



O MAPA DA MINA: ENTENDENDO O MAPEAMENTO GÊNICO

Leonardo Pires Capelli e Rafaella Maria Pessutti Nascimento

Laboratório de Genética Humana, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.

Email: leocapelli@hotmail.com

Palavra-chave: mapeamento gênico

Resumo

A atividade “O mapa da mina: entendendo o mapeamento gênico” é um recurso didático que possibilita a simulação da investigação científica sobre o funcionamento celular de um gene e sua identificação. Através da representação de um condomínio de casas e de seus moradores, faz-se uma associação com a célula eucarionte considerando-se algumas situações. Supõe-se que os moradores são funcionários de uma mesma empresa que procuram manter o equilíbrio e o bom funcionamento da fábrica. Assim, por analogia, durante o desenvolvimento da atividade, o professor pode propor diferentes situações atribuídas que interferem no bom funcionamento da célula, tentando torná-la semelhante à atividade de um cientista da área de genética humana, que busca identificar diversos tipos de genes e suas funções específicas.

Introdução

Os genes são responsáveis por codificar proteínas com funções específicas num organismo. Se a função exercida pela proteína correspondente a um determinado gene não é realizada, ou é realizada de maneira incorreta, o resultado pode ser prejudicial ao organismo. Os avanços na tecnologia do DNA recombinante, iniciados a partir da década de 80, aliados ao seqüenciamento do genoma humano, realizado no início do século XXI, permitiram um rápido progresso na identificação de genes (Strachan e Read, 2004).

O mapeamento de genes em locais específicos dos cromossomos é o foco central da genética humana/médica. Ele proporciona o conhecimento sobre a posição de um gene e sua região adjacente, permitindo o entendimento de suas relações com o restante do genoma. As abordagens para escolha de potenciais genes

candidatos dependerá: (1) de um grande conjunto de informações obtidas previamente ao início das análises e; (2) de algumas considerações técnicas, dependentes de cada caso analisado.

O conjunto de informações prévias é obtido por meio de uma detalhada identificação clínica do fenótipo dos afetados e levantamento dos demais membros constituintes da família de interesse. Estabelecido o fenótipo, as abordagens técnicas para o mapeamento do suposto gene em uma região com limites definidos tornam-se imprescindíveis (Passarge, 2004). Para a identificação dos genes ao longo dos cromossomos, pode-se utilizar o mapeamento genético clássico ou o mapeamento físico/posicional.

No mapeamento genético, a frequência de *crossings* entre locos distintos é utilizada para determinar a distância relativa entre eles. Essa idéia é contrária ao princípio da segregação independente de Gregor Mendel, que postula que os “fatores” (genes) são transmitidos à geração seguinte independentemente uns dos outros. No entanto, Mendel não tinha conhecimento de que esses “fatores” responsáveis pelas características se localizam em cromossomos, e aqueles muito próximos, ditos ligados, não obedecem ao princípio da segregação independente. Para a análise por mapeamento genético é necessário que os alelos dos genes estudados estejam em heterozigose, pois somente assim a frequência de *crossing* pode ser estimada. Entretanto, no caso de os alelos de um dos genes estudados estar em homozigose, pode-se contornar essa dificuldade por meio da utilização de marcadores, ou seja, qualquer caráter mendeliano polimórfico que pode ser utilizado para seguir um segmento cromossômico em uma genealogia. Entre os marcadores moleculares mais utilizados para estudos de ligação estão os microssatélites e minissatélites, que são pequenas unidades repetitivas de nucleotídeos al-

tamente polimórficas na população e que favorecem a heterozigose dessas regiões no portador. Mais recentemente vêm sendo utilizados também polimorfismos de sítio único (SNPs) nas análises de ligação para avaliação de genes candidatos a doenças. As estimativas das frequências de recombinação, ou seja, a distância relativa entre dois alelos, ou a distância relativa entre alelo e marcador, são obtidas observando-se a transmissão dessas regiões dentro das famílias. A fase de ligação, ou seja, a disposição dos alelos e marcadores em cada cromossomo é que vai determinar como e quão distantes os diferentes genes estão nos cromossomos. No estudo de uma doença genética utilizando marcadores moleculares, a ligação não aleatória entre um dos alelos do gene candidato e um determinado polimorfismo do marcador, observada somente nos afetados da família, indicam que esse gene pode ser o responsável pela doença que está sendo estudada. (Jorde e col., 1996; Strachan e Read, 2004).

