



Palestra de abertura 1 – 12/04 (18h – 19h)

Título: CRISPRing zebrafish to understand early vertebrate development and human diseases

Palestrante: Prof. Dr. Miguel A. Moreno-Mateos

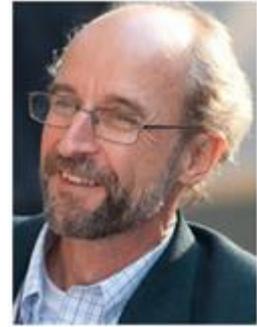
(Andalusian Center of Development Biology - CABD, Espanha)

CRISPR-Cas9 system is a powerful genome engineering approach that is now widely used. This targeting system is based on two components: a single guide RNA (sgRNA) that directs the Cas9 endonuclease to the target site to be mutated. However, variable activity across different sgRNAs can limit the mutagenic efficiency. We have optimized the CRISPR-Cas9 system in zebrafish by analyzing the mutagenic activity of 1920 sgRNAs and developing an algorithm, CRISPRscan (www.crisprscan.org) that efficiently predicts sgRNA activity *in vivo*. This and other optimizations have allowed us to perform functional genetic screens in vertebrates in a rapid and efficient manner identifying a novel protein complex involved in splicing and vertebrate brain development that is found mutated in patients with neurodevelopmental disorders. Together, these results provide novel insights into the determinants that mediate CRISPR-Cas9 efficiency and its application to uncover genes involved in human diseases and developmental disorders. However, the number of genomic targets of the CRISPR-Cas9 system is limited due to the PAM sequence restriction. To extend the *in vivo* repertoire of potential targeting sites in the genome, we have characterized and optimized different CRISPR associated endonucleases such as AsCpf1 and LbCpf1. We have demonstrated that i) LbCpf1, but not AsCpf1, ribonucleoprotein complexes allow efficient mutagenesis in zebrafish and *Xenopus* and ii) temperature modulates Cpf1 activity being this effect stronger on AsCpf1 which provides post-translational modulation of AsCpf1-mediated genome editing and explains its lower activity in ectothermic organisms such as *Drosophila*, *Xenopus* and zebrafish. All together, these results contribute to the molecular understanding of Cpf1 activity *in vivo* and establish this tool as an efficient and inducible genome engineering system across ectothermic species. Finally, one of the main interests in the early development field is to study the maternal-to-zygotic transition (MZT), a universal process that occurs in all animals. One of the critical stages during this transition is the activation of the silent zygotic genome after fertilization. However, the mechanisms underlying this process are poorly understood. To address this, we have optimized a CRISPR-Cas9-based live imaging approach of transcription in zebrafish and show that genome activation begins at the miR-430 locus. In contrast to current models, we show that genome activation does not require the titration of maternal repressors, occurs independent of cell division and is regulated through both translation of maternal mRNAs and the effects of these factors on the chromatin acetylation. In summary, these results open a new dimension into understanding the maternal factors and mechanisms that enable activation of the genome.

Palestra de abertura 2 – 12/04 (19h – 20h)

Título: *Apis mellifera*, um organismo modelo para estudos de genômica funcional de *life histories*

**Palestrante: Prof. Dr. Klaus Hartmann Hartfelder
(Universidade de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil)**



Insetos sociais (cupins, abelhas, formigas e vespas) compõem cerca de 30% da biomassa animal em quase todos os ecossistemas terrestres. Além dessa relevância ecológica, também possuem uma enorme importância econômica, tanto benéficas, como polinizadores e predadores de pragas, quanto como pragas em construções e sistemas agrícolas. O segredo por trás desse sucesso é a organização social com divisão de trabalho baseada em castas, com rainhas altamente férteis e operárias subférteis ou estéreis. Na maioria dos casos, o fator que determina a casta não é a genética do indivíduo mas a alimentação que uma larva recebe, como por exemplo a geleia real no caso das rainhas das abelhas melíferas. Na espécie *Apis mellifera* temos assim um organismo modelo para desvendar processos e mecanismos da Biologia de Desenvolvimento que geram plasticidade fenotípica por meio de hormônios e vias evolutivamente conservadas do sensoriamento de nutrientes. O resultado são a expressão gênica diferencial, especialmente no desenvolvimento do sistema reprodutor das castas rainha e operária. Um aspecto particularmente interessante nesse contexto é que as castas dos insetos sociais, a partir dessa plasticidade fenotípica, apresentam também uma quebra muito marcante no chamado *trade-off* entre reprodução e longevidade, que é um paradigma da teoria de *life histories* em animais.



