

Por que alguns bezerros do seu Oswaldo morreram?



Cíntia Franco Rocha¹, Rogério Fernandes de Souza²

¹ Especialização em Ensino de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Geral, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina

² Departamento de Biologia Geral, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina

Autor para correspondência: rogfs@uel.br

Palavras-chave: marcadores moleculares, microssatélites, exame de paternidade, sequenciamento de DNA

A atividade permite trabalhar de modo integrado a genética mendeliana e a estrutura e funcionamento molecular dos genes facilitando a conexão e a compreensão dos conceitos envolvidos. Ela pode ser aplicada para estudantes de Ensino Médio ou Superior, dependendo do nível de detalhamento teórico escolhido pelo professor.

A integração dos conteúdos de genética mendeliana e de genética molecular pode ser alcançada pela análise de uma situação problema que tem como desafio descobrir a causa de morte do bezerro do seu Oswaldo. Os estudantes analisarão uma série de resultados moleculares que simulam os processos de transcrição e tradução gênica usando para tanto figuras e moldes de papel.

Os requisitos materiais para a aplicação da atividade são muito simples: folhas de papel A4 branca ou coloridas, folhas de cartolina ou papel cartão (opcional), cola branca de papel (opcional), uma cartela “RNA mensageiro” (em anexo) para cada grupo de estudantes e uma cartela “RNA transportador e seus respectivos aminoácidos” (em anexo) para cada grupo de estudantes.

APLICANDO A ATIVIDADE EM SALA DE AULA

1. Imprimir, com antecedência, as cartelas “RNA mensageiro” e “RNA transportador” (em anexo), de preferência em folhas de colorações diferentes. Opcionalmente, antes de recortar os modelos das cartelas, pode-se colá-los em cartolina ou outro papel mais resistente para facilitar o manuseio e aumentar a sua durabilidade.
2. Distribuir os recortes dos RNA mensageiro e de RNA transportador para os grupos de estudantes.

3. Apresentar a situação problema descrita a seguir, auxiliando os estudantes, ao longo do processo, na sua resolução.
4. Solicitar que os estudantes procedam de acordo com as instruções do item *Procedimento*, que pode ser impresso e distribuído para os grupos.

SITUAÇÃO PROBLEMA

Seu Oswaldo utilizou o sêmen de um touro, filho de vacas campeãs em produção de leite, para inseminar três de suas primas, também campeãs. O bezerro do primeiro cruzamento nasceu tão saudável quanto os seus genitores. Entretanto, a novilha do segundo cruzamento apresentou certo retardo no crescimento; o do terceiro cruzamento morreu pouco depois do nascimento. Preocupado com tal resultado, seu Oswaldo entrou em contato com o laboratório que lhe vendeu o sêmen. Por sua vez, o laboratório convocou um geneticista para tentar descobrir a causa desses problemas. Depois de uma série de análises, foi possível determinar que os animais desses cruzamentos apresentavam diferentes alelos para um gene – aqui representado pela letra “A” – envolvido no desenvolvimento animal. Dessa forma, foi possível caracterizar os genótipos de todos os animais estudados, conforme pode ser observado na Figura 1.