Para a realização da atividade aqui apresentada não abordaremos o mapeamento genético, apenas o mapeamento físico (ou posicional), que determina o local exato dos genes nos cromossomos. Caso o professor tenha interesse em saber como o mapeamento genético e físico podem ser utilizados em conjunto na identificação de um gene, sugerimos a leitura do artigo de Nascimento e col. (2006).

O mapeamento posicional é realizado utilizando uma biblioteca de pequenas seqüências nucleotídicas de DNA cuja ordenação nem sempre é conhecida – essas seqüências são obtidas após digestão do DNA genômico utilizando enzimas de restrição. A ordenação destes pequenos fragmentos é realizada por análise de sobreposição, após seqüenciamento do DNA. Os fragmentos são dispostos linearmente permitindo a criação de um mapa físico com as localizações específicas e a identificação de cromossomos inteiros. No caso de uma doença genética presente em uma família, o padrão de segregação pode indicar, por exemplo, uma herança ligada ao cromossomo X – a análise de pequenas seqüências nucleotídicas referentes a esse cromossomo pode auxiliar na identificação do gene responsável por determinada doença. Não resta dúvida de que o mapeamento de genes e a descoberta da associação de vários deles com diferentes doenças genéticas foram substancialmente facilitados com o seqüenciamento completo do genoma humano (Lander e col., 2001; Venter e col., 2001)

e o advento de bancos de dados eletrônicos contendo inúmeras informações sobre o genoma de nossa espécie – (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), por exemplo.

Uma outra abordagem utilizada para a identificação de genes é por meio do mapeamento funcional. Nesse caso, são utilizados marcadores de seqüências expressas, obtidos a partir de clones de cDNA (a purificação do mRNA de um tecido específico, submetido à reação com a enzima transcriptase reversa, permite a síntese de uma seqüência de “DNA complementar”, o cDNA). A hibridação de um conjunto de diferentes cDNAs com o DNA genômico permite a localização das seqüências de alguns genes expressos. No caso de algumas doenças genéticas específicas, a eventual identificação da proteína defeituosa (ou parte da proteína) permite sua utilização para identificação do gene: a seqüência de aminoácidos da proteína pode ser usada para deduzir parte da seqüência do RNA correspondente e por fim, do gene (Jorde e col., 1996; Passarge, 2004; Strachan e Read, 2004).

Objetivo

O objetivo principal dessa atividade é facilitar a compreensão sobre alguns dos diferentes elementos celulares e buscar a fixação dos conceitos de algumas técnicas utilizadas por cientistas para a identificação de genes, como o mapeamento gênico, tanto pelo enfoque funcional, quanto pelo enfoque posicional.

Material

O professor deve imprimir as figuras fornecidas no anexo desse trabalho; sugerimos que a dinâmica de execução seja feita em pequenos grupos de alunos, a fim de favorecer uma discussão mais aprofundada. Os alunos devem recortar as peças (muros, ruas, casas, pessoas, carros, moinho e outros), que representarão, por analogia, os diferentes elementos celulares (membranas, cromossomos, genes, mRNA, tRNA, organelas e outros). Para a preparação da estrutura, conforme esquematizado na Figura 1, sugerimos que as figuras recortadas sejam coladas sobre uma manta imantada, e o manuseio dessa peças realizado sobre um quadro metalizado. Uma outra forma de realizar essa atividade é por meio do recorte das diferentes peças e proteção com papel *contact* ou plastificação, o que evita uma rápida deterioração do material.

