

O Genoma do Sobreiro



Sanidade dos Montados: Obstáculos a vencer

A génese da “Genómica”

Principais marcos - (1694 – descoberta a reprodução sexuada das plantas)

◆ Séc. 19 – Estudos de Mendel

- características são herdadas de forma previsível
- alelos para características únicas segregam em separado
- alelos para características diferentes distribuem-se independentemente



GENÉTICA (1876 – 1º cruzamento intergenérico – trigo × centeio – Triticale)

“GENÓMICA”

- ◆ Decifrar e compreender o conteúdo genético total do organismo

O caso humano

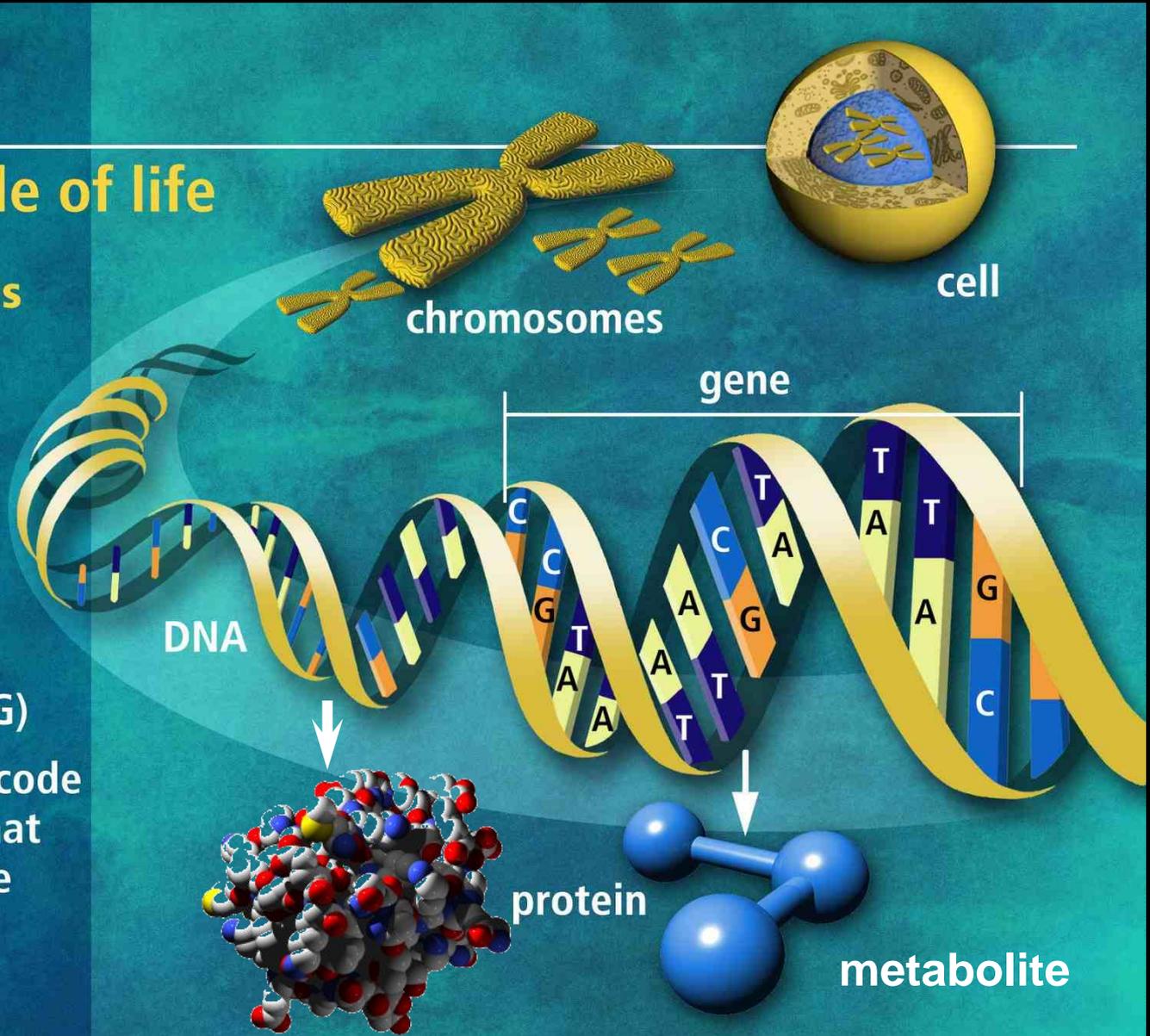
DNA

the molecule of life

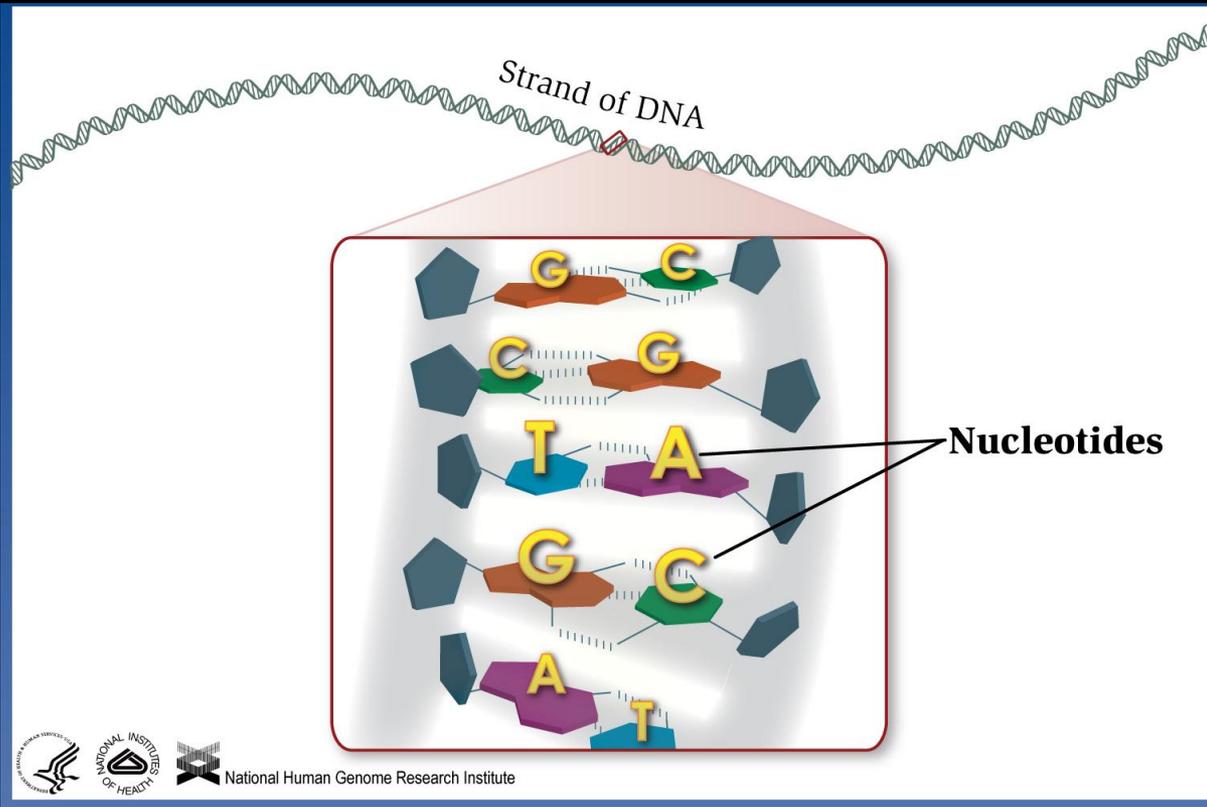
