

Atena
Editora
Ano 2021



AVANÇOS METODOLÓGICOS EM BIOLOGIA MOLECULAR E BIOTECNOLOGIA

Anderson Barros Archanjo
Aline Ribeiro Borçoi
Suzanny Oliveira Mendes
Adriana Madeira Álvares-da-Silva
(Organizadores)

Atena
Editora
Ano 2021



AVANÇOS METODOLÓGICOS EM BIOLOGIA MOLECULAR E BIOTECNOLOGIA

Anderson Barros Archanjo
Aline Ribeiro Borçoi
Suzanny Oliveira Mendes
Adriana Madeira Álvares-da-Silva
(Organizadores)

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2021 Os autores

Copyright da Edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Pablo Ricardo de Lima Falcão – Universidade de Pernambuco
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Ribeiro Simon Cavalcanti – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Fernando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federacl do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Profª Drª Ana Grasielle Dionísio Corrêa – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande

Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Sidney Gonçalves de Lima – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Edna Alencar da Silva Rivera – Instituto Federal de São Paulo
Profª Drª Fernanda Tonelli – Instituto Federal de São Paulo,
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Profª Drª Miraniide Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Profª Ma. Adriana Regina Vettorazzi Schmitt – Instituto Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Alex Luis dos Santos – Universidade Federal de Minas Gerais
Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Profª Ma. Aline Ferreira Antunes – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa
Profª Drª Andrezza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Profª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá
Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Me. Carlos Augusto Zilli – Instituto Federal de Santa Catarina
Prof. Me. Christopher Smith Bignardi Neves – Universidade Federal do Paraná
Profª Drª Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa

Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Edson Ribeiro de Britto de Almeida Junior – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof. Dr. Everaldo dos Santos Mendes – Instituto Edith Theresa Hedwing Stein
Prof. Me. Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Me. Fabiano Eloy Atilio Batista – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof. Me. Francisco Odécio Sales – Instituto Federal do Ceará
Prof. Me. Francisco Sérgio Lopes Vasconcelos Filho – Universidade Federal do Cariri
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFGA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Profª Ma. Lilian de Souza – Faculdade de Tecnologia de Itu
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lúvia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Profª Ma. Luana Ferreira dos Santos – Universidade Estadual de Santa Cruz
Profª Ma. Luana Vieira Toledo – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Me. Luiz Renato da Silva Rocha – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Ma. Luma Sarai de Oliveira – Universidade Estadual de Campinas
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos

Prof. Me. Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva – Governo do Estado do Espírito Santo
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará
Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Dr. Pedro Henrique Abreu Moura – Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Prof. Me. Pedro Panhoca da Silva – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Profª Drª Poliana Arruda Fajardo – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Rafael Cunha Ferro – Universidade Anhembi Morumbi
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Renan Monteiro do Nascimento – Universidade de Brasília
Prof. Me. Renato Faria da Gama – Instituto Gama – Medicina Personalizada e Integrativa
Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco
Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão
Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Profª Ma. Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Avanços metodológicos em biologia molecular e biotecnologia

Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Natália Sandrini de Azevedo
Correção: Giovanna Sandrini de Azevedo
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizadores: Anderson Barros Archanjo
Aline Ribeiro Borçoi
Suzanny Oliveira Mendes
Adriana Madeira Álvares-da-Silva

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A946 Avanços metodológicos em biologia molecular e biotecnologia / Organizadores Anderson Barros Archanjo, Aline Ribeiro Borçoi, Suzanny Oliveira Mendes, et al. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Outra organizadora
Adriana Madeira Álvares-da-Silva

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-5983-175-3
DOI 10.22533/at.ed.753210406

1. Biologia Molecular. 2. Biotecnologia. 3. DNA. I. Archanjo, Anderson Barros (Organizador). II. Borçoi, Aline Ribeiro (Organizadora). III. Mendes, Suzanny Oliveira (Organizadora). IV. Título.

CDD 572.8

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa.

APRESENTAÇÃO

O livro “Avanços Metodológicos em Biologia Molecular e Biotecnologia” é uma obra com o foco principal na valorização acerca do conhecimento aprofundado em Biologia Molecular e Biotecnologia, assim como do histórico e das técnicas recentes mais aplicadas para o estudo do tema.

A obra é fruto do trabalho dos professores e alunos da disciplina “Tópicos Especiais em Biotecnologia II: Avanços Metodológicos em Biologia Molecular e Biotecnologia (BIOTEC024)”, ofertada pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Espírito Santo.

Os diversos temas relacionados à Biologia Molecular e à Biotecnologia foram abordados tendo como foco os avanços nas metodologias utilizadas ao longo dos anos. A obra consta de sete capítulos, nos quais foram discutidos a evolução da biologia molecular e das ômicas, assim como os sequenciadores de próxima geração, os métodos de estudo em epigenética, a amplificação do DNA em single-cell, estudo de expressão gênica, ferramentas de edição gênica e expressão heteróloga de proteínas.