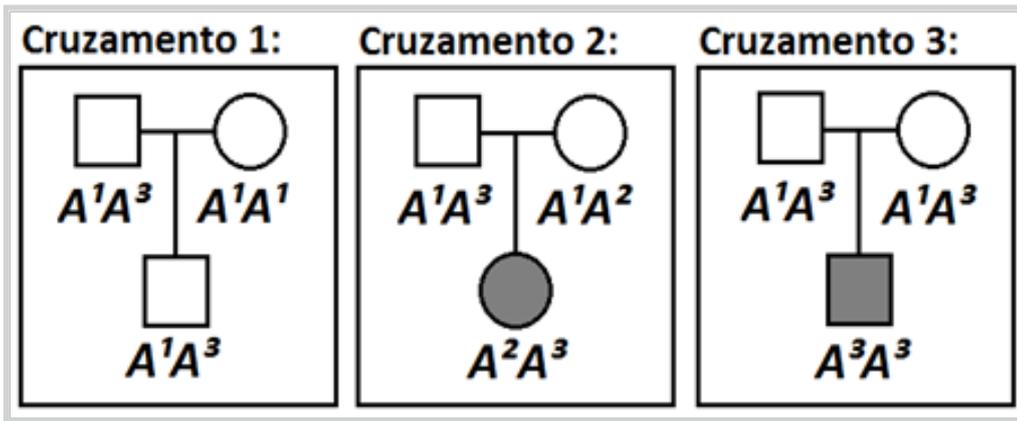


Figura 1. Heredogramas indicando os cruzamentos realizados e os genótipos dos animais. Os animais normais (quadrados representam os machos e os círculos, as fêmeas) são representados por símbolos claros; os afetados são corados em cinza.

Prosseguindo as análises, foi realizado o sequenciamento desse gene nesses animais, o que permitiu descobrir as diferenças moleculares para os alelos A^1 , A^2 e

A^3 . Parte da sequência desses genes, justamente aquela próxima de onde foram detectadas as diferenças, é mostrada na Figura 2.

Alelo A^1	3'- 5'-	Sítio promotor	TACTGGCCTGGTCTGACCATT...- 5' ATGACCGGACCAGACTGGTAA...- 3'
Alelo A^2	3'- 5'-	Sítio promotor	TACTGGCCTGGTCAGACCATT...- 5' ATGACCGGACCAGTCTGGTAA...- 3'
Alelo A^3	3'- 5'-	Sítio promotor	TACTGGACTGGTCTGACCATT...- 5' ATGACCTGACCAGACTGGTAA...- 3'

Figura 2. Parte inicial da sequência dos três alelos (A^1 , A^2 e A^3) do locus A obtidos dos animais analisados.

PROCEDIMENTO

1. Determinar as sequências dos RNAs mensageiros que serão produzidas a partir dos três alelos existentes nos animais estudados. Para atingir este objetivo, considere as principais regras do processo de transcrição do DNA.
2. Determinar a sequência peptídica codificada pelas três moléculas de RNA mensageiros obtidas no item anterior. Para atin-

- gir este objetivo, considere as principais regras do processo de tradução.
3. Comparar a estrutura dos três peptídeos para determinar por que os três novilhos apresentaram desde um fenótipo normal até uma situação de morte pós-natal.
4. Apresentar uma hipótese para o surgimento das diferenças nas sequências de nucleotídeos dos três alelos.

5. Considerando esse exemplo, qual deve ser a relação entre os diferentes alelos de um gene com as suas respectivas sequências nucleotídicas?
6. Apresente uma hipótese para explicar o surgimento de descendentes afetados a partir de um touro parental que é primo das vacas inseminadas. Qual deve ser a atitude dos criadores nesse tipo de situação?

RESPOSTAS

Questão 1. As regiões do DNA que indicam o início da transcrição dos genes são chamadas de sítios promotores. É no sítio promotor que proteínas irão se ligar, permitindo que a dupla fita do DNA seja aberta e que uma delas sirva de molde para a síntese de uma molécula de RNA. O processo de transcrição do RNA ocorre sempre no sentido $5' \rightarrow 3'$, assim a molécula de RNA transcrita tem polaridade inversa à da fita molde de DNA. Portanto, na Figura 2, para cada um dos alelos mostrados, a fita de cima (aquela de sentido $3' \rightarrow 5'$) servirá de molde para a produção de uma molécula de RNA mensageiro (ou RNAm) e que, portanto, lhe será complementar. Considerando todas essas informações, para cada um dos alelos as sequências de RNAm serão:

- Alelo A^1 – RNAm: $5' - \text{AUG ACC} \underline{\text{GGA}} \text{CCA GAC UGG UAA} - 3'$
- Alelo A^2 – RNAm: $5' - \text{AUG ACC} \text{GGA CCA} \underline{\text{GUC}} \text{UGG UAA} - 3'$
- Alelo A^3 – RNAm: $5' - \text{AUG ACC} \underline{\text{UGA}} \text{CCA GAC UGG UAA} - 3'$

Questão 2. A informação para a síntese de um peptídeo é fornecida pela sequência do RNAm, que é interpretada, ou seja, traduzida pela maquinaria da tradução (os ribossomos e os RNAs transportadores). No ribossomo, cada sequência de três nucleotídeos do RNAm, começando por sua porção $5'$, é reconhecida por um RNA transportador (ou RNAt) específico, que irá trazer o aminoácido correspondente, conforme exemplificado na Figura 3. Seguindo a regra de emparelhamento do códon (nome dado à trinca do RNAm que especifica um aminoácido) com o anticódon (nome dado à trinca do RNAt

que se emparelha com o códon do RNAm), teremos as seguintes sequências peptídicas:

- Alelo A^1 : Metionina – Treonina – Glicina – Prolina – Ácido aspártico – Triptofano.
- Alelo A^2 : Metionina – Treonina – Glicina – Prolina – Valina – Triptofano.
- Alelo A^3 : Metionina – Treonina.

Questão 3. Comparando as três moléculas de RNAm, podemos perceber que o alelo A^2 difere do alelo A^1 pelo fato de que este resulta em uma troca de nucleotídeos – uma adenina por uma uracila – na sua 14^{a} posição. O mesmo acontece com o alelo A^3 , que difere do A^1 em seu 7^{o} nucleotídeo. Neste último caso, isto resulta na troca de uma guanina por uma uracila no RNAm. Portanto, esses três RNAm irão resultar em peptídeos pouco ou muito alterados. Por exemplo, para os alelos A^1 e A^2 , percebe-se apenas a troca de um único aminoácido na posição 5 desta sequência peptídica. Neste caso, um ácido aspártico, um aminoácido com propriedade ácida, é substituído por uma valina, um aminoácido um pouco menor e hidrofóbico. Como o filhote do cruzamento 2 (A^2A^3) não é fenotipicamente normal, esta troca de aminoácidos parece afetar o funcionamento do peptídeo, fazendo com que o crescimento do bezerro seja retardado.

Quando se observa o alelo A^3 , vê-se que a mutação que lhe deu origem resultou em um códon de término (UGA) na posição do terceiro aminoácido. Códon de término não são reconhecidos por RNAt, mas sim por proteínas específicas, chamadas de fatores de término. Normalmente, os códon de término estão localizados no final dos RNAm e, neste caso, eles servem para indicar que a síntese peptídica foi completada. Quando são introduzidos, via mutação, no interior dos genes, eles acabam codificando peptídeos que não são produzidos integralmente, o que compromete o seu funcionamento. Isto explica a morte do filhote do terceiro cruzamento, uma vez que este era homocigoto A^3A^3 , ou seja, ele não tinha como produzir corretamente esta proteína e por isto acabou falecendo. Por outro lado, o filhote do pri-

meio cruzamento (A^1A^3), embora carregue uma cópia do alelo A^3 , nasceu normal. Isto ocorre porque o alelo A^1 , herdado de sua mãe produz quantidade suficiente da proteí-

na funcional, um exemplo clássico de dominância/recessividade. Esta mesma relação de dominância/recessividade deve existir entre os alelos A^1 e A^2 .