Trillions of cells

Each cell:

- 46 human chromosomes
- 2 m of DNA
- 3 billion DNA subunits (the bases: A, T, C, G)
- 25,000 genes code for proteins that perform all life functions



O código genético



O emparelhamento específico dos nucleótidos determina o mecanismo de “**cópia**” do material genético e a **transferência** às células-filhas.

A possibilidade de *copiar a informação genética* abriu caminho à **biologia molecular**, manipulação do DNA e projectos de genómica.

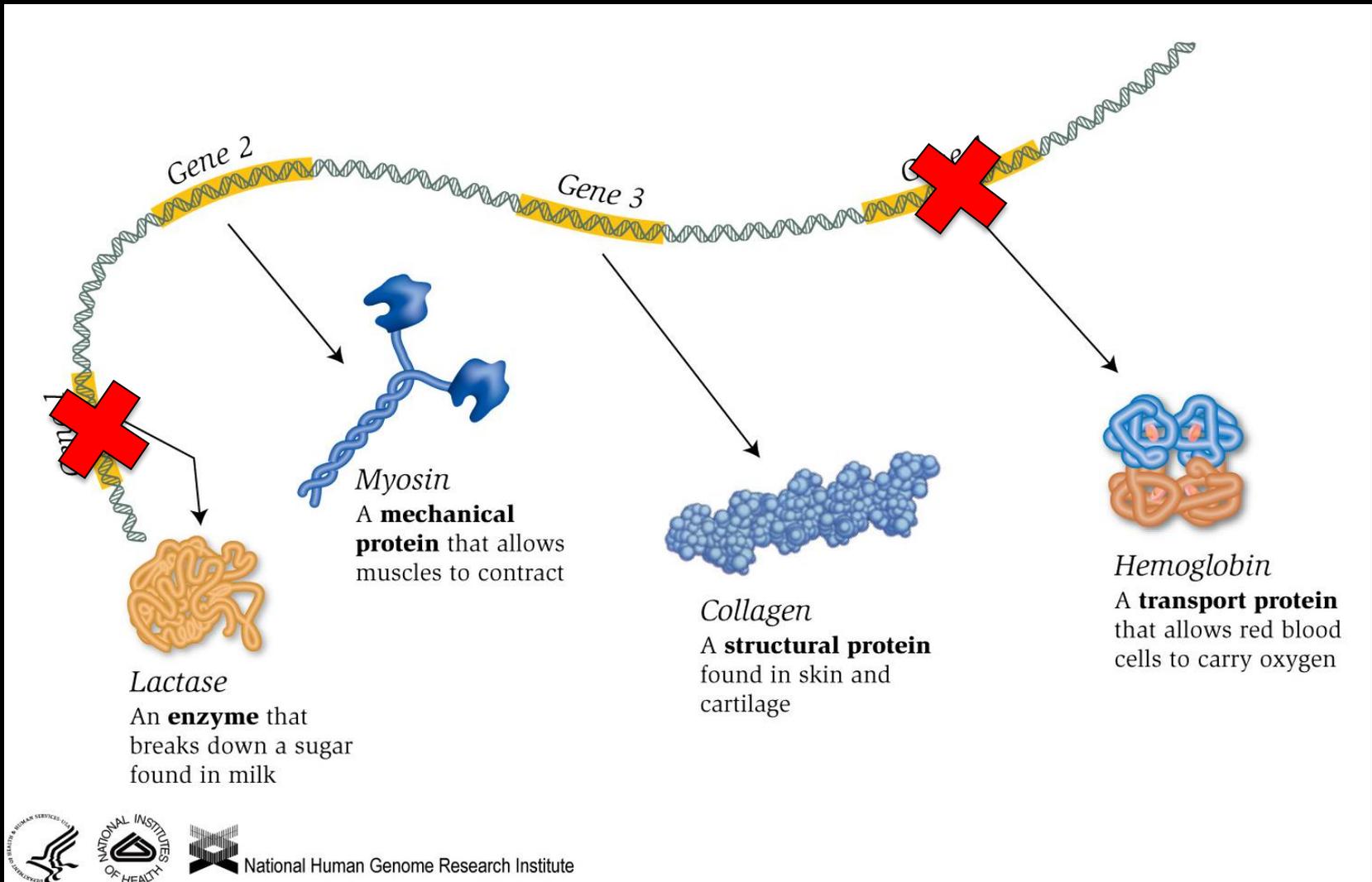
Strand of DNA

A G G T T C A G G C A T C A G A T T C G C A A T C G C T T G A G C A A T C G C T T G C A G A T A C G

DNA sequence:

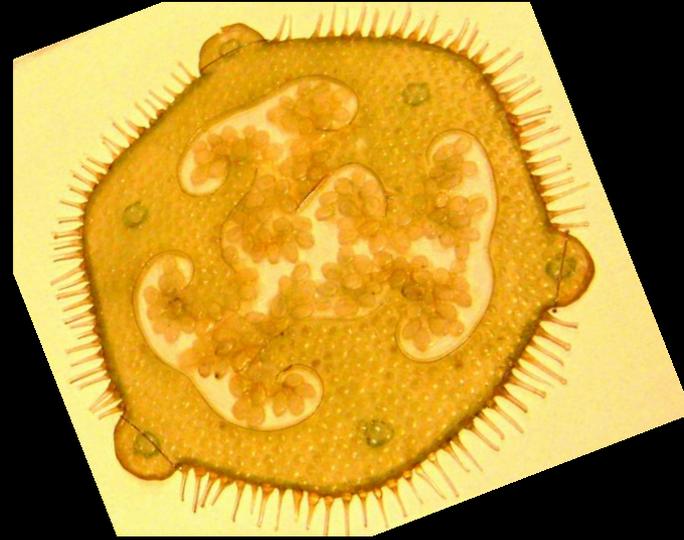
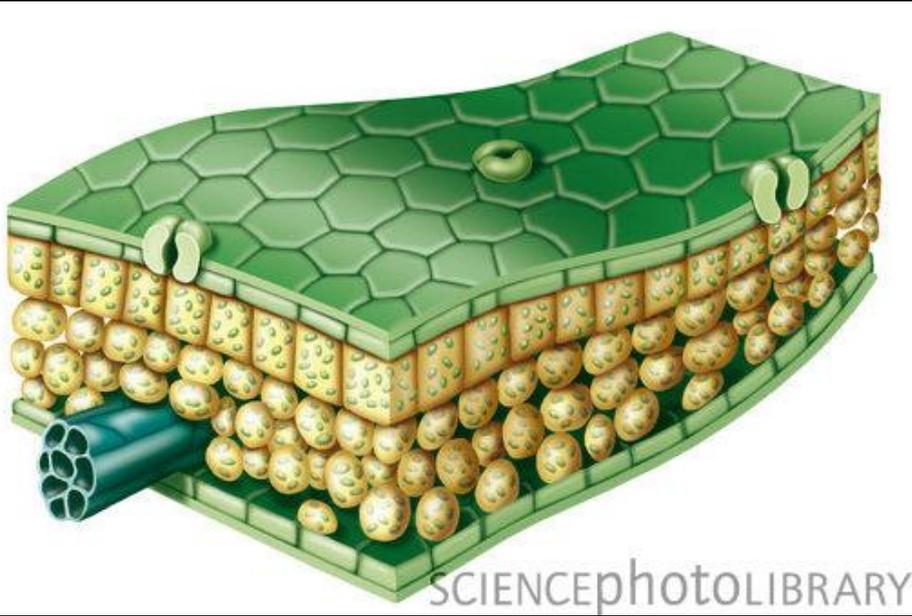
...AGGTTCAGGCATCAGATTCGCAATCGCTTGAGCAATCGCTTGCAGATACGA...

Células com o mesmo código genético...



... podem produzir proteínas diferentes

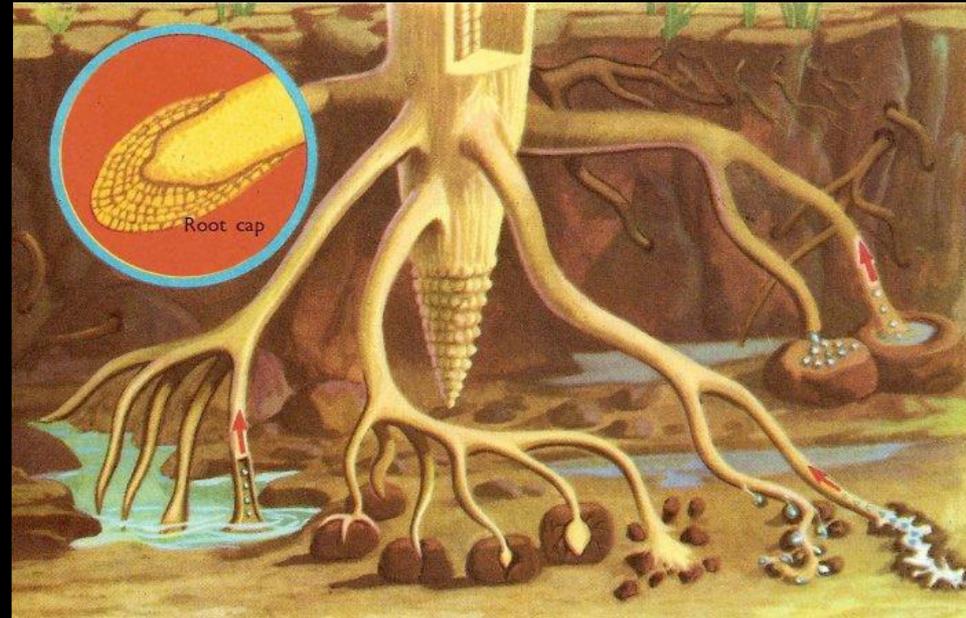
No organismo as células especializam-se...



(exposição de flores de vidro em Harvard)

... e adaptam-se a diferentes funções

...



