

## Banco de dados de atividade genética pode reduzir o uso de animais de pesquisa

- 28 de junho de 2019

Um amplo banco de dados de atividade genética em camundongos em dez modelos de doenças, que poderia reduzir significativamente o uso de animais em todo o mundo, foi desenvolvido por cientistas do Francis Crick Institute. Dá uma imagem completa da resposta imune a diferentes patógenos.

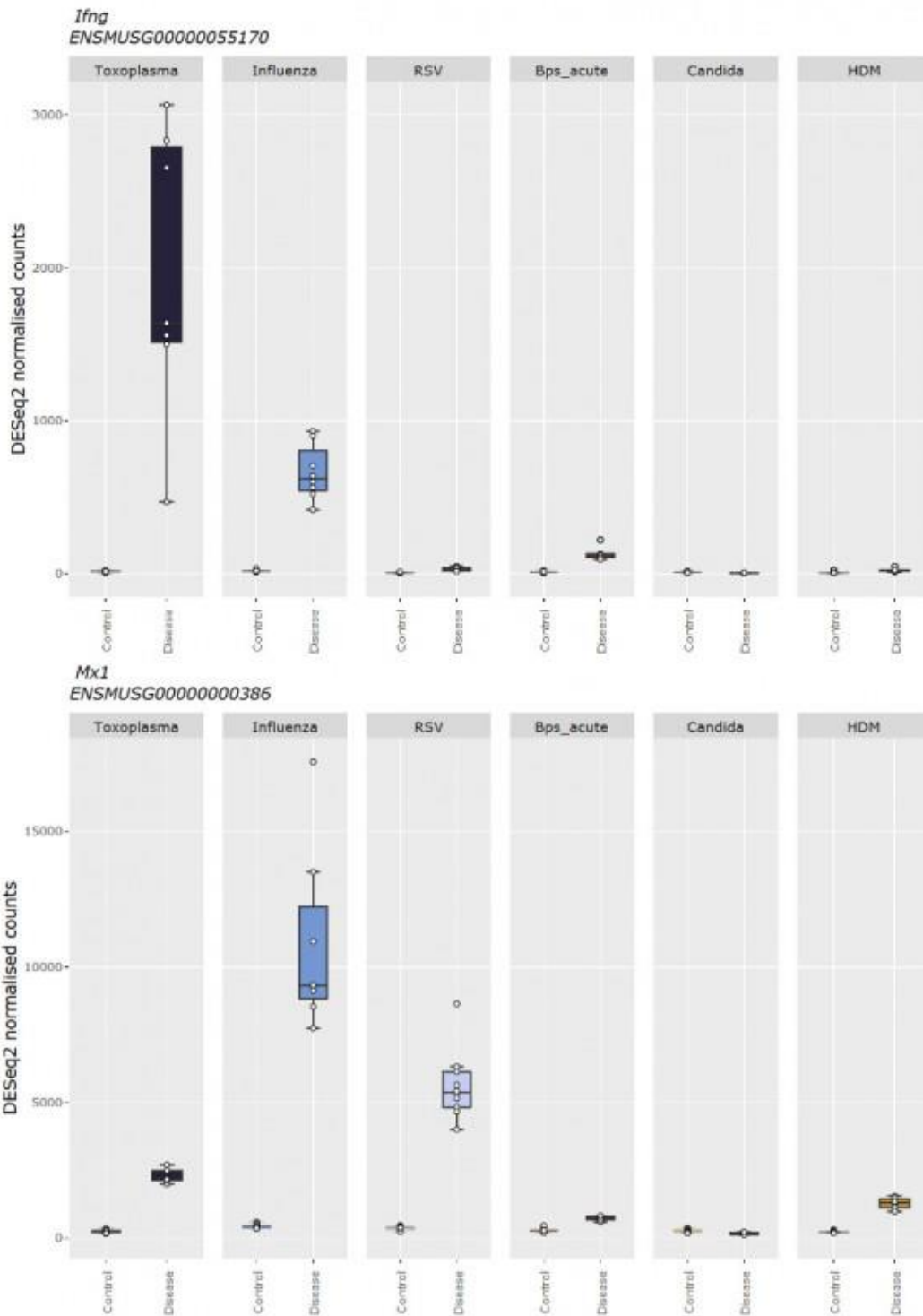
Os dados, [publicados na Nature Communications \(https://www.nature.com/articles/s41467-019-1\\_0601-6\)](https://www.nature.com/articles/s41467-019-1_0601-6) e [disponíveis através de um aplicativo on-line \(https://ogarra.shinyapps.io/MouseModules/\)](https://ogarra.shinyapps.io/MouseModules/), [mostram](#) a atividade de cada gene do rato - mais de 45.000 genes - no sangue de camundongos com dez doenças diferentes. Para as seis doenças que envolvem o pulmão, amostras do pulmão também foram examinadas.