Palestra – 13/04 (14h – 14h50)

Título: Genômica e medicina personalizada

**Palestrante: Dra. Lia Kubelka Back
(Biogenetika - Florianópolis, SC, Brasil)**

Mesa redonda – 13/04 (17h10 – 19h10)

Título: Genética, genômica, meio ambiente e o futuro da biodiversidade

Mesa redonda – Palestra 1

Título: Mudanças climáticas e peixes da Amazônia

Palestrante: Dra. Vera Maria Fonseca de Almeida e Val

**(Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia - INPA, Manaus, AM,
Brasil)**



Considerados importantes potencializadores de mudanças em ambientes aquáticos, o aquecimento global, as modificações hidrológicas e a eutrofização vêm aumentando em frequência e número ao redor do planeta. Aliado a esses desafios, o aumento do dióxido de carbono (CO₂) atmosférico na ordem de 400ppm também vem gerando alterações no sistema climático da Terra, modificando sua dinâmica e seus padrões e tornando determinadas regiões do planeta mais quentes e mais secas. Para a região amazônica não seria diferente. Localizada na zona climática tropical, onde as principais forças direcionadoras são a temperatura e a umidade, essa região apresenta alta diversidade de espécies, incluindo um grande número de espécie endêmicas. Conseqüentemente, mudanças climáticas globais certamente afetariam a vida aquática e terrestre do maior repositório da biodiversidade global, o que já pode ser demonstrado por meio de vários dados naturais e experimentais. Dadas as previsões em cenários climáticos, como as espécies de peixes enfrentarão a magnitude de mudanças severas nos seus ambientes amazônicos? Para responder a esta pergunta, temos trabalhado, nos últimos anos, com a exposição de peixes amazônicos em ambientes controlados que simulam três cenários de mudanças climáticas previstos pelos relatórios do IPCC para o ano de 2100: B1 (leve), A1B (moderado) e A2 (extremo). Notadamente, nossos achados revelam que diferentes espécies de peixes apresentam diferentes estratégias e adaptações ao aumento de temperatura e CO₂, estratégias essas fisiológicas, bioquímicas, comportamentais, dentre tantas outras. Muitas destas diferenças estão relacionadas aos vários estilos de vida que cada população possui em um ambiente diverso como o ambiente aquático amazônico. Sob o ponto de vista genético, análises iniciais apontam certa plasticidade fenotípica, detectável por meio da capacidade das espécies em regular genes importantes para a sobrevivência nestas condições futuras. O uso de ferramentas avançadas para o estudo de organelas, histologia e moleculares, podem ajudar a elucidar cada vez mais como peixes economicamente importantes para a região amazônica enfrentam tais desafios. A expressão gênica diferenciada de genes-alvo pode ajudar no esclarecimento das estratégias metabólicas que cada espécie possui para sobreviver. Já, análises mais complexas como transcriptomas diferenciais, quantificam mudanças na expressão de cada transcrito em diferentes condições avaliadas, as quais podem estar relacionadas a outros parâmetros fisiológicos em resposta às mudanças naturais. Por exemplo, duas espécies congêneres de tetras expressam diferencialmente genes

relacionados ao metabolismo anaeróbico - LDH (lactato desidrogenase) e, portanto, sua sobrevivência é afetada face a essas condições. É importante não generalizar como cada espécie enfrenta desafios ambientais. Outros mecanismos genéticos podem ser responsáveis por tal plasticidade. Mecanismos epigenéticos, por exemplo, podem alterar a estrutura do DNA ou regular a expressão gênica pós-transcrição. Assim, os padrões de expressão de um gene-alvo são modificados, o que reflete na capacidade de sobrevivência dos organismos, além de propiciar respostas rápidas frente ao estressor imposto. Imaginar que genes comandam toda a maquinaria metabólica para lidar com os impactos das mudanças climáticas é atualmente possível a partir de todo arcabouço molecular disponível nas mais diversas plataformas. Ainda, é necessário ampliar o conhecimento quanto à capacidade adaptativa das espécies amazônicas bem como o impacto negativo sob o aspecto biológico e econômico da biota aquática frente às mudanças climáticas.



