

3

BIOTECNOLOGIA APLICADA À SAÚDE

FUNDAMENTOS E APLICAÇÕES



colaboradores

MARCUS VINICIUS GOMEZ
SILVIA GUATIMOSIM
CARLOS RICARDO SOCCOL

organizador

RODRIGO RIBEIRO RESENDE

Blucher


FAPEMIG

BIOTECNOLOGIA APLICADA À SAÚDE
FUNDAMENTOS E APLICAÇÕES
VOLUME 3

RODRIGO RIBEIRO RESENDE

ORGANIZADOR

MARCUS VINICIUS GOMEZ

SILVIA GUATIMOSIM

CARLOS RICARDO SOCCOL

COLABORADORES

Biotecnologia aplicada à saúde: fundamentos e aplicações – vol. 3
(coleção Biotecnologia Aplicada à Saúde, vol. 3)

© 2016 Rodrigo Ribeiro Resende (organizador)
Editora Edgard Blücher Ltda.

Blucher

Rua Pedroso Alvarenga, 1245, 4º andar
04531-934, São Paulo – SP – Brasil
Tel.: 55 11 3078-5366
contato@blucher.com.br
www.blucher.com.br

Segundo o Novo Acordo Ortográfico, conforme 5ª ed.
do *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*,
Academia Brasileira de Letras, março de 2009.

É proibida a reprodução total ou parcial por quaisquer
meios sem autorização escrita da Editora.

Todos os direitos reservados pela Editora Edgard Blücher Ltda.

FICHA CATALOGRÁFICA

Biotechnology applied to health: fundamentals and applications,
volume 3 / organized by Rodrigo Ribeiro Resende;
collaboration of Marcus Vinicius Gomez, Silvia Guatimosim e
Carlos Ricardo Soccol. – São Paulo: Blucher, 2015.

ISBN 978-85-212-0967-6

1. Biotecnologia 2. RNA 3. DNA I. Resende, Rodrigo Ribeiro II.
Gomez, Marcus Vinicius III. Guatimosim, Silvia IV. Soccol, Carlos R.

15-1024

CDD 620.8

Índices para catálogo sistemático:

1. Biotecnologia

CONTEÚDO

Prefácio – Luiz Renato França – INPA

11

Bibliotecas Combinatórias

1. SELEX: conceitos básicos e metodologia para o desenvolvimento de aptâmeros de RNA como ligantes de receptores de superfície celular 15
2. *Phage display*: fundamentos e aplicações 73
3. *Phage display*: aspectos básicos e perspectivas atuais 145
4. Bibliotecas de peptídeos sintéticos 181

RNAs Não Codificadores

5. RNAs não codificadores longos: genômica, biogênese, mecanismos e função 219
6. RNAs curtos não codificadores: genômica, biogênese, mecanismos e função 260
7. Interferência por RNA 329
8. miRNAs: oportunidades de inovação em biotecnologia 355

Bibliotecas de Omas

9. DNA *microarray*: tipos e aplicações 389
10. Mapeamento de genomas bacterianos: sequenciamento e análise funcional 445
11. Análise transcriptômica: fundamentos, métodos e aplicações 477
12. Proteômica I – análise de expressão e caracterização de proteínas: fundamentos, métodos e aplicações 513
13. Proteômica II – análise de interação entre proteínas: fundamentos, métodos e aplicações 583
14. Estratégias genômicas, proteômicas e peptidômicas isentas de gel na identificação de compostos bioativos 623
15. Metabolômica e redes bioquímicas globais: fundamentos, métodos e aplicações 671
16. Anotação de genoma: fundamentos e aplicações das análises *in silico* 717

Biotecnologia Médica

17. Segmentação, mecanismo e resolução de doenças inflamatórias 759
18. Pesquisas no tratamento da surdez: terapia celular e molecular 779
19. Farmacogenômica: fundamentos, métodos e aplicações da genômica na resposta aos fármacos 817
20. Aplicações forenses do DNA: fundamentos, métodos e limitações 847
21. Eletroforese capilar como ferramenta analítica para toxicologia forense 877
22. Método simples e rápido para determinação de cocaína e seus principais produtos de biotransformação por eletroforese capilar acoplada à espectrometria de massas 921

23. Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA) em comprimidos de <i>ecstasy</i> por eletroforese capilar com detecção por arranjo de diodos (CE-DAD)	941
O que as empresas dizem	
24. Uma introdução ao sequenciamento de DNA	967
25. Fundamentos da reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR)	1009
26. Citometria de fluxo: fundamentos e princípios	
Autores	1077

