

Rodrigo Lucas de Faria



Formação

Graduação em Química Com Ênfase em Bioquímica e Biologia Molecular pela Universidade de São Paulo (2016). Atualmente é aluno de doutorado direto do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas com ênfase em Bioquímica pela Universidade de São Paulo (USP) sob orientação da Prof.^a Dr.^a Sayuri Miyamoto.

Ramos de Pesquisas

1-Análises de formação de produtos de oxidação de lipídios e o remodelamento lipídico em modelos celulares sob estresse oxidativo por análises “ômicas” com foco em lipidômica por UPLC-Q-TOF-MS.

2-Mediação de aldeídos de cadeia longa por CG-MS, HPLC-Fluorescência e LC-MS/MS.

3-Mecanismo de Oxidação de Plasmalogênios(fosfolipídios que possuem uma ligação do tipo éter vinílico na posição sn1 do glicerol).

Meus exercícios

[Exercícios resolvidos](#)

Trabalho final

Plano A

Descrição e contextualização

Lipídios são biomoléculas caracterizadas por serem muito solúveis em solventes orgânicos e pouco solúveis em água. São conhecidos principalmente por serem componentes de membranas, mas também possuem funções de sinalização e antioxidante. Há mais de 40 mil lipídios conhecidos ao longo de 8 classes principais e dezenas de subclasses diferentes.(lipidmaps) Devido à baixa quantidade em massa e grande diversidade de lipídios em sistemas biológicos, o principal método de análise global é por espectrometria de massas de alta resolução .Atualmente é possível acompanhar de forma global mais de 300 lipídios por amostra biológica.Com isso, um grande número de dados são gerados e a organização manual é demorada e repetitiva, assim sendo susceptível a erros humanos e comprometendo a qualidade dos dados. Dentro deste contexto, a função irá organizar os

dados automaticamente, passando por todas as etapas necessárias. Inicialmente a função deverá unir os valores dos lipídios iguais que são ionizados de forma diferentes. Pois na espectrometria de massas, o lipídio é identificado na forma de íon e a ionização pode ocorrer de diferentes formas, por exemplo a fosfatidilcolina pode ionizar de quatro formas diferentes. Além disso, para dá um valor quantitativo para cada lipídio analisado é feito a normalização por um padrão interno (IS) correspondente, mas por questões técnicas nem sempre são utilizados IS da mesma subclasses, então são utilizados de outra subclasse, por exemplo para fosfatidilinositol é utilizado o IS de fosfatidilcolina. Para uma maior precisão analítica, as análises são feitas principalmente em triplicatas. Então como resposta a função deve fazer um arquivo de planilha que contenha as médias e desvio padrão das triplicatas, caso não seja triplicata, a função deve fazer um arquivo que contenha os valores dos lipídios normalizados por amostra.

Ref:http://www.lipidmaps.org/resources/tutorials/lipid_tutorial.html#L

Exemplo:

Arquivo de entrada:[Inicial](#)

Arquivo de saída:[Final](#)

Função:

```
omics.process(input,method,n, group,triplicate)
```

Argumentos:

input = data frame que contenha os dados de lipidômica em três colunas: 1ª Amostra, 2ª Lipídio e 3ª valor da quantificação do lipídio.

Method = “pos” ou “neg”, determina qual foi modo de identificação, positivo ou negativo.

n = número inteiro, remete ao número de amostras.

group = vetor contendo os nomes dos grupos de amostras, ex: c(“controle”, “tratamento 1”, “tratamento 2”).

TriPLICATE = TRUE ou FALSE, caso seja em triplicata, resultará arquivos que contenham os valores de cada réplica com média e desvio padrão por grupo. Caso não seja, resultará um arquivo único com os valores de amostra.

Pseudocódigo:

1-Checar as classes dos argumentos.

2-Verificar se há NA no input.

3-Separar as amostras no data frame input em diferentes data frame contidos em uma lista A.