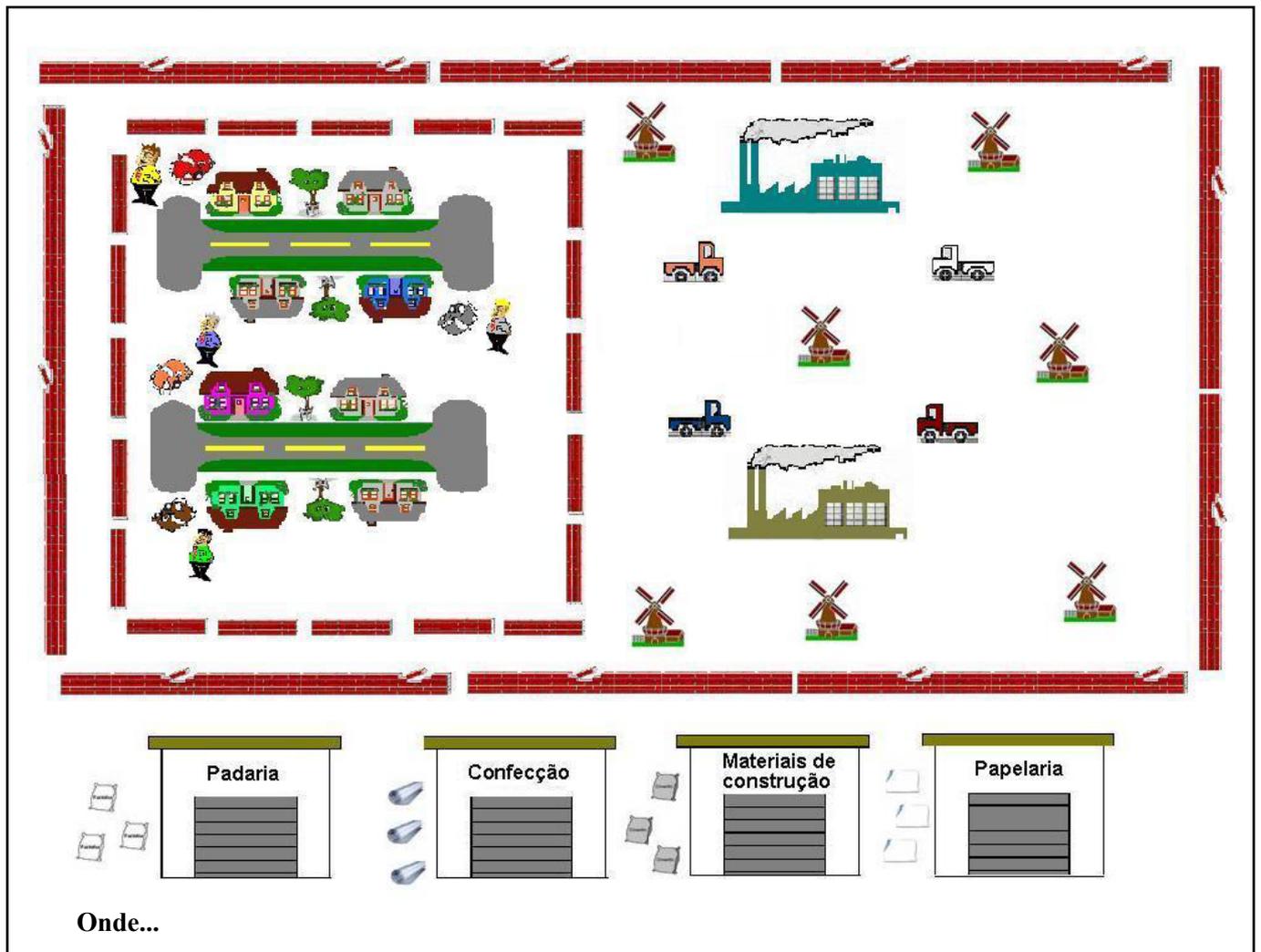


Figura 1. Esquema proposto para realização da atividade.

Procedimentos da atividade

No início da atividade, sugerimos que o professor, sem maiores detalhes, exemplifique uma situação rotineira de funcionamento de uma fábrica e dos funcionários que nela trabalham: o indivíduo morador de uma determinada casa do condomínio pega seu automóvel, sai da região residencial e vai para a fábrica. Para realizar seu trabalho, ele necessita que os moinhos estejam funcionando plenamente para fornecimento de energia e os caminhões tragam a matéria-prima necessária para a fabricação do produto de sua responsabilidade. Os produtos finais, como a farinha, o cimento, o tecido ou o papel, serão enviados para estabelecimentos específicos que os utilizarão para outros fins.