BIBLIOTECAS COMBINATÓRIAS

SELEX: CONCEITOS BÁSICOS E METODOLOGIA PARA O DESENVOLVIMENTO DE APTÂMEROS DE RNA COMO LIGANTES DE RECEPTORES DE SUPERFÍCIE CELULAR

Katia das Neves Gomes
Arquimedes Cheffer
Rodrigo R. Resende
Henning Ulrich

1.1 INTRODUÇÃO

A utilização de microarranjos de DNA e RNA (pequenos *chips* com sequências sintéticas de DNA ou RNA utilizados para isolar genes e analisar sua expressão) levantou a possibilidade de que anticorpos pudessem também ser utilizados de maneira similar para a triagem de outras macromoléculas,

como proteínas e carboidratos. Tentativas foram feitas para o desenvolvimento de *microchips* de anticorpos. Entretanto, seu sucesso foi limitado pela falta de anticorpos puros e pela sua sensibilidade à degradação. Isso fez com que sequências sintéticas de DNA e RNA passassem a ser consideradas para a triagem de um determinado ligante¹. Os ácidos nucleicos são compostos atrativos como ferramentas de triagem por se dobrarem em estruturas secundárias e terciárias bem definidas, serem de fácil síntese química ou enzimática e carecerem de imunogenicidade². De fato, é a conformação tridimensional do oligonucleotídeo que explica sua capacidade de se ligar a um determinado alvo, diferente dos microarranjos de DNA ou RNA que funcionam com base na complementariedade entre as bases nitrogenadas.

Esses ligantes de DNA ou RNA, conhecidos como aptâmeros, podem ser definidos como oligonucleotídeos sintéticos capazes de interagir com aminoácidos, proteínas e outras moléculas; são obtidos a partir de uma biblioteca combinatória de ácidos nucleicos por meio de um processo iterativo que envolve os passos de ligação ao alvo, separação das sequências ligantes e amplificação das mesmas³.

Muito embora a capacidade de moléculas de DNA e RNA de interagir com proteínas ou mesmo com outras moléculas de DNA e RNA fosse já conhecida antes do advento dos aptâmeros, o potencial dos mesmos só se tornou evidente quando se observou que tais moléculas de ácido nucleico também eram capazes de interagir com compostos que normalmente não interagem com DNA ou RNA. Isso só foi capaz graças ao surgimento da técnica denominada *Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment* (SELEX), a qual será discutida nesse capítulo.

1.2 HISTÓRICO

A técnica de SELEX permite isolar moléculas de ácido nucleico a partir de uma biblioteca combinatória de mais de 10^{15} sequências individuais e foi desenvolvida apenas na década de 1990, por dois grupos de pesquisa separadamente. Na época, Craig Tuerk estava terminando sua tese de doutorado, sob orientação do professor Larry Gold, na Universidade do Colorado. Ambos estavam interessados em elucidar o funcionamento do operador traducional do RNA mensageiro que codifica para a DNA polimerase do bacteriófago T4. Esse operador consiste de um grampo e da sequência de Shine e Dalgarno, aos quais a polimerase se liga para reprimir a sua síntese quando os níveis de replicação estão apropriados. Para tanto, o grampo foi

substituído por sequências aleatórias em seus oito resíduos de nucleotídeos. O primeiro experimento de SELEX forneceu duas sequências com afinidade à DNA polimerase do bacteriófago T4 – a selvagem e uma contendo quatro mutações. Foram esses experimentos que definiram a técnica de SELEX⁴.

No mesmo ano, Andy Ellington e Jack Szostak, trabalhando no Departamento de Biologia Molecular do Hospital Geral de Massachusetts, utilizaram a mesma estratégia geral para selecionar sequências de RNA que interagem especificamente com os corantes orgânicos Cibacron Blue e Reactive Blue. Tais ligantes foram chamados aptâmeros (do latim *aptus*, que significa “ligar/encaixar”)⁵. Desde então, aptâmeros de DNA e RNA com afinidade e especificidade equiparáveis às de anticorpos monoclonais têm sido selecionados contra uma ampla variedade de alvos, desde íons e pequenas moléculas a complexos alvos, como receptores de membrana^{6,7}. Por exemplo, já foram identificados aptâmeros que se ligam a proteínas de adesão na superfície de *Trypanosoma cruzi* e inibem a invasão de células do hospedeiro pelo parasita⁸.