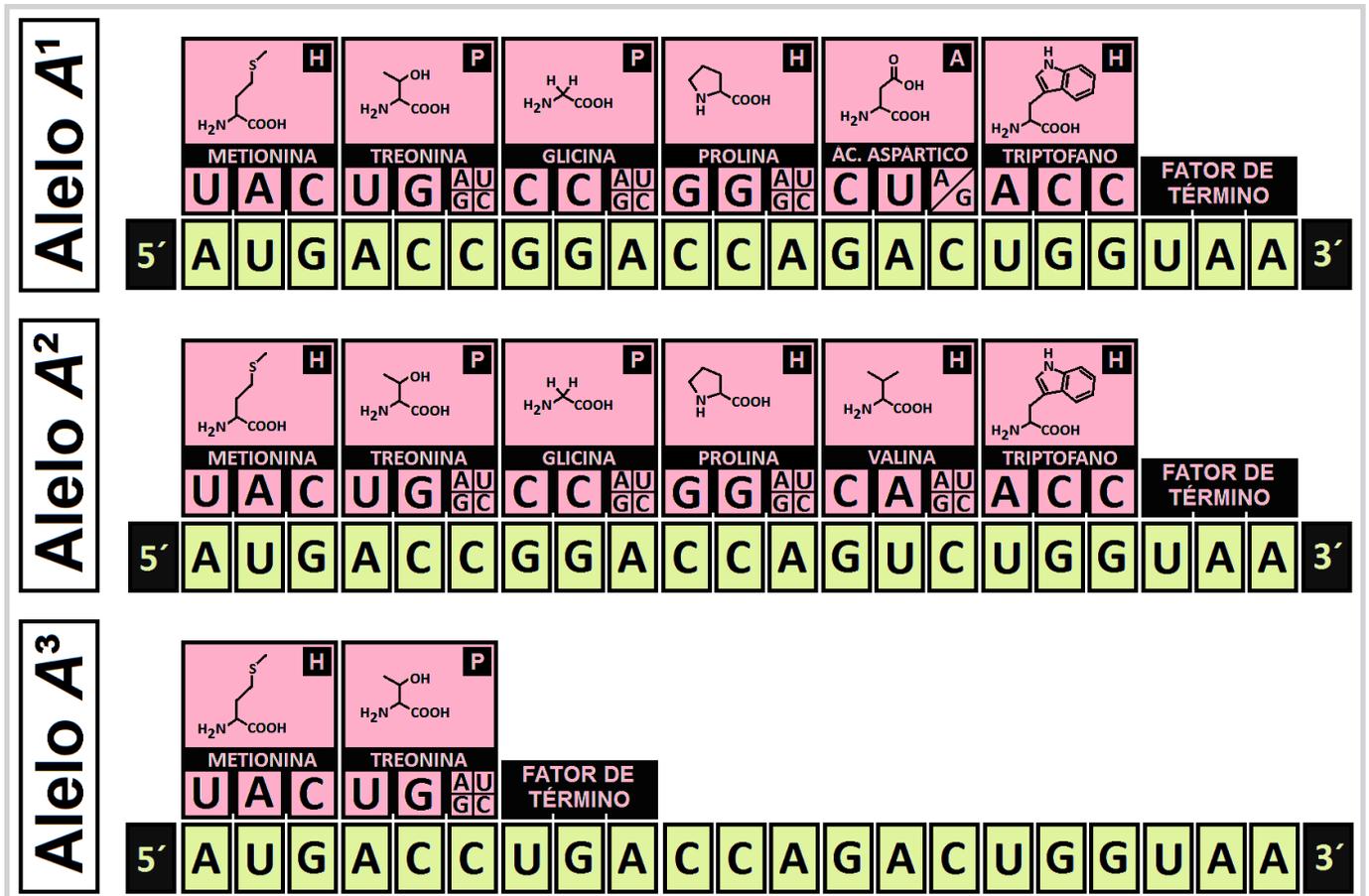


Figura 3. Esquema demonstrando a forma de tradução dos RNAm (em verde) para cada um dos três alelos, usando os RNAt (em rosa) carregados com seus respectivos aminoácidos.