Anteriormente, os pesquisadores teriam que criar, infectar, abater, obter amostras de camundongos e extrair e sequenciar o RNA para estudar os genes em que estão interessados. Usando um novo aplicativo que o laboratório criou para este estudo, os pesquisadores serão capazes de verificar a atividade de qualquer gene através de uma variedade de doenças sem a necessidade de seus próprios camundongos. Isso pode impedir que milhares de camundongos sejam usados em experimentos individuais.

A equipe de pesquisa, liderada pela líder do grupo Crick, [Anne O'Garra \(/research/ nd-a-researcher/anne-oga\\_rra\)](#) e coordenada por [Christine Graham \(/research/ nd-a-researcher/christine-gr\\_aham\)](#), trabalhou com muitos colaboradores da Crick, Reino Unido e EUA. Eles usaram a tecnologia de sequenciamento de última geração, 'RNA-seq', para medir a atividade genética em diferentes doenças. Como os genes precisam transcrever seu DNA em RNA para funcionar, a análise do RNA revela o quão ativo cada gene é - neste caso, após a infecção ou o desafio alérgico.

"A atividade genética pode nos mostrar como o corpo responde a infecções e alérgenos", explica Anne. "Existem milhares de genes envolvidos em qualquer resposta imune, por isso [Akul Singhania \(/research/ nd-a-researcher/akul-singh\\_\\_ania\)](#), um pós-doutorado em bioinformática, utilizou abordagens avançadas de bioinformática para agrupar os genes em módulos. Esses módulos representam conjuntos de genes que são co-regulados e podem ser anotados com frequência." para determinar sua função e funções fisiológicas conhecidas. Por exemplo, de 38 módulos pulmonares há um módulo associado à alergia, e visto apenas no modelo de alergia, contendo mais de 100 genes e outro módulo associado a células T contendo mais de 200 genes".

"Ao sequenciar o tecido pulmonar e o sangue, também podemos ver como a resposta imune no sangue reflete a resposta local no pulmão, e vice-versa. Isso nos ajudará a entender o que podemos aprender com as assinaturas genéticas no sangue, já que para a maioria das doenças, os médicos não conseguem obter, de forma realista, amostras de pulmão de pacientes".



Plot da expressão gênica em seis modelos de doença, para dois genes: *Ifng*, associado à sinalização do interferon tipo II, e *Mx1*, associado à técnica de autonômicos tipo I.