Explicitada a situação, o professor pode abrir uma discussão questionando os alunos:

a - *O que essa representação esquemática pode representar em termos biológicos?* A resposta adequada a este problema é: - espera-se que os alunos tenham compreendido que se trata de uma representação esquemática de uma célula eucarionte;

b - *Quais elementos da célula foram representados?* Tem-se como resposta correta: - o **gene** (casa), localizado em um **chromossomo** (rua) transcreve um **mRNA** (funcionário) que se associa a uma **proteína transportadora de RNA** (carro) e sai do **núcleo** (área residencial) delimitado pela **carioteca** (muros internos), seguindo para o **citoplasma** (área onde está a fábrica), delimitado pela **membrana citoplasmática** (os muros externos); no **retículo endoplasmático rugoso** (fábrica), a **proteína** (farinha, cimento, tecido ou papel) é sintetizada com os aminoácidos trazidos pelos **tRNA** (caminhões) e enviada para o **tecido alvo** (estabelecimentos específicos como padaria, loja de materiais de construção, confecção ou papelaria). Para o funcionamento celular, as **mitocôndrias** (moinhos) estão em plena atividade.

Estabelecido o funcionamento normal de uma célula, o professor deve encaminhar a discussão para os métodos de identificação de genes:

c - *Em situações normais de funcionamento celular, como poderíamos descobrir quais genes estariam envolvidos com as diferentes atividades celulares?* A resposta seria: - em situações normais isso é praticamente impossível de ocorrer; os cientistas só podem obter uma “pista” do envolvimento de um gene quando existem alterações no padrão normal de funcionamento da célula;

d - *Como será então que os genes podem ser identificados?* Para esta resposta não esperamos que os alunos tenham uma explicação direta – o professor pode contextualizar esse problema mostrando que o comprometimento normal do funcionamento celular é a base da pesquisa de vários cientistas, pois essa alteração pode ser decorrente de algum defeito genético específico que esses pesquisadores têm interesse em identificar.

O professor pode, então, propor uma situação atribulada na representação esquemática da célula que permita aos alunos identificar como é realizado o mapeamento gênico posicional, em que se busca um defeito olhando diretamente para o gene, para depois identificar o processo celular prejudicado, e também o mapeamento funcional em que se identifica o produto alterado para depois buscar o gene responsável. Assim, a seguinte situação deve ser proposta: o professor deve distribuir funções diferentes para cada aluno do grupo (um determinado aluno, por exemplo, é o responsável pelas peças ligadas à produção de papel – funcionário, carro, casa, rua que mora; outro deve ficar com as peças ligadas à produção de farinha, e assim por diante até que cada um tenha uma função). O dono da fábrica (que é indicado entre os alunos do grupo e não sabe as funções dos demais) recebe reclamações de irregularidades na produção. O professor então deve propor as seguintes questões:

e - *Que tipo de irregularidade está ocorrendo? O que é responsável pela irregularidade?* O professor deve mostrar aos alunos as duas abordagens para identificar a origem do problema: a primeira abordagem é verificar se todos os funcionários foram trabalhar, indo à casa de cada um deles até encontrar o funcionário que não foi (Figura 2, mapeamento posicional). Antes de iniciar a atividade, o professor deve escolher aleatoriamente entre os alunos aquele que não exercerá sua função, e o diretor da fábrica fica incumbido de identificar quem é. Por analogia, o professor deve mostrar como os cientistas utilizam os dados observados, ou seja, o defeito ou o problema apresentado como ponto de partida para a escolha entre as diferentes abordagens técnicas – tecnologia do DNA recombinante, análises de cariótipo para estudos de cromossomos ou as recentes técnicas de *microarrays* (ou chips de DNA) – para identificar onde está localizado o problema.