A partir do seu trabalho inicial, Tuerk e Gold imaginaram que trabalhar com regiões randômicas maiores que oito nucleotídeos poderia dar origem a sequências capazes de assumir estruturas secundárias e terciárias mais diversas, tal como ocorre, por exemplo, com os RNAs transportadores. Um número maior de aptâmeros com estruturas tridimensionais distintas, por sua vez, permitiria a seleção de ligantes contra praticamente qualquer alvo. Foi pensando assim que a região randômica foi expandida de oito nucleotídeos para trinta a quarenta. A possibilidade de explorar os aptâmeros como agentes terapêuticos foi prontamente observada e levou à criação, em 1992, da empresa NeXagen (mais tarde, NeXstar). Desde então, muitos aptâmeros foram identificados, sendo que alguns destes estão em testes clínicos. O primeiro aptâmero a ser lançado no mercado é um medicamento denominado Macugen, o qual é empregado no tratamento de pacientes que sofrem de degeneração macular associada à idade. Embora esse aptâmero de RNA contra o fator de crescimento endotelial vascular (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) tenha sido liberado pela agência norte-americana FDA (Food and Drug Administration) para uso clínico apenas em janeiro de 2005, seu desenvolvimento remonta à NeXstar, quando o aptâmero ainda estava em triagem e era denominado NX1838 (sua designação mudou quando seus direitos terapêuticos foram licenciados para a Eyetech)⁹.

Atualmente, vários outros aptâmeros estão em desenvolvimento clínico como agentes terapêuticos para as mais diversas doenças e condições para as quais ainda não existe nenhum tratamento eficaz ou cujo tratamento

apresenta alguma limitação (por exemplo, são imunogênicos, apresentam baixa biodisponibilidade e/ou efeitos colaterais indesejáveis). Aptâmeros selecionados contra uma gama de proteínas diferentes, incluindo citocinas, proteases, quinases, receptores de superfície e proteínas de adesão, representam uma importante alternativa terapêutica para o tratamento desde infecções virais e bacterianas até de doenças como câncer e mal de Alzheimer¹⁰. Por exemplo, já foram identificados aptâmeros de RNA que se ligam à transcriptase reversa do vírus da imunodeficiência humana (*human immunodeficiency virus*, HIV) e a inibem, além de suprimirem a replicação viral quando expressos em células humanas. Esses aptâmeros poderiam, portanto, ser utilizados no tratamento de infecções pelo HIV¹¹. Também é notável o desenvolvimento de um aptâmero contra nucleolina, uma proteína cuja expressão é alta em células tumorais. Tal aptâmero já entrou em estudos de fase clínica I e II e parece ser promissor no tratamento de leucemia e carcinoma renal¹². Esses dois exemplos apenas ilustram como sequências de DNA e RNA, ligando-se de forma altamente específica aos seus alvos, podem ser utilizadas como agentes terapêuticos (para mais exemplos, ver Tuerk e Gold⁴).

Embora a técnica SELEX não tenha sido concebida para ser um método para a triagem de oligonucleotídeos com novas funções, ela rapidamente foi visualizada e adaptada para este fim. O método básico da SELEX foi desenvolvido para alcançar uma série de objetivos específicos^{13,14}. Em geral, parece ser um progresso que, depois de a área ter sido estabelecida, as bibliotecas de seleção tenham começado a ser modificadas, a fim de melhorar sua resistência *in vitro*. Posteriormente, quando se confirmou a suficiência da funcionalidade e da resistência, foram testados os aptâmeros no interior de células. Nesses experimentos, os aptâmeros demonstraram ser adequados para as condições celulares e a maior preocupação era a forma de regular e detectá-los no interior da célula. Finalmente, após treze anos, os aptâmeros estavam prontos para serem usados como ferramentas biotecnológicas, e a visão foi focada em melhorar o método para torná-lo mais eficiente, incorporando novas tecnologias. Na Tabela 1.1, fornecemos um panorama histórico da maior parte das variantes da SELEX usando os primeiros artigos publicados como referências (Tabela 1.1). É importante mencionar que algumas destas variantes da SELEX foram desenvolvidas para a obtenção de aptâmeros de DNA, mas o mesmo método pode ser aplicado para as bibliotecas de RNA não codificantes e foram descritas como parte da evolução da SELEX.