Deste modo a obra “Avanços Metodológicos em Biologia Molecular e Biotecnologia” apresenta uma ferramenta de estudo que proporciona aos leitores uma visão ampla das principais metodologias em Biologia Molecular e Biotecnologia, assim como as suas evoluções ao longo dos anos.

Desejamos uma excelente leitura a todos!

Anderson Barros Archanjo

Aline Ribeiro Borçoi

Suzanny Oliveira Mendes

Adriana Madeira Álvares-da-Silva

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS	1
CAPÍTULO 1.....	3
A EVOLUÇÃO DA BIOLOGIA MOLECULAR E AS ÔMICAS	
Tamires dos Santos Vieira Suzanny Oliveira Mendes	
DOI 10.22533/at.ed.7532104061	
CAPÍTULO 2.....	14
GENÔMICA E OS SEQUENCIADORES DE PRÓXIMA GERAÇÃO	
Paola Cerbino Doblas Iuri Drumond Louro	
DOI 10.22533/at.ed.7532104062	
CAPÍTULO 3.....	26
EPIGENÉTICA E MÉTODOS DE ESTUDOS EPIGENÉTICOS	
Ivana Alece Arantes Moreno Suzanny Oliveira Mendes	
DOI 10.22533/at.ed.7532104063	
CAPÍTULO 4.....	35
PRÍNCIPIOS BÁSICOS EM AMPLIFICAÇÃO DO DNA E GENÔMICA DE CÉLULAS ÚNICAS	
Bárbara Risse-Quaioto Anderson Barros Archanjo	
DOI 10.22533/at.ed.7532104064	
CAPÍTULO 5.....	46
RT-qPCR: ESTUDOS DE EXPRESSÃO GÊNICA	
Mayara Mota de Oliveira Anderson Barros Archanjo	
DOI 10.22533/at.ed.7532104065	
CAPÍTULO 6.....	58
FERRAMENTAS DE EDIÇÃO GÊNICA	
Joaquim Gasparini dos Santos Aline Ribeiro Borçoi	
DOI 10.22533/at.ed.7532104066	
CAPÍTULO 7.....	69
EXPRESSÃO HETERÓLOGA DE PROTEÍNAS	
Karolinni Bianchi Britto	

Greiciane Gaburro Paneto

DOI 10.22533/at.ed.7532104067

SOBRE OS ORGANIZADORES	85
-------------------------------------	-----------

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

2D-PAGE	Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis
5hmC	5 hidroximetilcitosina
5mC	5-metilcitosina
AD	Domínio de Ativação
AMPK	Proteína Quinase Ativada por Adenosina Monofosfato
BACs	Cromossomos Artificiais Bacterianos
BiTS-ChiP	Isolamento Descontínuo da Cromatina Específica de Tecido para Imunoprecipitação
cDNA	DNA complementar
ChiP	Imunoprecipitação da Cromatina
ChIP-chip	Imunoprecipitação de Cromatina Ligada a Microarranjos
ChIP-Seq	Imunoprecipitação da Cromatina com Tecnologia de Sequenciamento de Nova Geração
CRISPR	Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interspaçadas (do inglês <i>Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i>)
DCR	Doença Renal Crônica
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DNAr	DNA recombinante
DNTPs	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
DOP-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase Iniciada por Oligonucleotídeo Degenerado
dPCR	PCR digital
DSB	Quebra Dupla da Fita de DNA (do inglês <i>Double-Stranded Break</i>)
ESI-MS	Espectrometria de Massa de Eletrospray
FACS	Classificação Celular Ativada por Fluorescência
FDA	Food and Drug Administration
<i>FOK I</i>	<i>Flavobacterium okeanokoites</i>
FRET	Transferência de Energia de Ressonância de Fluorescência
FTIR	Espectroscopia Infravermelha de Transformação Fourier
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato Desidrogenase
GFP	Proteína Verde Fluorescente
GST	Glutathione S-transferase
HATs	Histonas Acetiltransferases
HDACs	Histonas Desacetiltransferases
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Resolução
HR	Recombinação Homóloga (do inglês <i>Homologous Recombination</i>)
INTACT	Isolamento de Núcleos Marcados em Tipo Celular Específico
LCM	Microdissecção de Captura a Laser
Lpp	Lipoproteína Mureína
MACS	Classificação de Células Ativadas Magneticamente
MALBAC	Múltiplos Ciclos de Amplificação Baseados em Anelamento e Loop
MBP	Proteína Ligante da Maltose
MDA	Amplificação de Deslocamento Múltiplo
miRNA	microRNA

