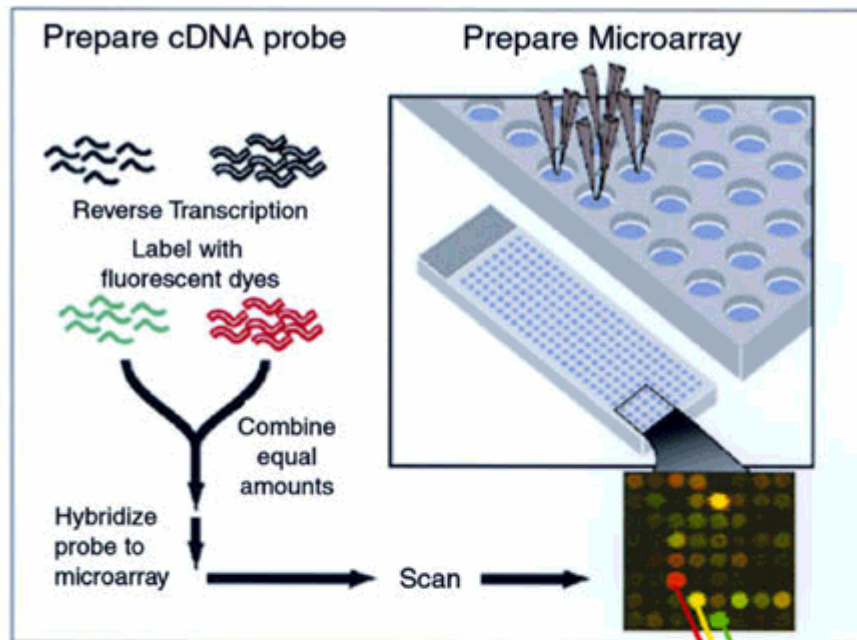
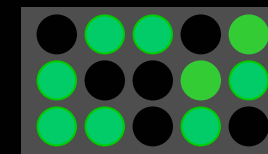
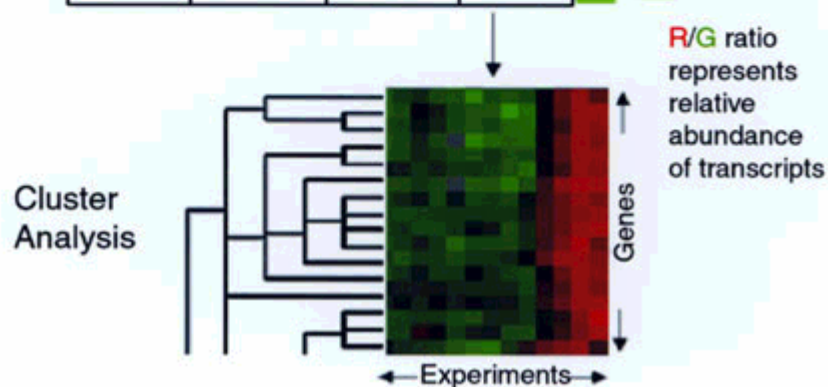
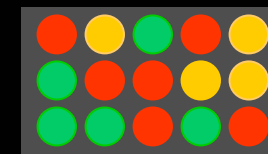


Image Analysis

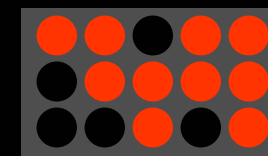
Cy3	Cy5	$\frac{\text{Cy5}}{\text{Cy3}}$	$\log_2 \frac{\text{Cy5}}{\text{Cy3}}$
200	10000	50.00	5.64
4800	4800	1.00	0.00
9000	300	0.03	-4.91