4-Para cada data frame da lista A

- a.Juntar lipídios iguais, mas ionizados de forma diferente.
- b.Fazer um novo objeto contendo os padrões internos (IS) e removendo-os do data frame original.
- c.Normalizar as áreas dos lipídios com a área dos respectivos IS e dependendo do modo escolhido, "pos" ou "neg".

5-Juntar as triplicas de um mesmo grupo de amostras em um mesmo data frame e salvar em uma lista B.

6-Calcular as médias e desvios padrões dos lipídios de cada grupo de amostras.

7-Salvar os data frames das listas A em formato .csv em uma nova pasta chamada "Inicial" e lista B em uma nova pasta chamada "Final".

Plano B

Descrição e contextualização

Análises por LC-MS/MS geram espectros de fragmentação de moléculas de interesse, sendo fragmentação bem específica para cada tipo de molécula ionizada, desta forma, sendo possível a identificação de diferentes tipos de biomoléculas, desde proteínas até metabólitos.

Os softwares de identificação de lipídios por MS/MS são recentes, então a revisão manual deve ser feita para uma melhor qualidade dos dados, principalmente para os lipídios com score baixo (nota de quão parecidos são em relação ao esperado), muitos vezes causados pela coeluição de isóbaros (lipídios semelhantes e com massa igual).

Um dos maiores problemas para quem está aprendendo é a saber como seria o padrão de fragmentação de MS/MS de lipídios dependendo das subclasses e cadeias laterais. Para resolver esse problema, a função irá fazer um gráfico que simule um espectro de MS/MS teórico para esfingolipídios e fosfolipídios em modo negativo, pois essas classes são as principais componentes de membrana. Como ilustrado no figura abaixo.



Função:

mass.esp(polarhead, SN1, SN2)

Argumentos:

polarhead = caracteres contendo a subclasse de lipídio, ex: fosfatidilcolilana = PC, fosfatidil inositol =

PI,

SN2 = caracteres contendo o tipo de cadeia esterificada na posição SN2 do glicerol ou a cadeia amida de esfingolípídios, exemplo: 18:1, dizendo que há uma cadeia de 18 carbonos e 1 insaturação.

SN1 = caracteres contendo o tipo de cadeia do glicerolípídio, como: aracdônico = 20:4, ou o tipo de esfingosina, como: d18:1.

Exemplo:

Para 1-Palmitoyl-2-oleoylphosphatidylcholine (POPC)

mass.esp(PC,16:0,18:1)

Pseudo código

1-determinar classe

2-fragmentos esperados salvar em MZ

I- caso seja PL, os fragmento serão respectivos:

- a.Cadeia SN1
- b.Cadeia SN2
- c.Cabeça polar, depende da classe de fosfolípídio.
- d.Lisos, perda de SN1 ou SN2

II-Esfingolipídios outros

- a.Esfingosina
- b.Cadeia amida
- c.Açúcares, se tem ou não.
- d.Cabeça polar, depende da classe de esfingolípídio.

5- Intensidades esperadas pela classe lipídica

8-Abrir uma janela com o espectro teórico.

— [Alexandre Adalardo de Oliveira](#) 2018/05/18 11:22 Oi Rodrigo,

Siga com a proposta A. A explicação está um pouco confusa, não entendi direito como as triplicatas entram na função (elas são registros diferentes nos dados de entrada?). Tb não entendi o alguns dos procedimentos que sugere. De qq forma, consegui vislumbrar o que será feito olhando as planilhas exemplos de entrada e saída. É uma tarefa simples, mas como seu tempo ficou restrito por conta de uma atraso nosso, vamos deixá-la desse jeito mesmo.

Função

input

From:

<http://ecor.ib.usp.br/> - **ecoR**

Permanent link:

http://ecor.ib.usp.br/doku.php?id=05_curso_antigo:r2018:alunos:trabalho_final:rodrigo_faria:start 

Last update: **2020/08/12 06:04**