A segunda abordagem (o enfoque funcional) que pode ser utilizada para que o diretor identifique o problema é ir até a fábrica e verificar qual produto está sendo produzido irregularmente, e só então determinar quem é o funcionário responsável e ir à sua casa (Figura 3, mapeamento funcional). O professor deve lembrar aos alunos que o diretor conhece os produtos fabricados pela sua empresa, a quantidade do estoque de cada produto, quanto deve ser entregue de cada material por dia, quem é o responsável por sua produção e onde mora. Executando os procedimentos de rotina ele poderá chegar à casa do responsável e saber por que sua função não está sendo realizada. Em termos biológicos, o professor deve mostrar que, se o cientista tem conhecimento prévio sobre a função de um determinado gene sobre o qual ele suspeita ou tem acesso a uma sequência dos aminoácidos da proteína, ele consegue identificar o gene responsável pelo problema.

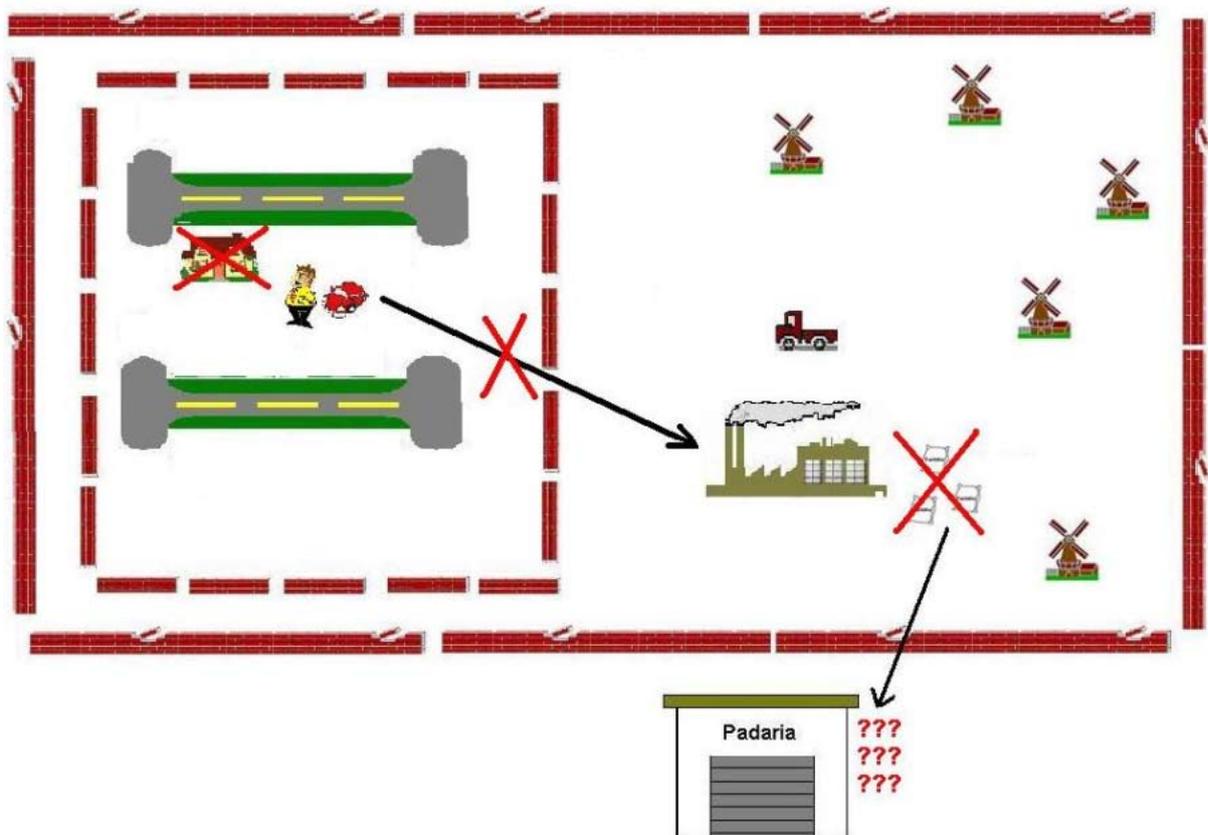


Figura 2. Exemplo didático de mapeamento posicional. Inicialmente deve ser identificado o gene alterado; em seguida, procede-se à análise de como esta alteração afeta o funcionamento normal da célula.