NGS	Sequenciadores de Próxima Geração
NHEJ	Junções Terminais não Homólogas (do inglês <i>non-homologous end joining</i>)
NLS	Sinal de Localização Nuclear
NMR	Ressonância Magnética Nuclear
OGM	Organismos Geneticamente Modificados
OmpA	Proteína A da membrana externa
OmpT	Protease VII
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PGM	Personal Genome Machine
PhoE	Proteína E dos poros da membrana externa
qPCR	Reação Quantitativa em Cadeia da Polimerase (qPCR)
RBS	Sequência Shine-Dalgarno (do inglês <i>Ribosome Binding Site</i>)
RFLP	Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição (RFLP)
RNA	Ácido ribonucleico
RNA _m	RNA mensageiro
RNA-seq	Sequenciamento de RNA
RT	Transcriptase reversa
RT-PCT	PCR de transcrição reversa
RT-qPCR	PCR de transcrição reversa quantitativa
RVS	Repetições Variáveis Diresíduos
Sars-cov-2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
SDS-PAGE de	Eletroforese em Gel de Poliacrilamida na presença de Dodecil Sulfato Sódio
SNP	Polimorfismo de Nucleotídeo Único
STR	Sequências de Repetições Curtas em Tandem
TALENs	Nucleases com Efetores do tipo Ativador Transcricional (do inglês <i>Transcription Activator-Like Effector Nucleases</i>)
TET	Translocação Metilcitosina Dioxigenase
TFIIIA	Fator de transcrição IIIA
T _m	Temperatura de <i>melting</i>
TRX	Tiorredoxina
YACs	Cromossomos Artificiais de Leveduras
ZFN	Nucleases de Dedo de Zinco (do inglês <i>Zinc Finger Nucelases</i>)

EPIGENÉTICA E MÉTODOS DE ESTUDOS EPIGENÉTICOS

Data de aceite: 10/05/2021

Data de submissão: 15/04/2021

Ivana Alece Arantes Moreno

Bacharel em Ciências Biológicas, Mestra e
Doutoranda em Biotecnologia pela Universidade
Federal do Espírito Santo (UFES)
Alegre - Espírito Santo
<http://lattes.cnpq.br/4011255253507606>

Suzanny Oliveira Mendes

Bacharel em Ciências Biológicas, Mestra,
Doutora e Pós-Doutoranda em Biotecnologia
pela Universidade Federal do Espírito Santo/
RENORBIO
Alegre - Espírito Santo
<http://lattes.cnpq.br/5613486906366786>

RESUMO: A epigenética é o estudo das mudanças na expressão gênica sem alterar a sequência primária do DNA podendo ser herdáveis ou não herdáveis e reversíveis. Os principais mecanismos de regulação epigenética incluem a metilação do DNA, modificações pós-traducionais das histonas e regulação por miRNAs. Compreender como os mecanismos epigenéticos interagem no desenvolvimento de doenças complexas é um grande desafio. Além disso, avanços recentes também apontam novas possibilidades terapêuticas. Aqui, revisamos e discutimos os recentes conceitos dos mecanismos epigenéticos e destacamos os principais métodos tecnológicos de detecção neste campo.

PALAVRAS-CHAVE: metilação de DNA, modificação das histonas, mRNA, métodos, epigenética.

EPIGENETICS AND METHODS OF EPIGENETIC STUDIES

ABSTRACT: Epigenetics is the study of changes in gene expression without altering the primary DNA sequence and can be either reversible and inheritable or non-inheritable. The main mechanisms of epigenetic regulation include DNA methylation, post-translational modifications of histones and regulation by miRNAs. Understanding how epigenetic mechanisms interact in the development of complex diseases is a major challenge. Moreover, recent advances also point to new therapeutic possibilities. Here, we review and discuss the recent concepts of epigenetic mechanisms and highlight the main technological methods of detection in this field.

KEYWORDS: DNA methylation, histones modifications, miRNAs, methods, epigenetics.

1 | INTRODUÇÃO

Cada indivíduo possui o seu próprio genoma que é encontrado em quase todas as células do seu corpo (DOR; CEDAR, 2018). O genoma de um organismo abrange toda a informação genética contida em sequências de nucleotídeos que compõem o DNA do indivíduo. Embora o genoma contenha estas informações, somente isso não revela como as suas funções nos organismos são reguladas. Diante disto, o estudo da epigenética contribuiu para elucidar os mecanismos de funcionamento dos genes (DAVID SWEATT, 2019). Desta forma, a regulação epigenética é um dos mecanismos que modula a expressão dos genes e seu estudo contribui para o melhor entendimento sobre o epigenoma e a influência do ambiente na

regulação da expressão gênica.

A epigenética começou a ser estudada pelo embriologista e geneticista Conrad Waddington, definindo-a como “o ramo da biologia que estuda as interações casuais entre os genes e seus produtos que dão origem ao fenótipo” (WADDINGTON, 1939). De acordo com os novos conhecimentos sobre o tema, os conceitos foram atualizados. Após, Arthur Riggs e colaboradores a definiram como “o estudo de alterações mitoticamente e/ou meioticamente herdáveis na função do gene que não podem ser explicadas por alterações na sequência do DNA” (RUSSO; MARTIENSSEN; RIGGS, 1996).