Questão 4. Novos alelos normalmente surgem devido a mutações no DNA. Uma mutação nada mais é que a troca permanente de uma ou mais bases nitrogenadas nesta molécula. Elas podem ser causadas por fatores internos (erros que ocorrem durante o processo de duplicação ou por falhas no sistema de reparo de danos do DNA) ou externos (por exemplo, radiação ultra violeta, raios X, agentes mutagênicos etc.) Nesta atividade, considerando que A^1 seria o alelo original, o surgimento do A^2 ocorreu a partir de uma mutação chamada de substituição de sentido trocado pelo fato dela resultar em um ami-

noácido diferente na cadeia peptídica. Por outro lado, o alelo A^3 representa uma mutação sem sentido. Ou seja, ela introduziu um códon de término – também conhecido como códon sem sentido – da transcrição dentro da região codificadora do peptídeo.

Questão 5. Os diferentes alelos de um gene apresentam variações quanto às próprias informações genéticas, ou seja, variações nas sequências de bases nitrogenadas. Sendo assim, cada alelo pode levar à formação de cadeias polipeptídicas que apresentam um ou mais aminoácidos diferentes. Ou então, como no caso do alelo A^3 , de um peptídeo

incompleto, o que compromete de forma mais radical o seu funcionamento. Mudanças na sequência de aminoácidos de uma proteína podem modificar o seu funcionamento e é justamente este um dos fatores que fazem com que os indivíduos apresentem fenótipos diferentes para uma série de características fenotípicas.

Questão 6. Alelos recessivos mortais, como o A^3 são normalmente raros nas populações, tendo em vista que eles estão sendo constantemente eliminados pela seleção natural, já que indivíduos A^3A^3 morrem ao nascimento. Porém, um ou mais deles podem ser encontrados nas famílias. Assim, se um indivíduo normal, como o touro deste exemplo, carrega um alelo deste tipo, muito provavelmente um parente próximo também poderá tê-lo. Foi provavelmente o que aconteceu com as suas duas primas. Em cruzamentos deste tipo, chamados de endogâmicos, há aumento da probabilidade de nascimento de filhotes homozigotos recessivos. Portanto, quando este tipo de situação aparece, isto obriga os criadores a retirarem os animais dos seus programas de acasalamento, para evitar que tais tipos de alelos se propaguem pelas próximas gerações, comprometendo a fertilidade e/ou produtividade dos rebanhos.

AGRADECIMENTOS

À prof^a Dra. Fernanda Simões de Almeida pelos testes em sala de aula e pelas sugestões de modificação que tornaram essa prática mais eficiente.

PARA SABER MAIS

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; LEWONTIN, R. C.; CARROLL, S. B. Introdução à Genética. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 744p, 2009.