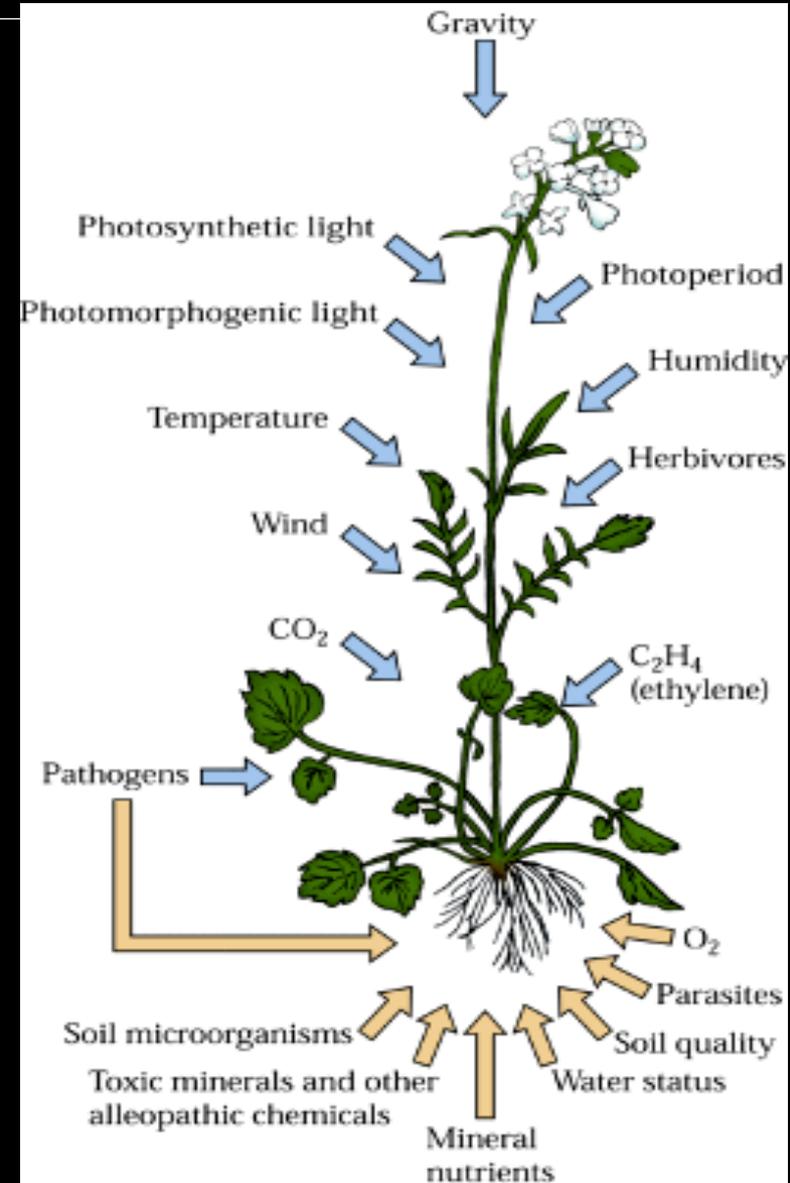
... porque os genes são **LIGADOS** e **DESLIGADOS**

◆ **Factores endógenos**

- Estádio de desenvolvimento
- hormonas
- células vizinhas

◆ **Factores exógenos**

- Ambiente
- Outros organismos



O ambiente afecta as células vegetais

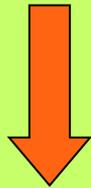
A única condição que não muda é a gravidade

Células adultas



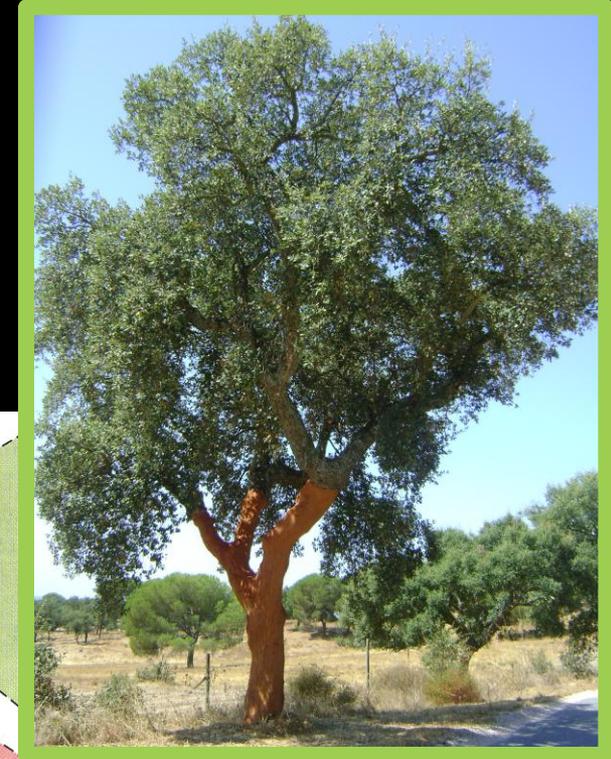
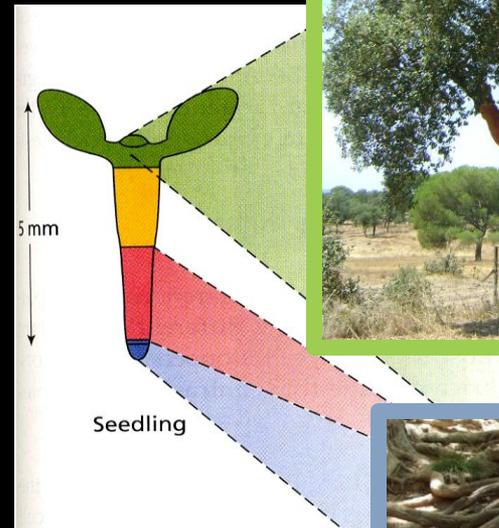
Respostas fisiológicas e bioquímicas