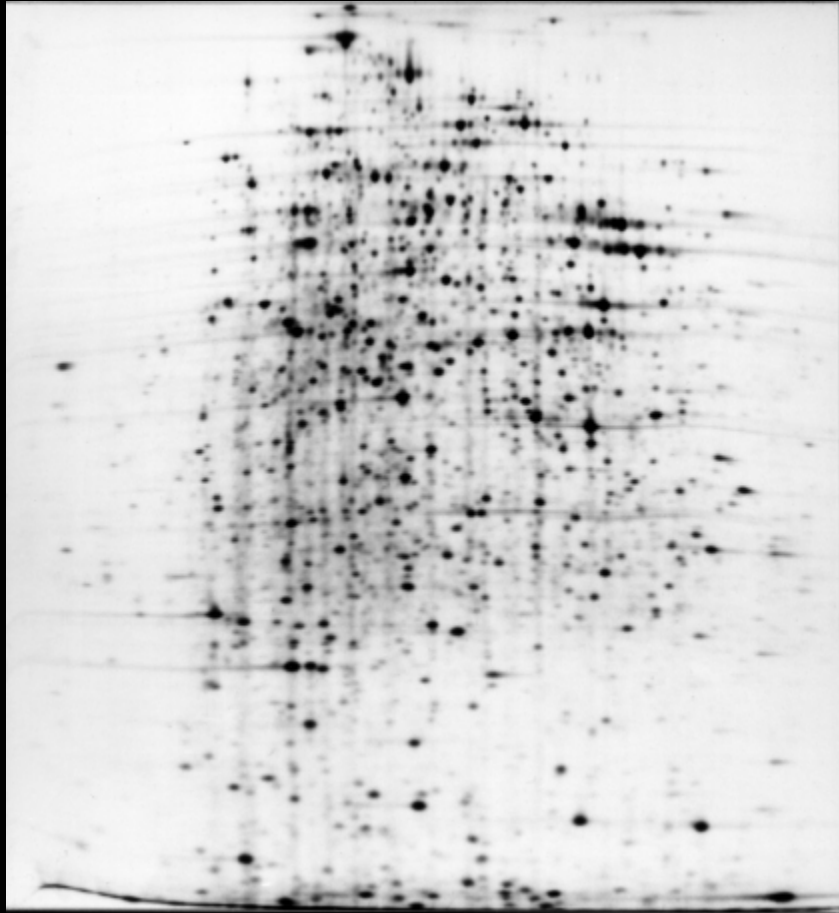


$- \text{O}_2$

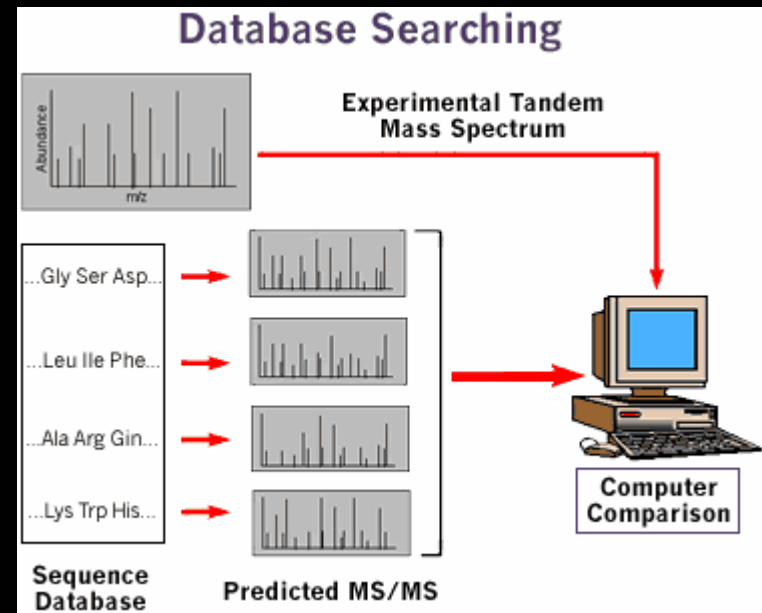
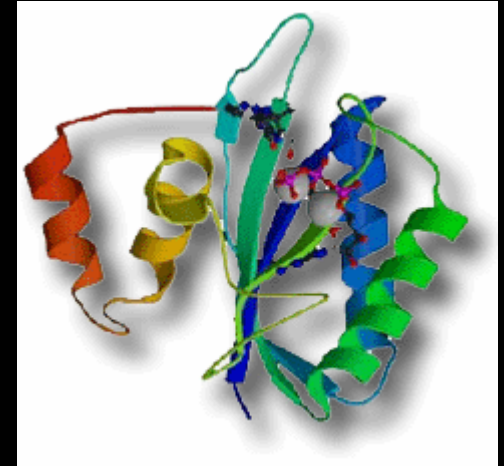


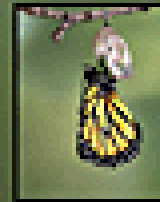
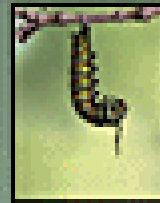
$+ \text{O}_2$