Entretanto, esse foi um dos paradigmas da epigenética tradicional de que as marcas epigenéticas eram imutáveis a partir do momento em que elas ocorriam, sugerindo que os mecanismos epigenéticos eram estáticos e de acordo com descobertas recentes, esses conceitos foram ampliados e atualizados (BIRD, 2007; DAVID SWEATT, 2019). Atualmente a epigenética refere-se ao estudo dos mecanismos que alteram a expressão gênica, sem modificar a sequência primária do DNA. Como também, os mecanismos epigenéticos podem ser herdáveis ou não herdáveis e reversíveis (DEANS; MAGGERT, 2015; HIRST; MARRA, 2009; TRONICK; HUNTER, 2016).

Os mecanismos epigenéticos incluem processos moleculares como as alterações estruturais do DNA e suas proteínas relacionadas e incorporações de RNA não codificantes (DAVID SWEATT, 2019). Estas modificações podem ser induzidas por estímulos ambientais, como dieta, estresse, hormônios e medicamentos (DOR; CEDAR, 2018). Além disso, essas modificações podem ser de natureza transitória e hereditária.

As modificações epigenéticas contribuem para o entendimento de diversos processos celulares, participando em mecanismos biológicos cruciais como diferenciação, regulação gênica, desenvolvimento e o envelhecimento. Estudos sugerem que alterações no equilíbrio epigenético podem desempenhar um papel importante na susceptibilidade e progressão de diversas doenças, como por exemplo, o câncer (BENNETT; LICHT, 2018; HIRST; MARRA, 2009; MASUI et al., 2020). Desta forma, avanços recentes de estudos do epigenoma vêm sendo promissores no desenvolvimento de novas estratégias de tratamento de doenças.

A ação conjunta dos mecanismos epigenéticos forma uma rede interativa complexa com a atividade de outros mecanismos, contribuindo para a mesma regulação transcricional e pós-transcricional (DEANS; MAGGERT, 2015; KLENGEL; BINDER, 2015). Esses processos contribuem para facilitar ou dificultar o acesso de fatores de transcrição, regulando a leitura dos genes.

O foco deste capítulo é fornecer os conceitos e as metodologias que foram desenvolvidas para detectar os mecanismos epigenéticos. Vale ressaltar que a escolha da técnica adequada permite a obtenção de uma resposta compatível para responder à pergunta biológica do pesquisador e outros fatores precisam ser levados em consideração como custos, sensibilidade e especificidade, disponibilidade de equipamentos e quantidade de amostra do DNA (KURDYUKOV; BULLOCK, 2016).

Existem métodos disponíveis podem ser úteis em aplicações específicas ou são técnicas que atualmente não são empregadas, logo, não serão discutidas aqui. Sendo assim, vamos nos concentrar nos métodos que consideramos com alto rendimento, mais robustos e prontamente disponíveis para a comunidade científica.

2 | METILAÇÃO DO DNA

A metilação do DNA é o mecanismo epigenético mais abundante e caracterizado em modelos animais e humanos (GOUIL; KENIRY, 2019; HIRST; MARRA, 2009; O'DONNELL; MEANEY, 2020). O processo consiste em uma modificação covalente do DNA com a adição um grupo metil (CH_3) no carbono 5' que ocorre exclusivamente nos nucleotídeos citosina, convertendo-a em 5-metilcitosina (5mC), catalisada pela enzima metiltransferase de DNA (DNMT) (KOHLI; ZHANG, 2013; LI; ZHANG, 2014).

Outra marca epigenética, a 5 hidroximetilcitosina (5hmC) produzida através da oxidação da 5mC catalisada pela enzima de translocação metilcitosina dioxigenase (TET) encontrada em mamíferos e está associada ao processo de desmetilação do DNA (KOHLI; ZHANG, 2013; LI; ZHANG, 2014). Na maioria dos casos, o processo de metilação do DNA ocorre em dinucleotídeos seguidos por uma guanina (5'-CpG-3'), que são regiões ricas em CpGs, contexto chamado de "ilhas CpG" (FEDOTOVA; ILLARIOSHKIN, 2019; VIALOU et al., 2013). Em todo genoma humano, encontra-se cerca de 28 milhões de sítios CpG e destes, aproximadamente 70 a 80% são metilados em células somáticas normais (EHRlich et al., 1982; SKVORTSOVA; STIRZAKER; TABERLAY, 2019).

A metilação do DNA em regiões promotoras dos genes é um mecanismo que promove a repressão da transcrição gênica e ao silenciamento de genes. A repressão gênica ocorre porque um complexo de proteínas que reconhecem os grupos metil é recrutado, promovendo a remodelação da cromatina, formando uma estrutura de cromatina mais condensada e evitando a transcrição gênica (DOMCKE et al., 2015). Além do mais, entre os mecanismos epigenéticos descritos, a metilação do DNA é considerada a mais estável, podendo se manter até a idade adulta do indivíduo e no decorrer das gerações celulares (DOR; CEDAR, 2018; KOHLI; ZHANG, 2013). Em adição, a metilação do DNA é específica do tecido, variando em padrões de metilação em comparação com outros tipos celulares de um mesmo organismo (FENG; LOU, 2019).

