



UFRJ

UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO DE JANEIRO



Explorando funcionalmente proteínas ligadoras de RNA: de mecanismos fundamentais à doenças genéticas por uma abordagem de multi-ômicas.

Alison Henrique Ferreira Julio

31.01.2025

editais 054 / vaga RP-001 - Biologia celular e do desenvolvimento: Bioinformática

Como explicar os diferentes níveis de complexidade nos seres vivos?



Image credit: Shutterstock

D. melanogaster

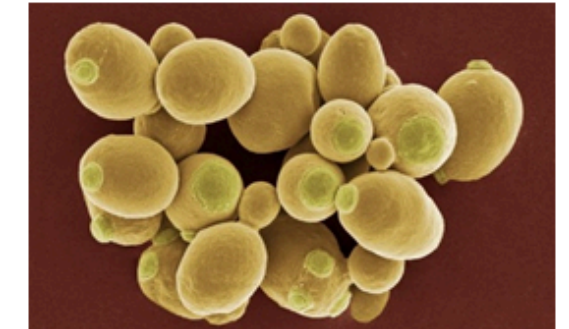
~14.000



pxfuel.com

Sus scrofa

~21.000



Getty Images

S. cerevisiae

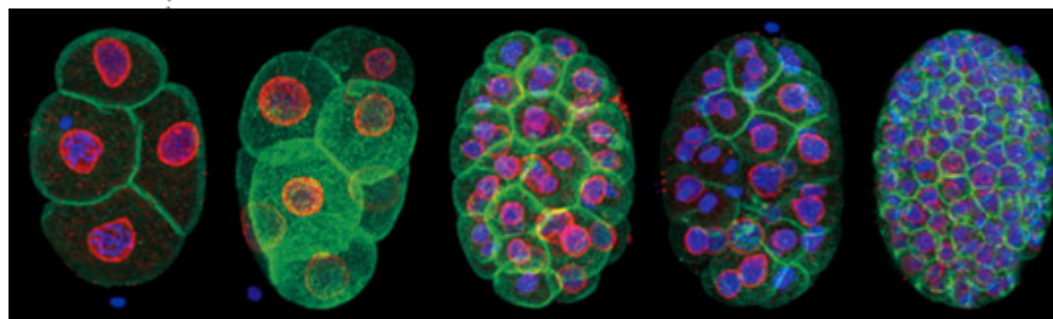
~6.000



web.science.uu.nl

C. elegans

~19.000



A. Ramirez



Human Teresa

~20.000

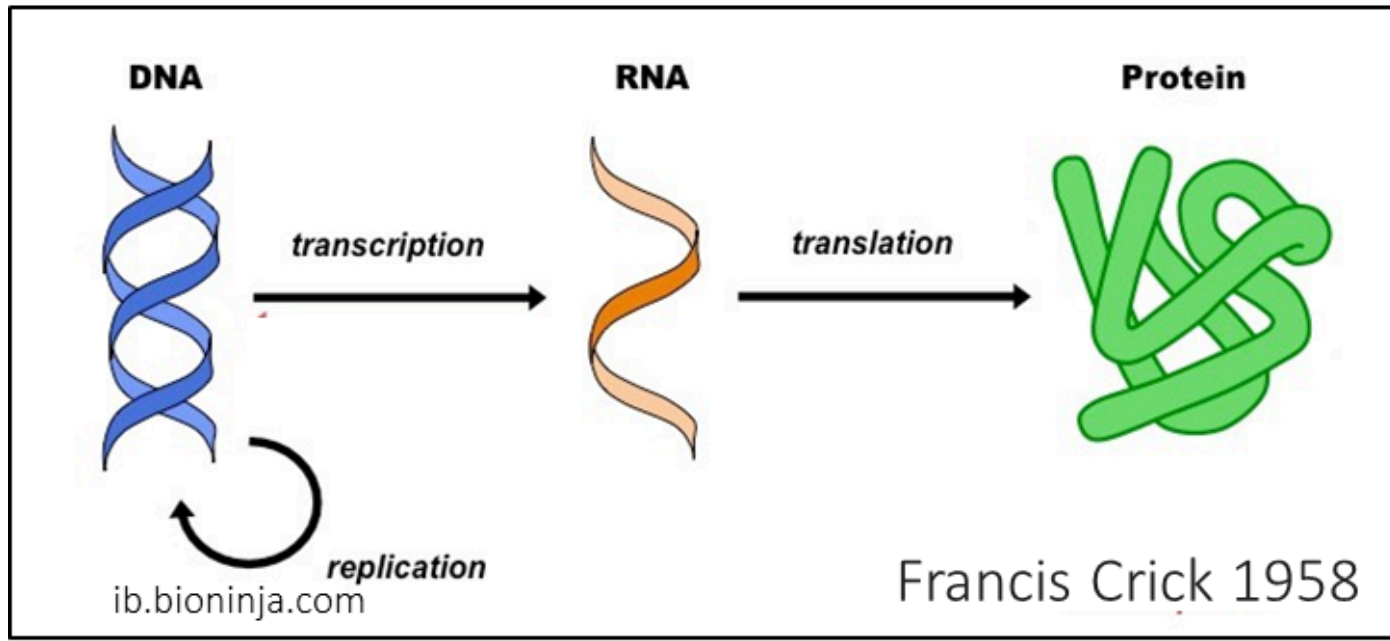


devbio.biology.gatech.edu

A. thaliana

~20.000

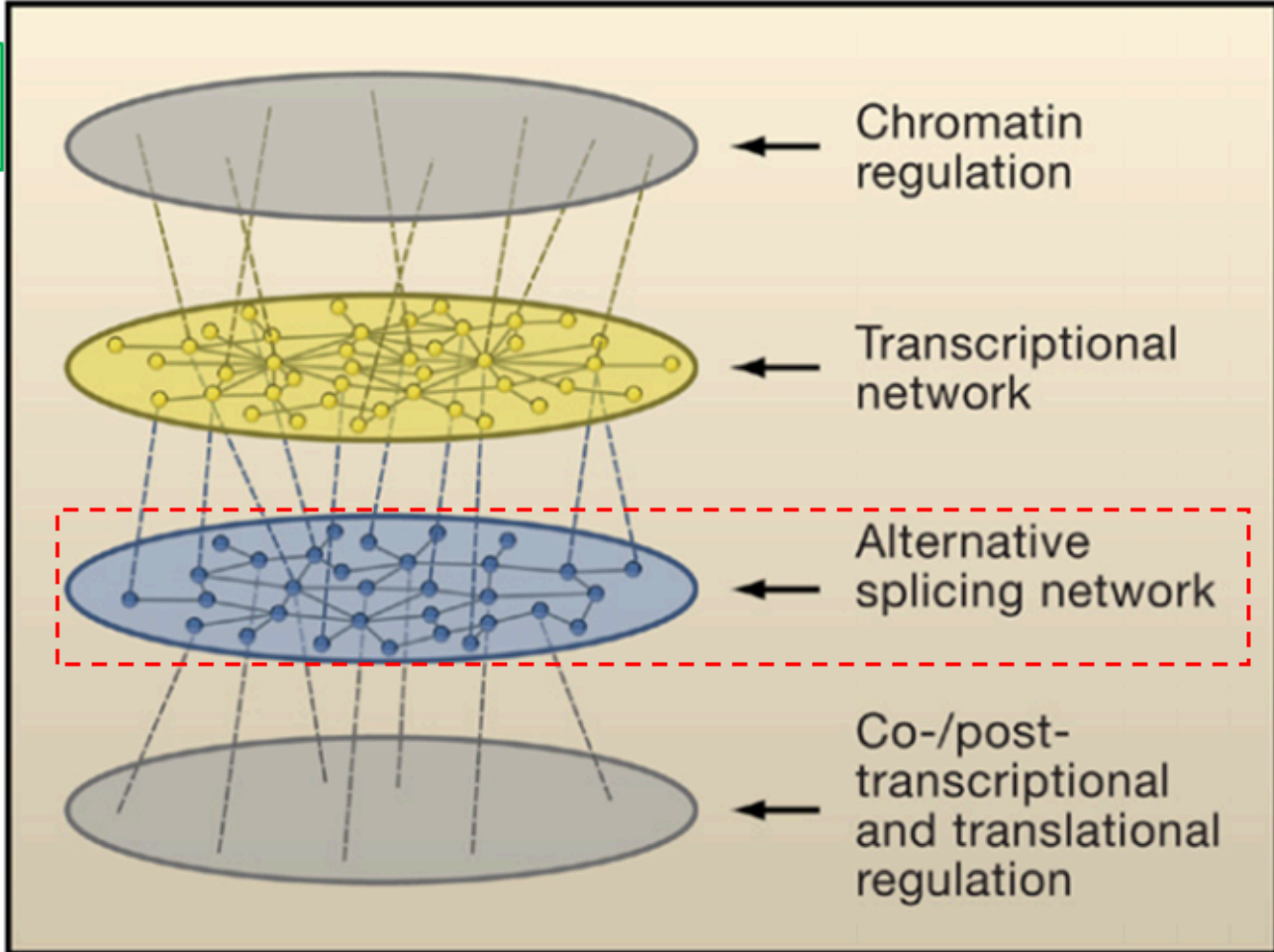
Como evoluíram os tipos de células especializadas e suas atividades tipicamente associadas com metazoários complexos?



Qual a importancia?

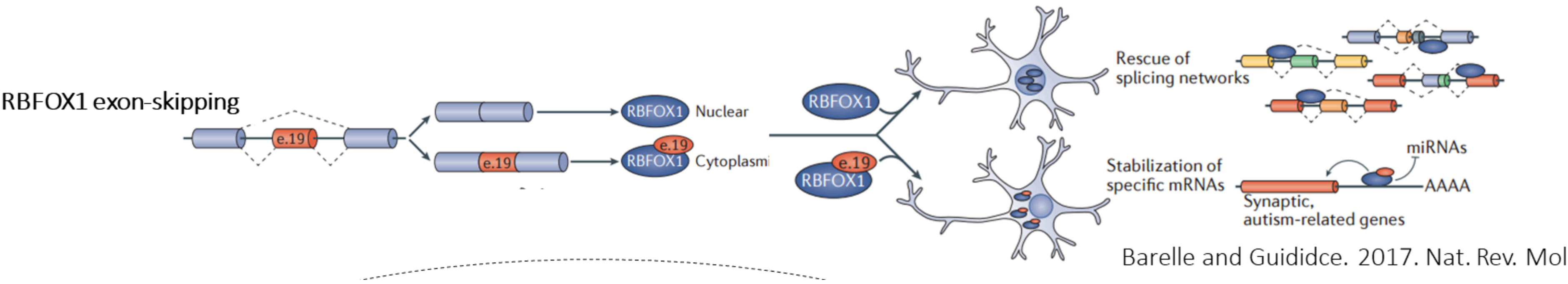
Qual mecanismo?

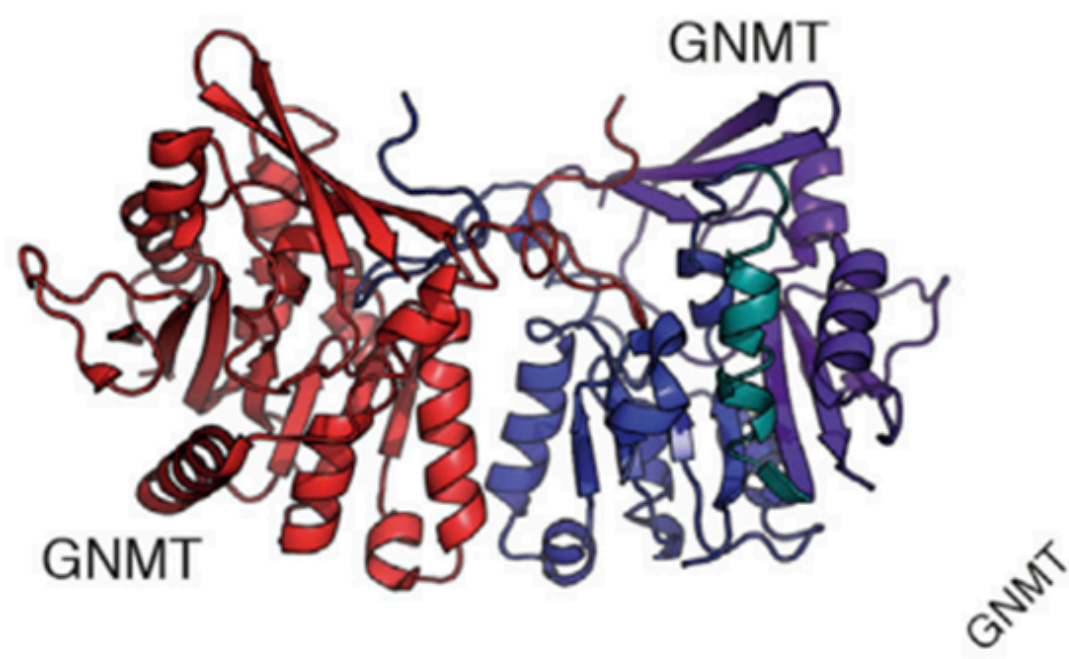
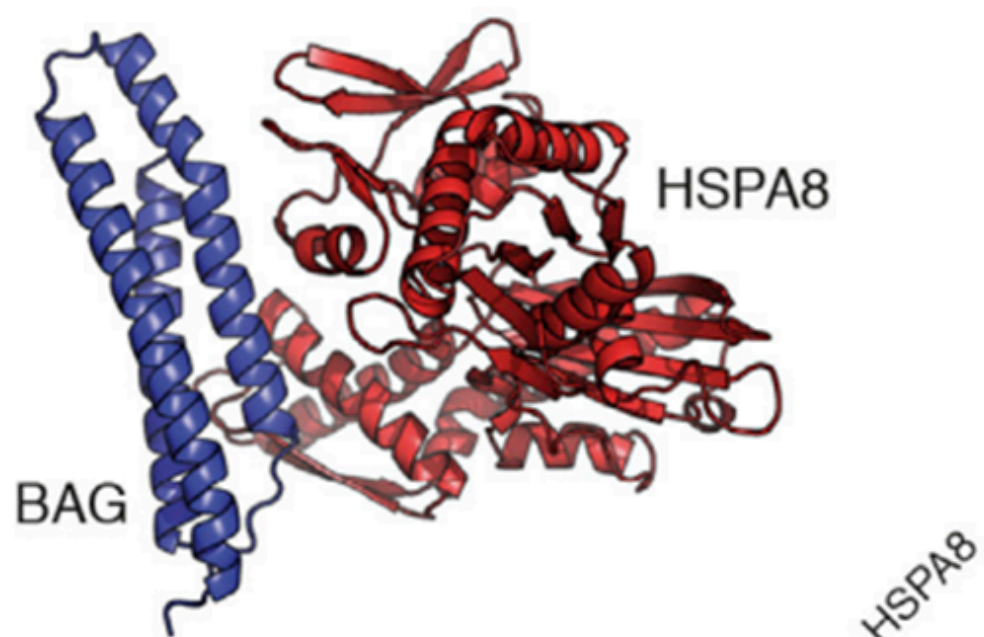
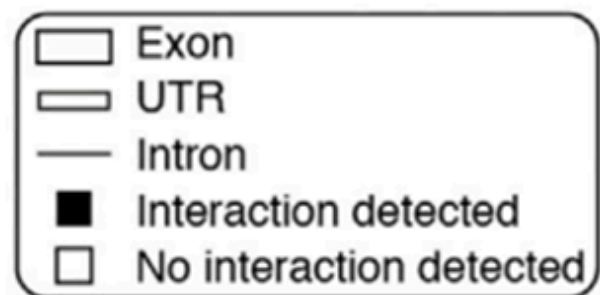
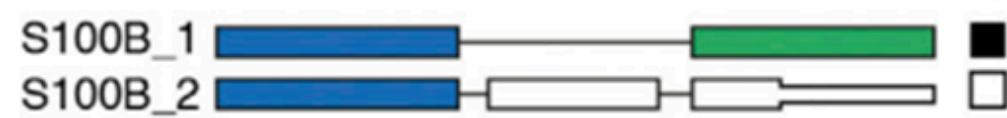
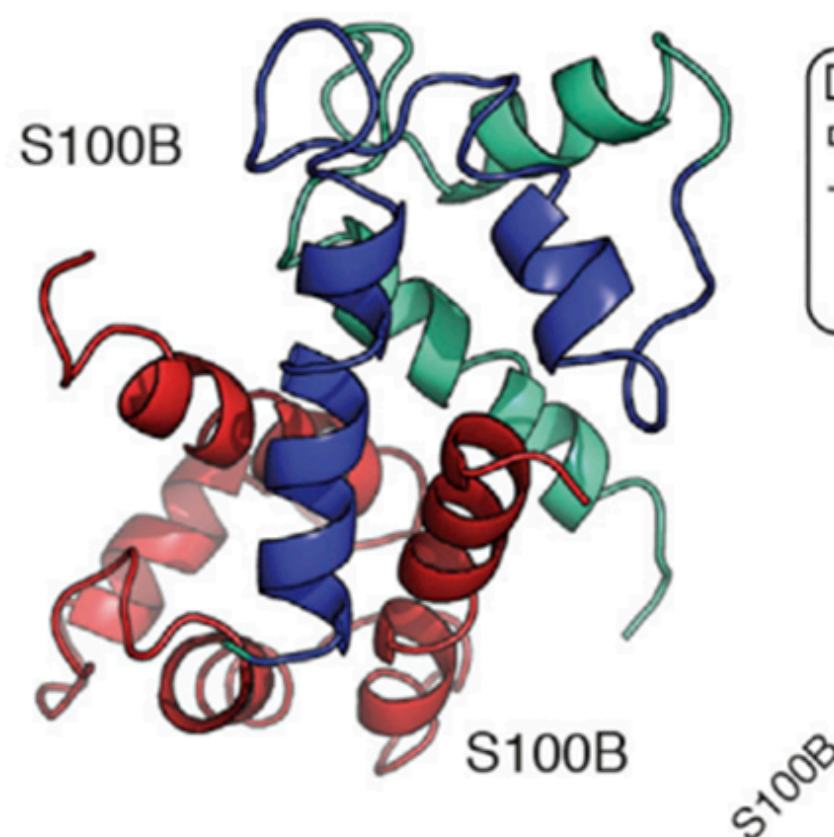
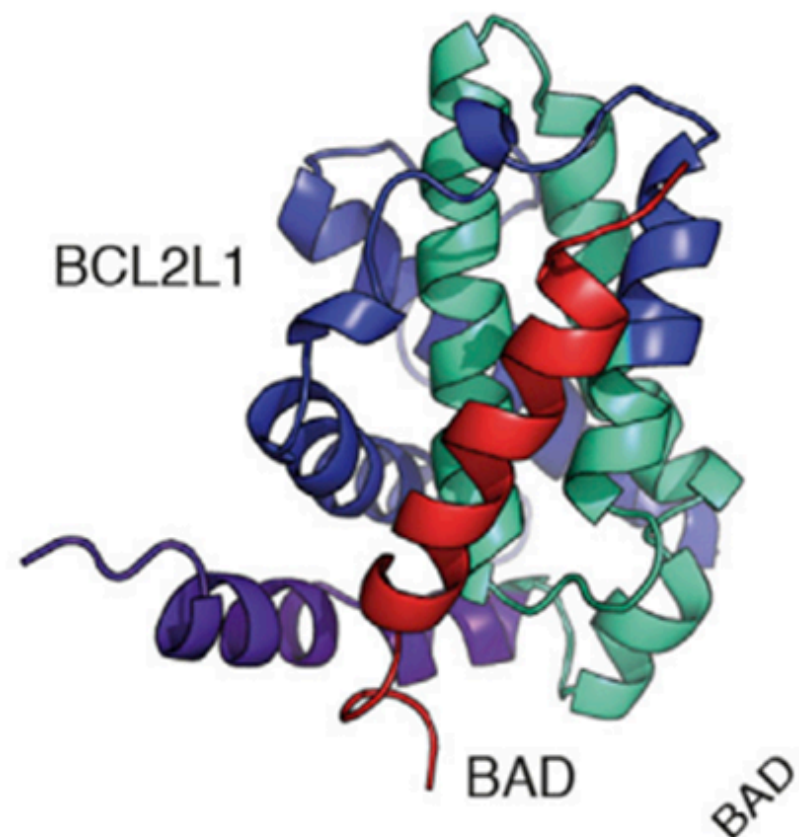
Como evoluiu?



Blencowe. 2006. Cell

cDNA, ESTs, Microarray, RNAseq, scRNAseq

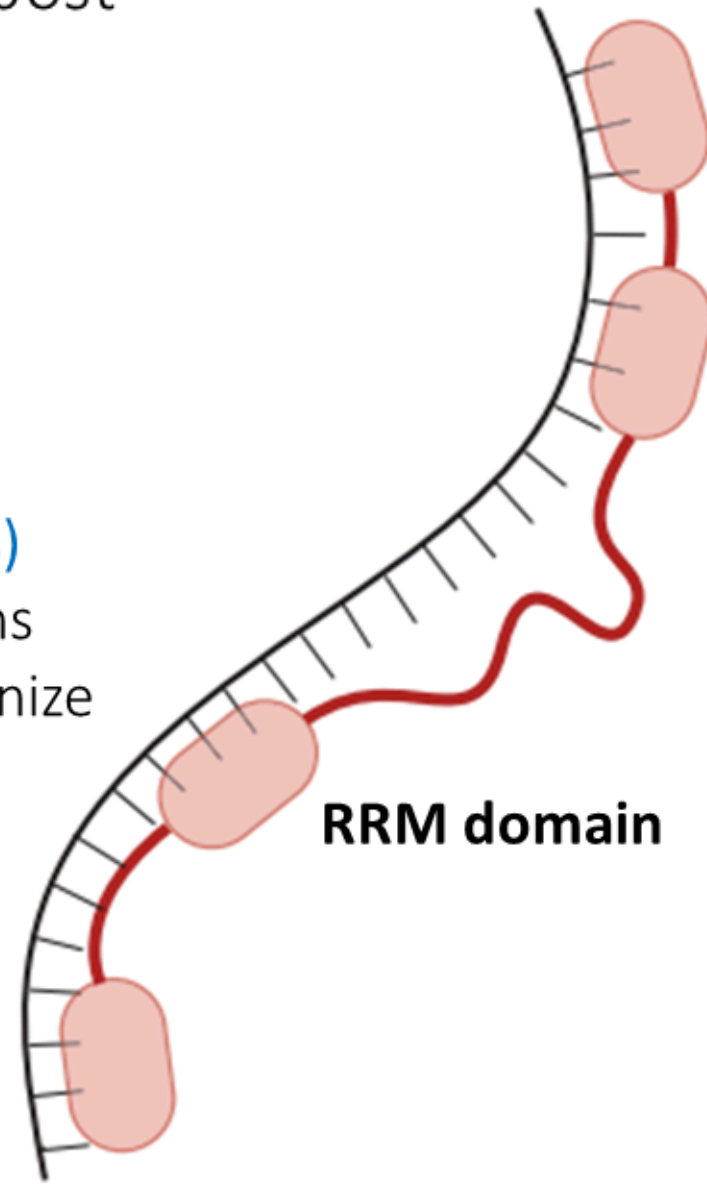


E

RNA-binding proteins (RBPs)

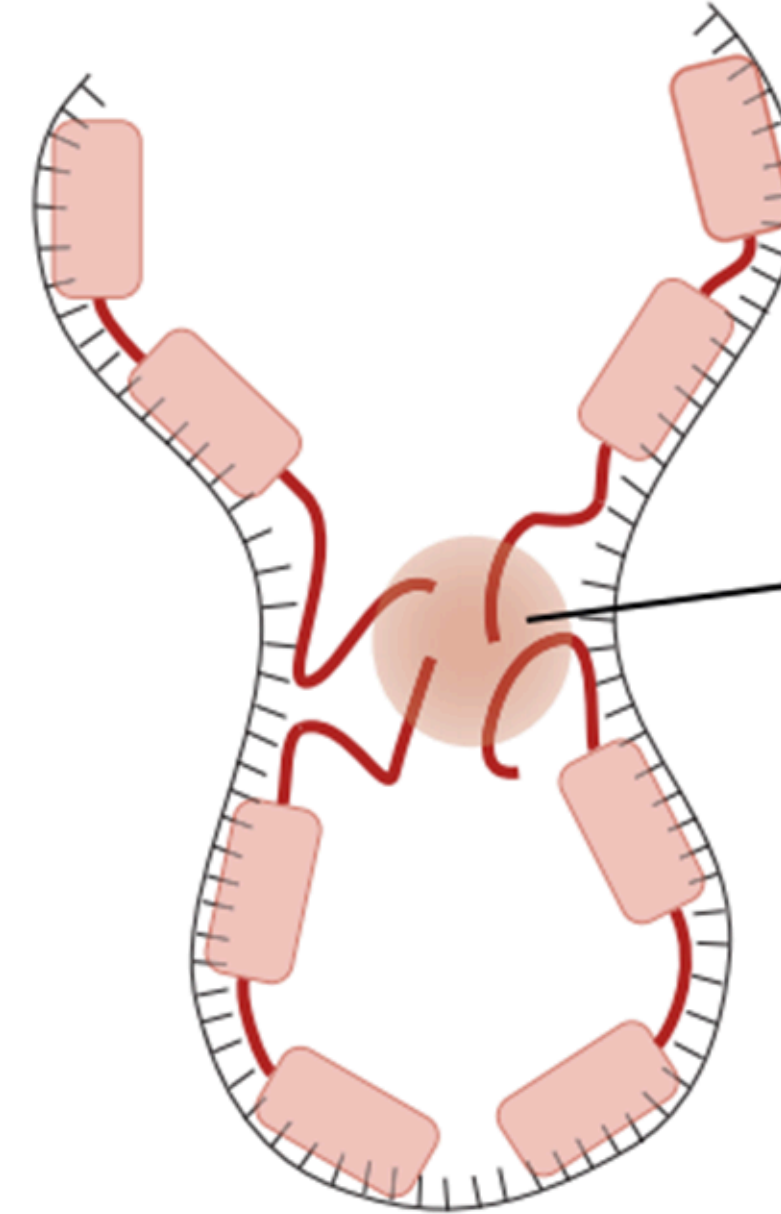
Proteins that bind to RNA molecules through RNA-recognition motifs and exert nuclear and cytoplasmic post-transcriptional functions

Intrinsically disordered regions (IDRs) enable multiple RNA-binding domains with similar RNA specificity to recognize multivalent RNA motifs