Mesa redonda – Palestra 2

Título: Resposta do genoma vegetal às variações ambientais

Palestrante: Profa. Dra. Ana Paula de Moraes

**(Universidade Federal do ABC, São Bernardo do Campo, SP,
Brasil)**

A distribuição das espécies é determinada por limitantes fisiológicos (e.g., requerimentos abióticos), relações mutualísticas e capacidade de dispersão. Entretanto, os limitantes econômicos, como tamanho de genoma (do inglês, *genome size* - GS) e cariótipo (e.g., o número cromossômico) têm sido pouco explorados. Assim, abordagens integradas que levem em consideração a história evolutiva do clado e as características ecológicas das espécies minimizariam esse gap do conhecimento. Visando compreender como diferentes fatores interagem e como influenciam a distribuição geográfica das espécies, aqui nós focamos em um grupo de orquídeas, a subtribo *Maxillariinae*, que apresenta ampla distribuição do Brasil, mas chegando também a alguns países da América do Sul. As orquídeas desse grupo apresentam ampla diversidade morfológica, grande variação de GS e número cromossômico, além de uma hipótese filogenética bastante robusta. Unindo todos esses dados e utilizando envelopes climáticos, foi possível detectar que a distribuição predita das espécies da subtribo *Maxillariinae* é desde o sul da Califórnia até o norte da Argentina e sul do Brasil, se estendendo, com poucos pontos de predição, até a costa do Uruguai. Dentre as 20 variáveis bioclimáticas testadas (19 variáveis bioclimáticas obtidas do banco de dados Chelsea, além da altitude), seis parecem contribuir de forma decisiva para a distribuição das espécies de *Maxillariinae* [média do período de luz diário, temperatura média do quartil mais frio, sazonalidade, isothermalidade (i.e., variação diária da temperatura em relação à variação anual), precipitação média no quartil mais quente e ecorregião]. A variação de número

cromossômico na subtribo *Maxillariinae* é consequência de recorrente dispoloidia, com eventos de poliploidia concentrado em alguns poucos gêneros, sempre compondo citotipos. Entretanto, mesmo em baixa frequência, os poliploides parecem exercer forte influência no número de habitats alternativos que a espécie ocorre, especialmente na ocorrência como exclusivamente epífita (aumento do número cromossômico foi negativamente correlacionado com o número de habitat diferentes e com hábito exclusivamente epifítico). Resultado semelhante foi observado quanto à variação de GS - espécies que apresentam hábito exclusivamente epifítico apresentaram tamanho de GS menor em comparação às espécies não-exclusivamente epifíticas. Removendo-se os poliploides da amostra, não há correlação entre variações genômicas e variáveis abióticas. Contudo, se considerarmos a amplitude de variação das variáveis abióticas (e não o valor médio), tanto o número cromossômico quanto o GS mostram correlação com algumas variáveis, mesmo removendo-se os poliploides da amostra. Por exemplo, é possível observar que o aumento do GS parece ser negativamente correlacionada com isothermalidade. Considerando que a subtribo *Maxillariinae* é originária da região amazônica, local com alta isothermalidade, a colonização da Mata Atlântica e outras regiões subtropicais ocorreu provavelmente junto do aumento do GS. Essa tendência pode ser observada em *Bifrenaria*, gênero em que foi possível detectar aumento do GS com o movimento para a Mata Atlântica - sem mudança do número cromossômico. Um segundo aumento do GS ocorreu concomitante à troca de habitat - de epifítico para rupícola - na poliploide *B. tyrianthina*. O aumento do GS é tradicionalmente associado à distribuição geográfica restrita, o que pode ser detectado em dois gêneros sem variação do número cromossômico: *Brasiliorchis* and *Scuticaria*. Nos dois gêneros, as espécies com aumento do GS apresentam distribuição microendêmica. Considerando os dados obtidos podemos concluir que a variável número cromossômico e, principalmente, GS influenciam a ecologia das plantas e a distribuição geográfica é um produto da interação entre GS e características abióticas como flutuação da temperatura e umidade.