## Uma panóplia de patógeno

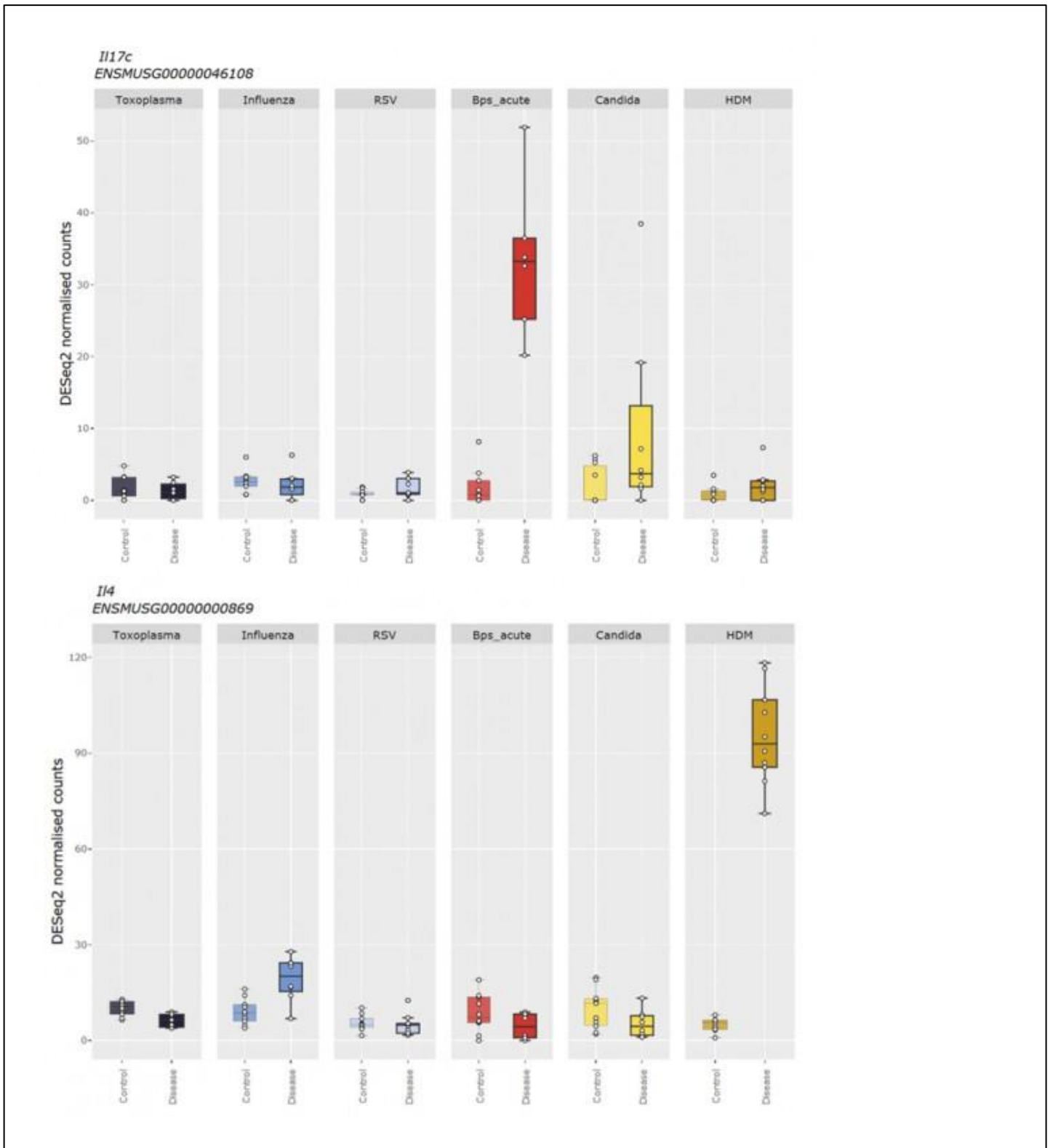


Gráfico de expressão gênica em seis modelos de doença, para dois genes: *Il17c*, associado a células T auxiliares; e *Il4*, associada a respostas alérgicas.

Usando o novo aplicativo, pesquisadores em qualquer lugar do mundo podem pesquisar a atividade dos genes nos pulmões e no sangue de camundongos infectados com uma variedade de patógenos: o parasita *Toxoplasma gondii*, o vírus influenza e o vírus respiratório sincicial (RSV), a bactéria *Burkholderia pseudomallei*, fungo *Candida albicans*, ou o alérgeno, ácaro da poeira doméstica. Eles também podem ver a atividade do gene no sangue de camundongos com listeria, citomegalovírus murino, o parasita da malária *Plasmodium chabaudi chabaudi*, ou uma infecção crônica por *Burkholderia pseudomallei*.