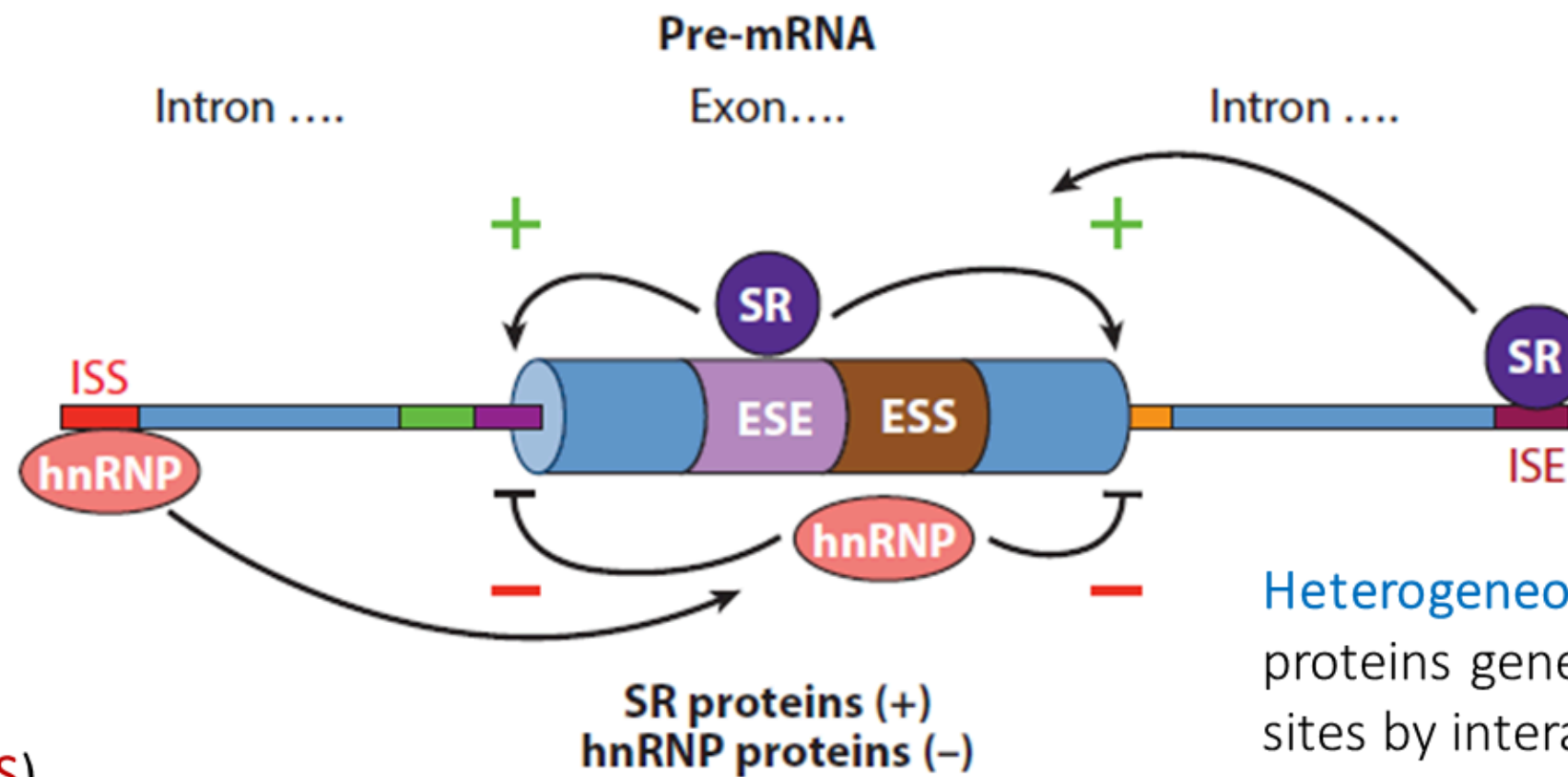
Domains with similar sequence specificity are connected by IDRs within a multi-domain RBP, such as **PTBP1**

Multiple copies of the same or different types of RBPs are brought together by multivalent interactions formed by the IDR, which can promote **RNP condensation**



Positive and negative control of precursor messenger RNA (pre-mRNA) splicing by cis-acting intronic and exonic silencers and enhancers

Serine–arginine repeat (SR) proteins generally act to promote splicing from nearby splice sites by interacting with splicing enhancers

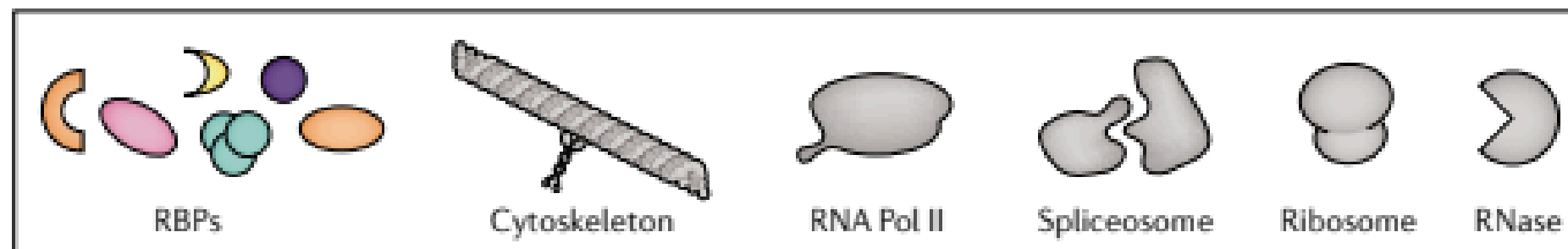
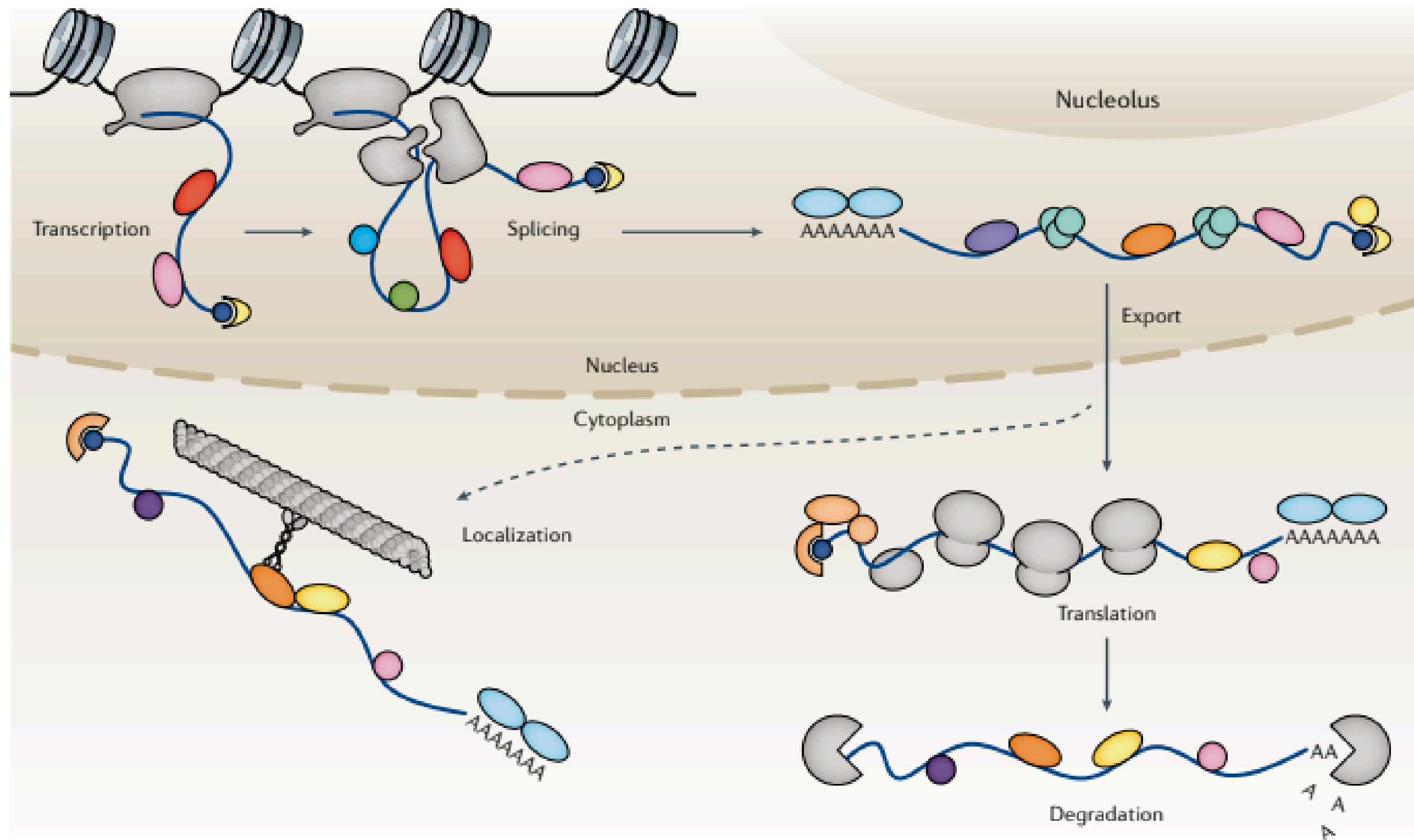


Intronic Splicing Enhancers (ISE)
Exonic Splicing Enhancers (ESE)

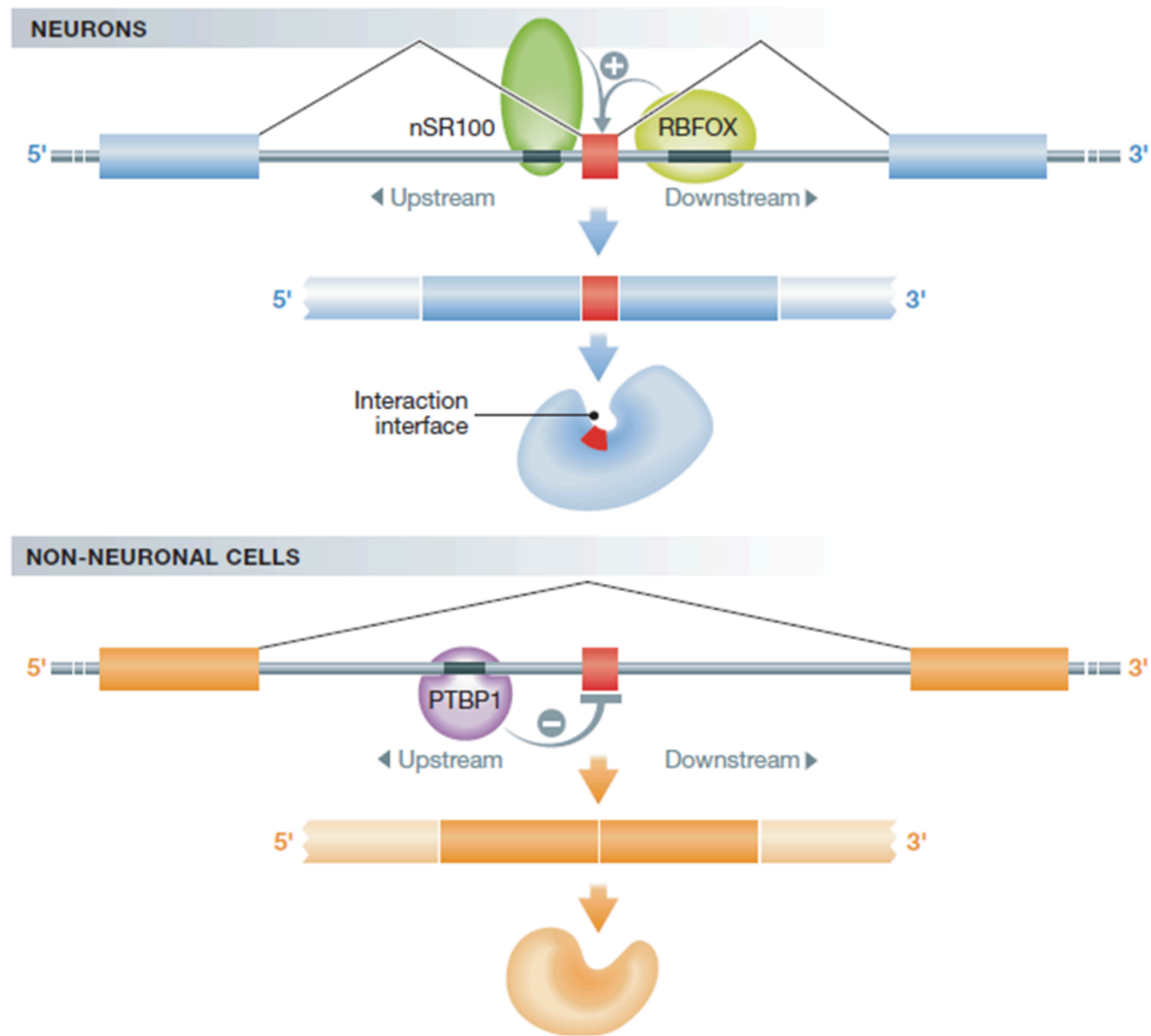
Intronic Splicing Silencers (ISS)
Exonic Splicing Silencers (ESS)

Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein particle (hnRNP) proteins generally act to inhibit splicing from nearby splice sites by interacting with splicing silencers

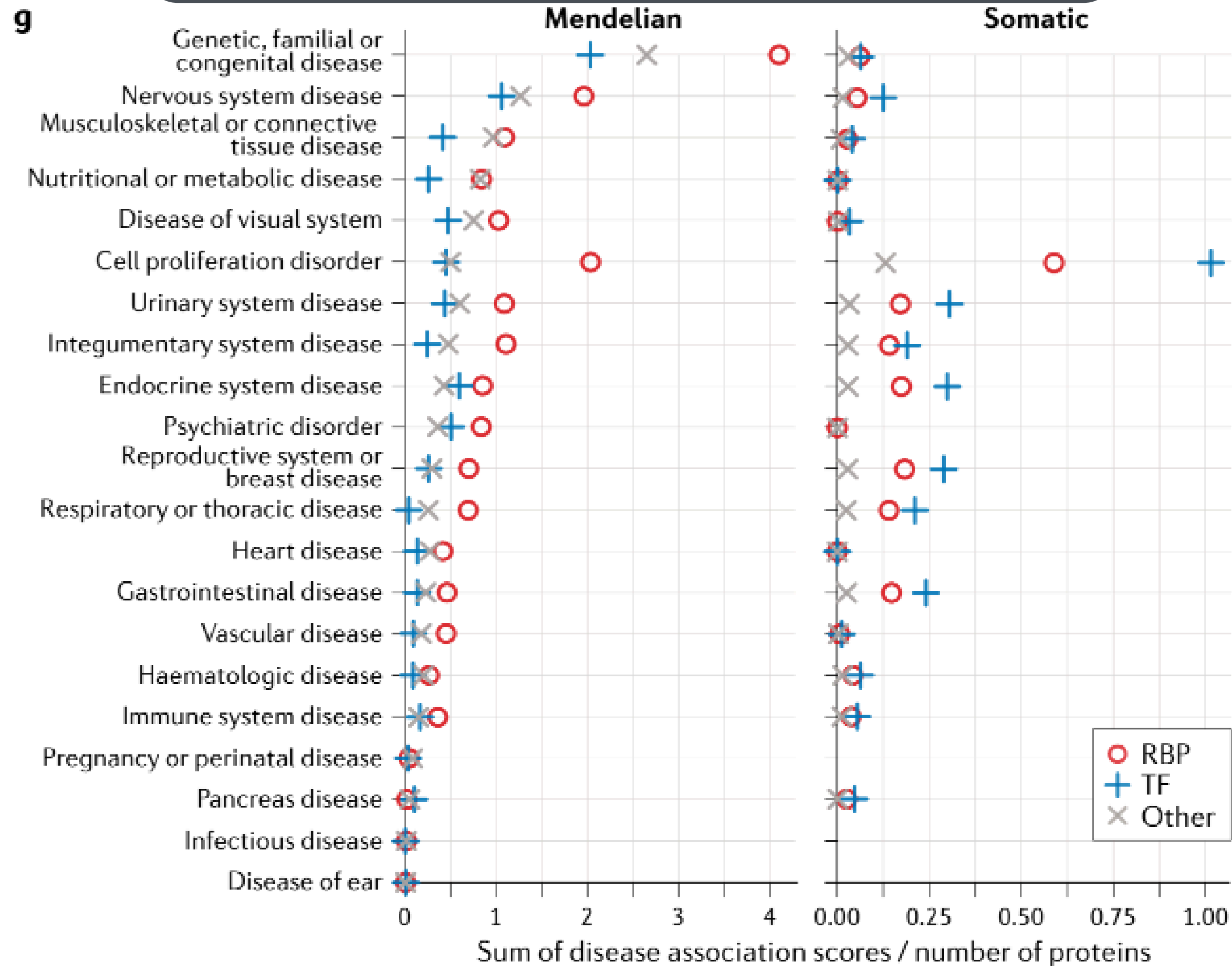
RNA-binding proteins control RNA life



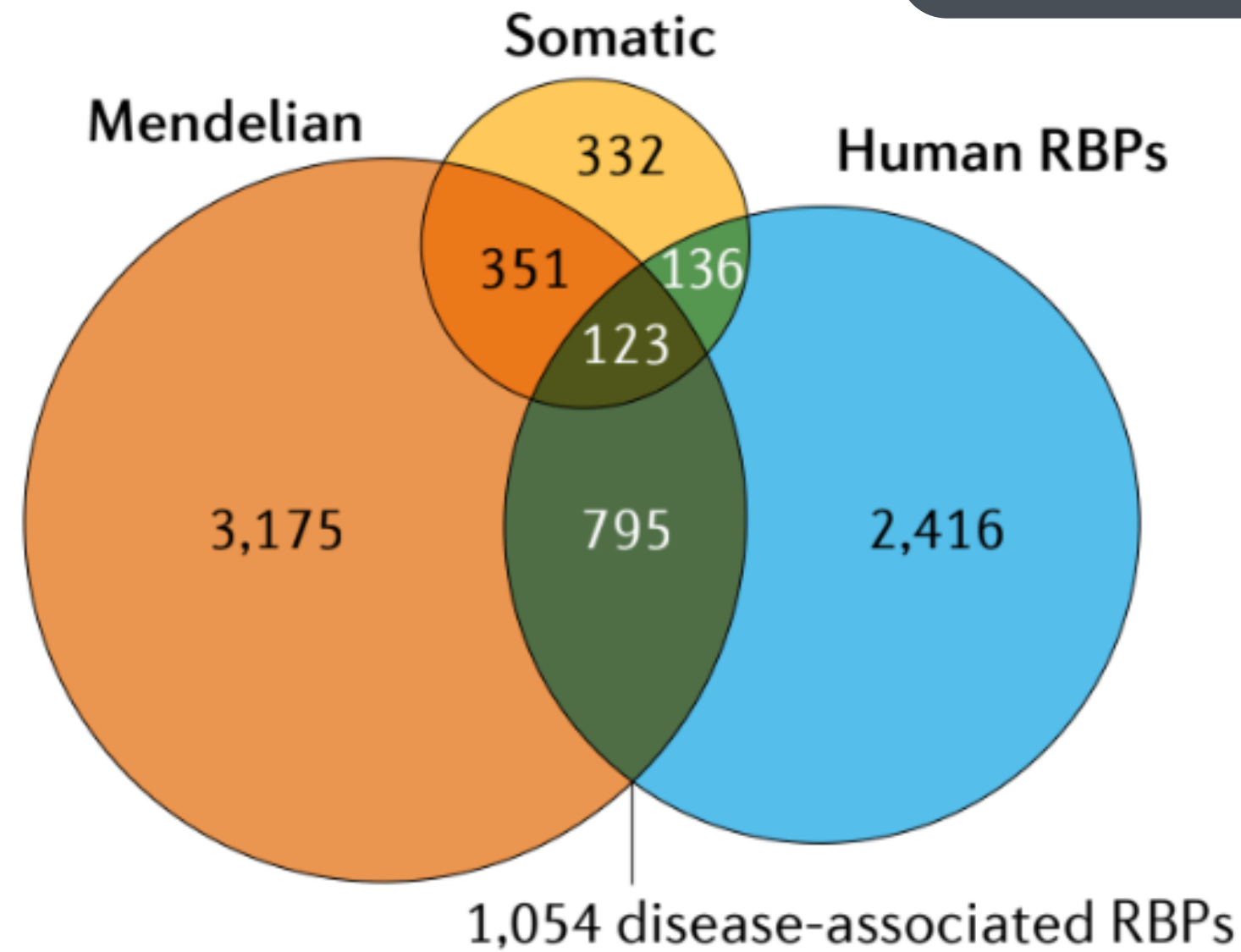
“Entender a relevância fisiológica de splicing alternativo é um dos grandes desafios da área”



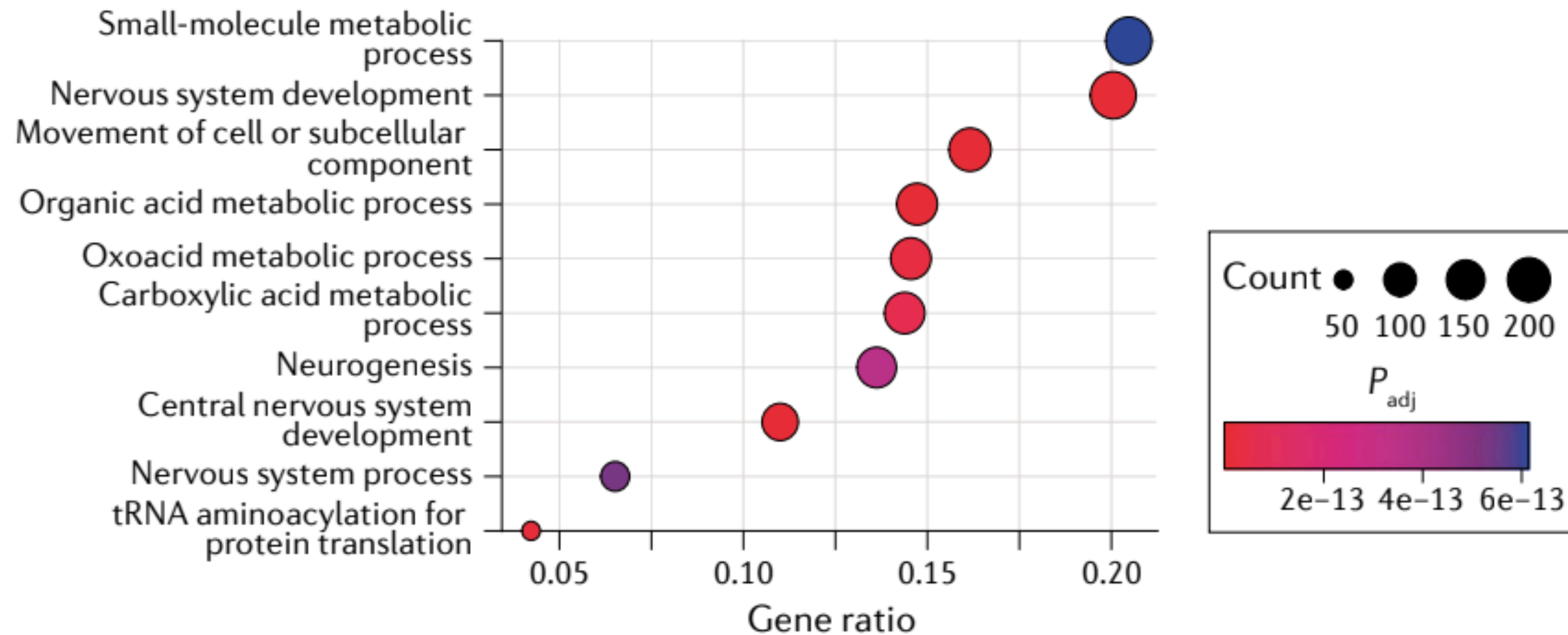
Human RNA-binding proteins involved in Mendelian and somatic genetic diseases