Células jovens



Respostas morfológicas e de desenvolvimento

Adaptação ou morte

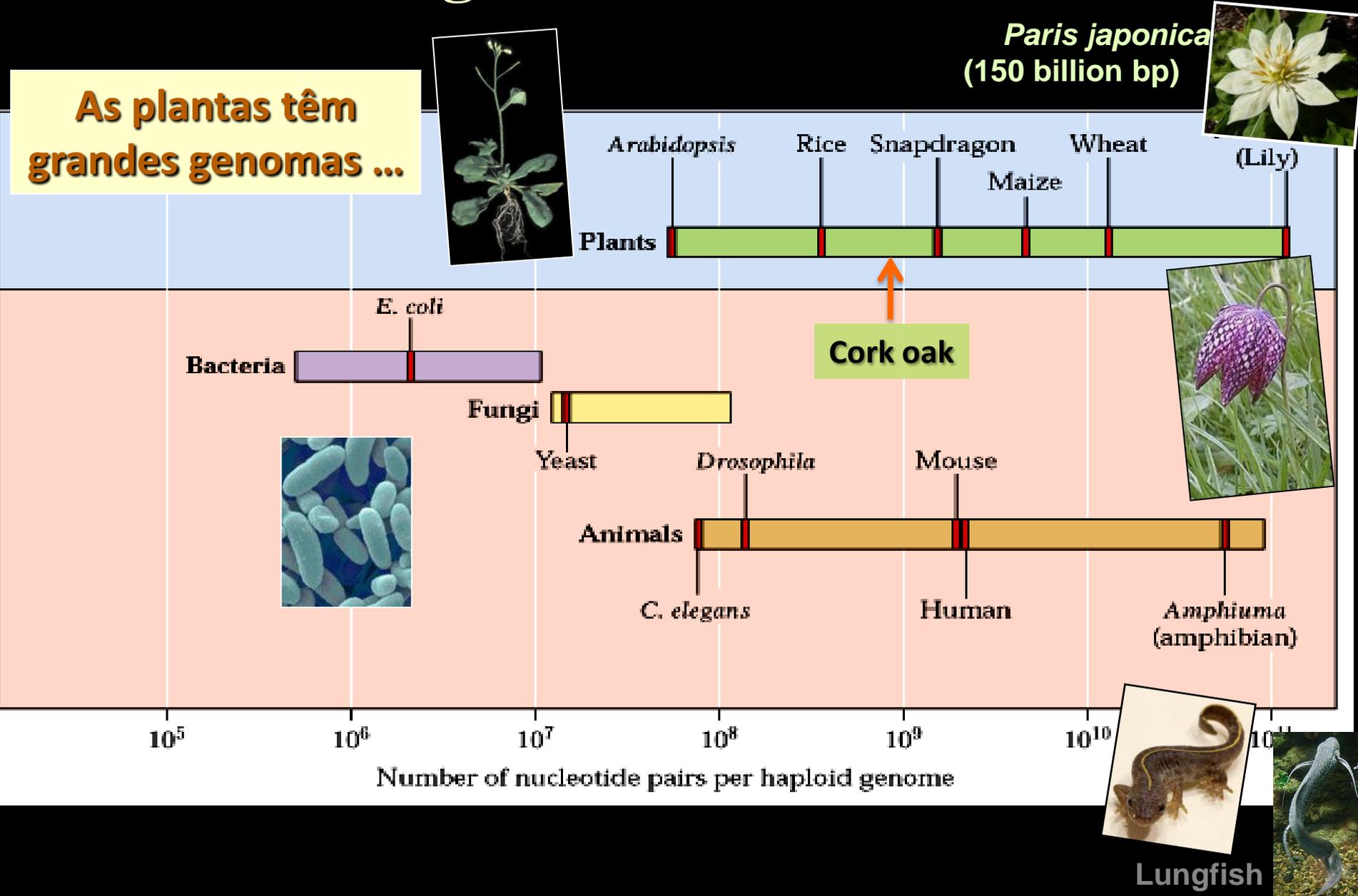


Conhecer o genoma é uma tarefa difícil

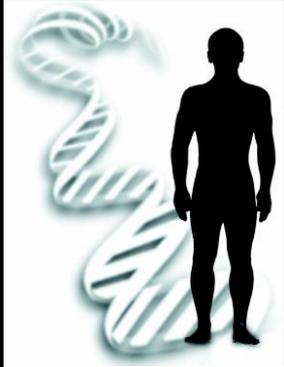
As plantas têm grandes genomas ...



Paris japonica
(150 billion bp)



Os custos da sequenciação têm reduzido



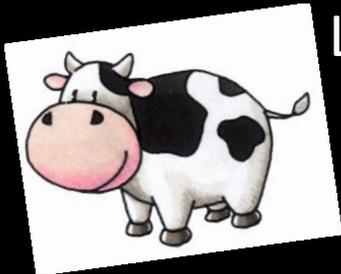
Genoma Humano

Levou **14 anos** a completar e custou **≈ 3 Biliões USD**



Genoma do Rato

Levou **5 anos** a completar e custou **≈ 300 Milhões USD**



Genoma Bovino

Levou cerca de **1 ano** a completar por **≈ 30 Milhões USD**
(já há pelo menos 3 bovinos sequenciados)