Estudos atuais têm se concentrado em evidências de que os mecanismos epigenéticos desempenham um papel fundamental no processo de envelhecimento biológico, na busca de marcadores para doenças complexas e nos efeitos transgeracionais em pais que foram expostos em determinadas condições ambientais (BORÇOI et al., 2020; LOCKE et al., 2019; RYAN et al., 2019; UNNIKRIISHNAN et al., 2019).

As metodologias empregadas possuem como objetivo determinar o status de metilação de amostras de DNA. Aqui, será discutido os métodos para distinguir a 5-metilcitosina (5mC) da citosina e detecção da 5-hidroximetilcitosina. Além disso, serão discutidos os métodos que são utilizados para avaliação da metilação do DNA de todo o genoma ou em determinadas regiões, que por sua vez, podem ser regiões reguladoras de genes de interesse. Atualmente, os avanços nas tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS) possibilitaram a criação de perfis e mapas genômicos de metilação do DNA. Vale ressaltar que os padrões de metilação do DNA não são perdidas após o processo de extração de DNA (GOUIL; KENIRY, 2019).

O método padrão ouro para análise de metilação do DNA na detecção da 5mC é baseado no tratamento do DNA genômico com bissulfito de sódio. A técnica consiste na conversão de resíduos de conversão de resíduos da citosina não metilados em uracila,

através do processo de desaminação e as citosinas metiladas permanecem intactas (GOUIL; KENIRY, 2019). Dessa forma, a metilação do DNA pode ser interpretada por sequenciamento de Sanger, Pirosequenciamento ou Illumina. Entretanto, essa técnica não permite a distinção de outras modificações na citosina, como por exemplo, a 5hm (GOUIL; KENIRY, 2019; LIU; LIAO; LU, 2015). Existem métodos complementares que permitem a identificação das formas oxidadas da citosina, um desses métodos é o sequenciamento de bissulfito oxidativo (OxBS-seq) específico para a detecção da 5hmC (BOOTH et al., 2012).

No caso de baixas quantidades de amostras de DNA, recomenda-se a utilização da tecnologia MethyLight que é uma técnica quantitativa, sensível e dependente do tratamento de bissulfito de sódio (LIU; LIAO; LU, 2015; ZHAN; LUO, 2019). A execução deste método requer iniciadores específicos e sondas fluorescentes específicas para metilação (LIU; LIAO; LU, 2015).

3 | MODIFICAÇÃO DAS HISTONAS

No núcleo, o DNA genômico é envolvido por proteínas histônicas gerando um complexo chamado cromatina. A unidade básica da cromatina é chamada de nucleossomo, sendo formada por octamero de histonas, que constituída pelas histonas H2A, H2B, H3 e H4, em eucariotos (COBOS; BENNETT; TORRENTE, 2019). As modificações pós-transcricionais das histonas vem sendo consideradas os componentes essenciais da regulação da atividade gênica, ao marcar as regiões ativas e inativas da cromatina através dos níveis de compactação do DNA (LENNARTSSON; EK WALL, 2009; WANG et al., 2015).

As histonas são covalentemente modificadas de várias maneiras, incluindo fosforilação, ubiquitinação, acetilação e metilação (LENNARTSSON; EK WALL, 2009). Devido ao impacto na ativação e repressão da expressão gênica, as modificações mais estudadas são a acetilação e metilação, que ocorrem em resíduos de lisina ou arginina conservados nos domínios da cauda-N-terminal de cada proteína (EGGER et al., 2004).

O mecanismo de acetilação das histonas está relacionado com a ativação transcricional. As enzimas responsáveis por esse mecanismo são as histonas acetiltransferases (HATs) e histonas desacetiltransferases (HDACs), que adicionam e retiram grupos acetil (COCH_3) das caudas das histonas (PENNER-GOEKE; BINDER, 2019).

Já para o mecanismo de metilação das histonas, os grupos metil são adicionados pelas metiltransferases de histonas e são retirados pelas metiltransferases, que podem contribuir para a repressão ou ativação da expressão gênica dependendo em qual resíduo de lisina ou arginina a metilação ocorre (PARK; HAN, 2019; VERMEULEN et al., 2010).

Progressos recentes no desenvolvimento de tecnologia tornaram possível a realização de estudos sistemáticos em todo o genoma da influência das modificações de histonas na etiologia de determinadas doenças, como por exemplo, a influência de modificações pós-transcricionais aberrantes de histonas relacionadas à neurodegeneração (COBOS et al., 2019). Estudos recentes também encontraram a relação entre mudanças nos padrões de modificações pós-transcricionais das histonas e sua relação com diversos tipos de cânceres (LI; LI; ZHU, 2019; PARK; HAN, 2019; QIN et al., 2019; ZHAO; SHILATIFARD, 2019).