Human RNA-binding proteins involved in Mendelian and somatic genetic diseases

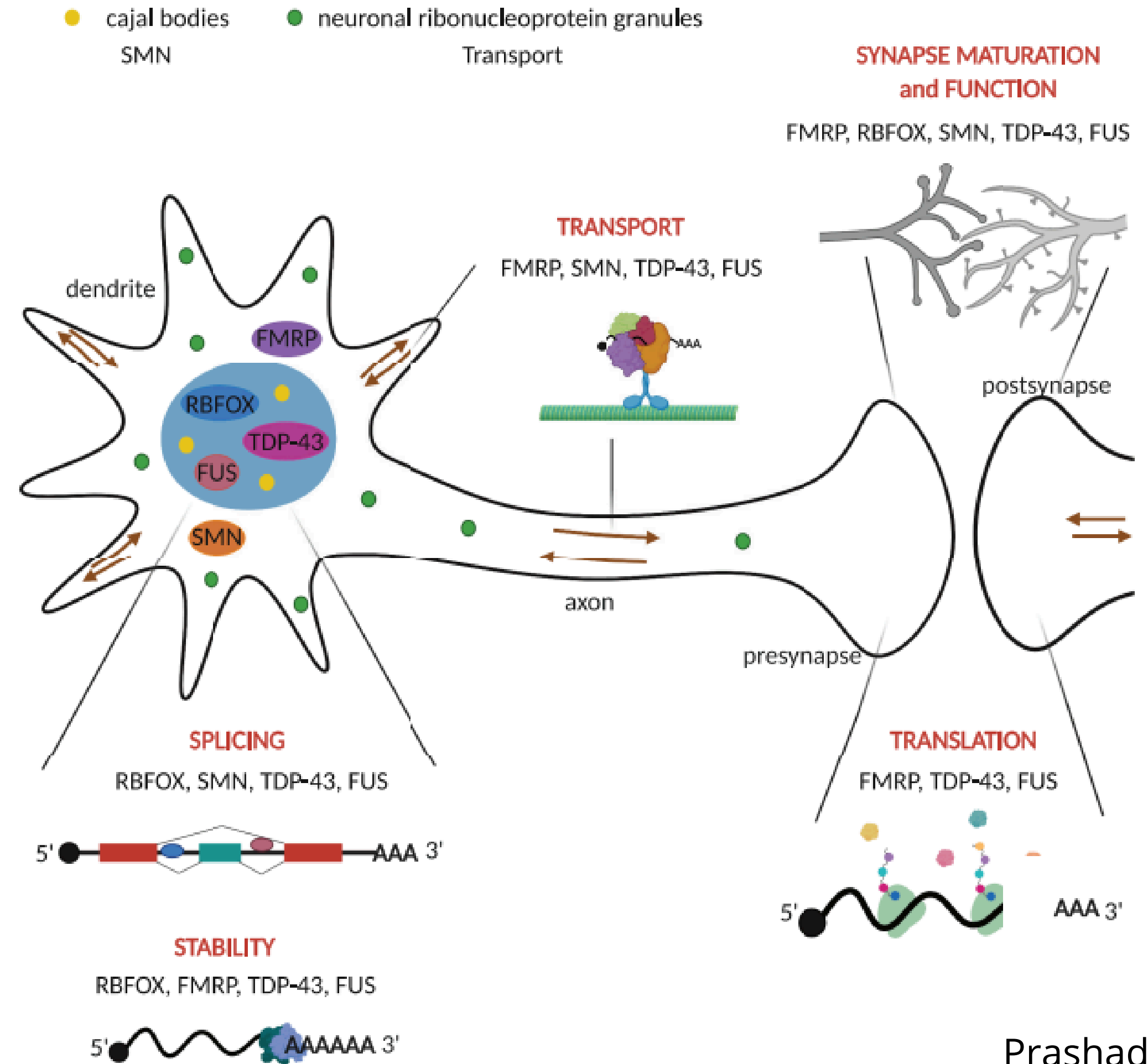


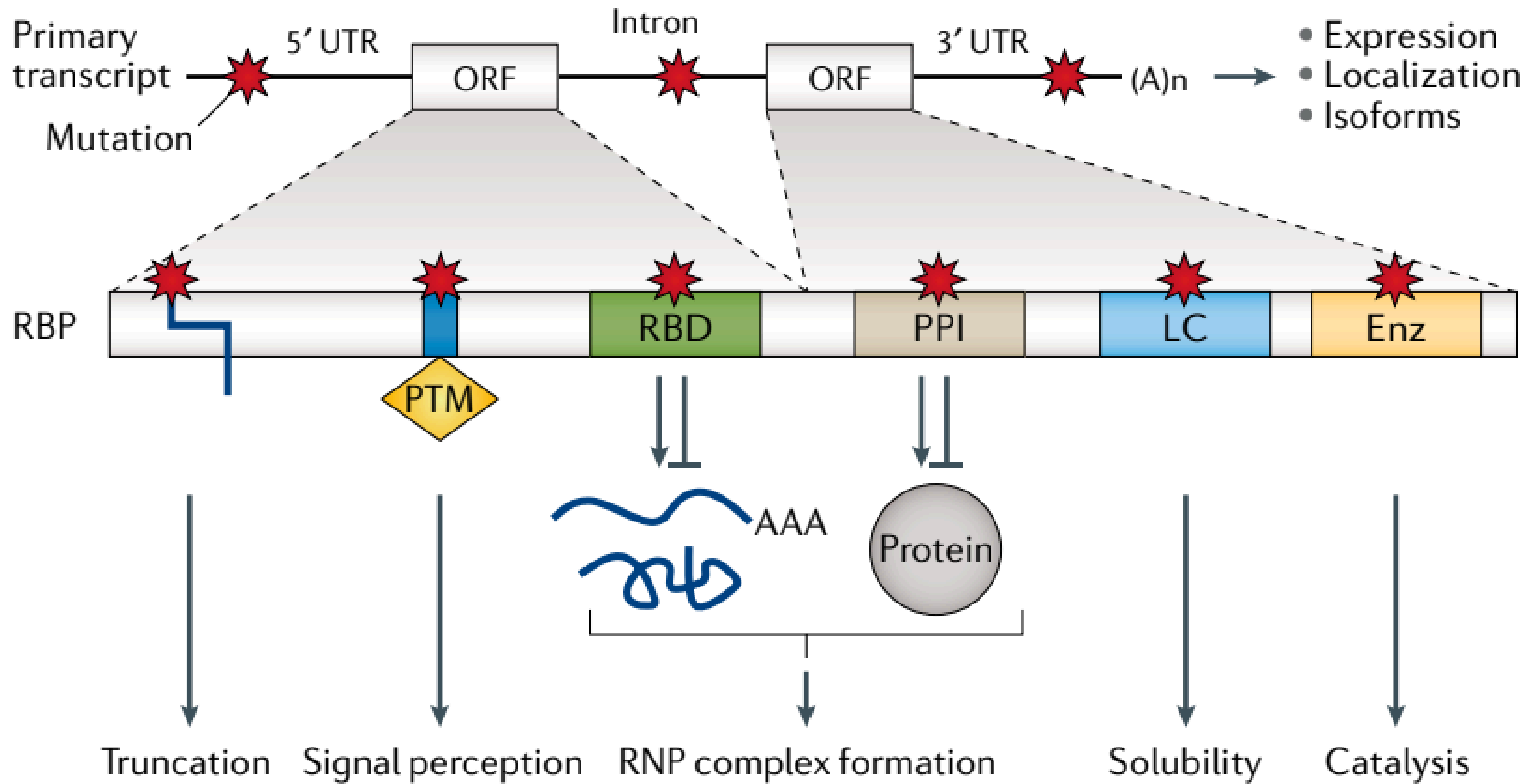
GO biological processes for disease-associated RBPs

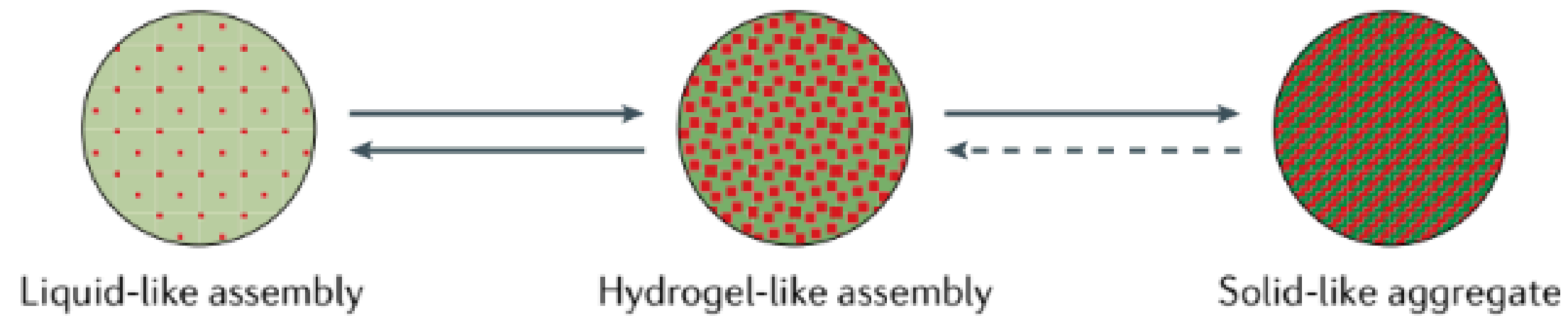
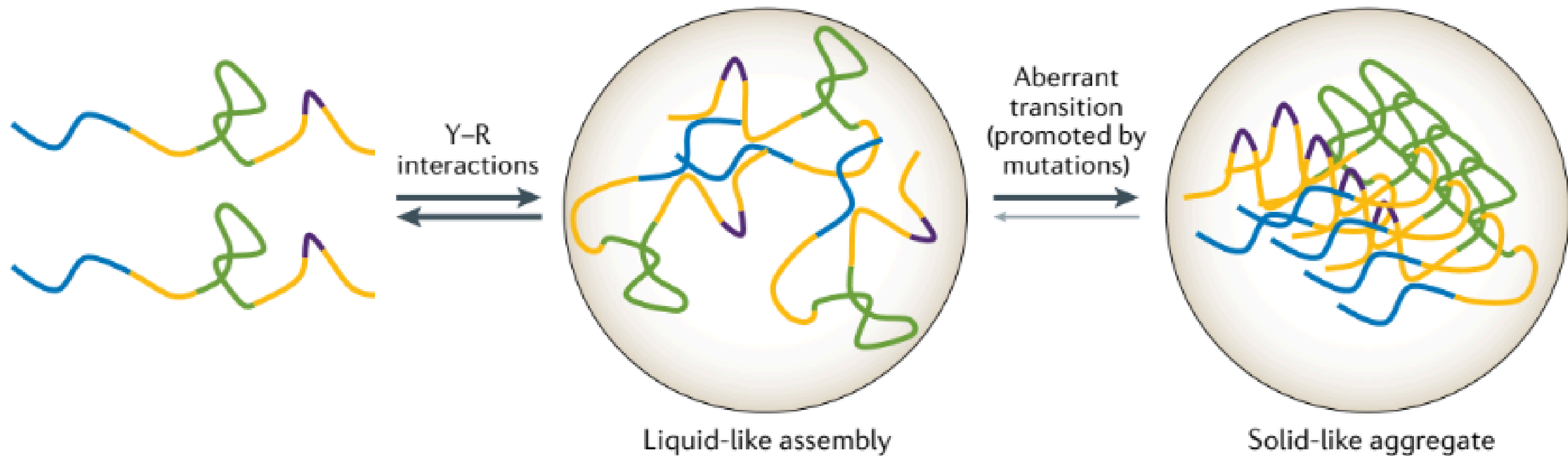
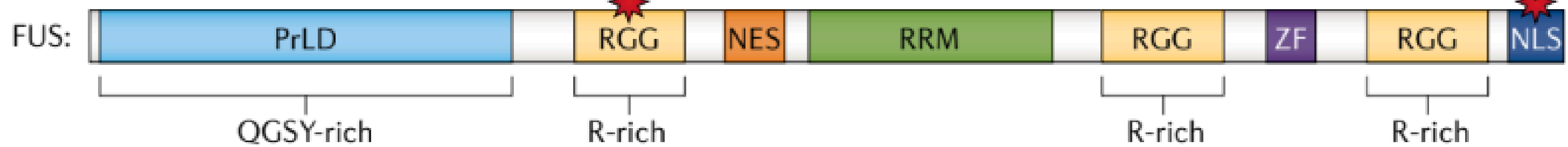


Approximately 1914 RBPs in humans
7.5% of protein-coding genes

Dysfunction of RNA-binding proteins has profound effects on the neuronal transcriptome.

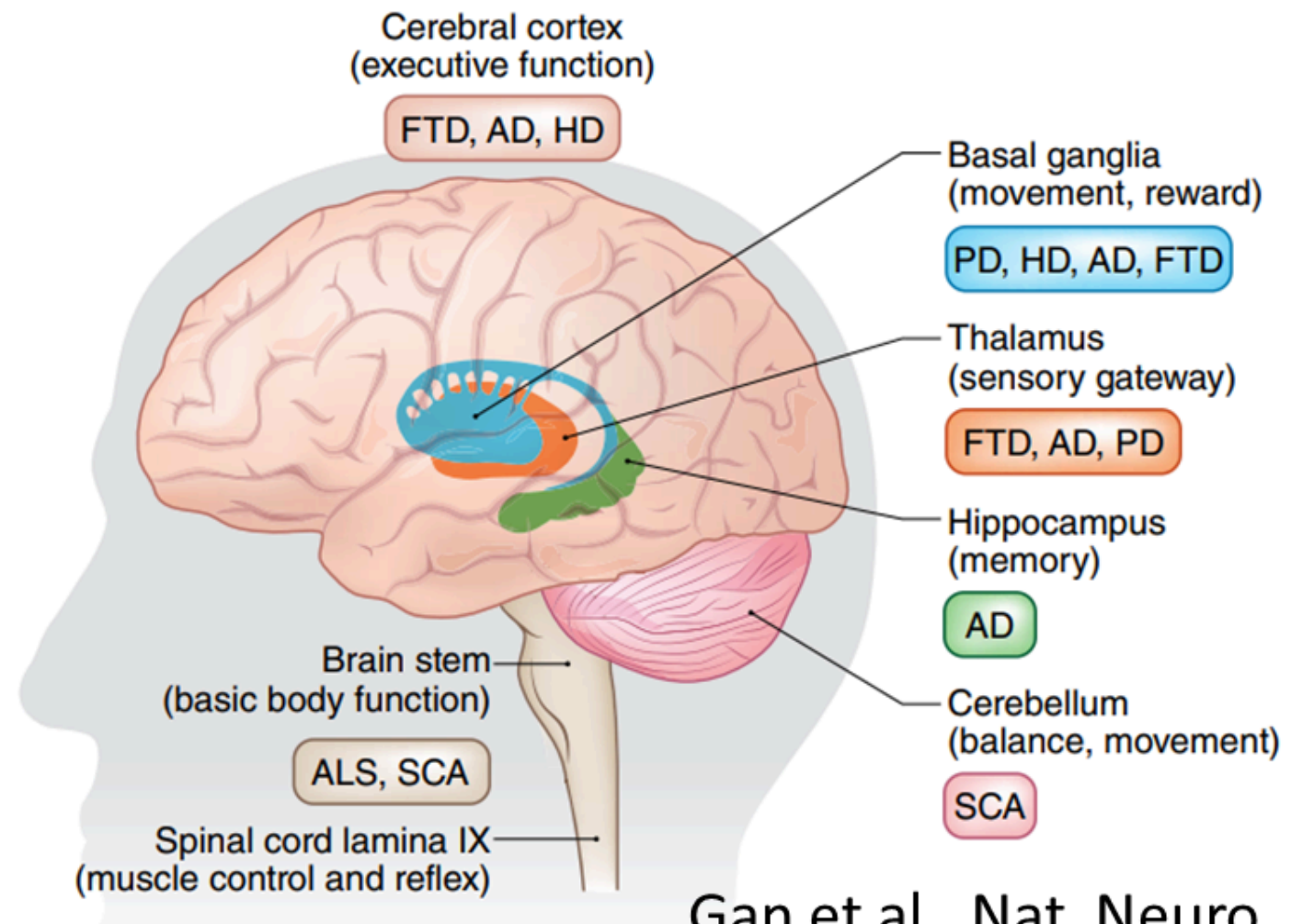




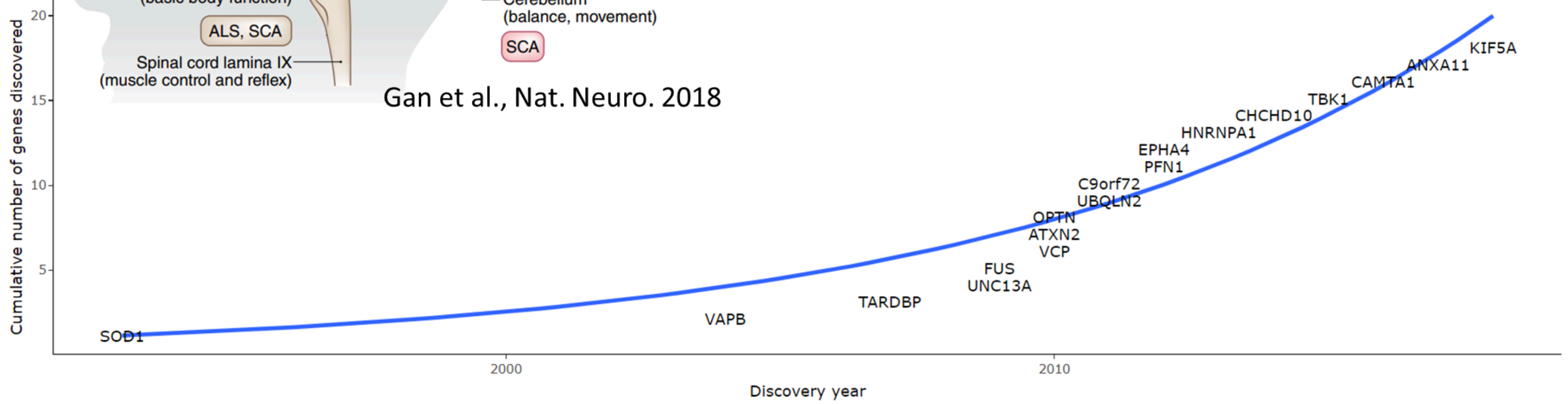
a**Membraneless cell compartments****Toxic inclusions****b****Mutation hotspot****Mutation hotspot**

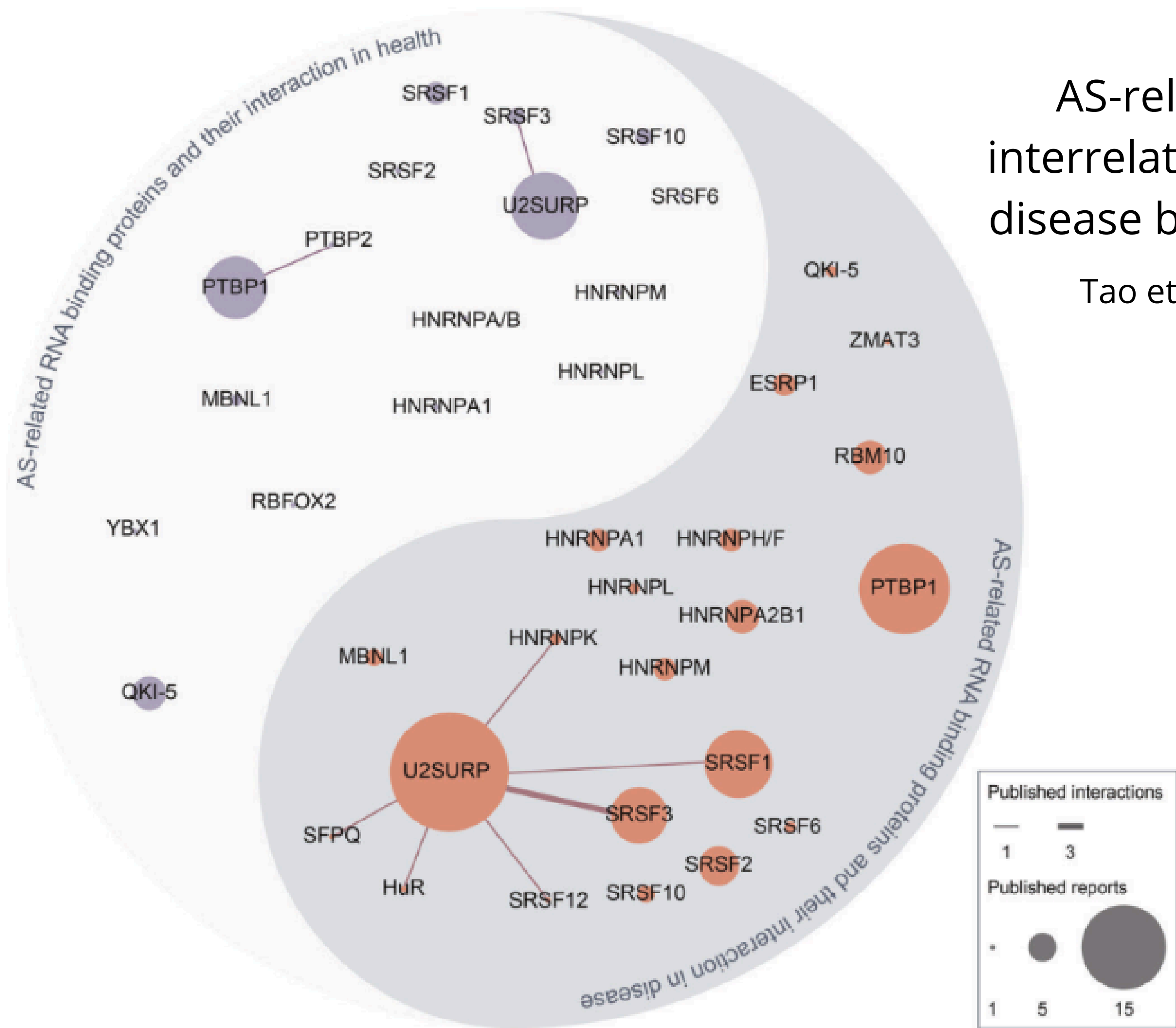
Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)

Definitive ALS genes



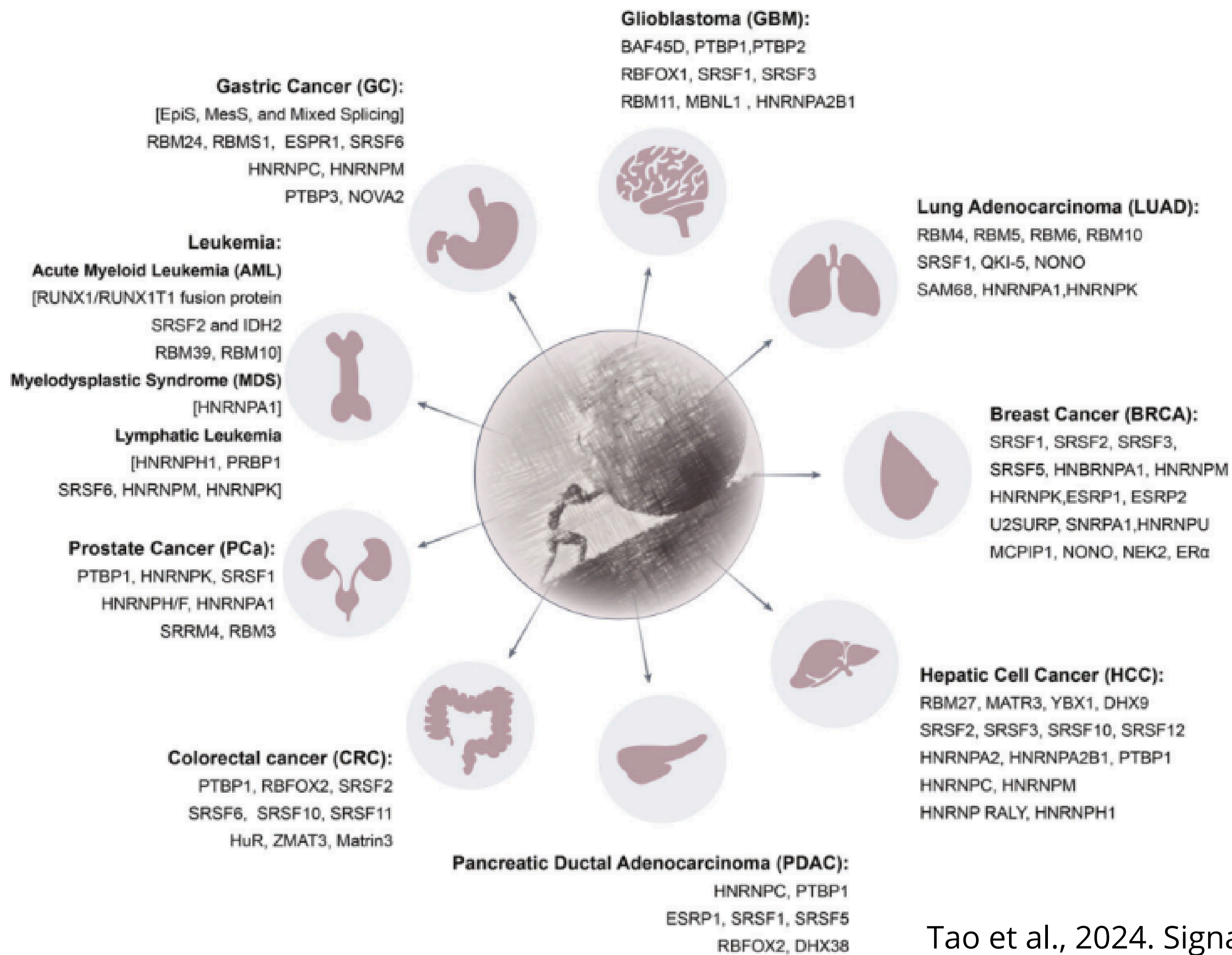
Gan et al., Nat. Neuro. 2018





AS-related RBPs exhibit complex interrelationships in human health and disease based on the current research.

Tao et al., 2024. Signal Transduct Target Ther



Approximately half of the known pathogenic genetic variants are due to single-nucleotide variants (SNVs).

Over 96% of observed human genetic variants are SNVs.