Figura 3. Exemplo didático de mapeamento funcional. Inicialmente deve ser identificado o produto alterado para depois ser identificado o gene responsável pela sua síntese.

Além do enfoque de mapeamento e identificação de genes que apresentamos, acreditamos que esse esquema didático pode ser abordado em diferentes contextos. Um dos pontos que pode ser abordado é o dogma central da biologia molecular, que envolve a relação entre DNA, RNA e proteínas. Como exemplificado na Figura 1, o funcionamento correto da célula e, por conseguinte, do organismo, só ocorre quando os genes e os produtos de sua síntese - as proteínas - estão atuando em locais e períodos específicos. Para o entendimento de como o gene controla funções vitais na célula, o professor deve enfatizar que as moléculas de DNA estão agrupadas com diversas estruturas protéicas constituindo os cromossomos; as moléculas de DNA ficam restritas ao núcleo da célula e determinados fragmentos dessa molécula - os genes - são transcritos, de acordo com a fase de desenvolvimento da célula ou de acordo com sua necessidade, em moléculas de RNA que contêm a informação para a síntese (tradução) de proteínas específicas. Qualquer alteração nesse processo pode ser extremamente prejudicial para a célula, desencadeando a manifestação de diferentes tipos de doenças de origem genética.

Outro tema que pode ser discutido baseado no esquema apresentado é a relação das funções das organelas e estruturas celulares representadas pelas diferentes peças do esquema da Figura 1. Aqui sugerimos que seja feito um sorteio entre os grupos para que os alunos procurem, em *sites* eletrônicos ou livros didáticos, conceitos e informações sobre as funções de uma ou várias organelas e estruturas da célula. Em uma próxima aula deverá ser feita uma apresentação para os demais membros de cada grupo – uma maneira interessante de apresentação é reunir um aluno de cada grupo em um novo grupo e, ordenadamente, cada um explica o resultado de suas pesquisas para os demais. O professor deve auxiliar os alunos durante as pesquisas e, ao final das apresentações, sugerimos que o professor realize uma aula expositiva sobre as funções das organelas e estruturas celulares.

