

1. Objetivo: caracterizar a mudança da expressão gênica no cérebro sob efeito de estresse.
Objetivos específicos:
 - a) submeter camundongos a tratamento de estresse por cinco dias, aprisionando-os por duas horas todos os dias dentro de tubos falcon de 50 mL.
 - b) isolar o hipocampo desses animais e de animais controle e isolar mRNA
 - c) gerar bibliotecas de cDNA e produzir 10 mil ESTs de cada biblioteca (apenas as EST 5')
 - d) verificar os grupos de ESTs que são do mesmo gene por meio de uma BLAST de todas contra todas; usar o software Cap3 para gerar seq. consenso de cada grupo (denominados contigs) e salvar tb as ESTs únicas (singlets)
 - e) anotar os contigs e os singlets com o software BLAST pesquisando homologia em bancos de dados
 - f) selecionar genes que foram anotados e os quais tenham frequência diferente (diferente número de ESTs) nas duas bibliotecas (estresse e controle)
 - g) validar a expressão diferencial desses genes com experimentos

- Definir EST 5' e EST 3'; haverá EST que não é homóloga a nenhum gene conhecido?; é necessário conhecer previamente o genoma do organismo em estudo?; identificar pontos fracos do projeto; comparar com os grupos 2 e 3.
2. Objetivo: o mesmo do grupo 1
Objetivos específicos:
 - a) idem grupo 1
 - b) idem grupo 1
 - c) comprar um chip de oligonucleotídeos contendo 5 mil genes de camundongo
 - d) realizar experimento de microarranjo comparando as duas preparações de mRNA (controle e estresse)
 - e) validar a expressão diferencial desses genes com experimentos

- Definir chip de oligonucleotídeos; comparar com microarranjo de clones de cDNA aplicados à placa; é necessário conhecer o genoma do organismo em estudo?; identificar pontos fracos do projeto; comparar com o grupo 1.
3. Objetivo: o mesmo do grupo 1
Objetivos específicos:
 - a) idem grupo 1
 - b) idem grupo 2
 - c) desenhar iniciadores específicos para genes induzidos por exposição de ratos a odor de gato (dados já publicados)
 - d) comparar a expressão desses genes nas duas amostras (controle e estresse) por RT-PCR

- Indicar os reagentes necessários para o RT-PCR; identificar pontos fracos do projeto; comparar com os grupos 1 e 2.
4. Objetivo: mesmo que o grupo 1
Objetivos específicos:
 - a) idem grupo 1
 - b) isolar o hipocampo desses animais e purificar proteínas nucleares
 - c) comparar o perfil de géis bidimensionais das duas amostras (controle e estresse)
 - d) seqüenciar por espectrometria de massa os "spots" diferentes
 - e) comparar com o PM exato de produtos protéicos do genoma do camundongo para identificar as proteínas diferencialmente expressas
 - f) validar o resultado através de uma outra técnica

- Explicar como funciona a espectrometria de massa; é necessário conhecer o genoma do organismo em estudo?; identificar pontos fracos do projeto; comparar com o grupo 2.

5. Objetivo: descobrir genes envolvidos na resistência de soja ao fungo que produz a ferrugem
Objetivos específicos:
a) isolar fungo de cultivares infectados
b) submeter cultivares de soja a infecção com fungo em casa de vegetação
c) extrair o RNA de folhas após 48 horas de infecção e de folhas controle e purificar mRNA
d) idem grupo 1
e) idem grupo 1
f) idem grupo 1
g) idem grupo 1
- Como fazer uso da informação de que organismos diferentes apresentam diferentes taxas de codificação de aminoácidos multicodônicos como arginina, serina e lisina (hexacodônicos) neste projeto?; é necessário conhecer o genoma do organismo em estudo?; identificar pontos fracos do projeto; comparar com o grupo 1.
6. Objetivo: o mesmo do grupo 5
Objetivos específicos:
a) idem grupo 5
b) idem grupo 5
c) idem grupo 5
d) idem grupo 1 utilizando as 371.817 ESTs presentes no banco de dados dbEST
e) imprimir uma lâmina de microarranjo com os clones que produzem as ESTs singlets e com um representante de cada contig.
f) idem grupo 2 objetivo "d"
g) idem grupo 2 objetivo "e"
- definir contig e explicar a vantagem de determiná-los neste projeto; é necessário conhecer o genoma do organismo em estudo?; identificar pontos fracos do projeto; comparar com o grupo 2.
7. Objetivo: o mesmo do grupo 5
Objetivos específicos:
a) idem grupo 5
b) idem grupo 5
c) comparar o perfil de géis bidimensionais das duas amostras (infectado e controle)
d) sequenciar o N-terminal dos "spots" diferentes por microsequenciamento
e) identificar por similaridade com bancos de dados o possível gene, incluindo na pesquisa seqüências do projeto genoma em progresso (total de 741.194 seqüências), utilizando para este fim o programa tBLASTn
f) validar a expressão diferencial utilizando mRNA cedido pelo grupo 5
- Explicar como funciona o gel bi-dimensional; Por quê é melhor seqüenciar o N terminal do "spot" diferencial ao invés de determinar o PM exato da proteína?; comparar com o grupo 4.
8. Objetivo: o mesmo do grupo 5
Objetivos específicos:
a) idem grupo 5
b) idem grupo 5
c) idem grupo 5
d) produzir cDNA de ambas amostras (controle e tratado) e cortar com enzima de restrição de 4 bases (corta em fragmentos pequenos)
e) ligar adaptadores contendo sítio de Xho I em ambos cDNA, mas digerir apenas o cDNA tratado com Xho I (tester) preparando-o para clonagem
f) Misturar o cDNA preparado para clonagem (tester) com 10x excesso do não preparado, ferver, resfriar lentamente, clonar em vetor digerido com Xho I
g) Sequenciar o inserto dos clones obtidos
- Explicar como o procedimento identifica clones expressos somente na amostra tester; comparar com o grupo 6.