With over 99% currently lacking a clinical interpretation

Sun H & Yu G. 2019, Sci. Rep

Auton et al., 2015 Nature

Objetivo

Explorar funcionalmente o papel de RBPs em estágio precoce do desenvolvimento e interrogar a relevância de novas variantes encontradas em RBPs na população Brasileira, buscando entender sua relevância para doenças genéticas, raras e não diagnosticadas

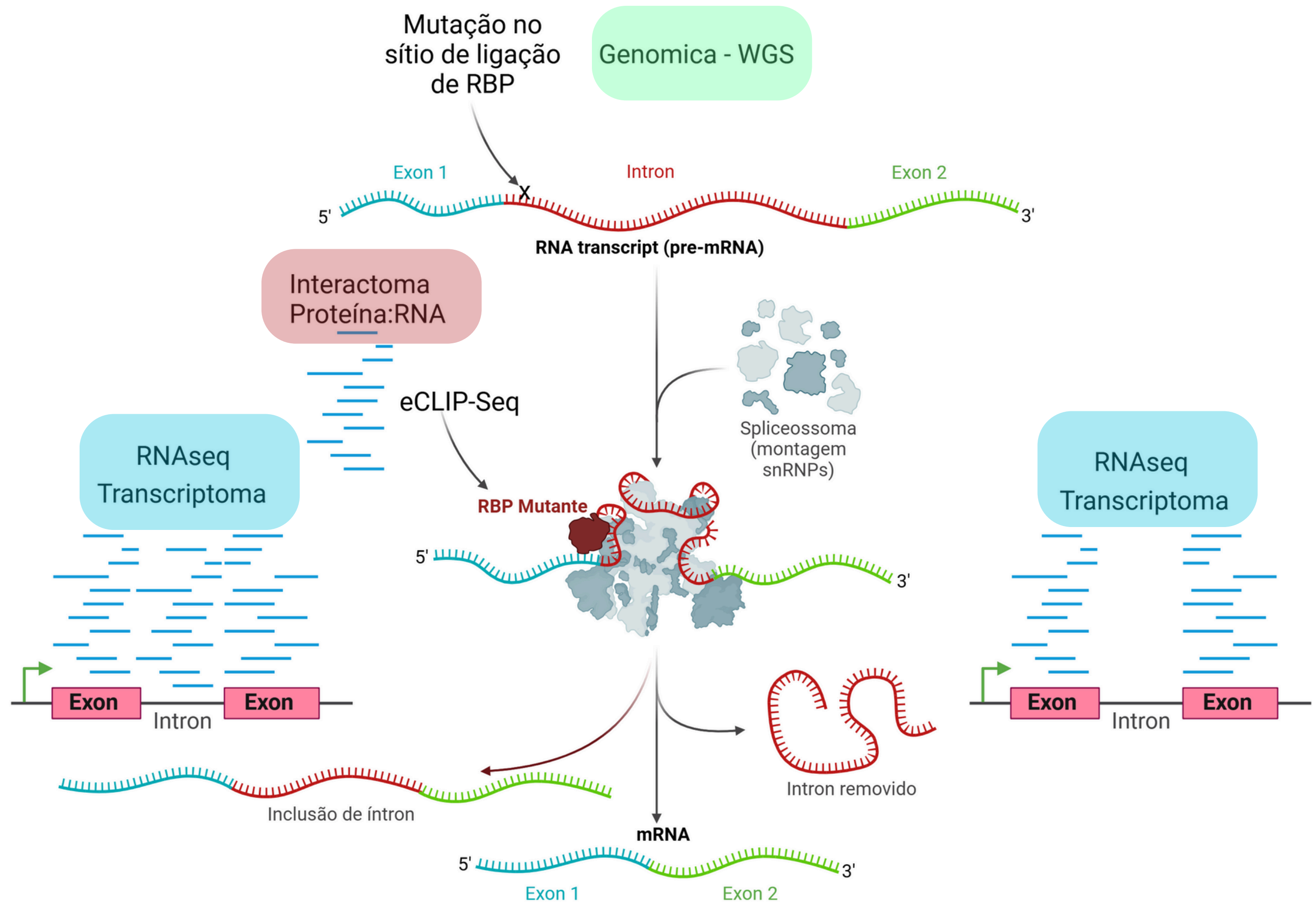
Objetivos de curto prazo

- Determinar características co-reguladas baseada na integração multi-ômica por modelos de variáveis latentes,
- Produção e screening de moscas paciente-específico guiada por dados ômicos, revelando target hits para screening de moléculas,
- Estratificação genômica e teste de diferentes hits em modelos in vivo (moscas) e in vitro pré-clínicos derivados de iPSCs

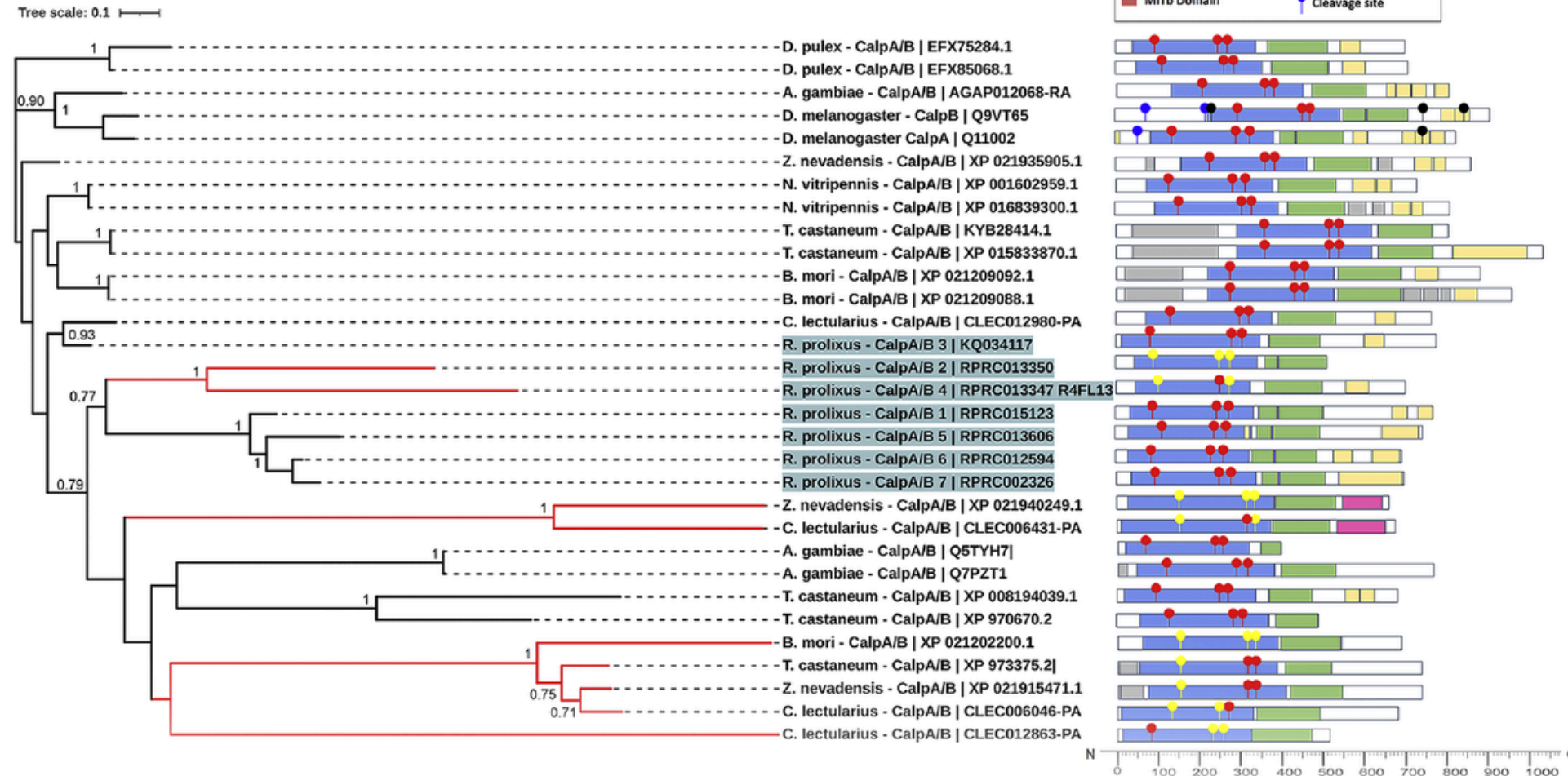
Objetivo de médio prazo

Revelar hits com potencial terapêutico (capazes de reverter/bloquear fenótipos associados) para perfis moleculares de associados a RBPs paciente-específico do Brasil

Exploração funcional de RBPs associadas a doenças por uma abordagem multi-ômica

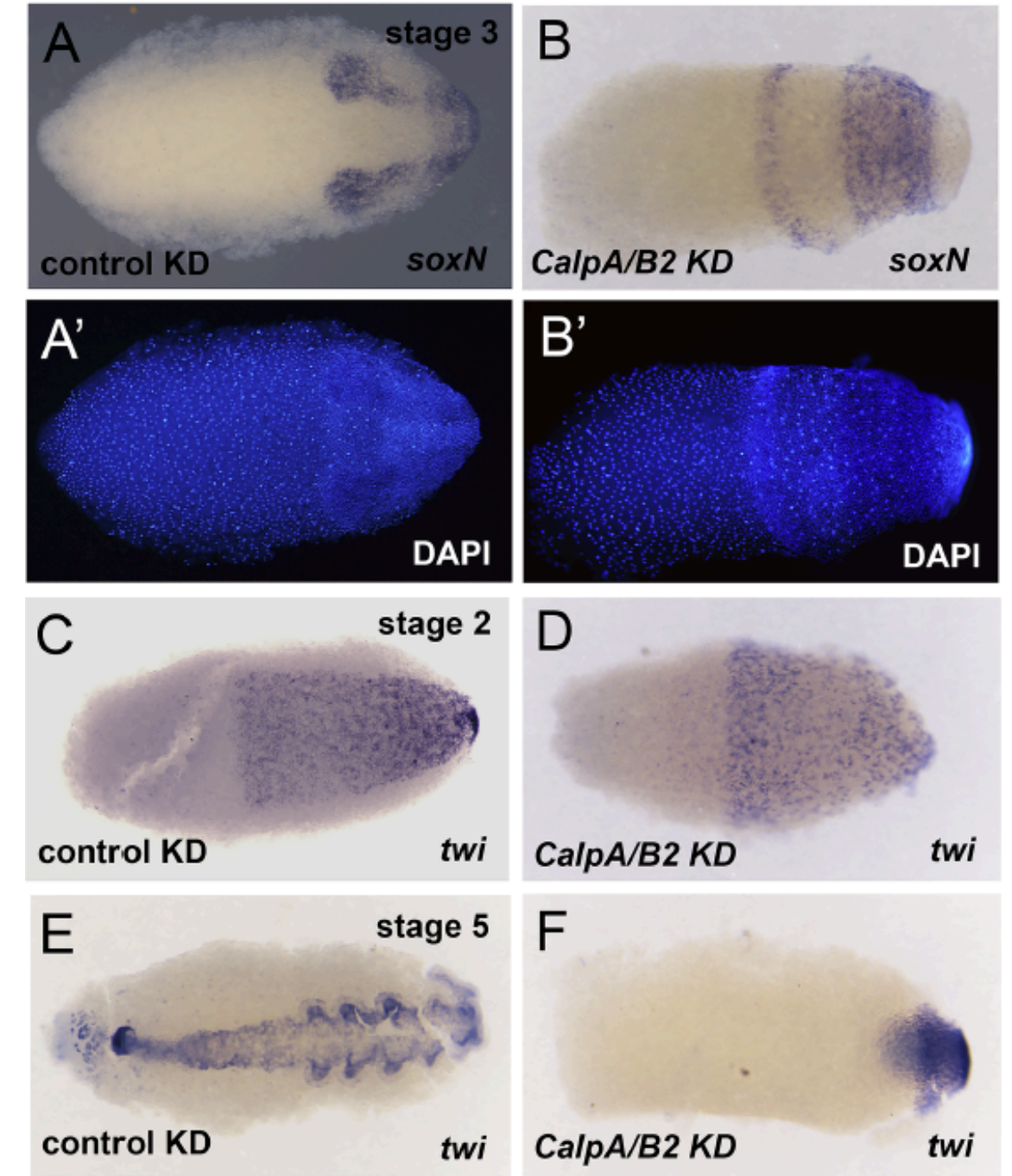
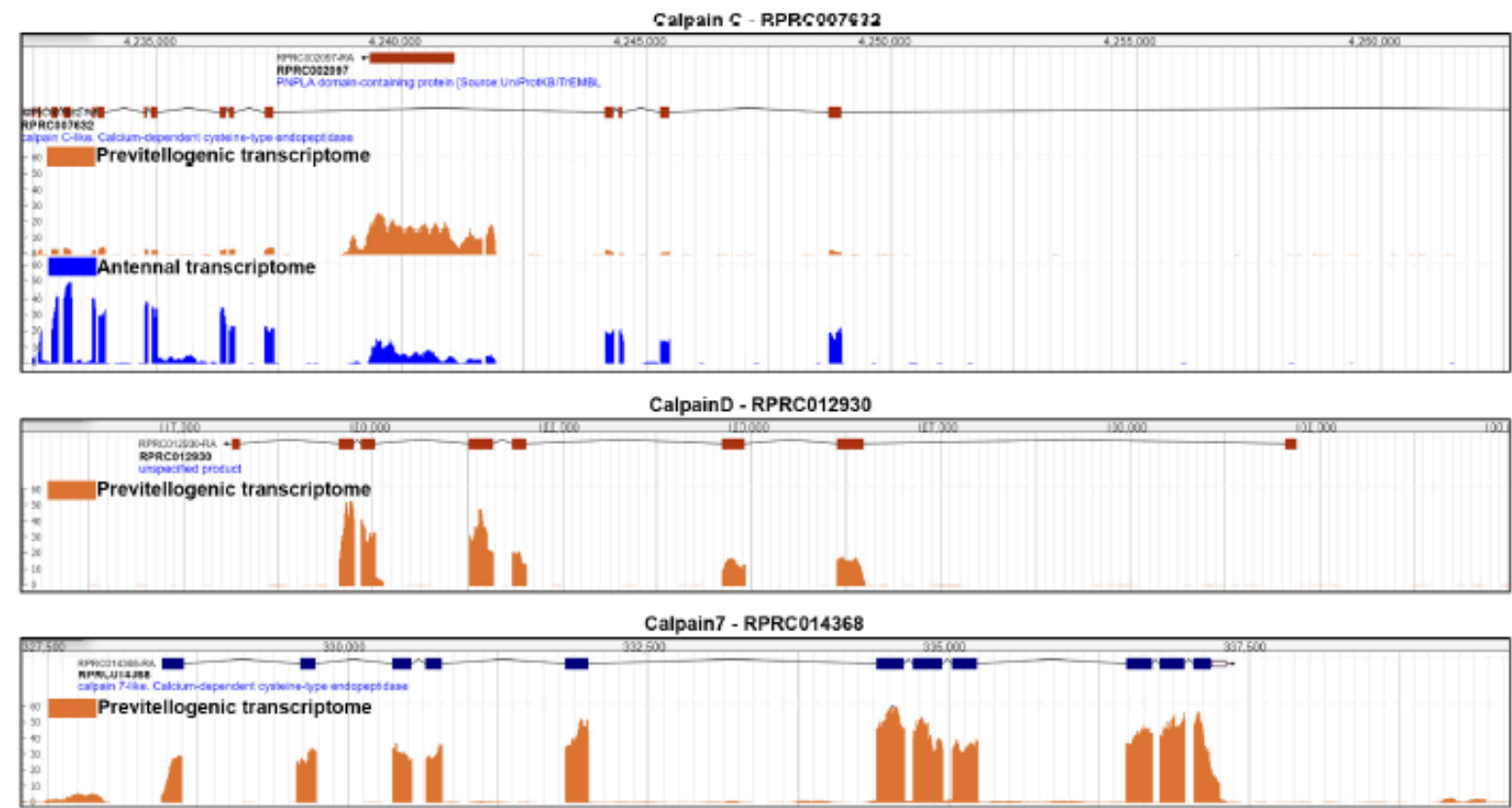


Doutorado



A Rhodnius prolixus catalytically inactive Calpain protease patterns the insect embryonic dorsal-ventral axis

Alison Julio^{a,b}, Tainan C. Guedes-Silva^a, Mateus Berni^{a,c}, Paulo Mascarello Bisch^b, Helena Araujo^{a,c,*}



co-autor
Doutorado

VOLUME 7 • ISSUE 2 • APRIL 2024 • ISSN 2573-1599

The CRISPR Journal

Editing the Kissing Bug

Knock-In Efficiency via Transient Hypothermia

Variant Pathogenicity Analysis

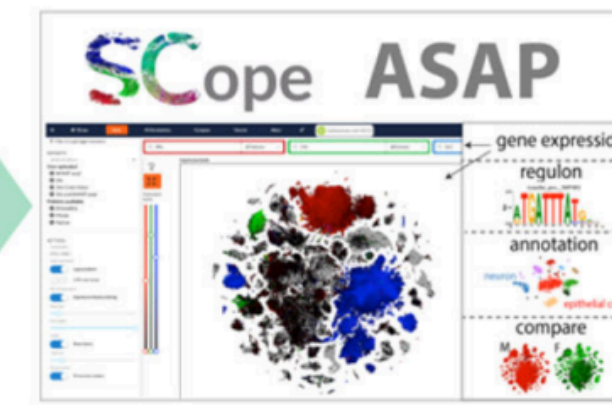
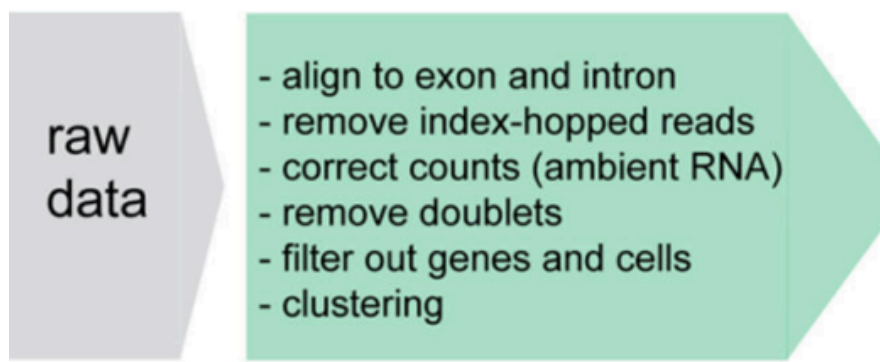
TCAATGGA

Mary Ann Liebert, Inc. Publishers
www.crisprjournal.com

AAAAGAGC

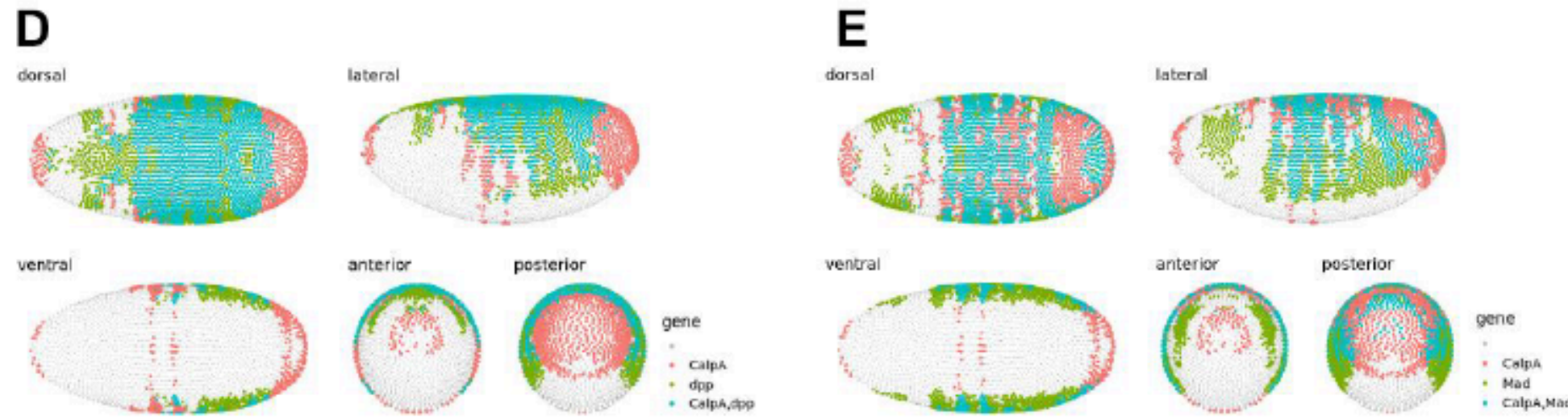
TATAAAG

Doutorado



- automated single-cell analysis
- cell type-specific markers
- data visualization
- community annotation
- GRN: gene regulatory network
- ModuleScore
- downloadable Loom files