Genomas sequenciados

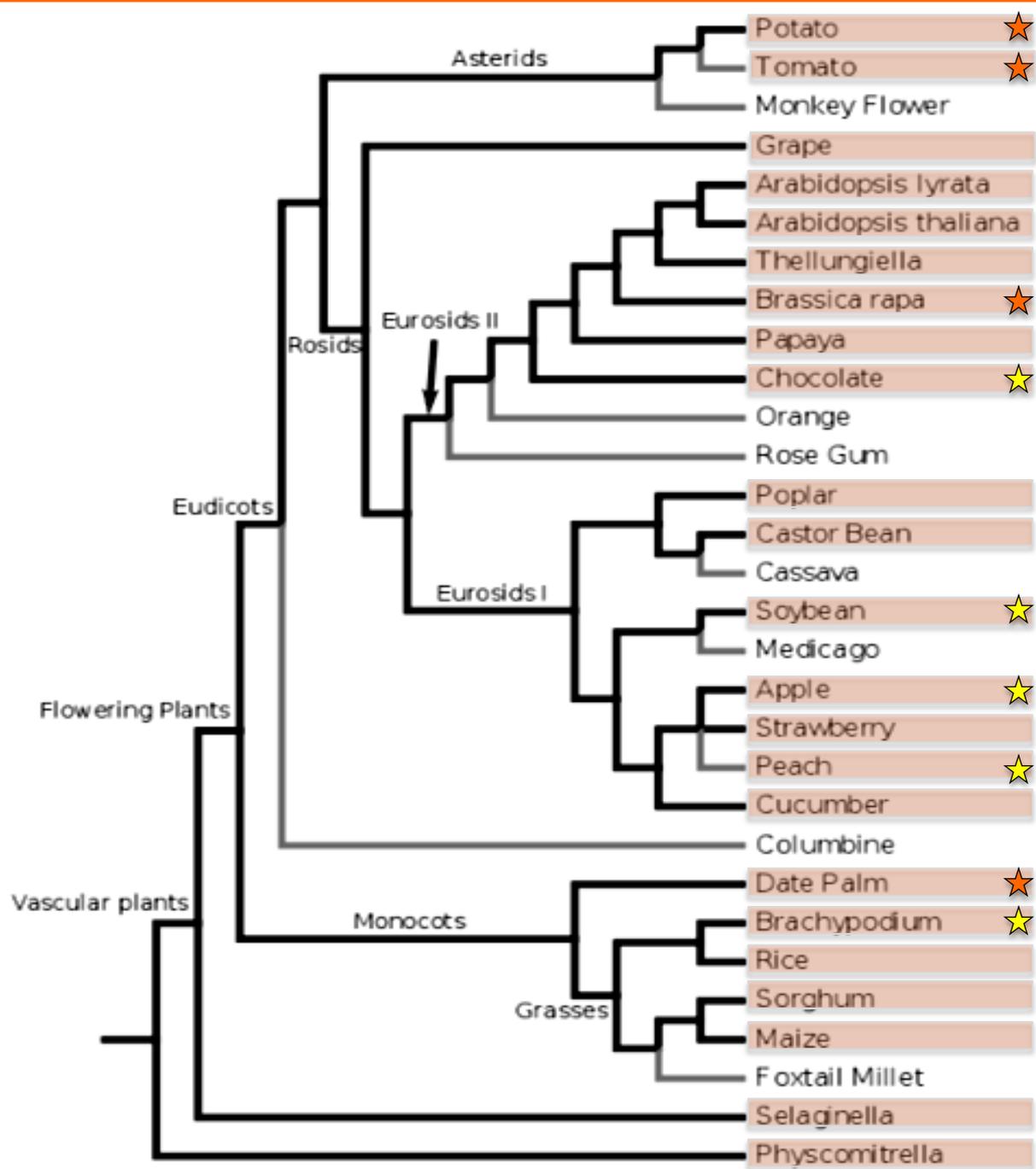
Completos ou próximo disso:

Pinheiro (*Pinus taeda*)
Salgueiro (*Salix purpurea*)
Castanheiro (*C. mollissima*)
Eucalipto (*E. grandis*)★

Pereira
Cerejeira
Algodão
Trigo de pão ★
Feijão
Choupo

Outros genomas em curso

Cevada
Café
Alface
Melão
Amendoim
Beterraba açucareira



Plataformas de sequencição de “Nova geração”

ILLUMINA (SOLEXA)



Applied Biosystems SOLiD



454 Roche

Porquê a genómica para o sobreiro ?

- *Presente*



Declínio do sobreiro

Lab. Biotec. Mol. Fitopatol. U.Alg.

Detecção precoce de características de interesse:

- Qualidade da cortiça
- Eficiência do uso da água
- Tolerância acrescida a stress ambiental
- Melhor produção de semente (com elevada capacidade germinativa)
- Aumento da resistência à infecção com *Phytophthora*
- ...

ou aplicação em :

- Aumento da diversidade genética
- Certificação / Identidade
- Melhoramento acelerado

Porquê a genômica para o sobreiro ?

- *Futuro*

- ◆ As alterações climáticas podem conduzir ao desenvolvimento de doenças mais graves

A capacidade de adaptação das plantas pode reduzir

- ◆ Devemos não só armazenar e preservar a diversidade biológica, mas também ...

... conhecer a biologia das plantas, conhecer os seus genes e a sua regulação, para poder agir atempadamente garantindo a adaptação ao clima em mudança.

Ferramentas úteis para o projecto *GenoSuber*

- ◆ Iniciativa Portuguesa dos ESTs de sobreiro (consórcio)
- ◆ Um mapa físico → genoma do castanheiro (800Mb)
 - Ferramentas da biotecnologia, marcadores genéticos e grupos de ligamento compatíveis com outras plantas da mesma família (Fagaceae)
- ◆ Genomas de Fagaceae
 - *Quercus robur* - (carvalho-alvarinho)
 - *Quercus rubra* (carvalho americano)
 - *Quercus alba* (carvalho branco)
 - *Castanea mollissima* (castanheiro chinês)
 - *Castanea dentata* (castanheiro americano) (*C. sativa*)
 - *Fagus grandifolia* (Faia americana) (*F. silvatica*)