Tabela 1.1 Linha do tempo das modificações emergentes da SELEX

ANO	TIPO DE SELEX	REFERÊNCIAS*
	Clássica, Negativa	
1990-1993	Envolve a alternância entre ciclos de seleção positiva e negativa para descartar sequências inespecíficas. Por exemplo, aquelas que se ligam às colunas ou filtros usadas para separar as sequências ligantes das não ligantes	4, 5, 15
	Contadora ou Substrativa	
1994	Empregado para selecionar aptâmeros capazes de diferenciar entre alvos muito similares. Nesse caso, imobiliza-se o alvo em uma coluna e, após um certo número de ciclos de seleção, elui as sequências ligantes com uma molécula muito similar ao alvo, descartando as sequências que interagem com a mesma	16, 17
	Ligação covalente (Foto-SELEX, ligação cruzada, cDNA-SELEX)	
1995	Na Foto-SELEX, a biblioteca contém um cromóforo fotorreativo capaz de estabelecer ligação covalente com o alvo quando o complexo é irradiado com UV	18-20
1996	<i>Spiegelmer</i>	21
1997	<i>In vivo</i>	22
	Quimérica, proteínas de membrana	
1998	Aptâmeros contra alvos diferentes são fusionados de modo a obter sequências capazes de se ligar a alvos diferentes	23, 24
1999	SELEX célula-específica (CS-SELEX), multiestágio	25
	Aptâmeros Beacon, Indireta	
2000	Funcionam como biossensores para DNA e fluorescem apenas quando se anelam às sequências-alvo	26-28
	Alternada	
2001	Ciclos alternados de seleção contra um alvo primário (peptídeo correspondente a parte de uma proteína) e contra o alvo final (proteína inteira) são realizados de modo a garantir a obtenção de aptâmeros de elevada especificidade	29, 30
	Cassete de expressão	
2002	O aptâmero é obtido fusionado a algum cassete de expressão.	31
	SELEX adaptada ou <i>tailored-SELEX</i>	
2003	Permite a obtenção de aptâmeros de sequências curtas, o que facilita sua manipulação e modificações pós-seleção	32
2004	CE-SELEX	33
	FluMAG	
2005	O alvo é imobilizado em <i>beads</i> magnéticas e, após o primeiro ciclo de seleção, a biblioteca é marcada com um fluoróforo, permitindo a quantificação das sequências selecionadas ao longo do processo	34
	TECS-SELEX, NON-SELEX (NCCEM)	
2006	A primeira se destina à seleção de aptâmeros contra proteínas de membrana e a segunda tem como característica não empregar ciclos de amplificação por PCR, o que otimiza o protocolo	35, 36

ANO	TIPO DE SELEX	REFERÊNCIAS*
	<i>Nano-Selection</i> (nM-AFM SELEX), MonoLEX	
2007	A primeira utiliza microscopia de força atômica para identificar os complexos aptâmero-alvo e capturar as sequências ligantes devido à sua fluorescência. MonoLEX utilizada apenas como um passo de seleção para obtenção de aptâmeros	37, 38
2008	CS-SELEX	39, 40
2009	<i>Next-generation</i> SELEX	41
2010	SELEX Microfluídica, análises de bioinformática	42-45
2011	SELEX de múltiplos alvos e alto rendimento	46-49

* Nota: As referências correspondem ao primeiro artigo publicado de cada tipo de SELEX. Cada cor ou tonalidade de cinza representa o estabelecimento de um conjunto de métodos relacionados: Definindo a técnica (1990-1994); Melhoria das bibliotecas (1995-1996); Entrando no ambiente celular (1997-1999); Regulação e detecção (2000-2003); atualizando a SELEX com tecnologias modernas (2004-2011).