DVEX

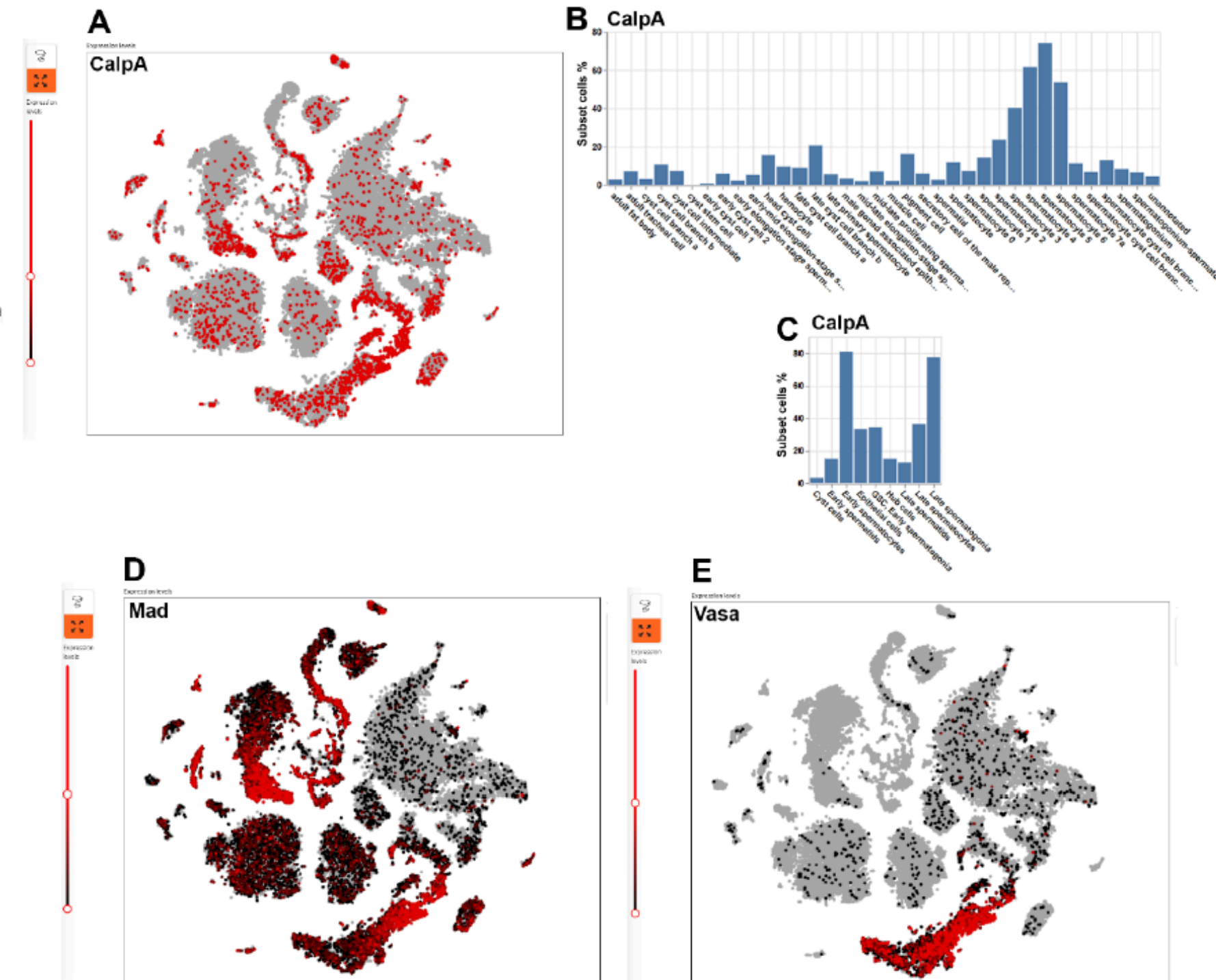


Drosophila Virtual Expression eXplorer database

New *Drosophila* Calpain function

Julio et al., in prep

FlyCellAtlas



EMBL COURSE



Whole transcriptome data analysis

26 - 31 May 2024, EMBL Heidelberg

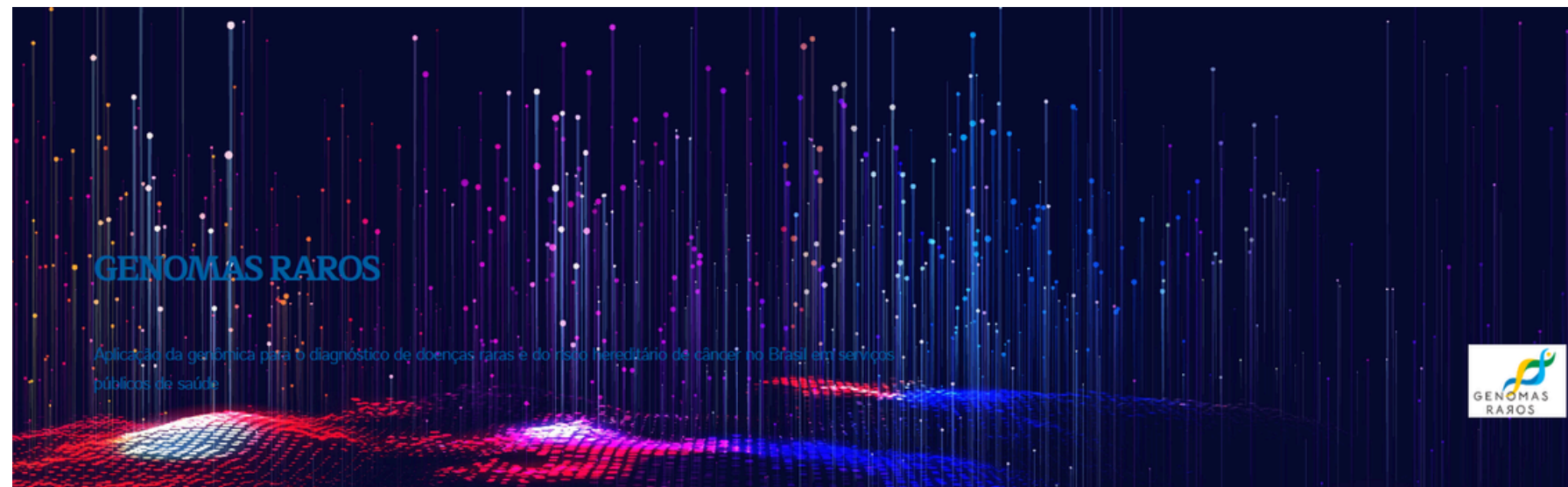
#EMBLDataAnalysis

Bulk-RNAseq and
sc/sn RNAseq

Docker4seq and rCASC packages



Genomas Brasileiros

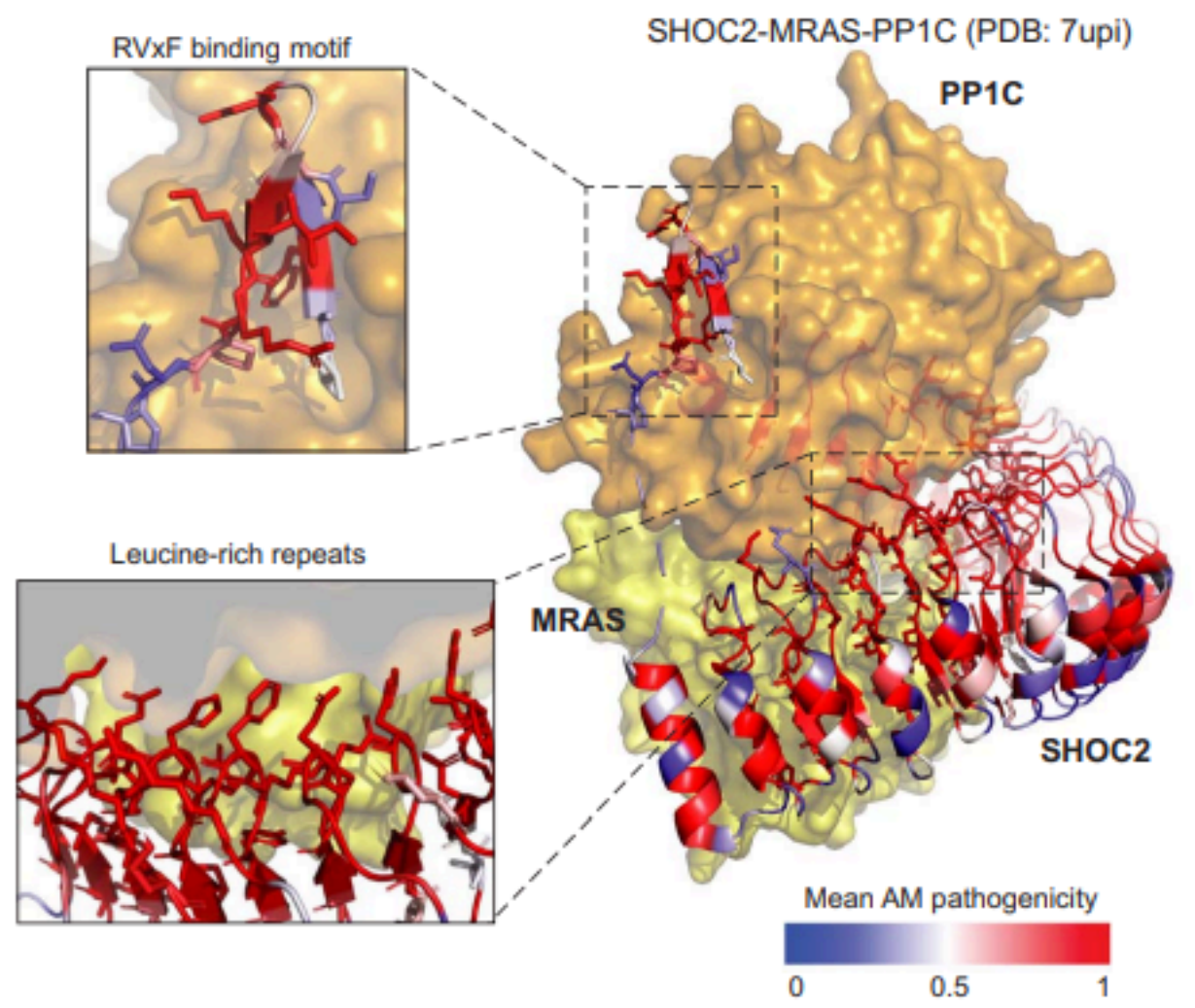
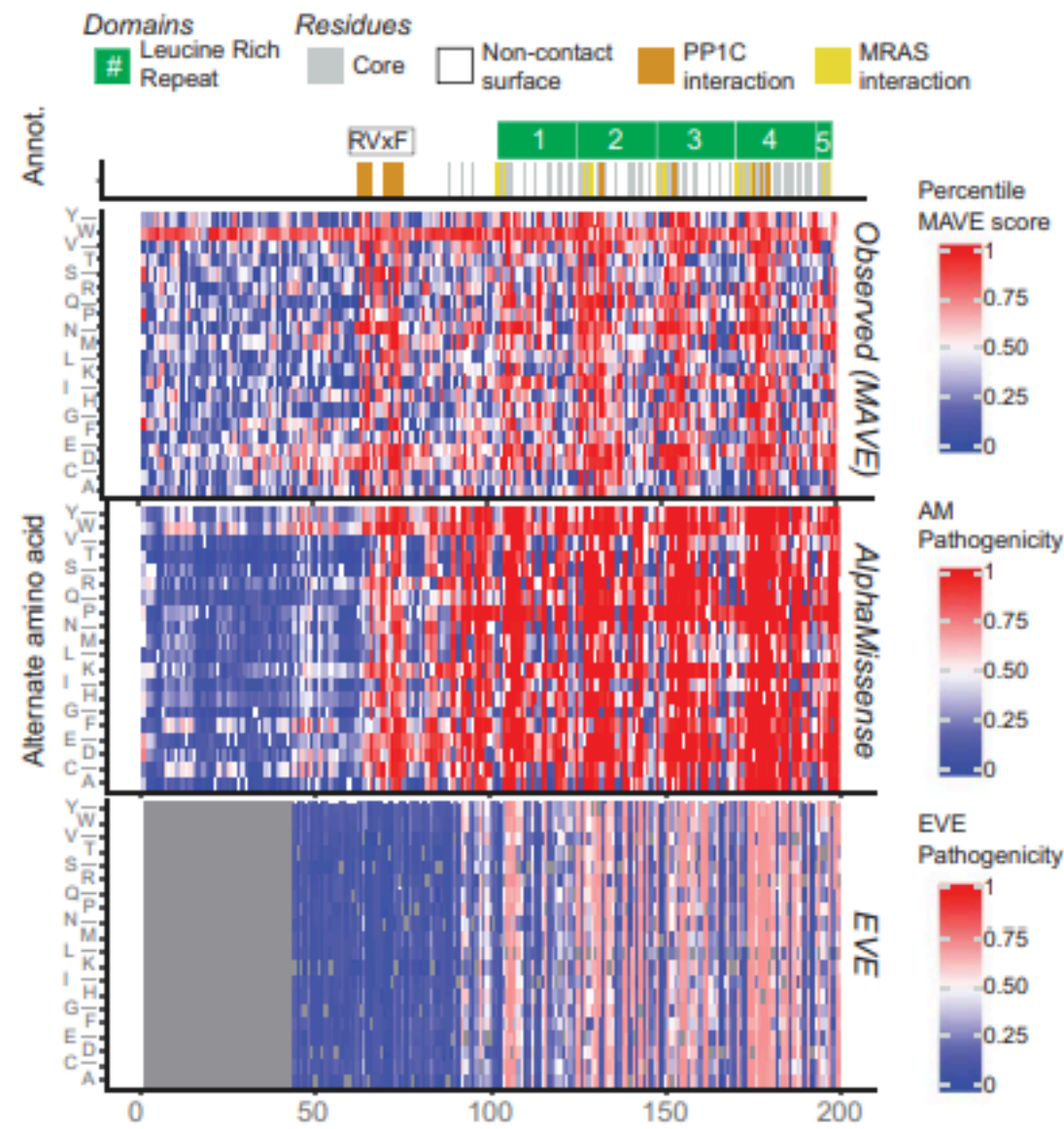
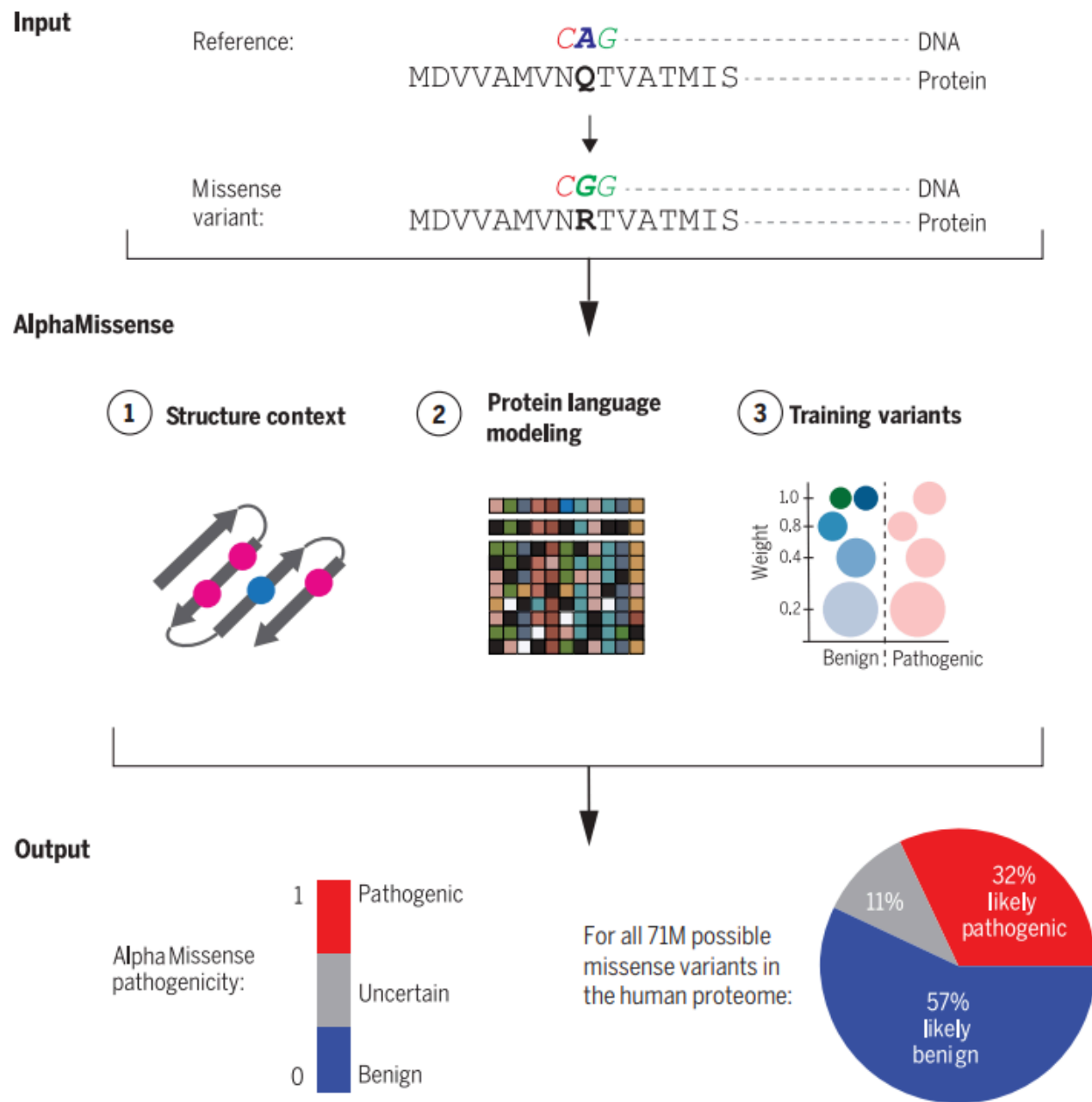


Consortorios Internacionais ELA



Seleção de variantes de RBPs baseada em frequência e estrutura

AlphaMissense



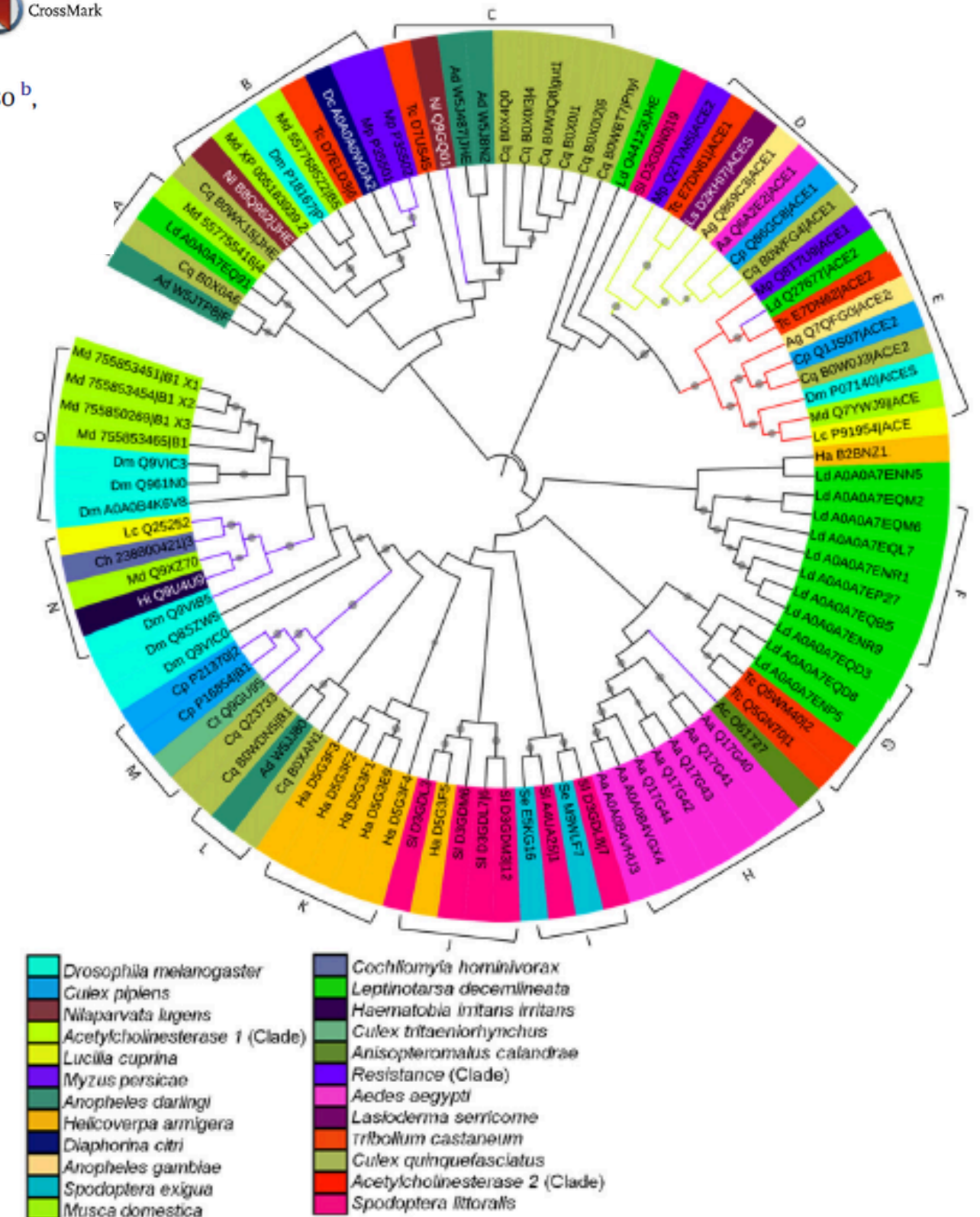
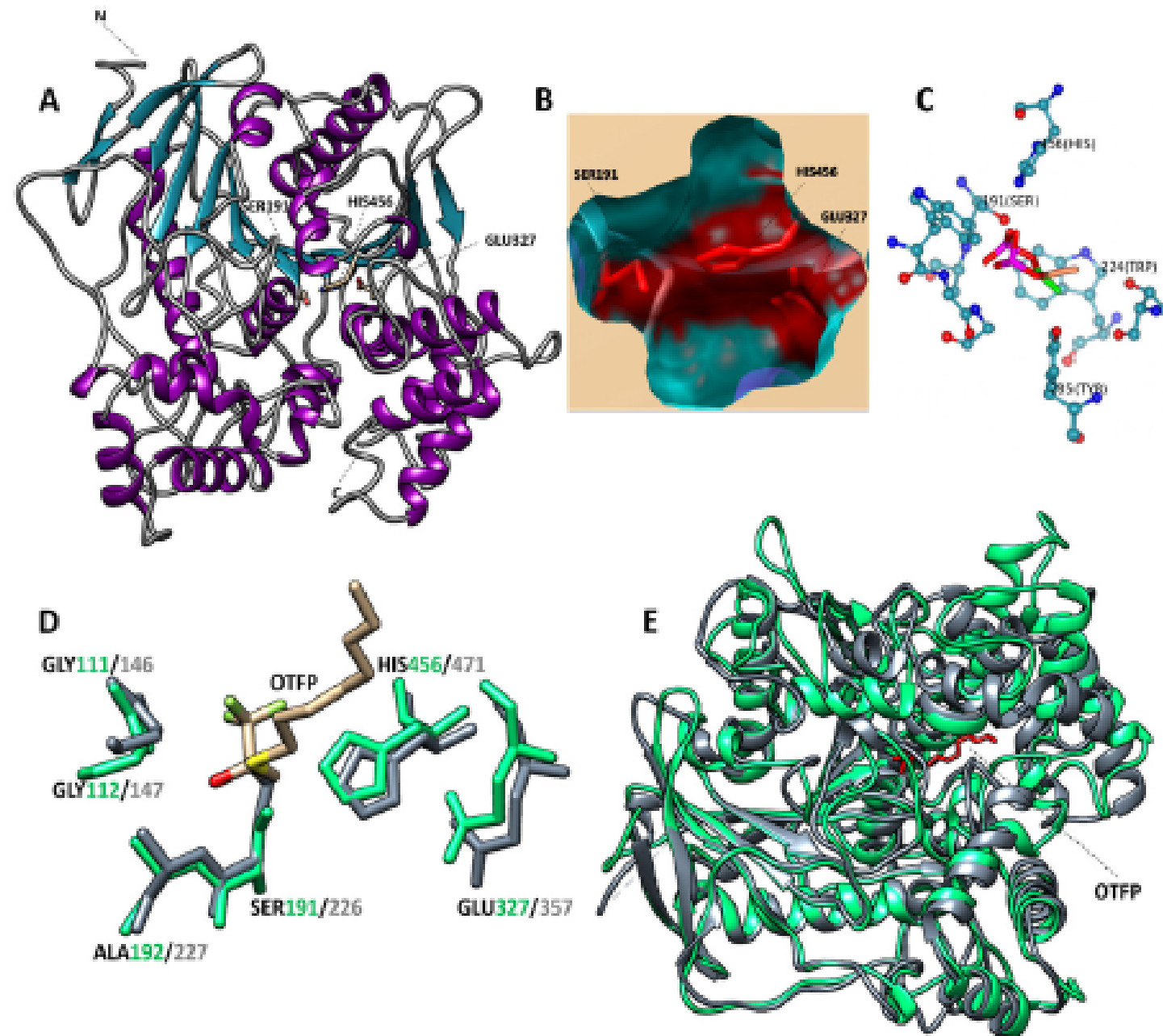
Multiple resistance to pirimiphos-methyl and bifenthrin in *Tribolium castaneum* involves the activity of lipases, esterases, and laccase2☆

Alison Henrique Ferreira Julio ^{a,*}, Adriana Aparecida Sinópolis Giglioli ^a, Kátia Aparecida Kern Cardoso ^b, Sandro Daniel Drosdoski ^a, Rodrigo Amaral Kulza ^a, Flávio Augusto Vicente Seixas ^c, Maria Claudia Colla Ruvolo-Takasusuki ^a, Cristina Giatti Marques de Souza ^c, Ana Silvia Lapenta ^{a,*}

^a Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brazil

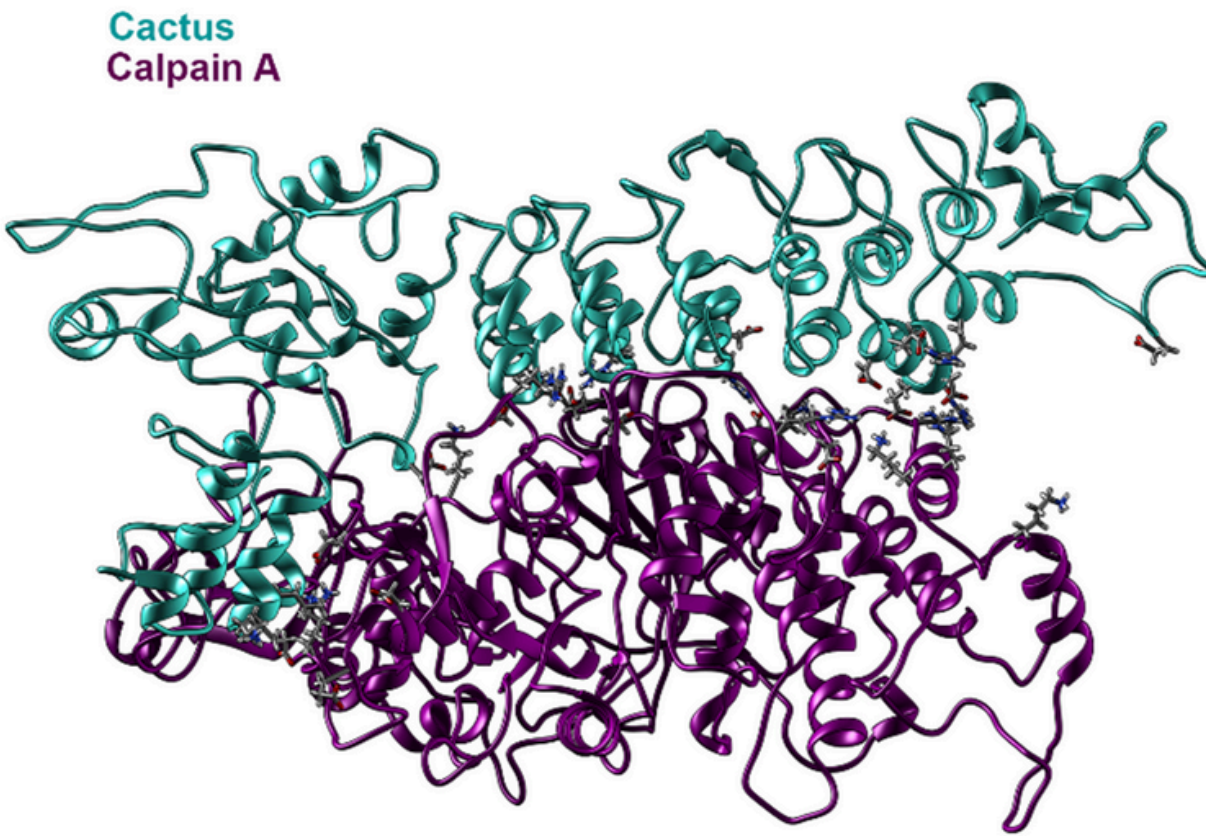
^b Centro de Ciências Exatas Departamento de Ciências, Universidade Estadual de Maringá Campus de Umuarama, Paraná, Brazil

^c Departamento de Bioquímica da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brazil



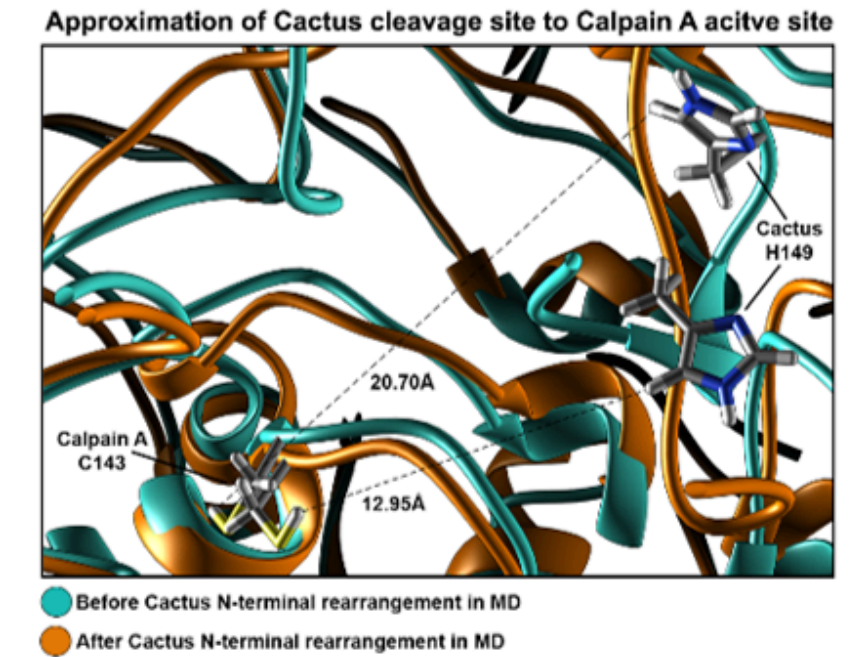
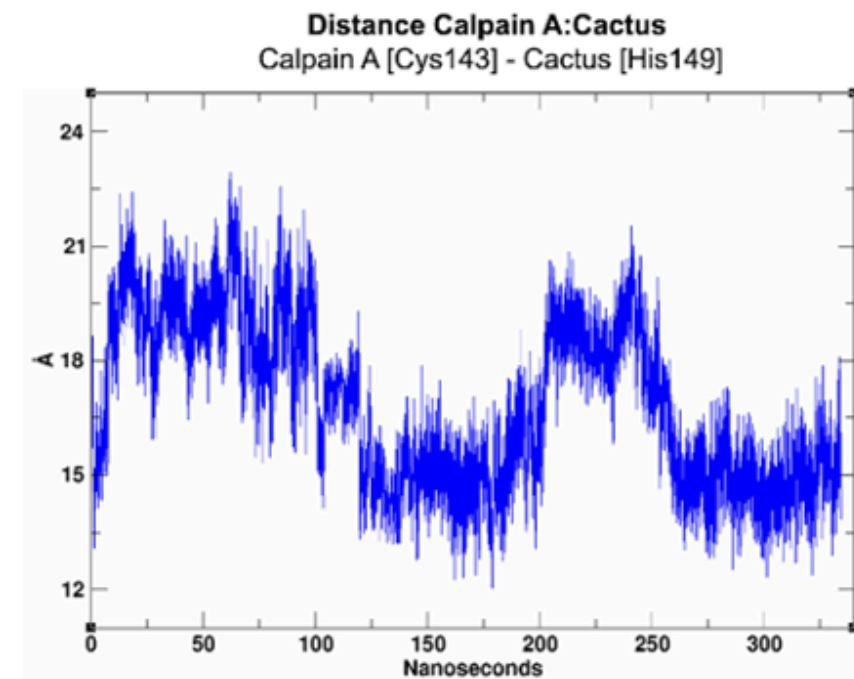
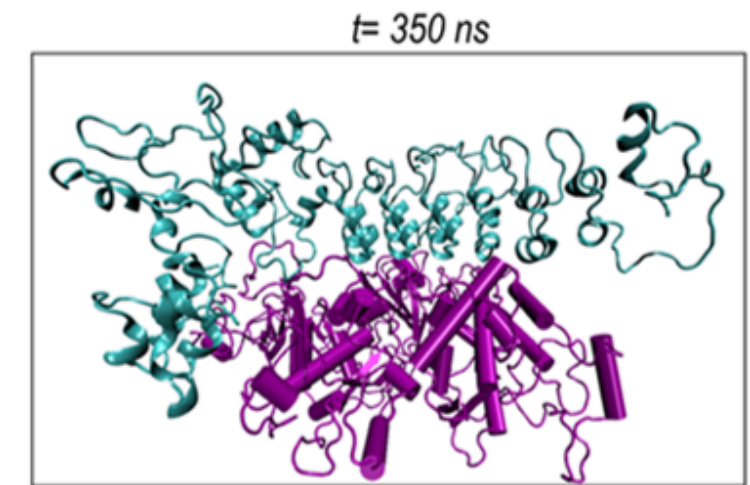
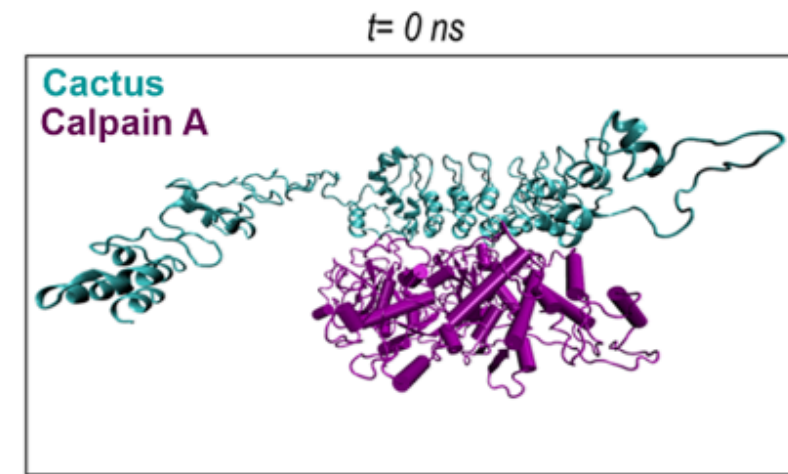
Doutorado

During the PhD, I investigated the Calpain A:Cactus interaction, modulating the NFkB