Mesa redonda – Palestra 3

Título: Do rascunho à versão final: como estamos montando genomas completos para o estudo da evolução e conservação da biodiversidade

Palestrante: Dra. Marcela Uliano da Silva

(Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research, Berlim, Alemanha)

Certos historiadores da ciência dirão que a revolução científica do século XXI está na Biologia. Desde o sequenciamento da primeira versão do genoma humano em 2002, o barateamento e os avanços nos métodos de sequenciamento e bioinformática nos permitiram sequenciar as primeiras versões rascunho (*draft*) de genomas de centenas de espécies não-modelo, para além do genoma humano. Esses genomas draft foram a base para imensos progressos no entendimento dos mecanismos moleculares da evolução. No entanto, a natureza incompleta

desse genomas draft deixou algumas lacunas no conhecimento – principalmente no que diz respeito a influência das áreas repetitivas do genoma nos mecanismos moleculares das espécies. Nesta palestra irei apresentar como nós, os pesquisadores do Vertebrates Genome Project do consórcio internacional Genome 10K (VGP/G10K), estamos fazendo para montar genomas Platinum (em nível cromossômico, onde os dois haplótipos estão representados e praticamente livre de erros) para todos os vertebrados. Mais especificamente, irei apresentar como o uso das últimas tecnologias de sequenciamento (PacBio, Chromium 10X, Bionano e HiC) e de uma nova pipeline de montagem estão levando o genoma da preguiça de dois dedos, *Choloepus didactylus*, ao nível Platinum, e como esse genoma é a primeira referência para o estudo das peculiaridades evolutivas dos *Xenarthra*: um dos mais antigos grupos de mamíferos placentários que evoluiu exclusivamente na América do Sul.



Palestra – 14/04 (08h30 – 09h20)

Título: Microevolução Humana: história populacional de *Homo sapiens* vista através de fósseis, genes e artefatos

Palestrante: Prof. Dr. Danilo Vicensotto Bernardo

(Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Rio Grande, RS, Brasil)

Processos microevolutivos são, por definição, aqueles que resultam em novidades evolutivas, como as mudanças de frequências gênicas por exemplo, ocorridas em escala populacional intraespecífica. Nas investigações da história evolutiva humana, os estudos microevolutivos debruçam-se sobre os processos de diferenciação e diversificação ocorridas ao longo dos eventos de surgimento e dispersão de *Homo sapiens* e as possíveis relações com outros hominínios tardios. Nesta apresentação, iremos explorar aspectos paleoantropológicos, morfológicos, genéticos e comportamentais ocorridos ao longo dos últimos 300.000 anos, período que marca o surgimento do *Homo sapiens* no planeta.

Palestra – 14/04 (09h20 – 10h10)

Título: Contribuição do Sequenciamento massivo/MPS nas análises de DNA forense

Palestrante: Profa. Dra. Regina Maria Barretto Cicarelli

(Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Araraquara, SP, Brasil)



Palestra de encerramento – 14/04 (11h30 – 12h30)

**Título: Reparo de DNA e suas principais consequências para a célula:
morte e mutagênese**

**Palestrante: Prof. Dr. Carlos Frederico Martins Menck
(Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, SP, Brasil)**



O genoma de todos organismos está sujeito a ataques de agentes físicos ou químicos que estão constantemente promovendo lesões na molécula de DNA. Esses agentes podem ser externos, como luz solar, poluição, fumaça de cigarro, fármacos antitumorais, etc, como internos, subprodutos naturais do metabolismo celular, como radicais de oxigênio. Esses danos no DNA podem resultar em bloqueios da transcrição ou mesmo da replicação dessa molécula. Para minimizar os efeitos desses danos, a célula conta com mecanismos de defesa que incluem processos de remoção ou tolerância às lesões. Ainda assim, danos não reparados podem ter consequências importantes para as células, sendo as principais a morte celular ou mutagênese. No organismo humano essas consequências podem resultar em processos de envelhecimento ou carcinogênese. Estes efeitos são dramaticamente ilustrados em pacientes com síndromes humanas com deficiências em processos de reparo de DNA, com sintomas clínicos que incluem alta frequência de tumor e/ou problemas no desenvolvimento e envelhecimento precoce. Entre essas síndromes destacamos *xeroderma pigmentosum* (XP), com altos níveis de lesões, inclusive tumores, na pele exposta a luz solar. Cerca de 20 a 30% desses pacientes XP também apresentam sintomas de problemas neurológicos e envelhecimento precoce. Temos usado células de pacientes XP como modelo para entender melhor como nossos sistemas de reparo nos defendem das lesões no DNA, buscando entender como essas podem resultar em tumorigênese e mesmo envelhecimento precoce.