Relatório de anotação gênica – Genética de Molecular e de Populações



Marcel Alexandre Fenerich - 7127359

Todo o processo deu-se início com a aquisição das sequencias de genes normais e tumorais de tecido estomacal. Foi feita então a anotação de todas essas sequencias através da ferramenta BLAT, tomando todos os cuidados para não anotar genes de áreas não codificantes, genes mitocondriais e outros que não fossem humanos. Depois de toda a anotação concluída foi verificado se existia algum gene em comum entre os tecidos normal e tumoral; de onde depois da análise foi concluído que não havia qualquer intersecção entre ambos.

Então foi pego a lista de genes tumorais anotados e inseridos no GSEA (http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/annotate.jsp) para fazer a classificação funcional. Então foi feita uma análise e identificados genes envolvidos em doenças como o câncer. Nesta análise forem encontrados principalmente 2 oncogenes relacionados ao câncer de mama. A partir dessa análise foi escolhido um desses genes para analisar suas mutações SNP’s já descritas na literatura. Usando o banco de genes do NCBI, o gene foi inserido e então usou-se a ferramenta de visualização de SNP’s, onde foi possível encontrar todas as SNP’s conhecidas para o gene. Havia desde mutações sinônimas como não-sinônimas. Foi escolhida para o processo uma mutação sinônima, afinal é de interesse saber qual é o impacto de uma SNP no sistema.

Depois de escolhida a mutação, foi obtida a sequencia completa do gene através do BLAT Search Genome (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgBlat?command=start&org=Human&db=hg18&hgsid=207544619>), foi identificado em que exon se encontrava a mutação, qual era a mutação e em que posição ela se encontrava, e qual mudança de aminoácido ocorria.

Depois de identificada a mutação, foi selecionado um fragmento de aproximadamente 400pb, sendo 200pb antes e 200 pb depois da mutação. Então através disso foram escolhidas duas regiões para se desenhar os primers para ser usado em PCR. Então essa sequencia foi introduzida no NIBcurter (<http://tools.neb.com>) para ser identificado os possíveis sítios de restrição da sequencia sem a mutação, e depois foi inserido a sequencia com a mutação para identificar aonde e quais lugares da sequencia sofreram mutações, pois dessa forma que se identifica uma SNP por exemplo.

Através de todo esse processo foi possível entender como funciona todo o processo de anotação gênica e identificação de mutações gênicas, assim como a familiarização com as ferramentas em bioinformática e até mesmo o conhecimento de algumas delas.