Salt bridge along MD

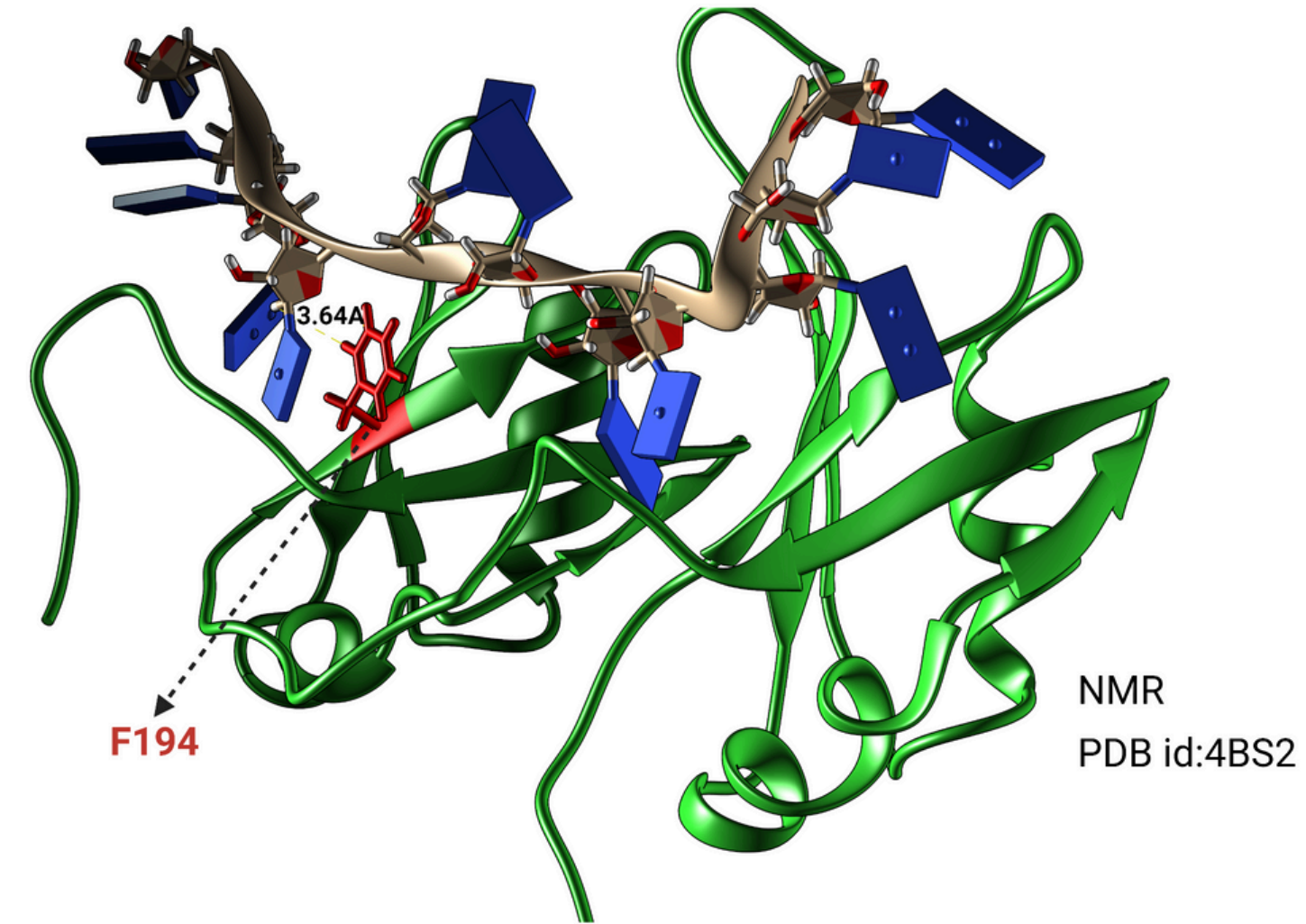
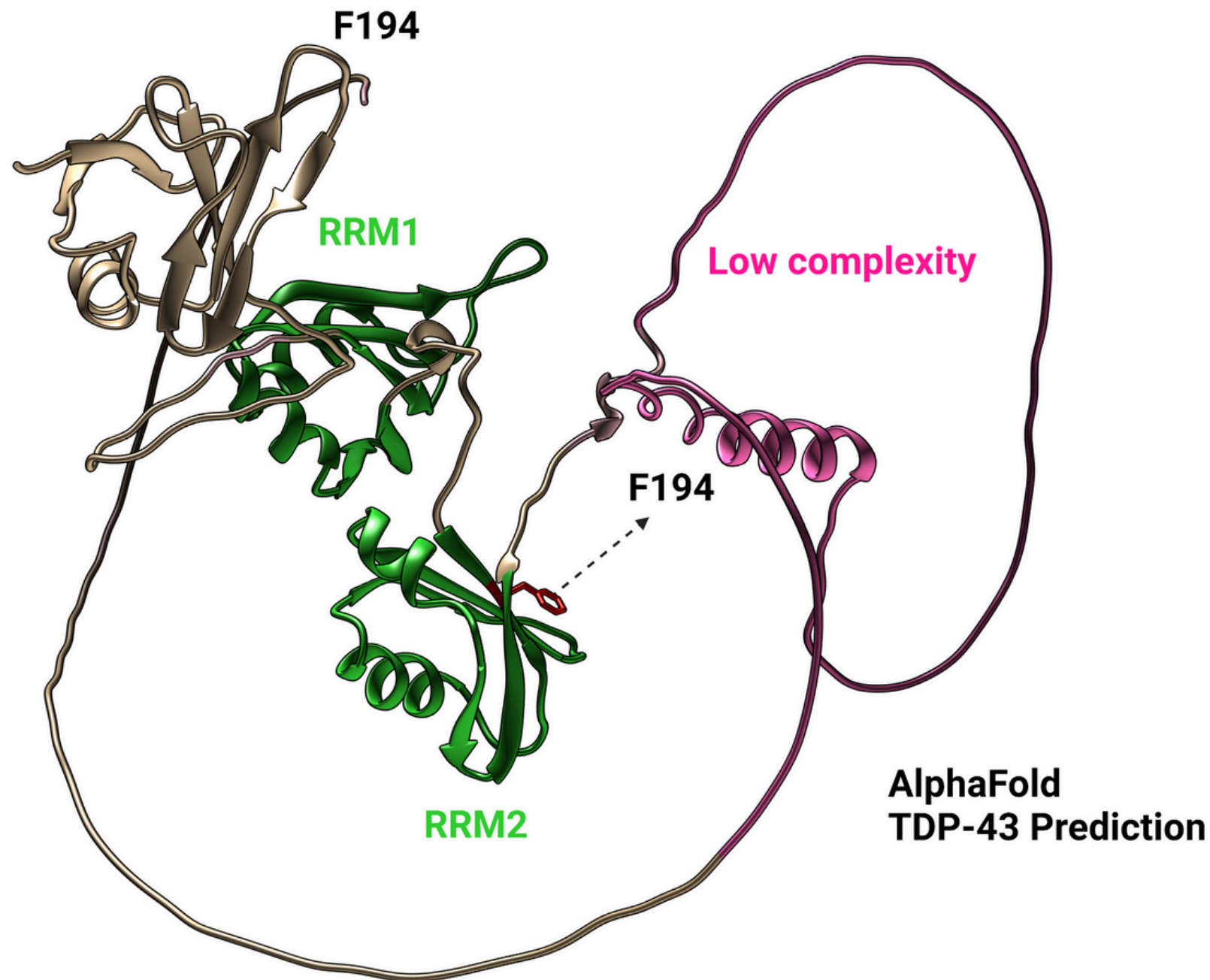
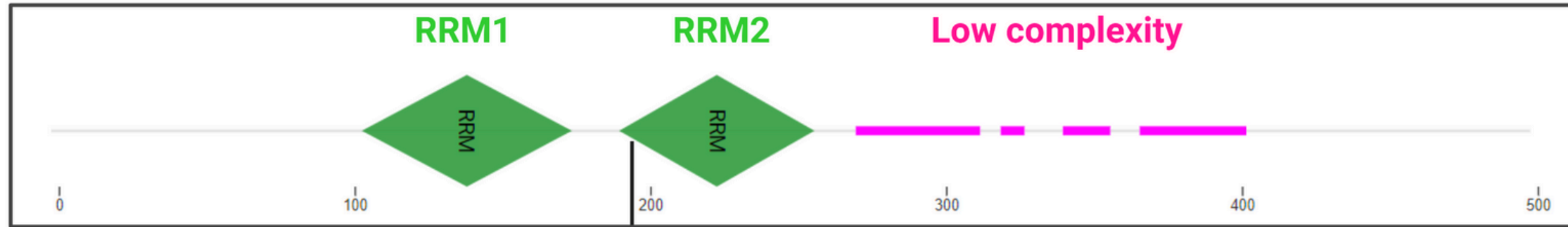
Interface		Per-residue MM(GB)PBSA	Mutagenesis S2 cells
CalpA	Cactus	Total Kcal/mol	CalpA
		<-10.00	Mutagenesis
Lys605	Glu418	✓	✓
Asp533	Arg251	✓	✓
Asp714	Arg316	✓	✓
Arg776	Asp410	✓	✓
Glu536	Arg251	☒	✓
Glu536	Arg283	✓	✓
Glu537	Arg283	✓	✓
Asp788	Arg445	✓	✓
Arg606	Asp417	✓	✓
Arg776	Glu409	☒	✓
Arg606	Glu418	✓	✓
Arg606	Glu420	✓	✓
Arg613	Glu420	☒	✓
Lys595	Glu456	☒	✓
Arg106	Asp152	☒	☒
Lys605	Asp417	✓	☒
Lys234	Asp244	☒	☒
Glu118	Lys13	☒	☒
Glu121	Lys6	☒	☒
Glu121	Lys13	☒	☒
Glu202	Lys6	☒	☒
Lys211	Glu9	☒	☒
Lys718	Glu320	✓	☒



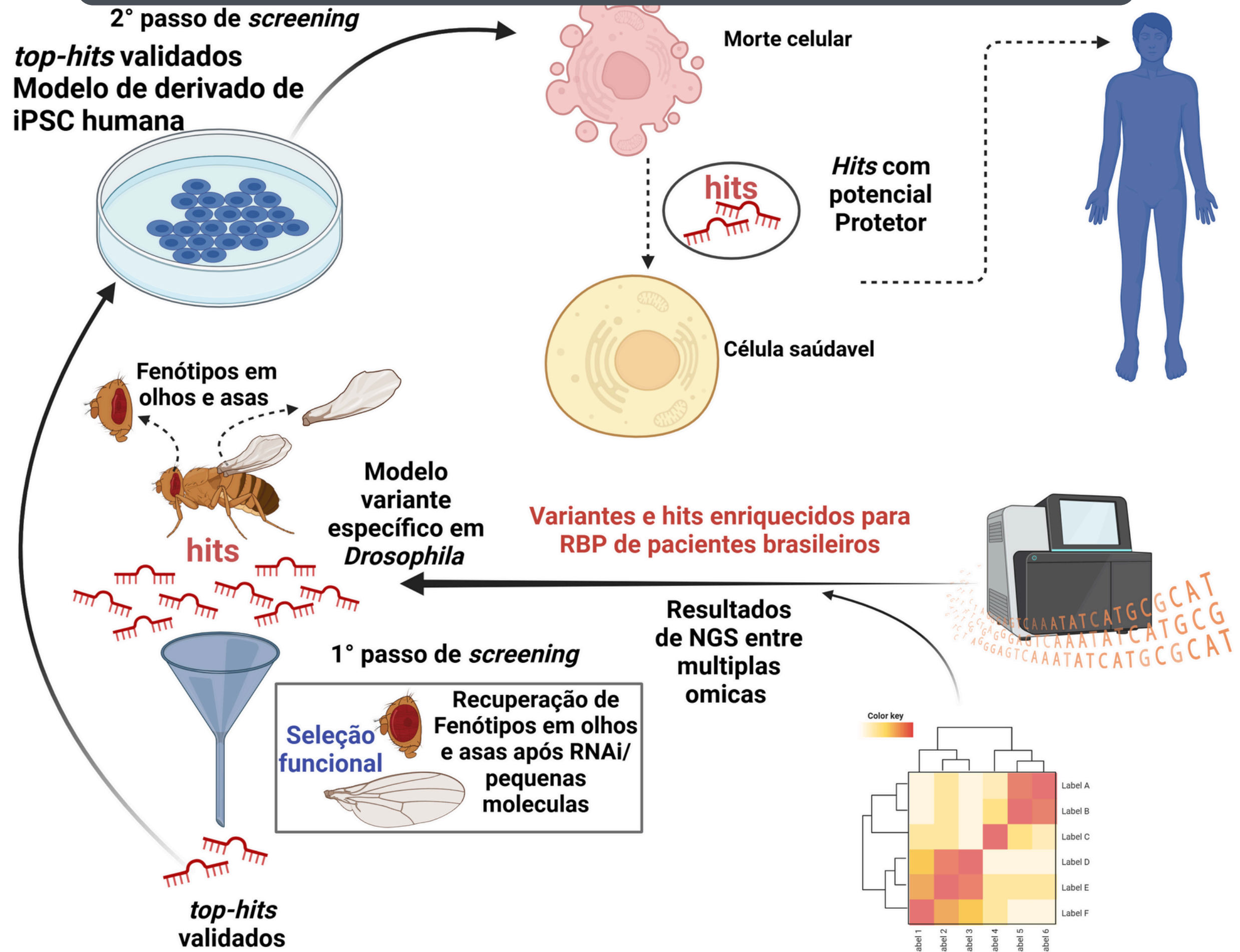
Julio et al., in prep.

Pós-Doutorado

What is structural base of the new missense *Tardbp* F194L mutation?

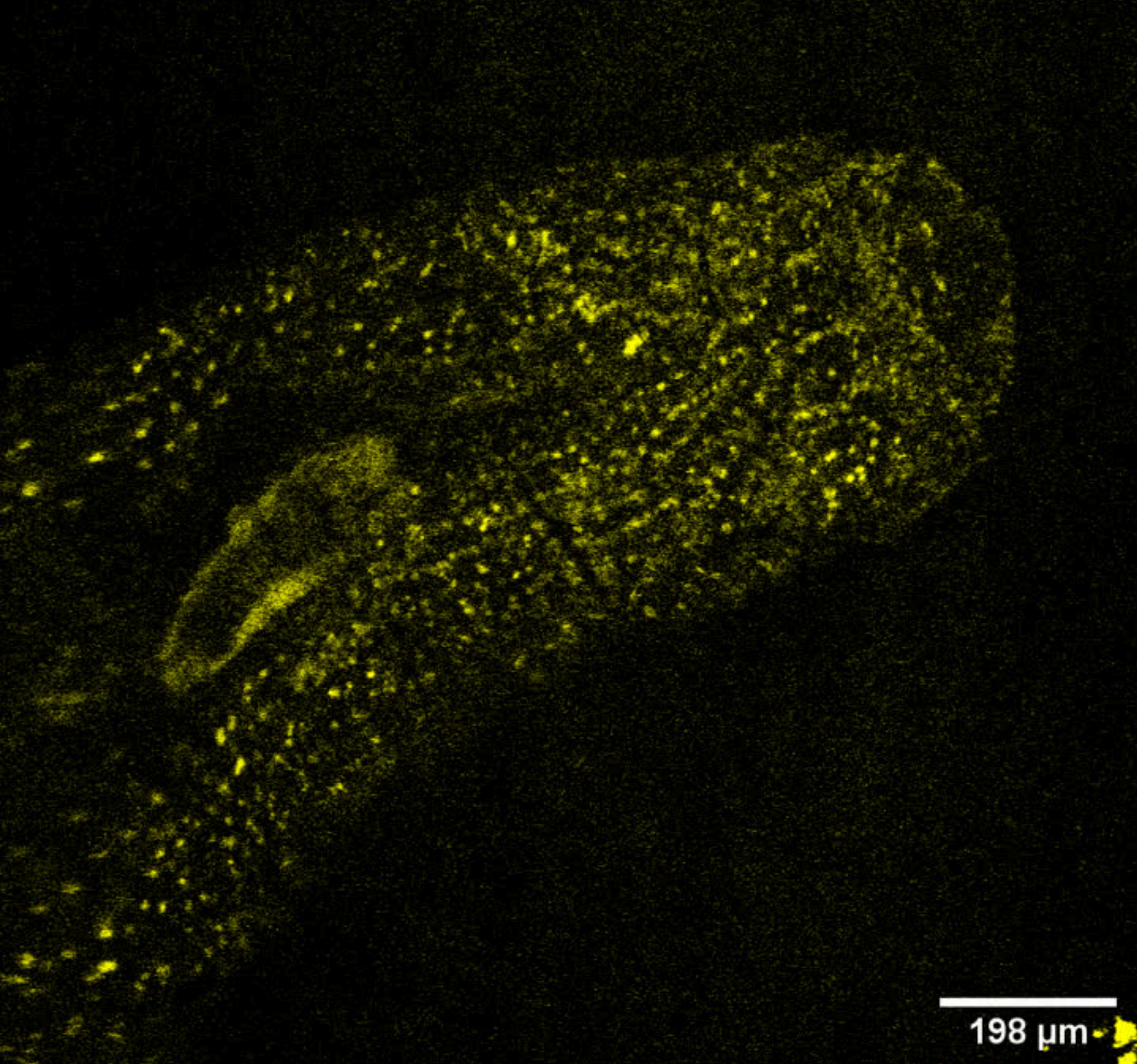


Abordagem para screening em larga escala para descoberta de genes com potencial terapêutico para patologias envolvendo RBPs



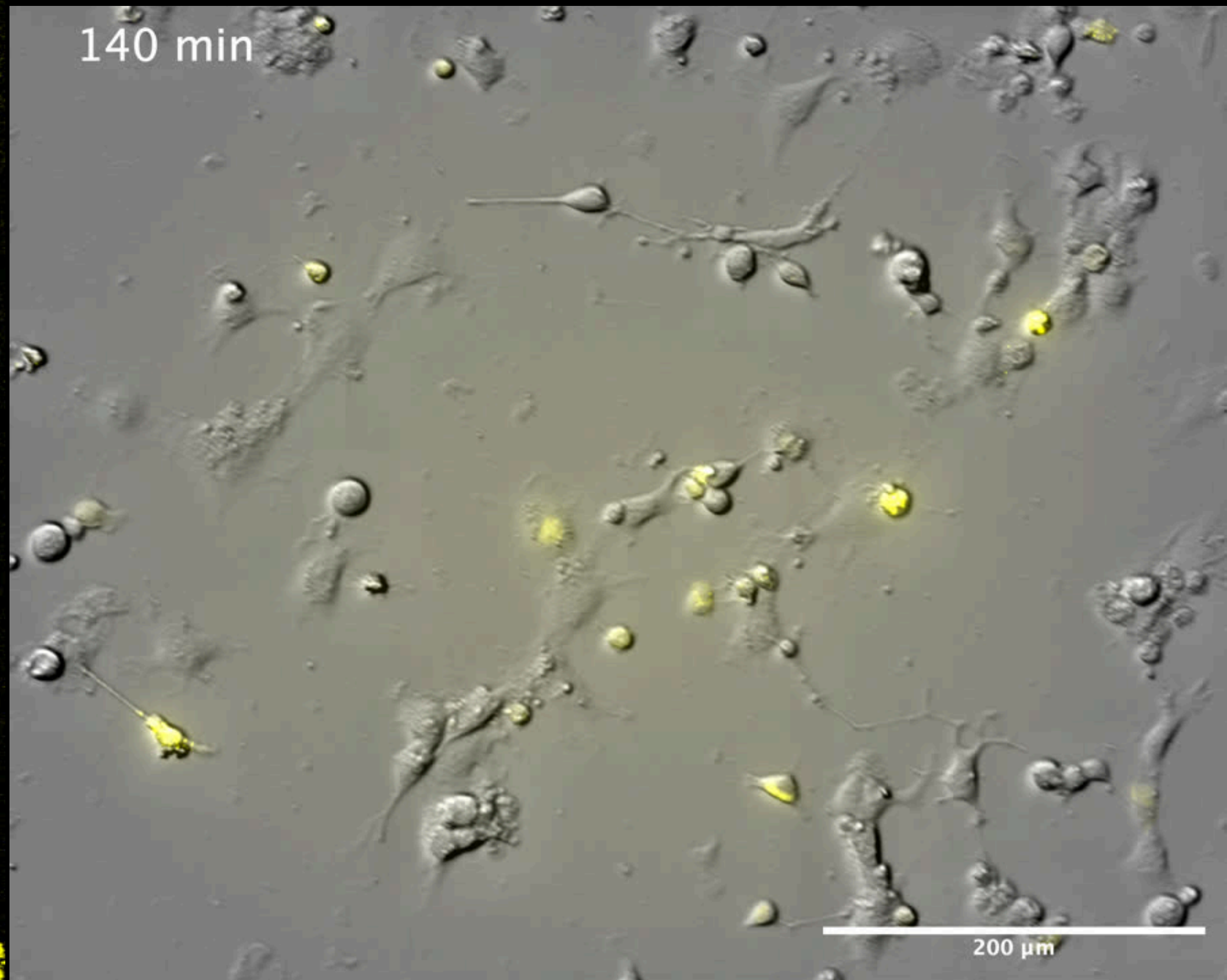
Larva de mosca produzindo proteína humana associada a Esclerose Lateral Amiotrófica

13 min



Células de doadores humanos produzindo proteína humana associada a Esclerose Lateral Amiotrófica

140 min



Human TDP-43 promotes eye degeneration

UAS-TDP-43-WT-YFP - III Chr



GMR-G4 - II Chr



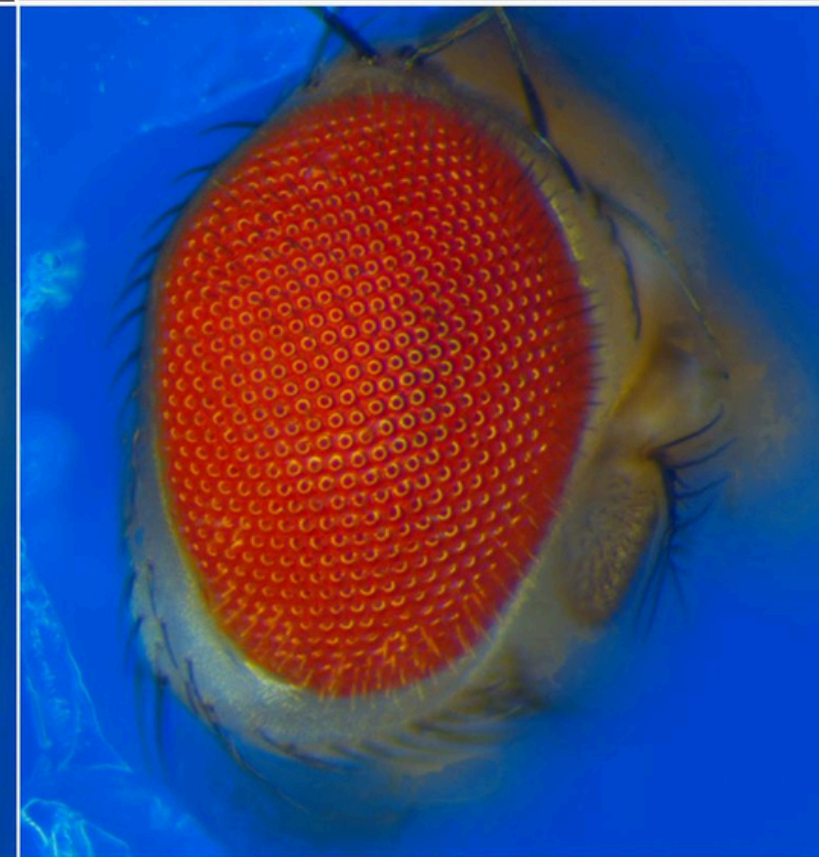
GMR-G4>UAS-TDP-43-WT-YFP
GMR-G4>UAS-TDP-43-WT-YFP