A técnica amplamente utilizada para avaliar a status de modificação das histonas é a imunoprecipitação da cromatina (ChIP) com algumas variações de acordo com o tipo de estudo (LENNARTSSON; EKWALL, 2009). Neste método, o ensaio de ChIP opera como uma técnica versátil e de alto rendimento usada para sondar interações entre proteínas específicas ou formas modificadas de proteínas e uma região de DNA genômico (LIU; LIAO; LU, 2015). A técnica consiste, de modo geral, na utilização de anticorpos que interagem especificamente em determinados tipos de histonas de interesse (FUREY, 2012; HUEBERT et al., 2006).

Nesta técnica, a ligação marcada entre DNA-histonas é revertida em DNA para verificação em análise de sequenciamento ChIP-Seq (imunoprecipitação da cromatina com tecnologia de sequenciamento de nova geração) ou por hibridação com microarranjos ChIP-chip (imunoprecipitação de cromatina ligada a microarranjos), que são duas técnicas acopladas ao ChIP que são amplamente empregadas. Além disso, são utilizadas para obtenção de uma imagem mais detalhada da distribuição de metilação da histona ao longo dos genes. Ho e colaboradores (2011) destacaram as principais diferenças entre os ensaios e relataram que a técnica de ChIP-seq se demonstra mais vantajosa devido às suas vantagens práticas e análise de dados.

4 | ANÁLISES DE miRNA

O estudo dos RNAs não codificantes tem se demonstrado relevantes na regulação do transcriptoma. Recentemente, muitos estudos buscaram avanços na compreensão da relação entre a parte não codificante do genoma e os mecanismos biológicos subjacentes a doenças (MUÑOZ-CULLA et al., 2016).

Os microRNAs (miRNA) fazem parte do grupo de RNAs não codificadores que contém cerca de 19 a 25 nucleotídeos e conservados entre as espécies. Por meio do emparelhamento de bases com o mRNA, regulam a expressão gênica induzindo a degradação e repressão transcricional do mRNA ou inibição do processo da tradução exercido (BARTEL, 2009). Os miRNAs atuam como reguladores cruciais em várias vias de sinalização biológica, incluindo o desenvolvimento, proliferação celular, diferenciação, resposta imune, angiogênese, apoptose e no ciclo celular (PAN et al., 2019).

Diversos estudos mostraram que a desregulação da expressão de miRNAs tem sido associada à tumorigênese (FABBRI; CALIN, 2010; HUMPHRIES; WANG; YANG, 2019; YANG et al., 2020). Mais especificamente, na relação entre a regulação negativa de genes supressores de tumores e a progressão do câncer (BANDRES et al., 2009). Além disso, novos estudos também buscam entendimento da interação epigenética de miRNA na obtenção de novos tratamentos contra o câncer (MIRANDA FURTADO et al., 2019; SERMER et al., 2019). Como resultado, ressaltando a importância de miRNAs como possível biomarcador para o câncer. Estudos também tem sugerido que outros mecanismos epigenéticos, como a metilação do DNA e a modificação das histonas são as principais causas de desregulação de miRNAs no câncer (HAN et al., 2007; SUZUKI et al., 2013).

A pesquisa por meio do miRNA podem seguir os seguintes passos: primeiramente, ocorre a detecção do miRNA, em seguida é feita a predição dos alvos e por último os alvos são validados. As metodologias de detecção dos miRNAs podem ser estudadas usando

NGS ou RT-PCR. Os alvos de miRNA podem ser obtidos por previsões usando softwares, como por exemplo o TargetScan. É válido ressaltar que existem técnicas de validação de alvo e análises funcionais disponíveis (LIU et al., 2015).

Atualmente, informações sobre o entendimento das funções dos miRNAs circulantes para uma melhor compreensão do seu papel no desenvolvimento e na comunicação do câncer ainda são limitadas. Entretanto, as pesquisas sobre essa relação estão em constante crescimento.

5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A compreensão e o entendimento da relação entre as modificações epigenéticas e distúrbios que dão origem a várias doenças humanas está aumentando. Embora agora tenhamos uma compreensão geral do papel de determinados tipos de mecanismos epigenéticos, como por exemplo, a metilação do DNA e a modificação das histonas, ainda existem lacunas para muitas áreas que são de atual relevância.

Assim, foram descritas aqui as principais metodologias e protocolos que foram desenvolvidos para detectar os mecanismos epigenéticos. Além disso, fornecemos uma visão geral dos recentes avanços dos papéis que a modificação do DNA e das histonas, e a ação de miRNA desempenham na medicina.

REFERÊNCIAS

BANDRES, E. *et al.* **Epigenetic regulation of microRNA expression in colorectal cancer.** *International Journal of Cancer*, v. 125, n. 11, p. 2737–2743, 2009.

BARTEL, D. P. **MicroRNAs: target recognition and regulatory functions.** *Cell*, v. 136, n. 2, p. 215–233, 2009.