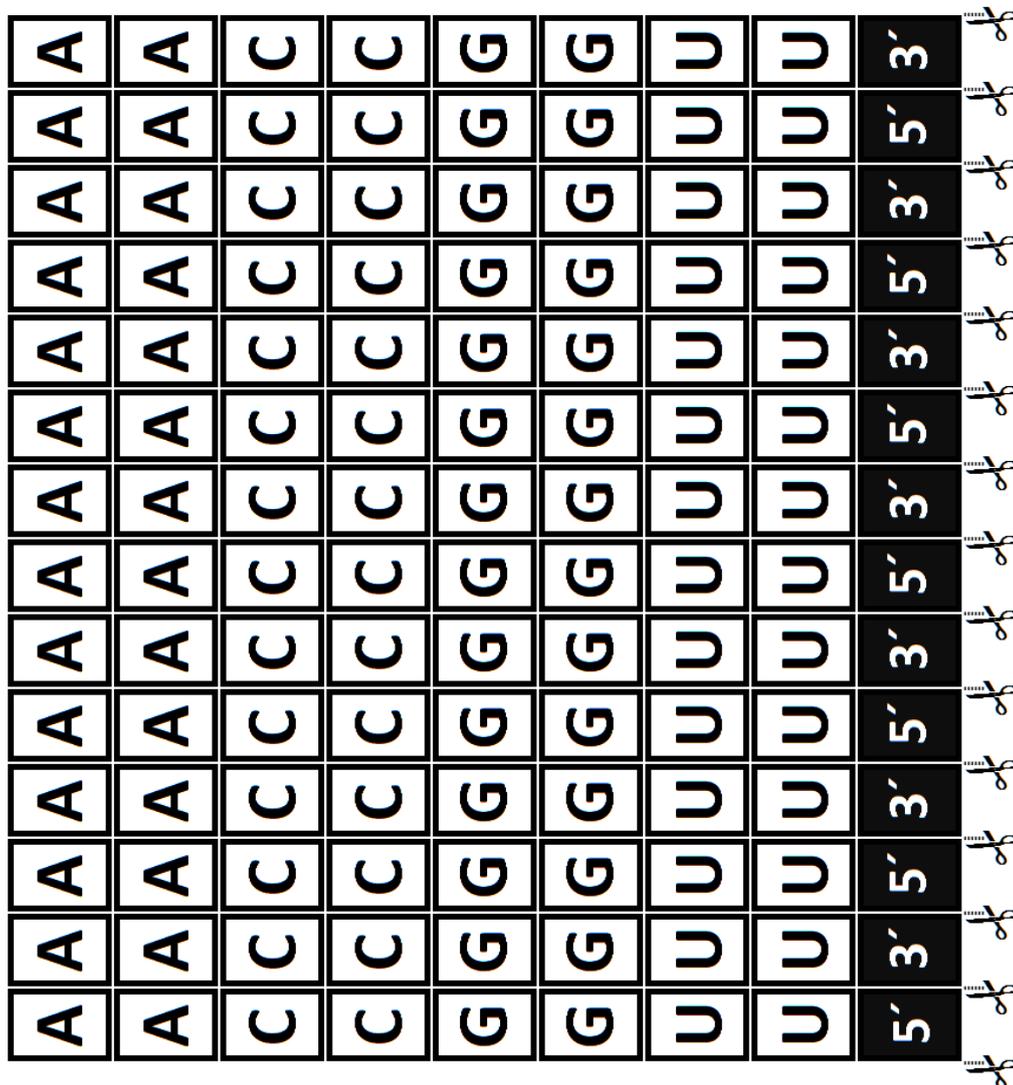
PIERCE, B. A. Genética - Um enfoque conceitual. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 788p., 2004.

SNUSTAD, P.; SIMMONS, M. J. Fundamentos de Genética. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 922 p., 2008



ANEXOS

RNA Mensageiro:

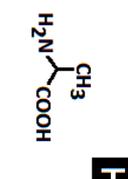
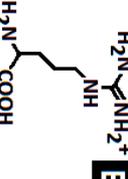
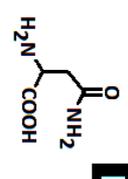
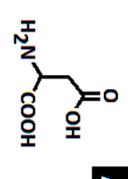
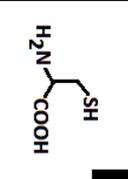
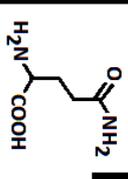
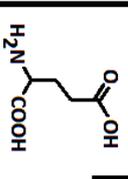
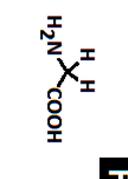
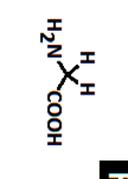
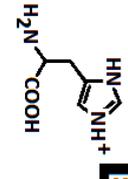
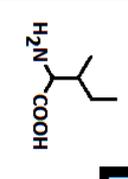
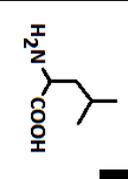
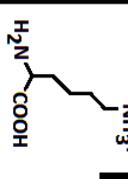
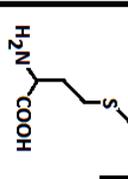
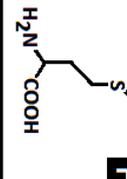
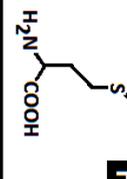
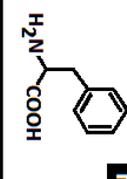
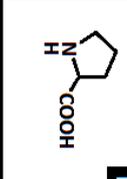
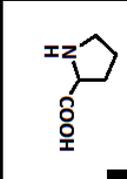
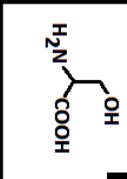