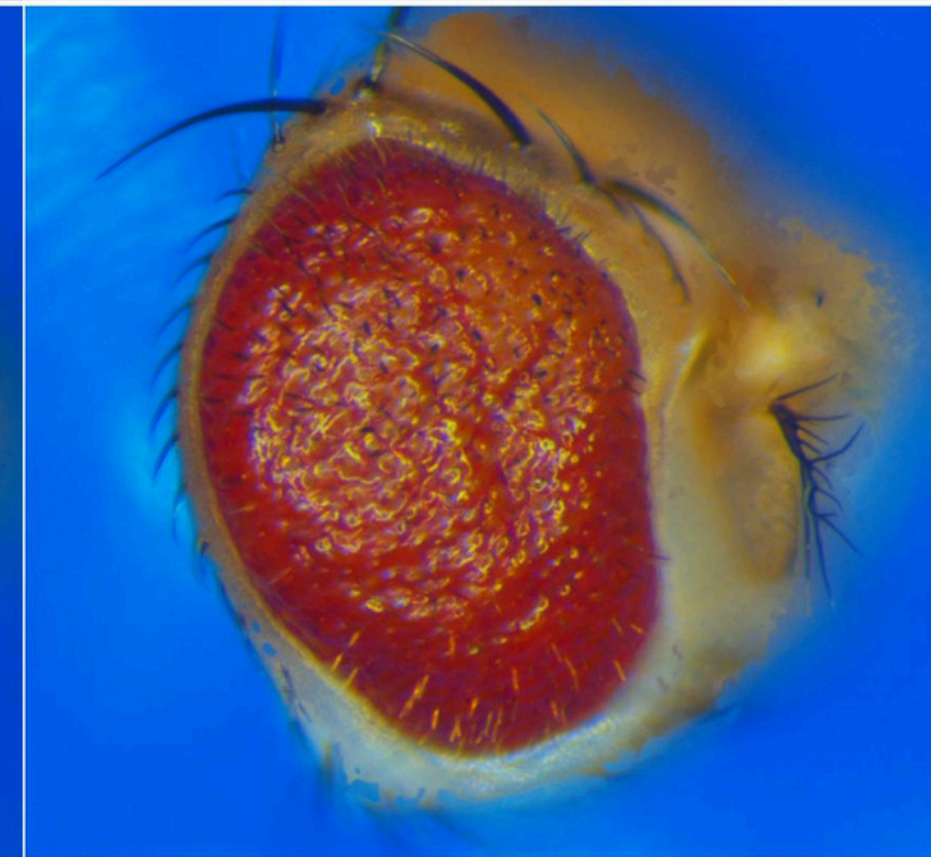
UAS-TDP-43-WT-YFP - III Chr



GMR-G4 - II Chr



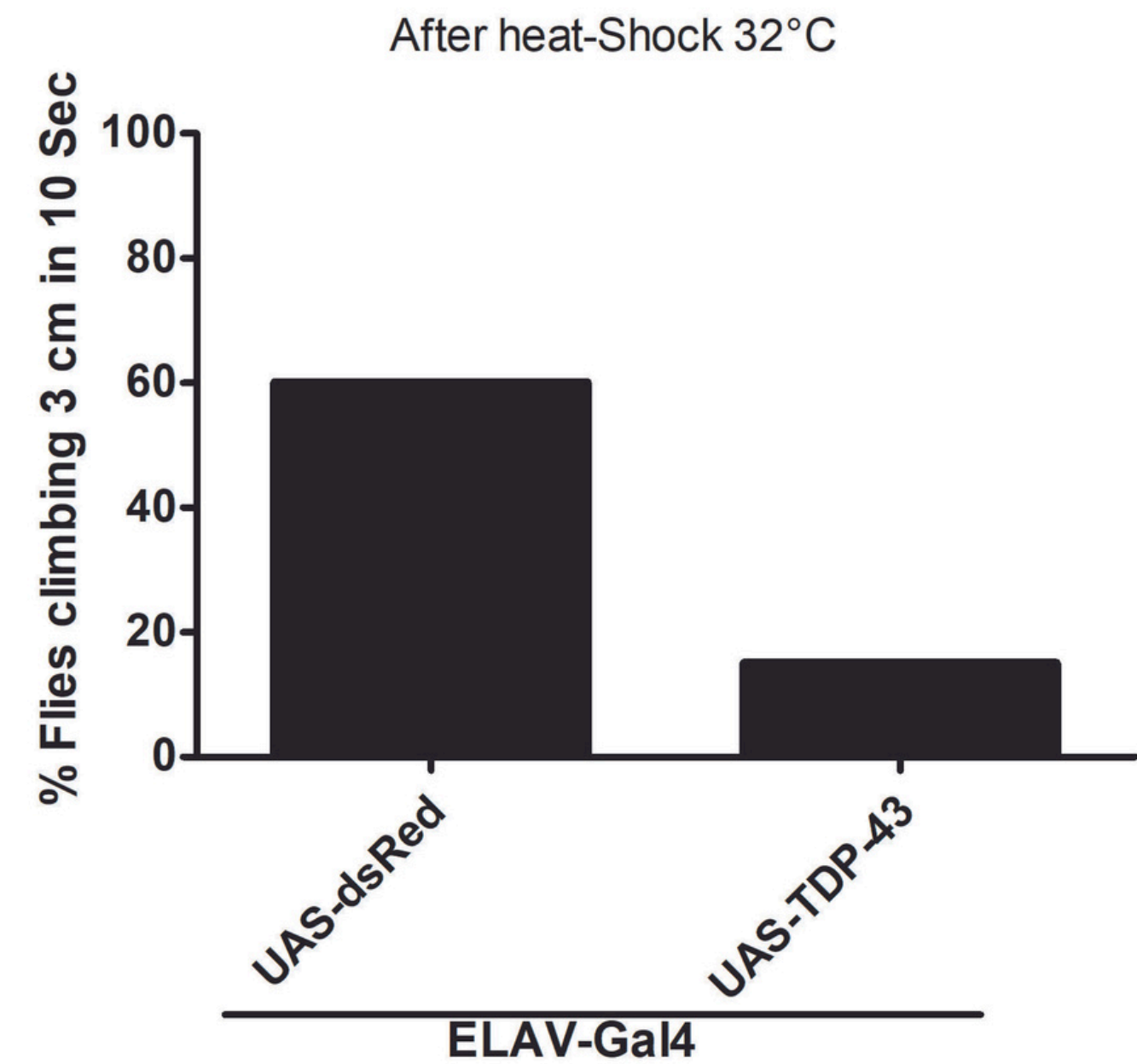
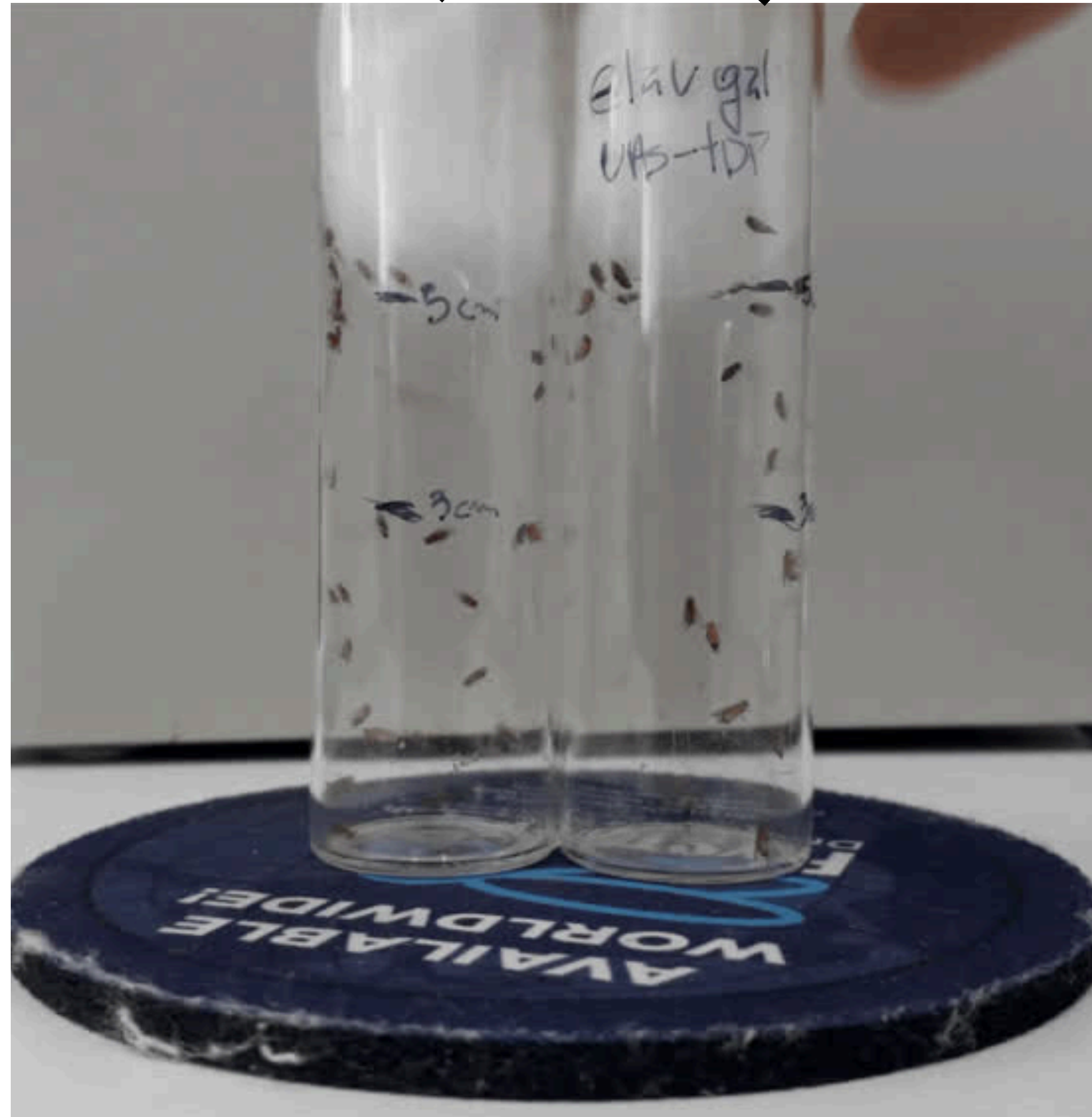
GMR-G4>UAS-TDP-43-WT-YFP
GMR-G4>UAS-TDP-43-WT-YFP



Pan-neuronal expression of hTDP43 affects fly mobility

Elav>UAS-dsRed

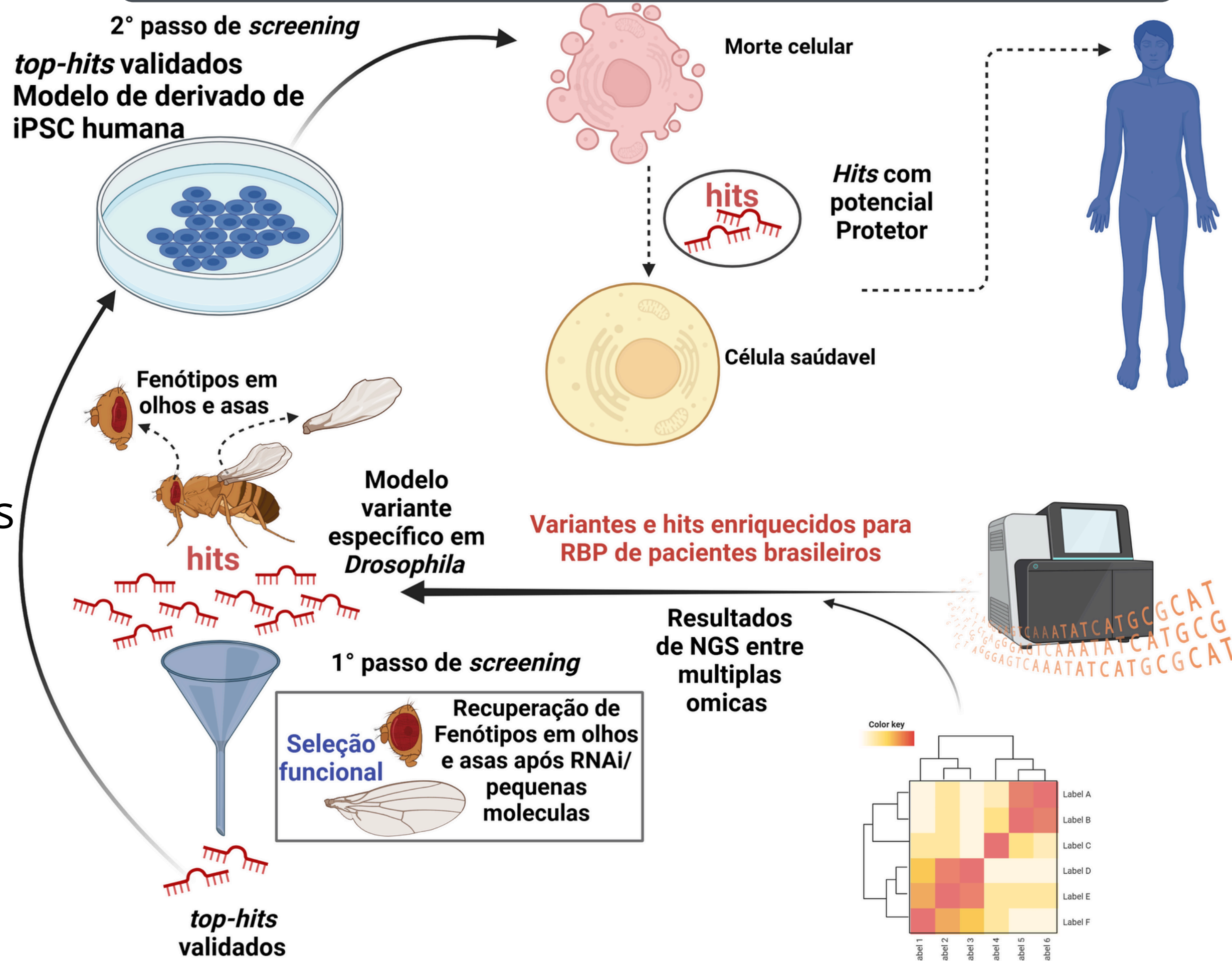
Elav>UAS-TDP43



Abordagem para screening em larga escala para descoberta de genes com potencial terapêutico para patologias envolvendo RBPs

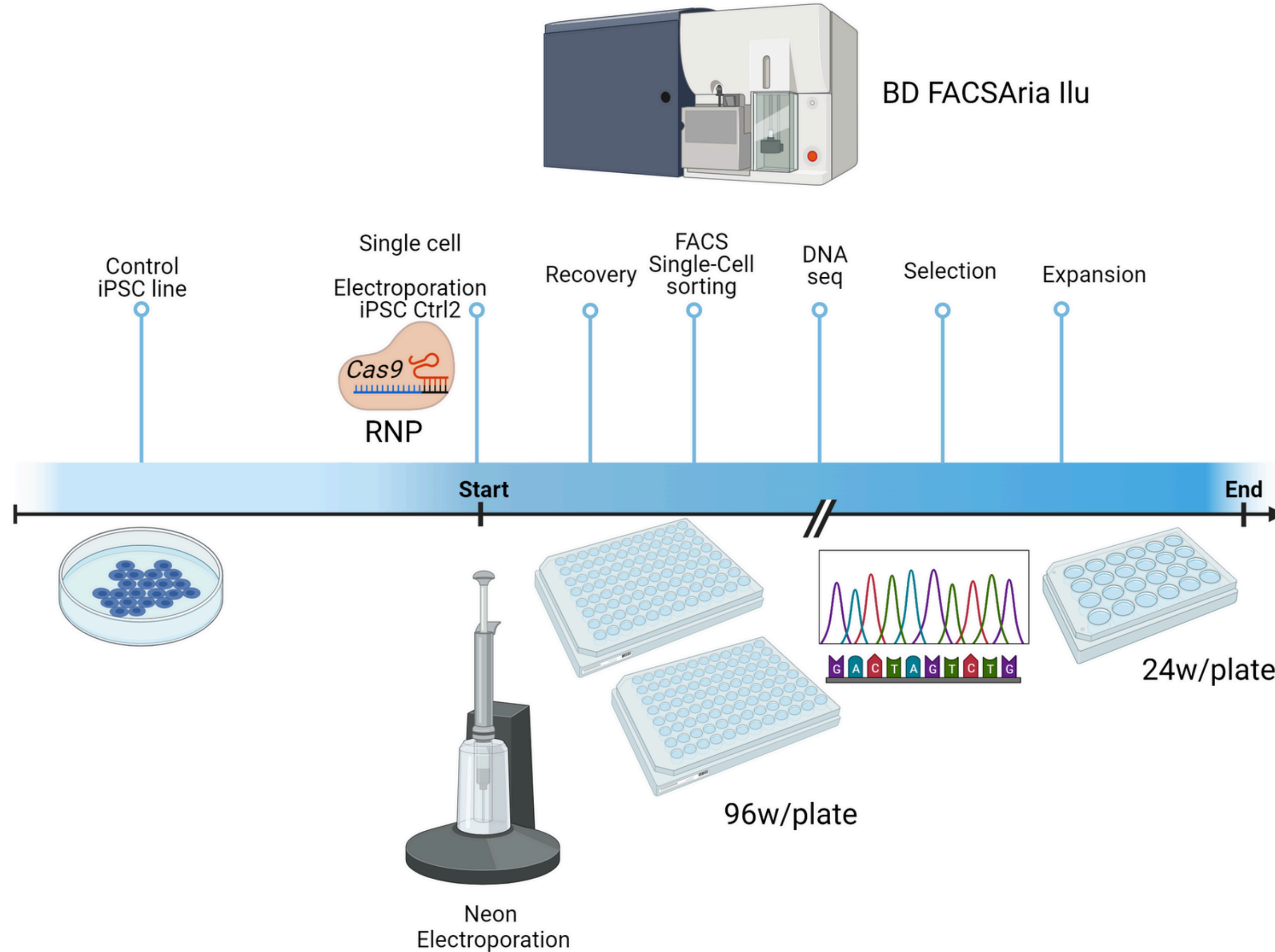


João Victor Loss



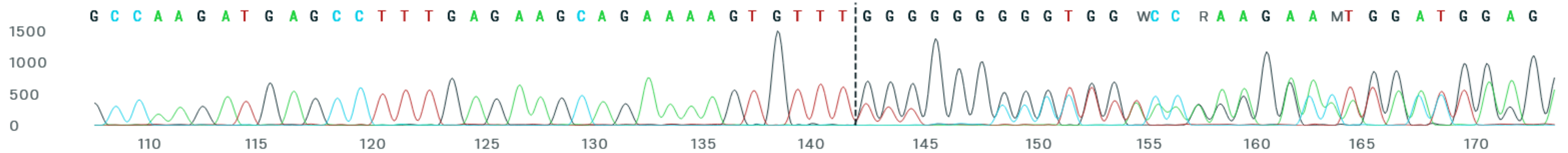
Caroline Moreira

Translating the fly findings to patient specific iPSC-derived cell lines

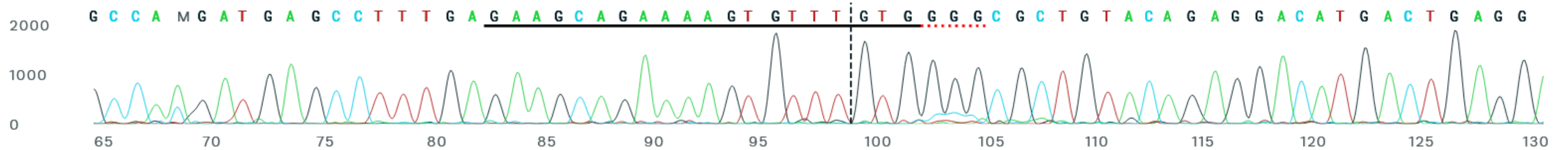


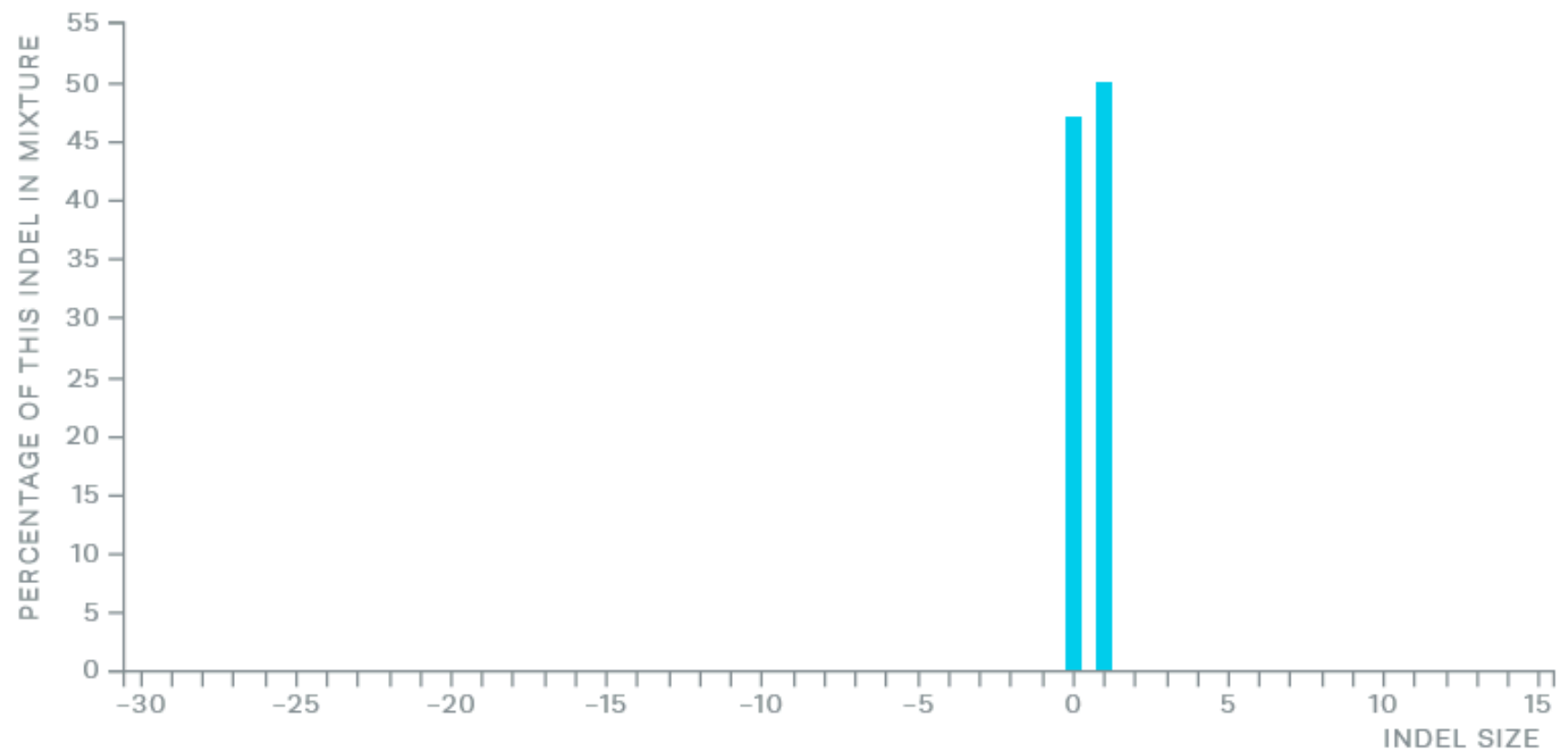
3 New heterozygous Tardbp clones - Isolated SC and expanded

EDITED SAMPLE 108 TO 173 BP



CONTROL SAMPLE 65 TO 130 BP





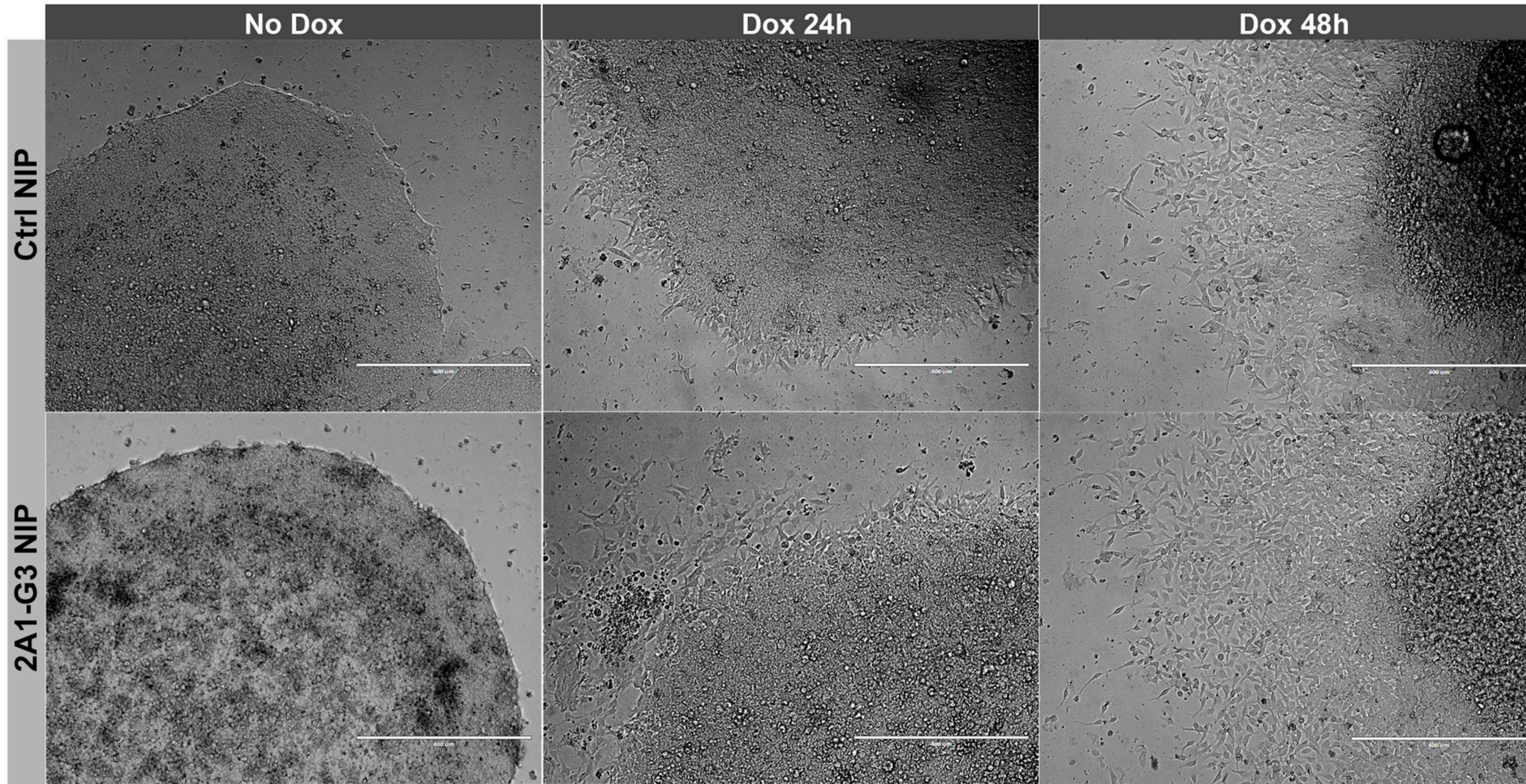
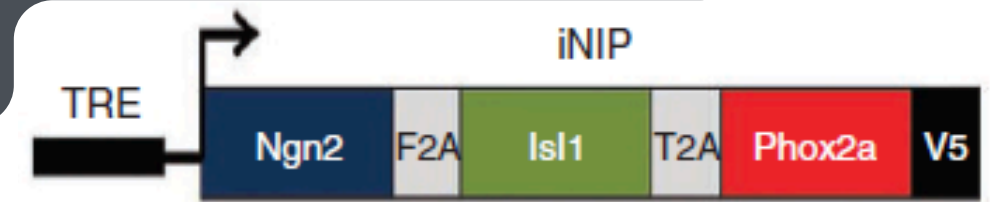
POWERED BY SYNTHEGO ICE

RELATIVE CONTRIBUTION OF EACH SEQUENCE (NORMALIZED)