1.3 PROCEDIMENTO DE SELEX

O ponto de partida para a técnica de SELEX é a síntese de uma biblioteca de DNA simples fita (*single-stranded DNA*, ssDNA) contendo cerca de 10^{12} a 10^{15} sequências diferentes. Cada sequência possui uma região randômica de 16 a 75 posições, flanqueada por duas regiões constantes, as quais servem para o anelamento de *primers*, digestão com enzimas de restrição e, no caso de aptâmeros de RNA, para a transcrição *in vitro* com a RNA polimerase do bacteriófago T7 (T7 RNA polimerase). Essa biblioteca pode ser utilizada diretamente para a seleção de aptâmeros de DNA, ou, alternativamente, as moléculas de DNA dupla fita (*double-stranded DNA*, dsDNA) são obtidas por síntese enzimática com a DNA polimerase de *Thermus aquaticus* (*Taq* DNA polimerase) e a biblioteca de RNA é gerada por transcrição *in vitro* para a seleção de aptâmeros de RNA⁵⁰. A seguir, a biblioteca é incubada com o alvo por um determinado tempo e os complexos ligante-alvo são separados das sequências livres, ou que se ligaram fracamente, por um dos vários métodos disponíveis, como adsorção em filtro de nitrocelulose, separação em ensaios de *gel shift*, cromatografia de afinidade ou eletroforese capilar⁵¹. Os oligonucleotídeos ligados são eluídos e amplificados pela PCR (*polymerase chain reaction*), quando ocorre a seleção de aptâmeros de DNA ou pela RT-PCR (*reverse transcription* – PCR) quando ocorre a seleção de aptâmeros de RNA. Um novo *pool* de sequências enriquecidas é gerado por meio de desnaturação do dsDNA e purificação do ssDNA (seleção de

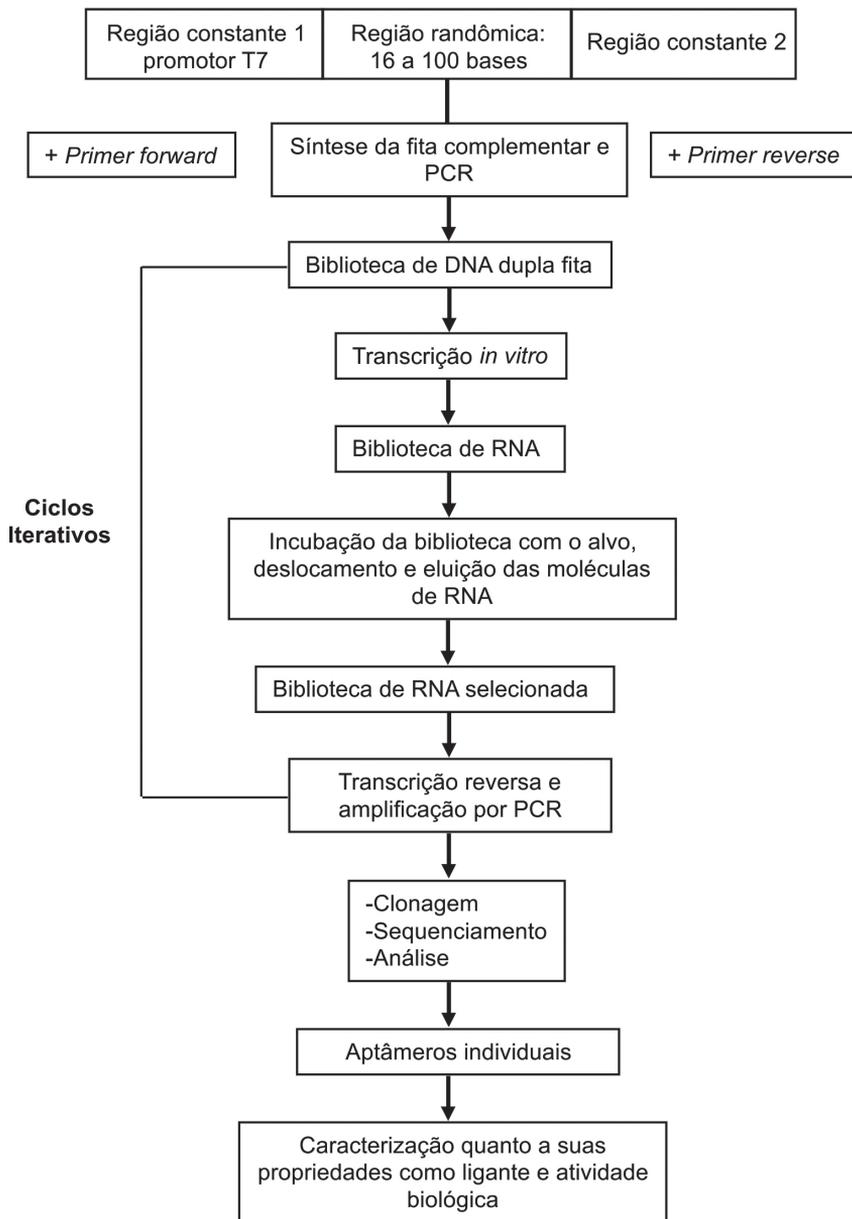


Figura 1.1 Esquema representativo da técnica de SELEX para o desenvolvimento de aptâmeros de RNA. Este procedimento é caracterizado pela repetição de passos sucessivos: incubação da biblioteca com a molécula-alvo, separação das sequências ligadas das não ligadas, eluição dos oligonucleotídeos complexados, transcrição reversa, amplificação e transcrição das sequências recuperadas, para a criação de uma nova biblioteca que será usada no próximo ciclo de SELEX. Geralmente, de cinco a quinze ciclos são necessários para a geração de aptâmeros com afinidade e especificidade pelo seu alvo².