BENNETT, R. L.; LICHT, J. D. **Targeting Epigenetics in Cancer.** *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, v. 58, n. 1, p. 187–207, 2018.

BIRD, A. **Perceptions of epigenetics.** *Nature*, v. 447, n. 7143, p. 396, 2007.

BOOTH, M. J. *et al.* **Quantitative sequencing of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine at single-base resolution.** *Science*, v. 336, n. 6083, p. 934–937, 2012.

BORÇOI, A. R. *et al.* **Risk factors for depression in adults: NR3C1 DNA methylation and lifestyle association.** *Journal of Psychiatric Research*, v. 121, p. 24–30, 2020.

COBOS, S. N.; BENNETT, S. A.; TORRENTE, M. P. **The impact of histone post-translational modifications in neurodegenerative diseases.** *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, v. 1865, n. 8, p. 1982–1991, 2019.

DAVID-SWEATT, J. D. **The epigenetic basis of individuality.** *Current Opinion in Behavioral Sciences*, v. 25, p. 51–56, 2019.

DEANS, C.; MAGGERT, K. A. **What do you mean, “epigenetic”?** *Genetics*, v. 199, n. 4, p. 887–896, 2015.

DOMCKE, S. *et al.* **Competition between DNA methylation and transcription factors determines binding of NRF1.** *Nature*, v. 528, n. 7583, p. 575–579, 2015.

DOR, Y.; CEDAR, H. **Principles of DNA methylation and their implications for biology and medicine.** *The Lancet*, v. 392, n. 10149, p. 777–786, 2018

EGGER, G. *et al.* **Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy.** *Nature*, v. 429, n. 6990, p. 457, 2004.

EHRlich, M. *et al.* **Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues or cells.** *Nucleic acids research*, v. 10, n. 8, p. 2709–2721, 1982.

FABBRI, M.; CALIN, G. A. **Epigenetics and miRNAs in Human Cancer.** *In: HERCEG, Zdenko; USHIJIMA, Toshikazu B. T. Advances in Genetics (org.). Epigenetics and Cancer, Part A.* Academic Press, v. 70p. 87–99, 2010.

FEDOTOVA, E. Y.; ILLARIOSHKIN, S. N. **DNA Methylation in Neurodegenerative Diseases.** *Russian Journal of Genetics*, v. 55, n. 3, p. 271–277, 2019.

FENG, L.; LOU, J. **DNA Methylation Analysis.** *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, EUA, v. 1894, p. 181–227, 2019.

FUREY, T. S. **ChIP-seq and beyond: new and improved methodologies to detect and characterize protein–DNA interactions.** *Nature Reviews Genetics*, v. 13, n. 12, p. 840–852, 2012.

GOUIL, Q.; KENIRY, A. **Latest techniques to study DNA methylation.** *Essays in biochemistry*, v. 63, n. 6, p. 639–648, 2019.

HAN, L. *et al.* **DNA methylation regulates microRNA expression.** *Cancer Biology & Therapy*, v. 6, n. 8, p. 1290–1294, 2007.

HIRST, M.; MARRA, M. A. **Epigenetics and human disease.** *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v. 41, n. 1, p. 136–146, 2009.

HO, J. W. K. *et al.* **ChIP-chip versus ChIP-seq: lessons for experimental design and data analysis.** *BMC genomics*, v. 12, p. 134, 2011.

HUEBERT, D. J. *et al.* **Genome-wide analysis of histone modifications by ChIP-on-chip.** *Methods*, v. 40, n. 4, p. 365–369, 2006.

HUMPHRIES, B.; WANG, Z.; YANG, C. **MicroRNA regulation of epigenetic modifiers in breast Cancer.** *Cancers*, v. 11, n. 7, p. 897, 2019.

KLENGEL, T.; BINDER, E. B. **Epigenetics of stress-related psychiatric disorders and gene× environment interactions.** *Neuron*, v. 86, n. 6, p. 1343–1357, 2015.

KOHLI, R. M.; ZHANG, Y. **TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation.** *Nature*, v. 502, n. 7472, p. 472–479, 2013.