Considerações finais

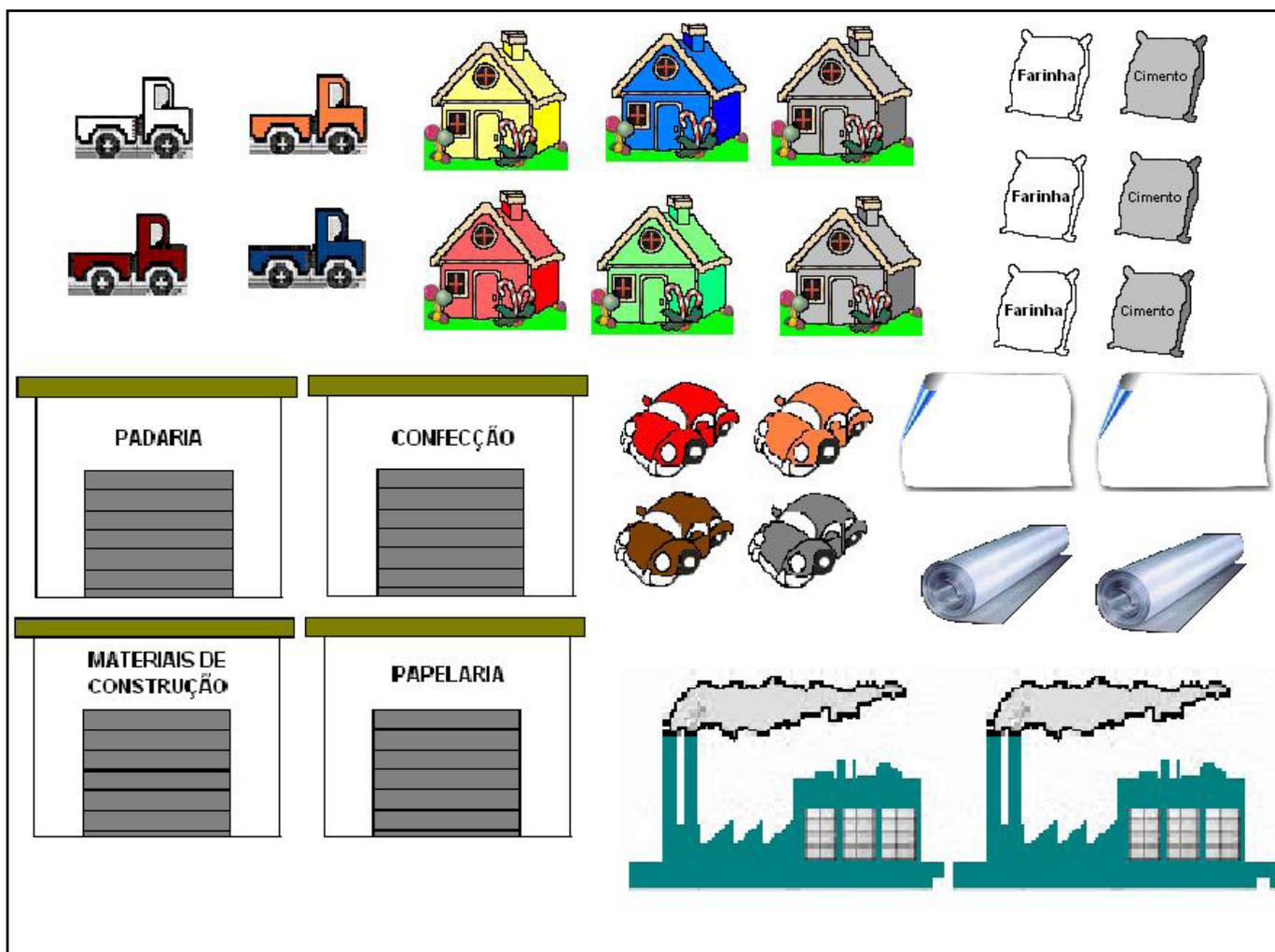
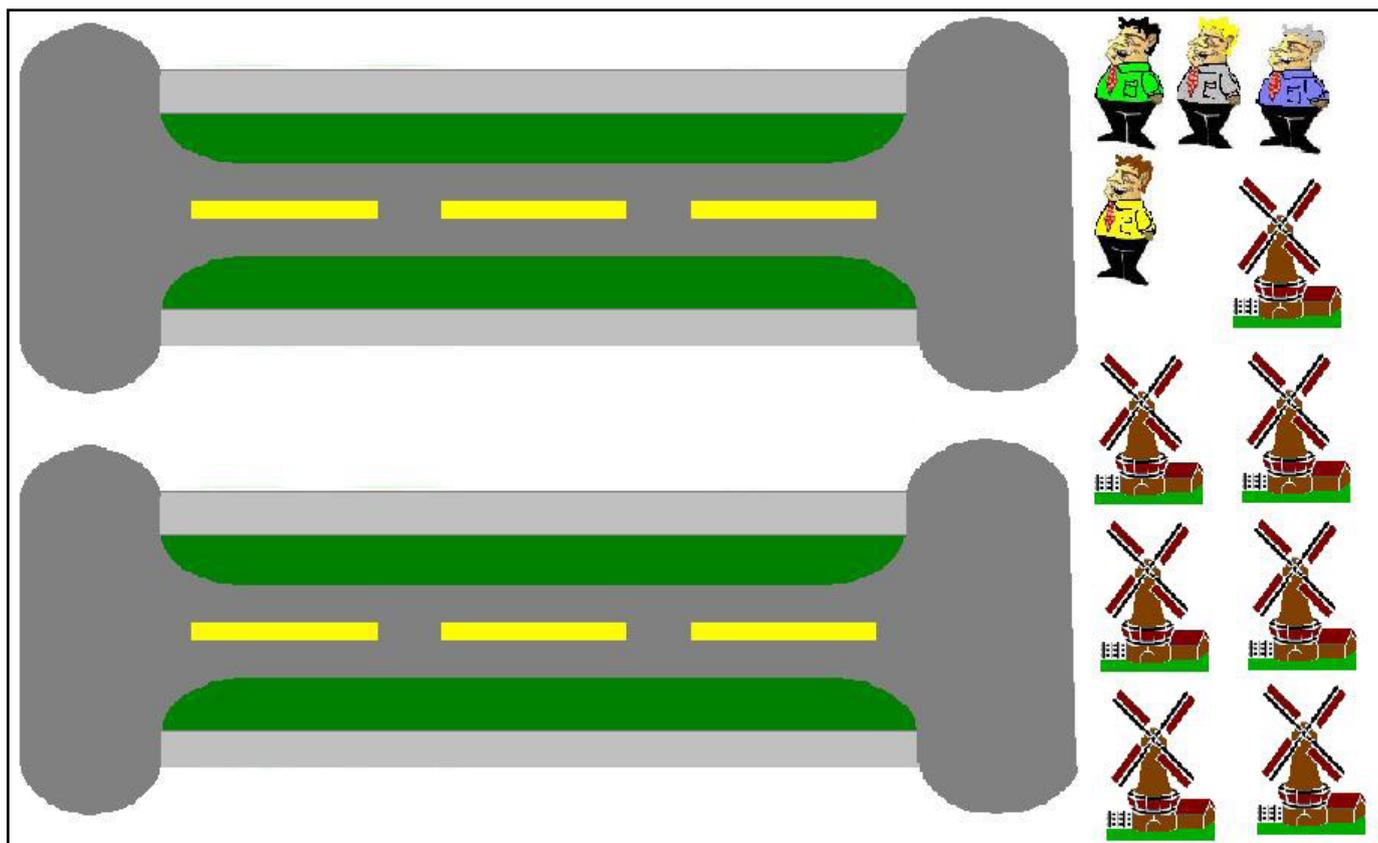
Essa atividade permite aos participantes visualizar como os diversos componentes da célula devem atuar de maneira ordenada para seu bom funcionamento. Além disso, permite contato com algumas das abordagens científicas utilizadas para a identificação dos genes e de seus diversos papéis. Gostaríamos de deixar claro que se trata apenas de uma sugestão a ser utilizada em sala de aula como recurso didático e que as analogias sempre devem ser utilizadas com cautela por parte dos docentes.