aptâmeros de DNA), ou por transcrição *in vitro* (seleção de aptâmeros de RNA). Esse *pool* é utilizado no próximo ciclo de seleção e amplificação. Em geral, são necessários de seis a vinte ciclos para a seleção de aptâmeros com elevada afinidade e especificidade (Figura 1.1). Em termos práticos, ciclos são realizados até que a afinidade da biblioteca pelo alvo se estabilize. Passos de seleção negativa devem ser adicionados para minimizar o enriquecimento de sequências que se ligam inespecificamente. Por exemplo, na seleção de aptâmeros contra proteínas recombinantes expressas na superfície celular, ciclos de seleção negativa contra células que não expressam o alvo são recomendados para a eliminação das sequências que se ligam de forma inespecífica aos demais constituintes da membrana. Neste passo, as moléculas que se associam à membrana são eliminadas, enquanto as demais são coletadas e usadas para dar continuidade ao procedimento⁵².

Depois do último ciclo de SELEX, o *pool* é clonado e sequenciado. Aptâmeros com sequências conservadas são selecionados e utilizados em ensaios de ligação para determinar sua afinidade e especificidade pelo alvo. Ademais, podem ser feitas mutações para definir a sequência mínima e motivos necessários para a interação com o alvo. Finalmente, os aptâmeros obtidos podem sofrer algumas modificações a fim de otimizar suas propriedades físico-químicas, como a incorporação de nucleotídeos modificados para aumentar a estabilidade ou a conjugação com determinados grupos para aplicações analíticas ou purificação do alvo¹⁴.

1.4 A QUÍMICA DOS NUCLEOTÍDEOS

A natureza química dos resíduos de nucleotídeos que formam os aptâmeros é de particular importância, pois determinará a faixa de possíveis estruturas tridimensionais que os aptâmeros poderão assumir e também a sua estabilidade frente à degradação. Por exemplo, moléculas de RNA são muito mais suscetíveis à hidrólise em meio básico devido à presença de um grupo hidroxila na posição 2' do anel da ribose que, quando desprotonado, ataca e quebra as ligações fosfodiéster. O DNA, por outro lado, por ser formado por resíduos de desoxirribonucleotídeos, é quimicamente mais estável. A fim de aumentar a estabilidade dos aptâmeros e, dessa forma, sua biodisponibilidade em fluidos biológicos, três abordagens têm sido utilizadas:

- Uso de nucleotídeos modificados, por exemplo, pirimidinas modificadas na posição 2' com $-NH_2$, $-F$ e grupos $-OCH_3$. Tais modificações

aumentam a meia-vida das moléculas de RNA em fluidos biológicos (Figura 1.2)^{53,54}.

- Modificação da ligação fosfodiéster. Isso é conseguido por meio do uso, por exemplo, de α -tio-desoxinucleosídeo trifosfatos e α -borano-nucleosídeo trifosfatos, que dão origem a aptâmeros mais resistentes à ação de nucleases^{55,56} (Figura 1.2).
- Uso de aptâmeros enantioméricos conhecidos como *spiegelmers* (do alemão *Spiegel*, que significa “espelho”). Essa técnica representa uma solução muito elegante para o problema de estabilidade dos aptâmeros. O processo envolve inicialmente criar uma imagem especular do alvo, então selecionar aptâmeros para essa imagem especular e, finalmente criar a imagem especular do aptâmero selecionado (Figura 1.3). Usando esta abordagem, já foram selecionados *spiegelmers* contra D-adenosina, L-vasopressina e L-arginina^{21,57,58}.

Em resumo, a técnica de SELEX permite a seleção de aptâmeros com alta seletividade e especificidade contra uma variedade de alvos. Entretanto, não existe um protocolo de seleção comum a todos os alvos. O desenho do procedimento de SELEX depende do alvo, da biblioteca de oligonucleotídeos e da aplicação e características desejadas para os aptâmeros que serão selecionados⁵⁰.