- KURDYUKOV, S.; BULLOCK, M. **DNA methylation analysis: choosing the right method.** *Biology*, v. 5, n. 1, p. 3, 2016.
- LENNARTSSON, A.; EKWALL, K. **Histone modification patterns and epigenetic codes.** *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, v. 1790, n. 9, p. 863–868, 2009.
- LI, E.; ZHANG, Y. **DNA methylation in mammals.** *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, v. 6, n. 5, p. a019133, 2014.
- LI, Y.; LI, Z.; ZHU, W. **Molecular mechanisms of epigenetic regulators as activatable targets in cancer theranostics.** *Current medicinal chemistry*, v. 26, n. 8, p. 1328–1350, 2019.
- LIU, Y.; LIAO, J.; LU, Q. **Chapter 2. Laboratory Methods in Epigenetics.** *Epigenetics and Dermatology*, p. 7–35, 2015.
- LOCKE, W. J. *et al.* **DNA Methylation Cancer Biomarkers: Translation to the Clinic.** *Frontiers in genetics*, v. 10, p. 1150, 2019.
- MASUI, K. *et al.* **Codependency of Metabolism and Epigenetics Drives Cancer Progression: A Review.** *ACTA HISTOCHEMICA ET CYTOCHEMICA*, v. 53, n. 1, p. 1–10, 2020.
- MIRANDA FURTADO, C. L. *et al.* **Epidrugs: targeting epigenetic marks in cancer treatment.** *Epigenetics*, v. 14, n. 12, p. 1164–1176, 2019. DOI: 10.1080/15592294.2019.1640546.
- MUÑOZ-CULLA, M. *et al.* **SncRNA (microRNA & snoRNA) opposite expression pattern found in multiple sclerosis relapse and remission is sex dependent.** *Scientific Reports*, v. 6, n. 1, p. 20126, 2016.
- O'DONNELL, K. J.; MEANEY, M. J. **Epigenetics, Development, and Psychopathology.** *Annual Review of Clinical Psychology*, v. 16, n. 1, p. 327–350, 2020.
- PAN, L. *et al.* **Genome-Wide miRNA Analysis Identifies Potential Biomarkers in Distinguishing Tuberculous and Viral Meningitis.** *Frontiers in cellular and infection microbiology*, v. 9, p. 323, 2019.
- PARK, J. W.; HAN, J. **Targeting epigenetics for cancer therapy.** *Archives of Pharmacal Research*, v. 42, n. 2, p. 159–170, 2019.
- QIN, J. *et al.* **Histone Modifications and their Role in Colorectal Cancer (Review).** *Pathology & Oncology Research*, 2019.
- RUSSO, V. E. A.; MARTIENSSEN, R. A.; RIGGS, A. D. **Epigenetic mechanisms of gene regulation.** Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996.
- RYAN, J. *et al.* **Systematic Review and Meta-analysis of Environmental, Lifestyle, and Health Factors Associated With DNA Methylation Age.** *The Journals of Gerontology: Series A*, v. 75, n. 3, p. 481–494, 2019.
- SERMER, D. *et al.* **Emerging epigenetic-modulating therapies in lymphoma.** *Nature reviews. Clinical oncology*, v. 16, n. 8, p. 494–507, 2019.
- SKVORTSOVA, K.; STIRZAKER, C.; TABERLAY, P. **The DNA methylation landscape in cancer.** *Essays in biochemistry*, v. 63, n. 6, p. 797–811, 2019.

SUZUKI, H. *et al.* **Epigenetic alteration and microRNA dysregulation in cancer.** *Frontiers in Genetics*, 2013.

TRONICK, E.; HUNTER, R. G. **Waddington, dynamic systems, and epigenetics.** *Frontiers in behavioral neuroscience*, v. 10, p. 107, 2016.

UNNIKRISHNAN, A. *et al.* **The role of DNA methylation in epigenetics of aging.** *Pharmacology & Therapeutics*, v. 195, p. 172–185, 2019.

VERMEULEN, M. *et al.* **Quantitative interaction proteomics and genome-wide profiling of epigenetic histone marks and their readers.** *Cell*, v. 142, n. 6, p. 967–980, 2010.

VIALOU, V. *et al.* **Epigenetic mechanisms of depression and antidepressant action.** *Annual review of pharmacology and toxicology*, v. 53, p. 59–87, 2013.

WADDINGTON, C. H. **Preliminary notes on the development of the wings in normal and mutant strains of *Drosophila*.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 25, n. 7, p. 299, 1939.

WANG, Y. *et al.* **Analytical strategies used to identify the readers of histone modifications: A review.** *Analytica Chimica Acta*, v. 891, p. 32–42, 2015.

YANG, X. *et al.* **Epigenetic modulations of noncoding RNA: a novel dimension of Cancer biology.** *Molecular Cancer*, v. 19, n. 1, p. 64, 2020.

ZHAN, Y.; LUO, G. **DNA methylation detection methods used in colorectal cancer.** *World journal of clinical cases*, v. 7, n. 19, p. 2916–2929, 2019.

ZHAO, Z.; SHILATIFARD, A. **Epigenetic modifications of histones in cancer.** *Genome Biology*, v. 20, n. 1, p. 245, 2019. DOI: 10.1186/s13059-019-1870-5.

AVANÇOS METODOLÓGICOS EM BIOLOGIA MOLECULAR E BIOTECNOLOGIA

 www.arenaeditora.com.br

 contato@arenaeditora.com.br

 [@arenaeditora](https://www.instagram.com/arenaeditora)

 www.facebook.com/arenaeditora.com.br

AVANÇOS METODOLÓGICOS EM BIOLOGIA MOLECULAR E BIOTECNOLOGIA



www.arenaeditora.com.br



contato@arenaeditora.com.br



[@arenaeditora](https://www.instagram.com/arenaeditora)



www.facebook.com/arenaeditora.com.br