No estudo, a equipe de pesquisa analisou as assinaturas genéticas associadas a essas doenças para ajudar a entender a resposta imunológica. Eles descobriram uma ampla gama de respostas imunes no pulmão, onde os módulos discretos foram dominados por genes associados com interferons Tipo I ou Tipo II, IL-17 ou respostas do tipo alergia. Sabe-se que os interferons tipo I são liberados em resposta a vírus, enquanto o interferon tipo II (IFN- $\gamma$ ) ativa fagócitos para matar patógenos intracelulares, e a IL-17 atrai neutrófilos, causando respostas imunes inflamatórias precoces. Curiosamente, as assinaturas do gene interferon estavam presentes nos módulos sanguíneos de forma semelhante ao pulmão, mas as respostas de IL-17 e alergia não estavam presentes.

Surpreendentemente, os genes associados ao interferon tipo I foram altamente ativos tanto nos pulmões como no sangue de camundongos infectados com o parasita *Toxoplasma gondii* e também foram observados em resposta à bactéria *Burkholderia pseudomallei*, embora em menor grau. Isso desafia a visão de que os genes associados ao interferon tipo I são necessariamente indicativos de infecções virais, como o laboratório havia mostrado anteriormente na tuberculose.

"Descobrimos que camundongos sem o funcionamento de interferon foram menos capazes de combater a infecção por *Toxoplasma*. Isso foi verdadeiro tanto para o Tipo I quanto para o Tipo II, que têm uma relação complexa entre si. Descobrimos que ambos desempenham um papel importante na proteção contra o parasita, em parte, controlando os neutrófilos no sangue, o que, em grande número, pode causar danos ao hospedeiro".

## **De obsolescência a oportunidade**

O projeto de pesquisa começou em 2009, usando uma técnica conhecida como microarray para detectar a atividade genética em amostras de pulmão e sangue e estava quase completa e pronta para ser analisada até 2015. Microarray era então uma técnica bem estabelecida, mas os reagents necessários foram repentinamente descontinuados pelo fabricante antes de as amostras finais terem sido processadas. Sem o equipamento para concluir o seqüenciamento, o projeto estava com problemas.

Com essa tecnologia de microarray não mais possível, a equipe precisava de uma abordagem diferente. Naquela época, uma técnica chamada RNA-Seq havia chegado ao mercado, oferecendo uma maneira melhor de quantificar a atividade genética.

Após negociações entre Anne e o fabricante, a sua equipe recebeu gratuitamente reagentes de RNA-Seq de ponta, para reprocessar as amostras a partir do final de 2016. Eles também forneceram espaço de armazenamento para as enormes quantidades de dados gerados.

Como as amostras de tecido e sangue dos experimentos de microarray foram todas congeladas, Christine Graham, do laboratório de Anne, conseguiu voltar às mesmas amostras e processá-las heroicamente novamente, desta vez para o sequenciamento de RNA. Graças ao excelente armazenamento das amostras, isso foi possível sem o uso de animais adicionais. Embora demorada e uma tarefa enorme para Christine, em 2018 a equipe tinha todos os dados de sequenciamento de que precisava.

Com uma enorme quantidade de dados para processar, Akul Singhania começou a entender tudo. Usando técnicas avançadas de bioinformática, ele agrupou os milhares de genes e milhões de pontos de dados em uma forma visual e significativa à qual nos referimos como módulos, e criou o aplicativo para tornar os dados acessíveis a qualquer pessoa.

"Dez anos após o início do projeto, agora temos um recurso de acesso aberto de expressão gênica que qualquer pessoa no mundo pode usar para procurar seus genes favoritos e também ver se eles são regulados por sinalização de interferon tipo I ou tipo II", diz Anne.. "Ninguém disse que a ciência era fácil, mas certamente vale a pena."

[https://www.crick.ac.uk/news/2019-06-28\\_gene-activity-database-could-reduce-research-animal-use](https://www.crick.ac.uk/news/2019-06-28_gene-activity-database-could-reduce-research-animal-use)