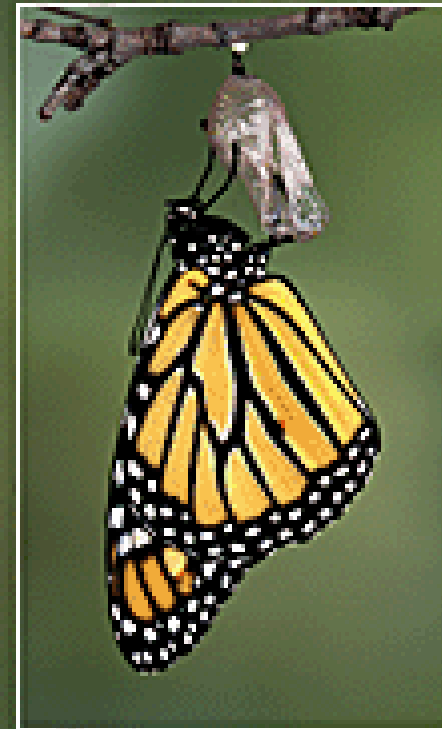


Proteômica

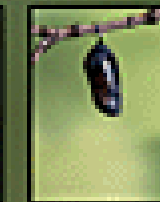
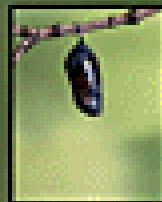


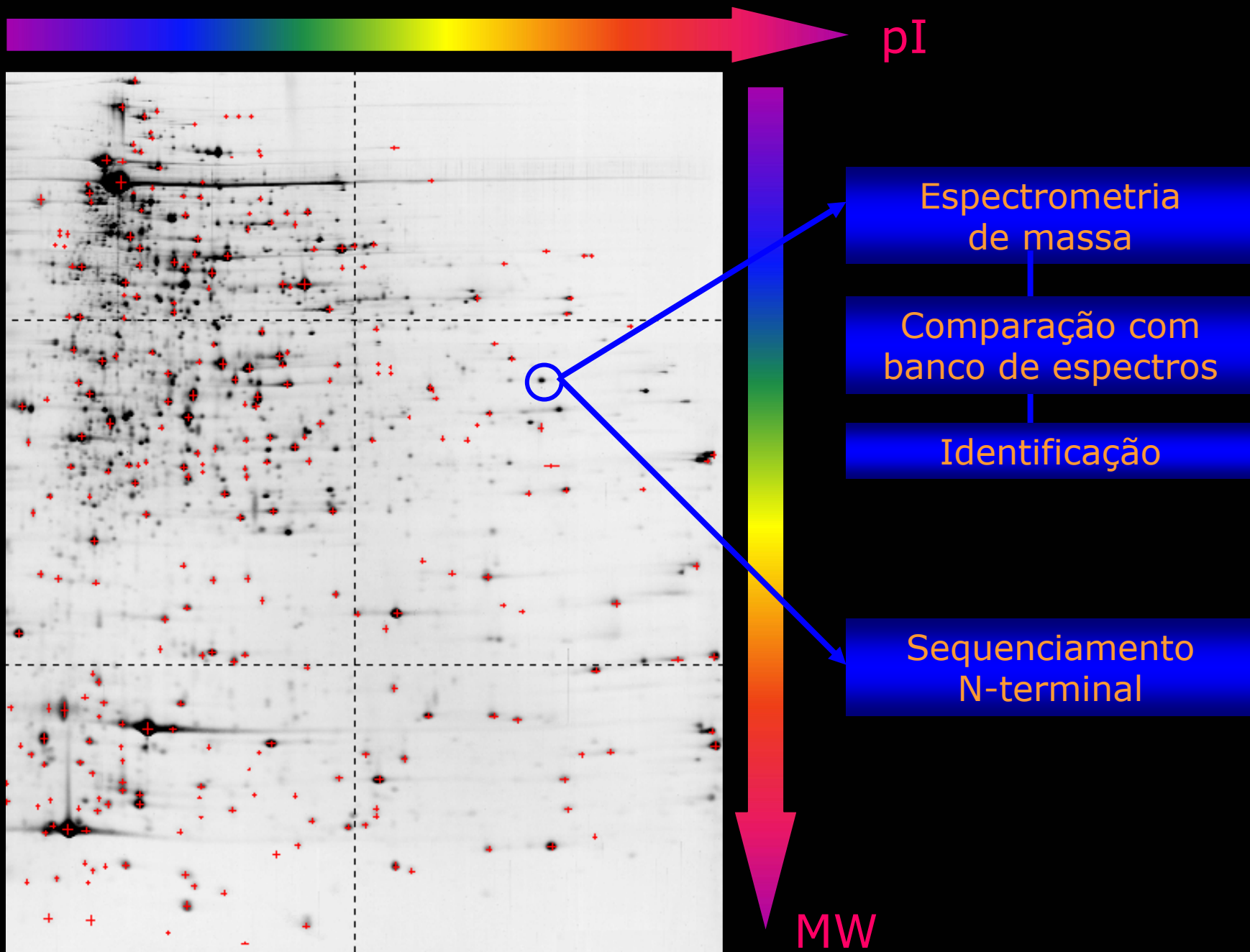


Monarch Butterfly *Metamorphosis*



(Danaus plexippus)