Essa atividade foi apresentada na atividade “Genética na Praça” durante o 50º Congresso Brasileiro de Genética, realizado em 2004 na cidade de Florianópolis, SC. Apesar de não ter sido aplicada diretamente na sala de aula e não ter sido realizado nenhum tipo de questionário sobre a qualidade e capacidade de aplicação em sala de aula, os alunos do primeiro ano do ensino médio que realizaram a atividade se mostraram bastante interessados, inclusive identificando com facilidade e rapidez as analogias explicitadas. Acreditamos que para os educadores a atividade também foi proveitosa, uma vez que alguns deles solicitaram cópias em CD ou via correio eletrônico do material apresentado.

Bibliografia

- JORDE, L.B.; CAREY, J.C.; WHITE, R.L. *Genética Médica*. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.
- Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, Devon K e col. - Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* **409** :860-921, 2001.
- Nascimento RM, Otto PA, de Brouwer AP, Vianna-Morgante AM - UBE2A, which encodes a ubiquitin-conjugating enzyme, is mutated in a novel X-linked mental retardation syndrome. *Am J Hum Genet* **79**:549-55. 2006.
- Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, Smith HO e col. - The sequence of the human genome. *Science* **291**:1304-51, 2001.
- PASSARGE, E. *Genética – Texto e atlas*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- STRACHAN, T.; READ, A.P. *Human Molecular Genetics*. 3. ed. Reino Unido: Garland Publishing, 2004.

MATERIAL PARA COPIAR E UTILIZAR NAS ATIVIDADES



MATERIAL PARA COPIAR E UTILIZAR NAS ATIVIDADES