1.5 APTÂMEROS VERSUS ANTICORPOS

Conforme já mencionado, os aptâmeros representam uma promissora nova classe de agentes terapêuticos e para diagnóstico que se ligam aos seus alvos com alta afinidade e com potência similar àquela observada com os anticorpos; podem ser descobertos via seleção *in vitro* por meio da técnica de SELEX e sintetizados quimicamente. Portanto, os aptâmeros combinam vantagens de pequenas moléculas e de anticorpos: rápida síntese e otimização, fácil síntese química e carência de imunogenicidade. Não é por acaso que temos aptâmeros sendo desenvolvidos contra os mais diversos alvos e para os mais diversos fins (analítico, diagnóstico, terapêutico), alguns já em testes pré-clínicos e clínicos⁵⁹. Podemos ainda mencionar como vantagens apresentadas pelos aptâmeros em relação aos anticorpos:

- Tamanho: enquanto os anticorpos possuem de 150 KDa a 160 KDa, os aptâmeros são formados por poucas dezenas de nucleotídeos.

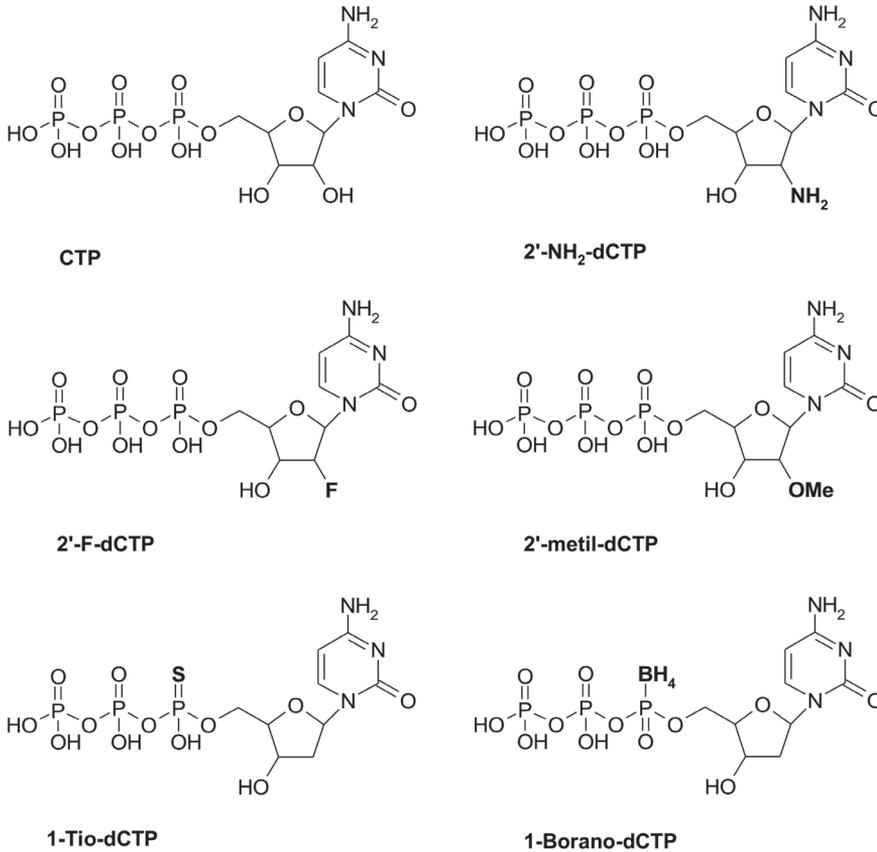


Figura 1.2 Estrutura química dos nucleotídeos modificados. O potencial terapêutico e diagnóstico dos aptâmeros é aperfeiçoado pela incorporação de nucleotídeos, com substituições no grupo 2'-OH da ribose e com modificações na cadeia fosfodiéster, à sequência das moléculas de RNA. Modificada de Ulrich e Trujillo².