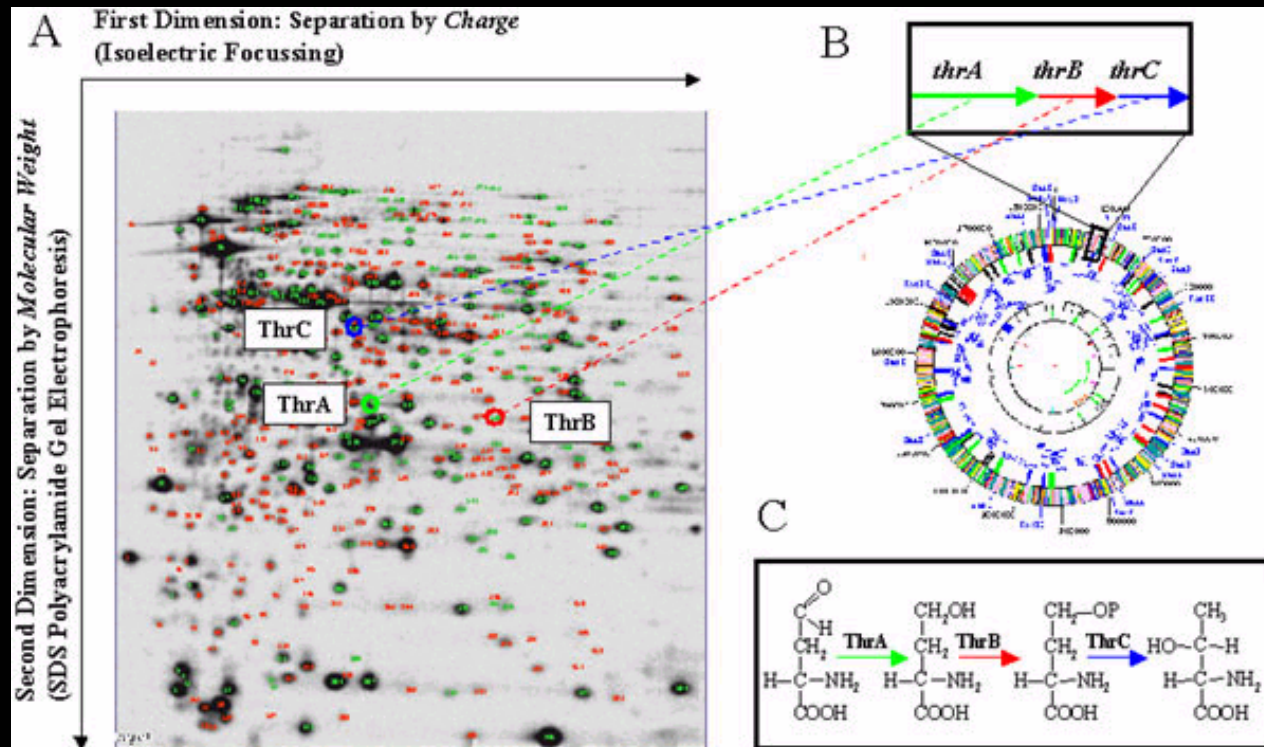




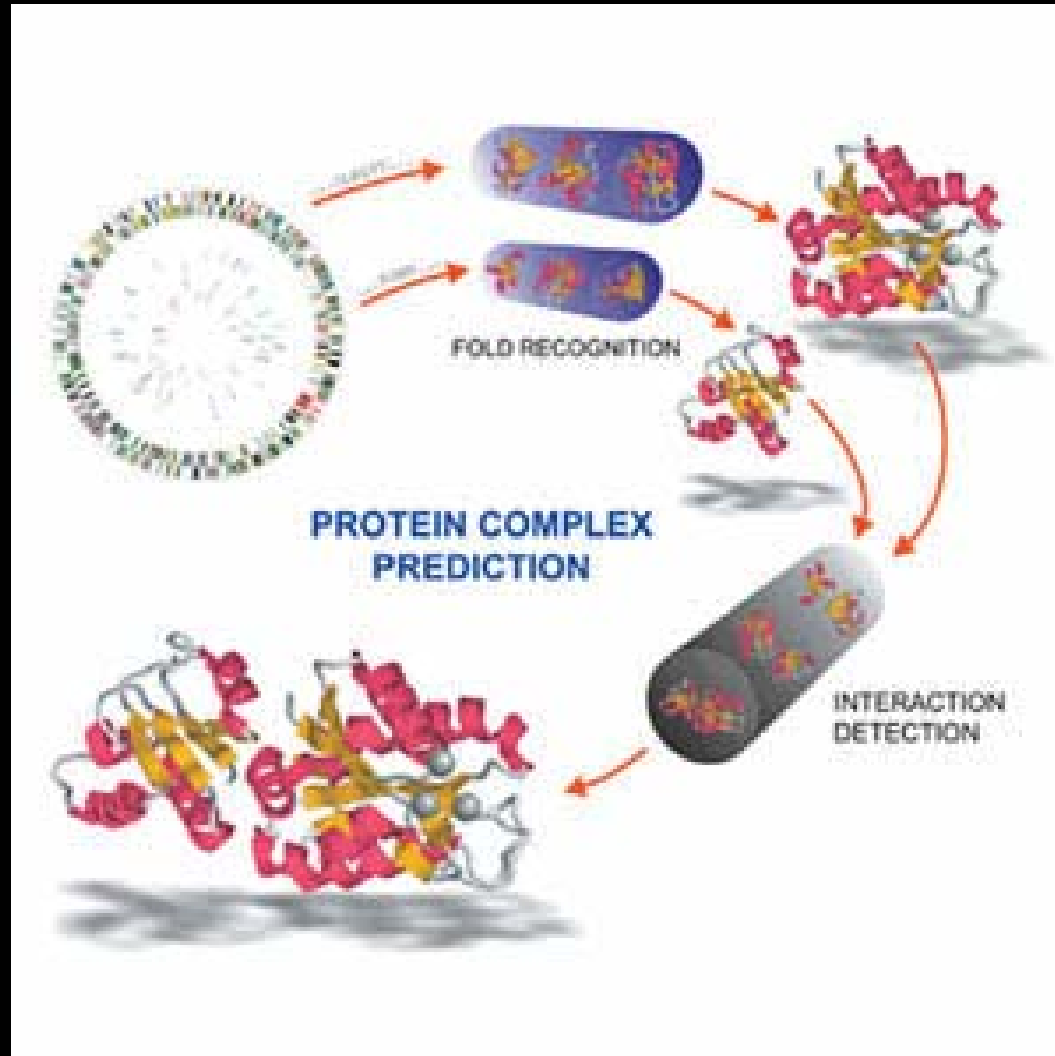
Genômica funcional: o *metaboloma*

O terceiro nível de análise funcional = Metaboloma

Complemento de todos os metabólitos de baixo peso molecular de uma suspensão celular (ou amostra) de interesse. Mudanças na concentração de enzimas individuais tendem a ter pouco efeito em fluxos metabólicos específicos (ou no fenótipo observado sob condições de laboratório). Entretanto, mudanças na concentração de enzimas específicas podem e têm um efeito substancial nas concentrações de metabólitos.



Interações proteína - proteína:



“Os dois desafios principais do novo milênio são:

1. O gerenciamento de informação excessiva: Como fazer genômica?
2. A excessiva complexidade dos sistemas.



Decifrar em detalhe as interações moleculares entre as moléculas efetoras de um patógeno e seus alvos celulares



Integrar a microbiologia celular no esquema mais amplo da infecção do hospedeiro



Abordar os conceitos de resistência e sensibilidade do hospedeiro à infecções e a imunoreatividade de patógenos, que podem influenciar o grau de severidade de uma doença infecciosa



Identificar os fatores necessários à sobrevivência de patógenos no meio ambiente ('vironmence' factors vs. 'virulence' factors)."

Philippe J. Sansonetti

Trends in Microbiology, 8: 196-197, 2000.

“... and that’s what these young men don’t always realize, that you’ve got to learn a lot of hard thinking in order to have bright ideas, you see.”

Francis Crick



Links:

A Science Primer:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/About/primer/index.html>

Access Excellence:

<http://www.accessexcellence.org/>

DNA Interactive:

<http://www.dnai.org/index.html>

DNA from the Beginning:

<http://www.dnaftb.org/dnaftb/>

Genome News Network:

<http://www.genomenewsnetwork.com/main.shtml>

New York Times 'DNA at 50':

<http://www.nytimes.com/indexes/2003/02/25/health/genetics/index.html>

Microbiology's Most Significant Events:

http://www.microbeworld.org/htm/aboutmicro/timeline/tmln_0.htm

FIM