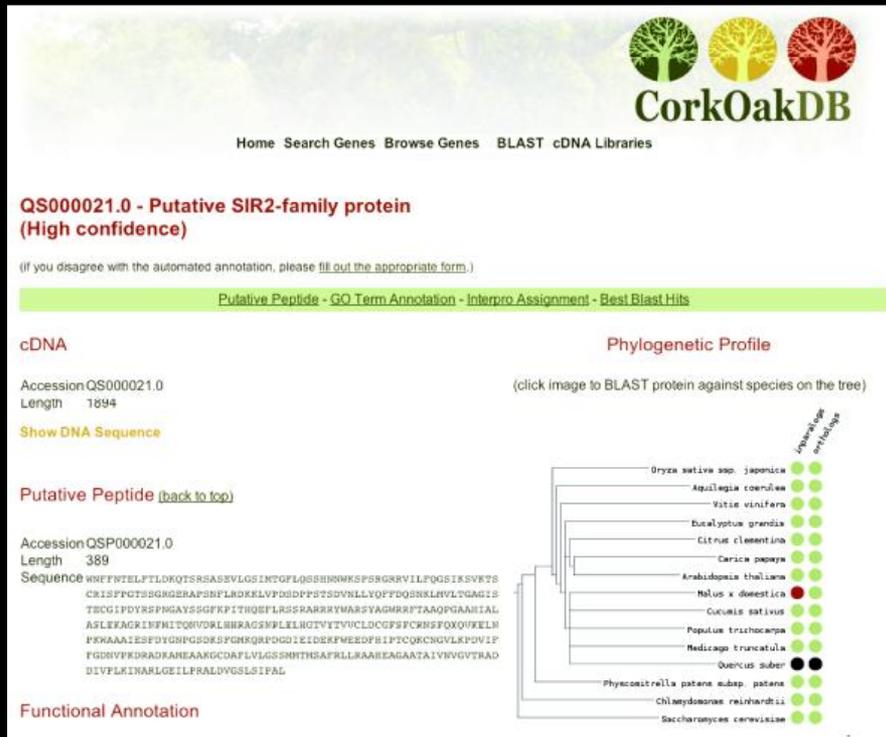
Consórcio dos ESTs de Sobreiro

Início

Consórcio dos ESTs – 12 projectos financiados pela FCT (3 dos quais coordenados pelo iBET) envolvendo 25 centros de investigação e o Biocant

Primeira publicação do consórcio

“A comprehensive assessment of the transcriptome of Cork Oak (*Quercus suber*) through EST sequencing” (submetida)



CorkOakDB

Home Search Genes Browse Genes BLAST cDNA Libraries

QS000021.0 - Putative SIR2-family protein (High confidence)

(if you disagree with the automated annotation, please fill out the appropriate form.)

Putative Peptide - GO Term Annotation - Interpro Assignment - Best Blast Hits

cDNA **Phylogenetic Profile**

Accession QS000021.0
Length 1894

Show DNA Sequence

Putative Peptide (back to top)

Accession QSP000021.0
Length 389

Sequence
WRFPTLFLDFQTSRSASVLSINTQFLQSHNNKSPSGRRVILPQGISKSVETS
CRISFPCTSSGGERAFSNFLDKKLVPSDDPFTSDVNLVLYFFDQSNLHVLTGAGIS
TECGIPDYRSPNGAYSQGFPLTHQEFLESSRRRRVMARSYAGMRRFTAOPGAARIAL
ASLEKAGRIHFHITQGVORLHRAGSNFLHLHGTIVTVVCLDCGFSFCRHSFOXQVLEL
PKAAALIESFDYGNPQOKSFGNKRQPGDDIEIDRFMEEDFBIPTCQKCNVLRKQVIF
FGDRVFDKADKANEAKGCCAFVLVGSNNHTGAFRLLEAAREAGAATAIVVGVTRAD
DIVFLKINARLGEILPRALVQSLISIFAL

Functional Annotation

Phylogenetic Profile (click image to BLAST protein against species on the tree)

- Oryza sativa ssp. japonica
- Aquilegia coerulea
- Vitis vinifera
- Eucalyptus grandis
- Citrus clementina
- Carica papaya
- Arabidopsis thaliana
- Malus x domestica
- Cucumis sativus
- Populus trichocarpa
- Medicago truncatula
- Quercus suber
- Physcomitrella patens subsp. patens
- Chlamydomonas reinhardtii
- Saccharomyces cerevisiae

www.corkoakdb.org



Projecto GenoSuber



Promotor: CEBAL

Parceiros: ITQB, IBET, BIOCANT, IGC, INIAV

Coordenação: Sónia Gonçalves

8 laboratórios / 28 investigadores

Aprovado a nível regional (Alentejo)

pela INALENTEJO

(programa operacional regional)



Consultores internacionais:

- Prof. Yves van de Peer

(Bioinformatics and Genome Biology, Ghent University, Bélgica)

- Prof. Gerald Tuskan

(Biosciences Division of Oak Ridge National Laboratory, EUA)

- Projeto aprovado pela Autoridade de Gestão do InAlentejo, no âmbito do Sistema de Apoio a Entidades do Sistema Científico e Tecnológico Nacional
- Financiamento 85% pelo programa COMPETE (FEDER)



Investimento Global:
1,132 M€ (financiado a 85%)