UUU: PHE	UCU: SER	UAU: TYR	UGU: CYS
UUC: PHE	UCC: SER	UAC: TYR	UGC: CYS
UUA: LEU	UCA: SER	UAA:	UGA:
UUG: LEU	UCG: SER	UAG:	UGG: TRP
CUU: LEU	CCU: PRO	CAU: HIS	CGU: ARG
CUC: LEU	CCC: PRO	CAC: HIS	CGC: ARG
CUA: LEU	CCA: PRO	CAA: GLN	CGA: ARG
CUG: LEU	CCG: PRO	CAG: GLN	CGG: ARG
AUU: ILE	ACU: THR	AAU: ASN	AGU: SER
AUC: ILE	ACC: THR	AAC: ASN	AGC: SER
AUA: ILE	ACA: THR	AAA: LYS	AGA: ARG
AUG: MET	ACG: THR	AAG: LYS	AGG: ARG
GUU: VAL	GCU: ALA	GAU: ASP	GGU: GLY
GUC: VAL	GCC: ALA	GAC: ASP	GGC: GLY
GUA: VAL	GCA: ALA	GAA: GLU	GGA: GLY
GUG: VAL	GCG: ALA	GAG: GLU	GGG: GLY

TABELA DO CÓDIGO GENÉTICO

ALA: Alanina	LEU: Leucina
ARG: Arginina	LYS: Lisina
ASN: Asparagina	MET: Metionina
ASP: Ácido aspártico	PHE: Fenilalanina
CYS: Cisteína	PRO: Prolina
GLN: Glutamina	SER: Serina
GLU: Ácido glutâmico	THR: Treonina
GLY: Glicina	TRP: Triptofano
HIS: Histidina	TYR: Tirosina
ILE: Isoleucina	VAL: Valina

RNAs transportadores (e seus respectivos aminoácidos):

H	 ALANINA	C G AU GC	H	 ARGININA	U C AU GC	B	H	 ASPARAGINA	U U AG AG	P	A	 AC. ASPARTICO	C U AG AG	P	H	 CISTEÍNA	A C AG AG	P	H	 GLUTAMINA	G U UC UC	P	A	 AC. GLUTÂMICO	C U UC UC	A					
H	 GLICINA	C C AU GC	H	 GLICINA	C C AU GC	P	H	 HISTIDINA	G U AG AG	B	H	 ISOLEUCINA	U A AG U	H	H	 LEUCINA	A AG AG AU GC	H	H	 PROLINA	G U GC GC	H	P	 SERINA	A U GC GC	P	H	 METIONINA	U A C C	H	
P	 TREONINA	U G AU GC	P	 TREONINA	U G AU GC	P	H	 TRIPTOFANO	A C CC CC	H	H	 TRIPTOFANO	A C CC CC	H	H	 TIROSINA	A U AG AG	P	H	 VALINA	C A AU GC	H	FATOR DE TÉRMINO	U G AU GC	P	FATOR DE TÉRMINO	U G AU GC	P	FATOR DE TÉRMINO	U G AU GC	P

Propriedades dos aminoácidos: **A** Ácido **B** Básico **P** Polar **H** Hidrofóbico

Observação:

aminoácido com propriedade (A) ácida, (B) básica, (P) polar ou (H) hidrófoba.