- **Produção:** os anticorpos requerem animais para sua produção ou são obtidos como proteínas recombinantes; os aptâmeros são obtidos por fácil síntese química.
- **Modificações pós-seleção:** os aptâmeros permitem muito mais modificações que os anticorpos, e estas podem ser feitas facilmente.
- **Estabilidade:** os aptâmeros são mais estáveis (DNA, anos em temperatura ambiente; RNA, meses a -80 °C) que os anticorpos (várias semanas a 4 °C).
- **Moléculas-alvo:** aptâmeros são selecionados contra uma faixa bem maior de alvos, desde moléculas de baixa massa molecular, passando

3 BIOTECNOLOGIA APLICADA À SAÚDE

FUNDAMENTOS E APLICAÇÕES

Nesta coleção, a intenção foi reunir, em uma obra didática, sucinta e objetiva, os fatos mais recentes da literatura e os conhecimentos clássicos dos temas disponíveis em obras separadas. Para se ter todo o escopo de Biotecnologia Aplicada à Saúde e Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria, o primeiro tema é abordado em três volumes e o segundo em um, totalizando 4 volumes, sendo que todos os tópicos são abordados nos cursos de pós-graduação em Biotecnologia e Biotecnologia, entre outros.

Seguindo essa direção, e para produzir um livro que seja para uso tanto de alunos de graduação como de pós-graduação e para aqueles profissionais que queiram se introduzir na área de biotecnologia utilizando técnicas modernas e qualquer tipo de modelo celular, disponibilizamos, em um tópico de cada capítulo, as metodologias e os procedimentos para a realização de experimentos. Um guia prático e simples para a bancada de experimentos complexos.

Neste terceiro volume, você aprenderá que sequências de RNA, DNA, peptídeos e fagos funcionam como ligantes e descobrirá como selecioná-las contra alvos específicos. Você encontrará os RNAs não codificantes e descobrirá como as diferenças entre humanos e macacos podem estar neles. Para todo genoma, também temos metabolomas, proteomas, transcriptomas, técnicas inovadoras, sequenciamento de nova geração e análises de todo o genoma por bioinformática. Você também aprenderá a aplicar tudo isso na clínica, da farmacogenômica às doenças inflamatórias; da surdez às análises de DNA forenses e à toxicologia. E conhecerá técnicas desenvolvidas pelas empresas de biotecnologia mais conceituadas do mundo.

www.blucher.com.br

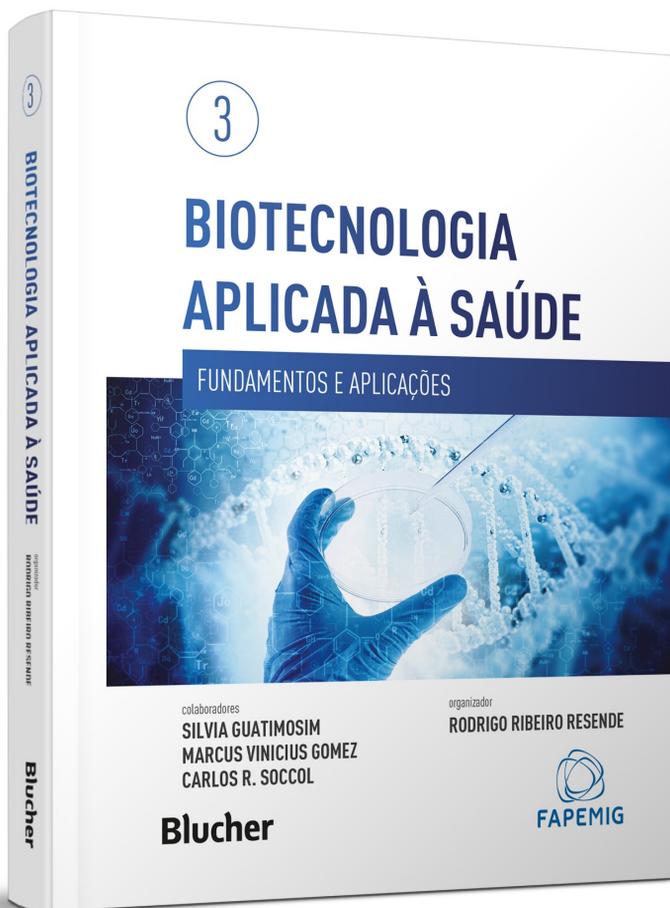
ISBN 978-85-212-0967-6



9 788521 209676


FAPEMIG

Blucher



Clique aqui e:

[Veja na loja](#)

Biotecnologia Aplicada à Saúde - Vol. 3

Fundamentos e Aplicações

Rodrigo R. Resende

ISBN: 9788521209676

Páginas: 1096

Formato: 17 x 24 cm

Ano de Publicação: 2016

Peso: 1.687 kg