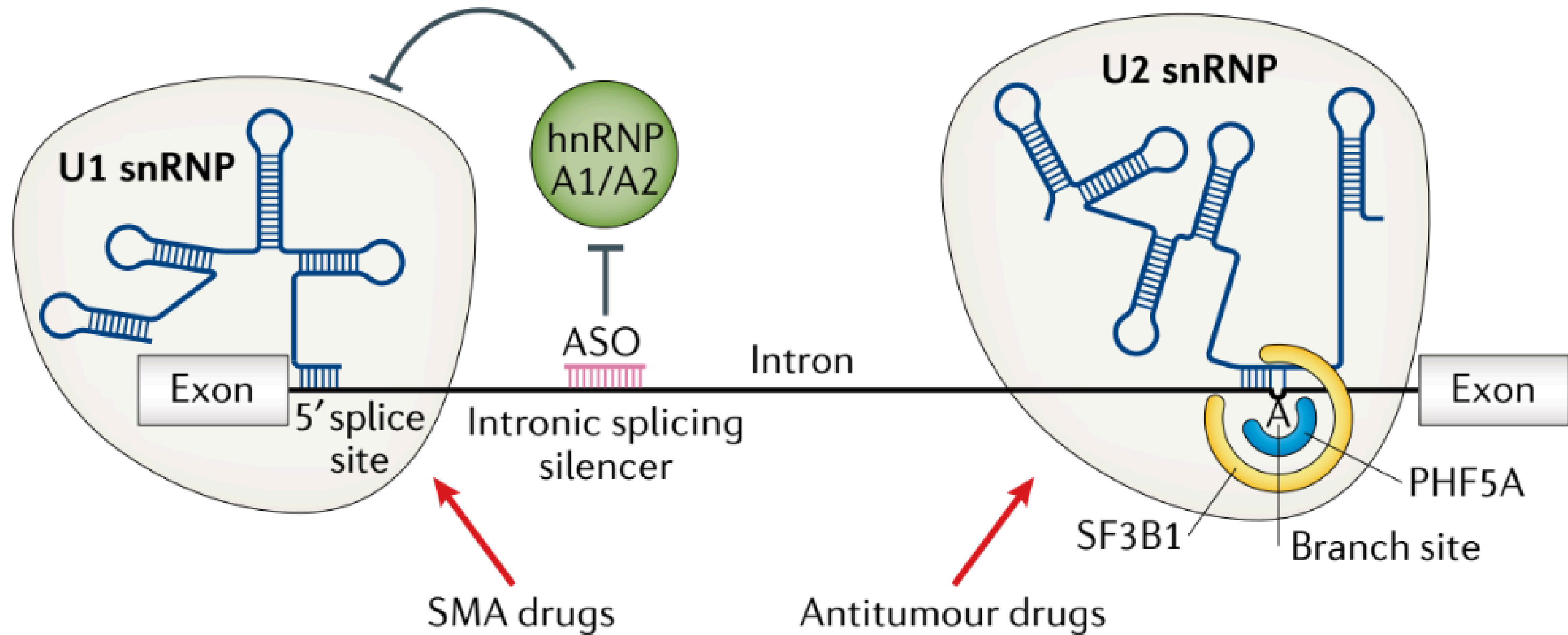
	INDEL	CONTRIBUTION	SEQUENCE
	+1	50%	G C C T T T G A G A A G C A G A A A A G T G T T T N G T G G G G C G C T G T A C A G A G G A C A T G A C T G A G G A T G A G C T G C G G G A G T T C T
+	0	47%	G C C T T T G A G A A G C A G A A A A G T G T T T G T G G G G C G C T G T A C A G A G G A C A T G A C T G A G G A T G A G C T G C G G G A G T T C T T

NIL and NIP transcription factors program spinal and cranial motor neurons, respectively

Objetiva 10X
Cultivo em Stemflex sem P/S



Multiomic applied to the discovery and validation of VUS, genes, and small molecules with therapeutic potential in a patient specific manner for precision medicine



Ensino no programa de graduação em Biologia celular e desenvolvimento

- Disciplinas obrigatórias do Programa de Biologia Celular e Desenvolvimento aplicando bioinformática para obtenção de insights com significado biológico.
 - Nova disciplina para graduação
 - Nova disciplina para pós-graduação
 - Contribuição para as disciplinas já existentes

Ensino

Ensino no programa de graduação em Biologia celular e desenvolvimento

- Disciplinas obrigatórias do Programa de Biologia Celular e Desenvolvimento

Editais UFRJ nº 72, de 02 de Fevereiro de 2024
Processo Seletivo Simplificado para Professores Substitutos

Instituto de Ciências Biomédicas Programa de Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento. Área: Biologia Celular e do Desenvolvimento

Centro: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Unidade: INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Departamento: PROGRAMA DE GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E DO DESENVOLVIMENTO

Setor / Área: BIOLOGIA CELULAR E DO DESENVOLVIMENTO

Código da Opção de Vaga: PSS-020

Aprovado e convocado

Ensino

Ensino de bioinformática no programa de Biologia celular e desenvolvimento

Compreendendo a biologia celular e do desenvolvimento pelas lentes da bioinformática

- Proposta de nova disciplinas: Aplicando a bioinformática nas ciências biomédicas: insights de relevancia terapeutica

Método de ensino ativo e híbrido

Abordagens computacionais e práticas de programação

Exploração de banco de dados:

BiológicosDesenvolvimento de Algoritmos:

Ensino de bioinformática na pós-graduação dentro do ICB

Compreendendo a biologia celular e do desenvolvimento pelas lentes da bioinformática

- Proposta para novas disciplinas para pós-graduação:

Mecanismos pós-transcricionais para expansão de complexidade celular

Bioinformática aplicada a Multi-ômica

- Contribuição para as disciplinas já existentes:

BMM-707 – Biologia Molecular e Genômica Funcional

BMM-741 – Mecanismos de splicing alternativo em tumores

BMM-762 – Bioinformática básica

BMM-788 – The Next Generation Sequencing

Extensão

**Buscar financiamento para a produção de Dorô II - a mosquinha bioinformata
Identificando doenças genéticas hereditárias usando ferramentas de biologia molecular**

Continuar atuando na divulgação científica em conjunto com o
Espaço Memorial Carlos Chagas Filho



Inovação

Convergência de métodos em bioinformática com engenharia genética para descoberta de

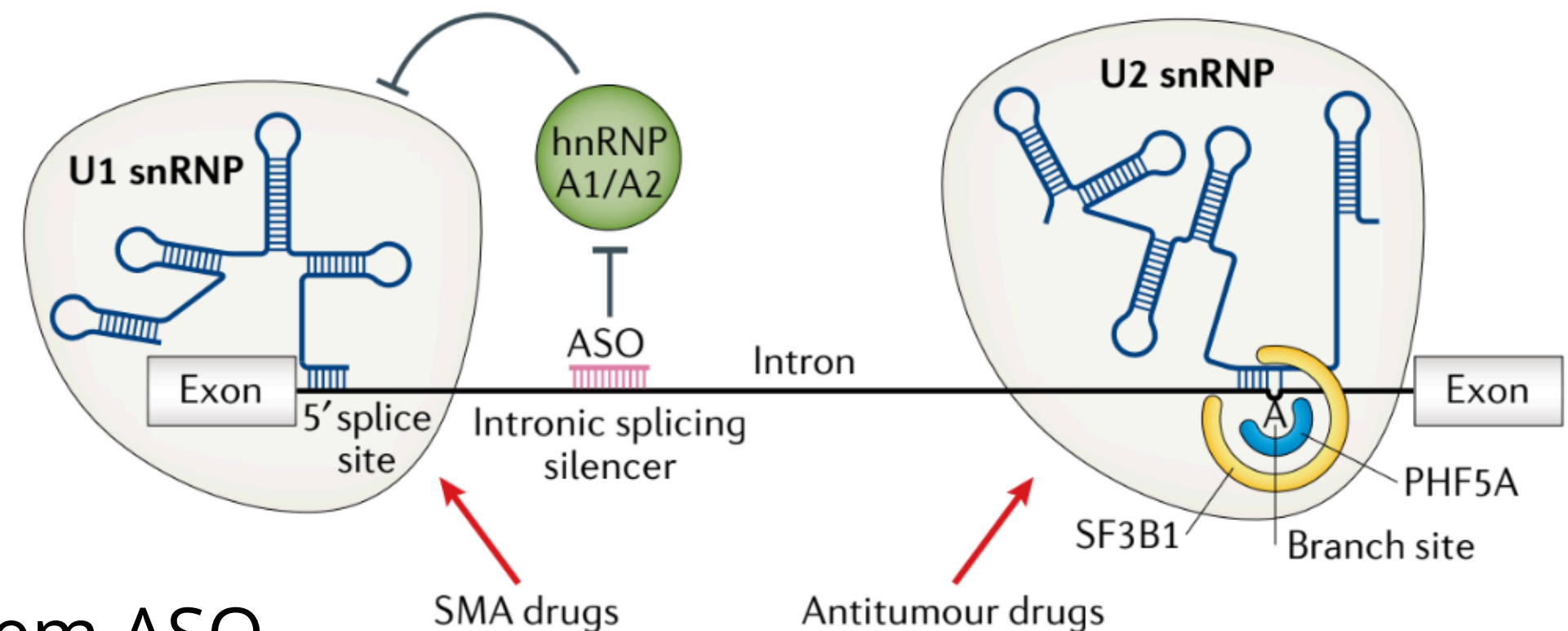
alvos e moléculas para potenciais terapias em doenças genéticas usando a

Abordagem From Fly to Human
Alto valor agregado

Transferência de tecnologia de novas moléculas

Reposicionamento de drogas

Alelos específicos para terapia baseada em ASO





Fly2Human

Plataforma biotecnológica

para rastreamento genético funcional

**Acelerando a entrega de soluções translacionais aplicadas à
emergências de saúde pública que possuem base genética**

Importância da relação entre uma variante e o fenótipo de uma doença

busca de variantes
Empresas e labs de Sequenciamento

Genomas ✓

\$100 - 200 por
genoma humano

**Amostra de DNA de
um paciente**



Nova Variante
gênica



**Qual a relevância
da variante?
Mais Patogênica?**

**É necessário mais que
Sequenciamento de DNA**



Empresas farmacêuticas

Nossa Solução

Supera limitações das abordagens atuais para validar novas variantes

1

Validação de
variante
de risco
Ferramentas
Genômicas

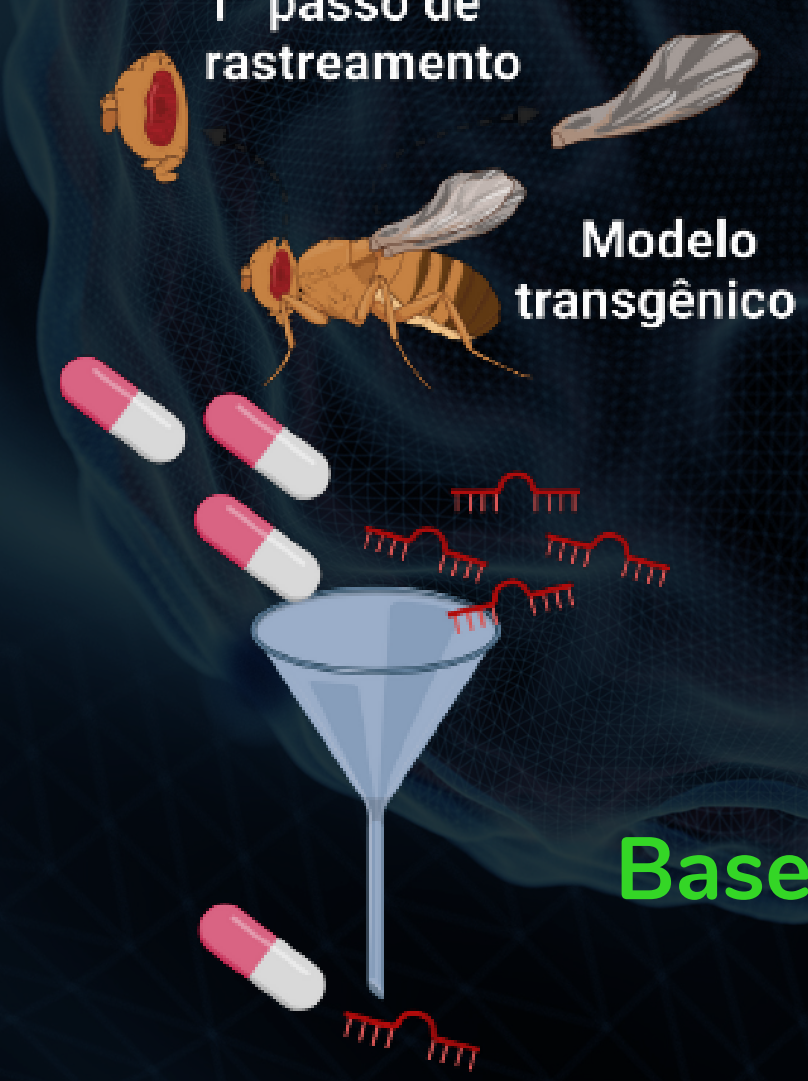


Busca de dados
A.I e Machine Learning

2

Geração de
modelo
Drosophila

1º passo de
rastreamento

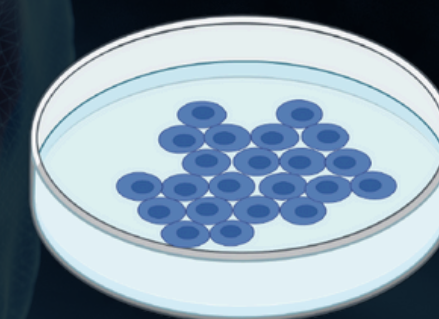


Modelo
transgênico

Alvos
validados

3

Geração de
modelo em
células de
pacientes



Alvos com
potencial
protetor



Baseada em conservação

Provas de conceito (POC): nova variante gênica encontrada em paciente com uma doença rara (ELA)

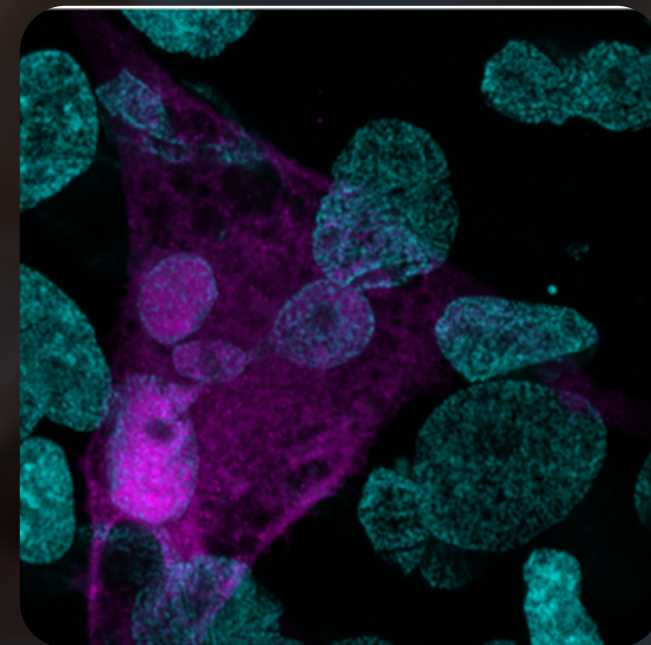
Paciente (ELA), masculino, óbito aos 58 anos



imagem ilustrativa

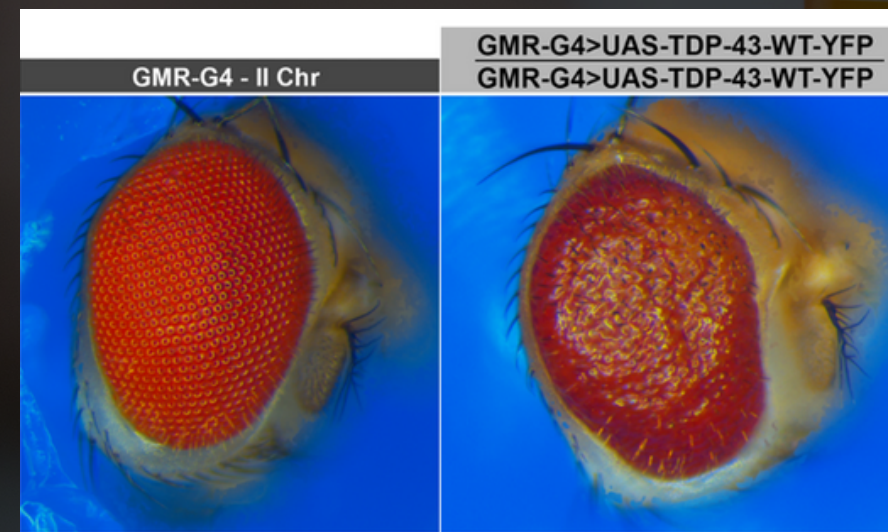
Modelos de precisão - paciente específico

POC 1



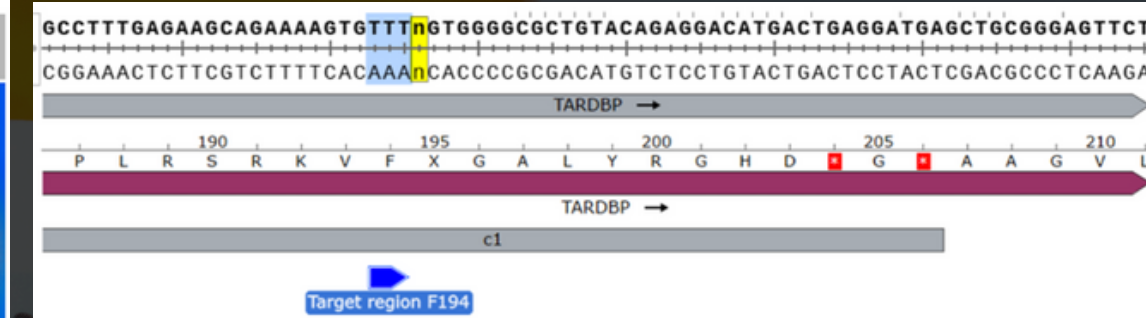
Proteína modificada

POC 2



Drosophila
1º mutante obtido

POC 3



Células iPSC derivada paciente editada obtidas

Lab. Genética Humana (IOC/Fiocruz)
Lab. Neurobiologia Celular e Molecular (UFRJ)

Timeline

Tração



Maturação
Prova de conceito:
Esclerose Lateral
Amiotrófica (ELA)

Colaborações



Colaborações
Doenças genéticas
raras (IOC/FIOCRUZ) e
Instituto Deolindo
Couto

**Biominas
BRASIL**



Selecionado

INOVA-SVS-FIOCRUZ

TLR3/TLR4

POC 1

POC 3

INOVA-UFRJ

COPPE-UFRJ

TLR4

2021

2022

2022

2022

2023

2024

2024

POC 2

Editais subvenção



Fase 3



Fly2Human

Capacidade de atração de recurso próprios



Governo do Estado do Rio de Janeiro
Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
Presidência

TERMO DE OUTORGA E ACEITAÇÃO DE AUXÍLIO

TERMO DE OUTORGA E ACEITAÇÃO DE AUXÍLIO
Nº DO PROCESSO SEI-260003/011215/2024 - ADT 1 Nº DE MATRÍCULA 2018.05688.8
Ref. Proc. E-26/290.012/2024 Parcela Única
Deliberação: 2024/6442

PROGRAMA E_17/2023 - PROGRAMA "DOUTOR EMPREENDEDOR: TRANSFORMANDO CONHECIMENTO EM INOVAÇÃO - 2023"
PROJETO Fly2Human - Plataforma biotecnológica para rastreamento genético funcional
OUTORGANTE Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
OUTORGADO Alison Henrique Ferreira Julio

PLANO DE APLICAÇÃO

CUSTEIO	70.000,00	
Serv. Terc. Pessoa Jurídica		10.750,00
Mat. Consumo Nacionais		57.623,00
Despesas com a manutenção de rotina		1.627,00
TOTAL		70.000,00

PRAZO DE EXECUÇÃO DO PROJETO: 24 (vinte e quatro) meses a contar do depósito da última parcela do fomento na conta bancária do Outorgado.

Caso o Outorgado pretenda solicitar a prorrogação deverá ser apresentado com antecedência mínima de 30(trinta) dias.

RELATÓRIO TECNICO-CIENTÍFICO e PRESTAÇÃO DE CONTAS: Deverão ser enviados no prazo máximo de 60 (sessenta) dias a partir do término do prazo total de execução do projeto.

Ao término do projeto, se houver saldo remanescente na conta corrente, o Outorgado deverá devolver o valor à FAPERJ mediante o pagamento da GRE - Guia de Recolhimento Estadual, obtida no site da Secretaria de Estado de Fazenda do Estado do Rio de Janeiro (<http://www.fazenda.rj.gov.br/>).

Termo de Outorga de Aceitação de Auxílio Financeiro

Inserção no mercado



INCUBADORA
DE EMPRESAS
COPPE/UFRJ

Da ideação ao primeiro cliente

Primeiro cliente - Lab UNESP -Jaboticabal

**Orientações ligadas a Fly2Human - demonstrando habilidades de
gerir recursos financeiros e formação de recursos humanos
conectando Empresa - Universidade**



Giulia Lavouras



Lucas Mello



Ana Luiza Delorenzi

Nothing in Biology makes sense except in the light of Evolution.

Theodosius Dobzhansky. 1973

The American Biology Teacher, 35:125-129

Nothing *Little* in Biology makes sense except in the light of ~~Evolution~~ *Structure*.

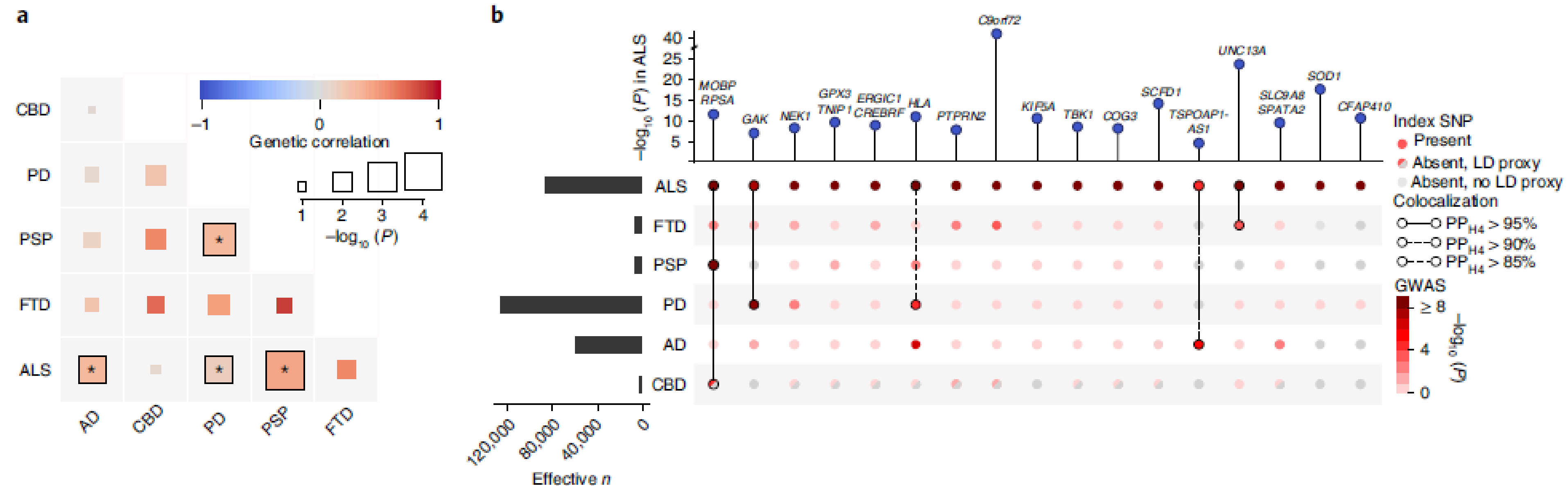
Ernest Fraenkel. 2014

7.91J, Spring 2014. Foundations of Computational and Systems Biology.

Little in Biology makes sense except in the light of *Structure and Function*.

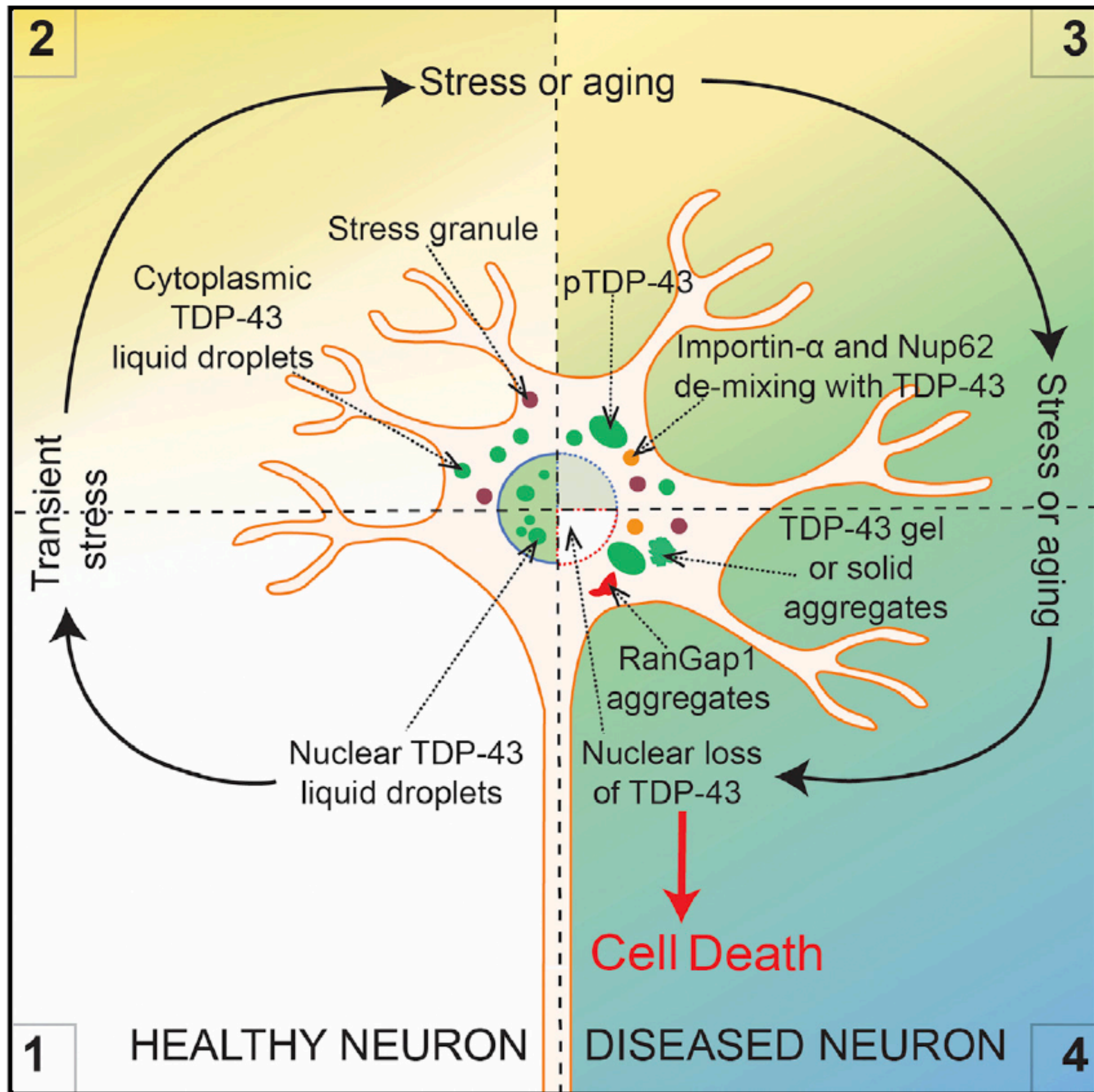
Claudia dos Santos Mermelstein. August 12, 2022.

Shared genetic risk between ALS and neurodegenerative diseases.



progressive supranuclear palsy (PSP)

corticobasal degeneration (CBD)



PolyQ Size matters