Duração: 30 meses

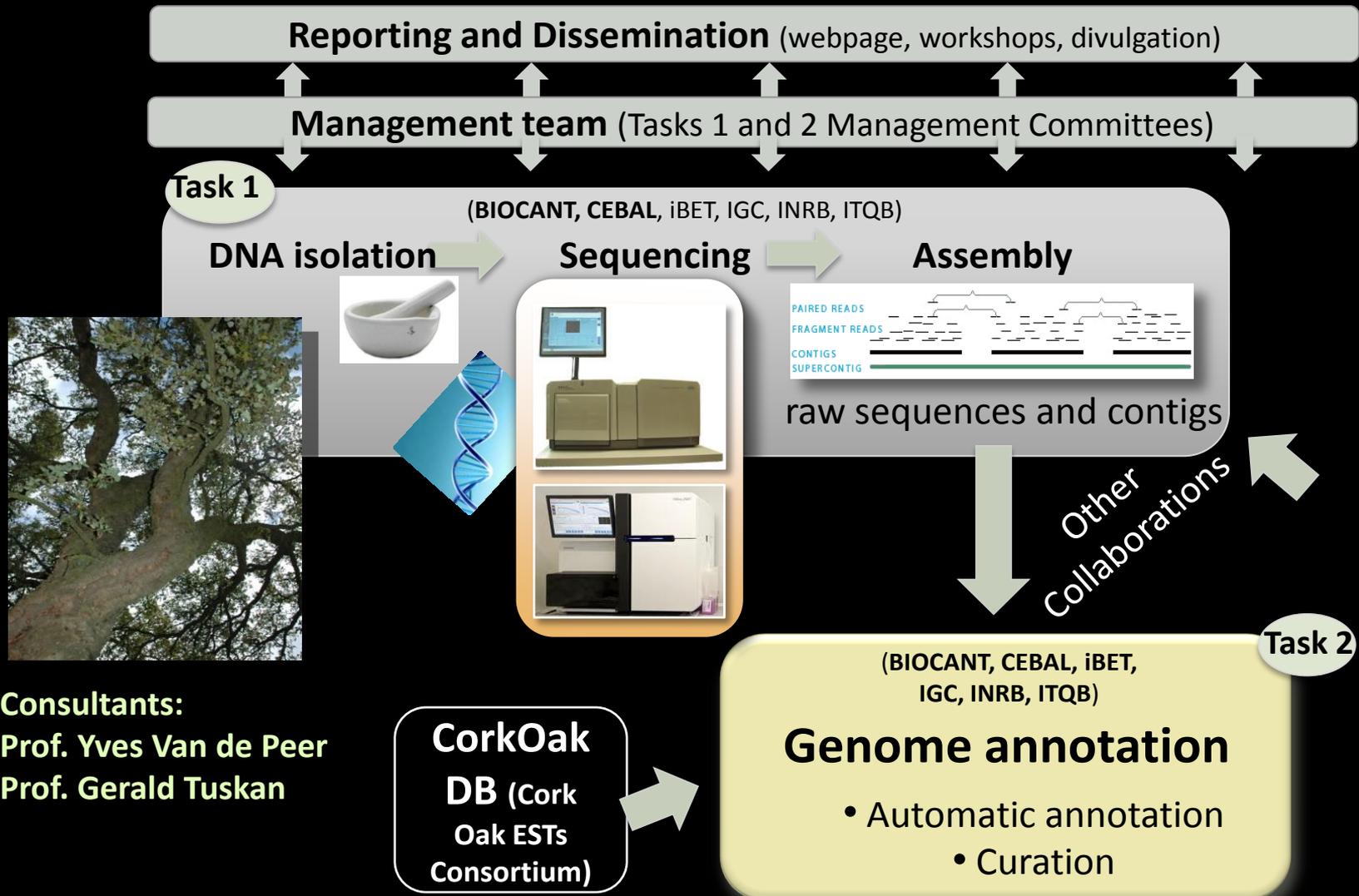
Início: Jan. 2013

Parceiros privados:



OBJETIVO

O conhecimento do património genético do sobreiro, pela sequenciação massiva do genoma do sobreiro



TAREFA 1.

SELEÇÃO DO SOBREIRO A SEQUENCIAR



OBJETIVO: encontrar uma árvore com o máximo de homozigotia

CRITÉRIOS DE SELEÇÃO

- Bons produtores de cortiça
- Considerados produtores de cortiça de boa qualidade
- Em bom estado sanitário
- Situados em ambiente sem problemas fitossanitários e de fácil acesso
- Isolados de outros Quercus
- Elevada probabilidade de conservação futura
- **50 indivíduos de 3 zonas geográficas**

METODOLOGIA E RESULTADOS



- Extração de DNA
- Georreferenciação e fotoidentificação
- Análise de heterozigotia com 16 loci de microssatélites

- Análise de resultados a decorrer



- Seleção do indivíduo

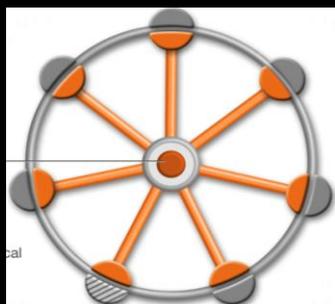


- Início da sequenciação

A rede ELIXIR e a localização dos Nós



- Médico
- Agricultura
- Ambiente
- Farmacêutico
- Treino geral

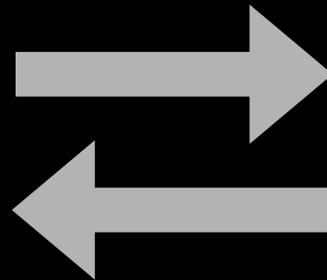


ELIXIR : infraestrutura sustentável de informação biológica para a Europa



Rede Portuguesa de
Bioinformática

- treino
- computação
- domínio específico



**Nó ELIXIR de
plantas lenhosas**

Apoiar a indústria e a
investigação Portuguesa em
Bio-informática **além do
campo específico da bio-
informática**

Disponibilizar um **serviço** à
academia e à indústria
agro/florestal em:

- Portugal
- Europa
- *Global*

Estreita cooperação ITQB-IBET com IGC e INESC



EBI (European Bioinformatics Institute)

Uma base de dados internacional para espécies florestais, criada e gerida em Portugal, tendo por base o **genoma do sobreiro**

Disponibilizar um **serviço** à academia e à indústria **agro/florestal em:**

- Portugal
- Europa
- *Global*



Genosuber  CORK OAK GENOME SEQUENCING PROJECT

Suporte financeiro

Envolvimento
Institucional



Pessoas, equipamento, espaço

compromisso, detalhes da negociação

Infraestrutura
física



Servidores de dados, fibras, etc.

sugerido, negociações em curso

- Programas de rede em colaboração com outros nós
- Envolvimento das regiões Portuguesas

Pessoas, equipamento,

em preparação

contexto, financiamento de base
articulação, indústria, etc.



Pessoas, equipamento,



Pessoas, equipamento,

Alicerce a projectos futuros que permitam :

Conhecimento fundamentado sobre a biologia do sobreiro, capaz de suportar o desenho de estratégias aplicadas visando:

- o melhoramento da qualidade da cortiça
- a selecção das plantas melhor capazes de se adaptar a um meio ambiente potencialmente pouco favorável.





-uma iniciativa nacional –
que precisa juntar mais parceiros