

Título

Caracterização de translocações cromossómicas e isoformas de transcritos por sequenciação nanopore

Plano de trabalho, com referência às técnicas a realizar:

20 anos após a sequenciação do genoma humano e da penetração cada vez maior da sequenciação genómica no mundo do diagnóstico médico, inúmeras regiões com sequências repetitivas continuam por mapear devido às limitações das metodologias de sequenciação tradicionais e de nova geração, que apenas conseguem analisar pequenos fragmentos de DNA. Ao nível da sequenciação de transcritos esta limitação impede a caracterização eficaz da estrutura molecular de diferentes isoformas de genes. Ao nível clínico, o mapeamento de regiões ou transcritos que resultam de translocações cromossómicas permanece difícil, em particular se envolver regiões centroméricas. A tecnologia de sequenciação Nanopore promete resolver este problema ao permitir a contínua sequenciação de segmentos de DNA ou RNA com mais de 250Kpb. No entanto, para que estas metodologias possam ser eficazes e entrar no mercado de diagnóstico, é necessário desenvolver novas abordagens de sequenciação dirigida e análise de dados.

O presente estágio visa implementar estas metodologias usando como modelo linhas celulares humanas com translocações ao nível do centrómero e de um gene codificante. Em paralelo com o desenvolvimento técnico, será efetuada pela primeira vez a caracterização da estrutura destas regiões, com implicações significativas para a nossa compreensão dos processos moleculares subjacentes à ocorrência destes eventos. O plano de trabalhos irá envolver cultura de células, técnicas de extração de DNA íntegro e isolamento de RNA, técnicas de captura de ácidos nucleicos usando o sistema Cas9-guide RNA, preparação de bibliotecas de sequenciação, sequenciação nanopore e análise bioinformática dos dados obtidos.

Orientador/Co-orientador

Professora Margarida Gama Carvalho, DQB mhcarvalho@fc.ul.pt
Doutor Ricardo Dias, DBV rpdias@fc.ul.pt

Laboratório/Instituição onde o trabalho será realizado

RNA Systems Biology Lab - Gene Expression and Regulation Group
e Genomics Facility
BioISI – Institute for Biosystems and Integrative Sciences, Ed. C8, FCUL

ORCID orientador / página internet do laboratório

orcid.org/0000-0002-0365-6916 / <http://bioisi.pt/ger/>