

Modelo didático para compreender variações genéticas humanas

Iasmin Souza Lima¹, Gabriella Almeida Santos de Santana², Felipe dos Santos Barbieri², Larissa Fernandes², Diego Coimbra³, Cintia Rodrigues Marques⁴

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde/Campus Anísio Teixeira, (IMS/CAT-UFBA), Vitória da Conquista, BA

²Graduando(a) em Medicina, Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde/Campus Anísio Teixeira, (IMS/CAT-UFBA), Vitória da Conquista, BA

³Discente do Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde/Campus Anísio Teixeira, (IMS/CAT-UFBA), Vitória da Conquista, BA

⁴Laboratório de Imunogenética e Farmacogenômica, Universidade Federal da Bahia (UFBA/SSA), Salvador, BA; Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde/Campus Anísio Teixeira, (IMS/CAT-UFBA), Vitória da Conquista, BA

Autor para correspondência - cintiabiomedica@yahoo.com.br

Palavras-chave: transcrição, tradução, gene, polimorfismo, mutação, anemia falciforme



O modelo didático exposto neste trabalho possibilita que graduandos de ciências biológicas e ciências da saúde possam entender melhor conceitos teóricos referentes aos mecanismos de transcrição e tradução. O modelo apresentado foi desenvolvido a partir de uma simulação envolvendo o gene da β globina e as mutações e polimorfismos relacionados à anemia falciforme. A atividade proposta tem a finalidade de demonstrar como a informação gênica contida na molécula de DNA é transcrita e traduzida, e de que forma uma mutação ou polimorfismo pode interferir na formação do produto final, a proteína.

Contextualizando

O sequenciamento do genoma humano revolucionou a pesquisa científica e o entendimento de como funciona a maquinaria molecular, atualizando e revelando informações importantes, tais como pequenas variações genéticas - mutações e polimorfismos - encontradas na sequência de DNA nas populações humanas. As mutações são mudanças no DNA que podem abranger tanto cromossomos inteiros (variações no número de cromossomos) quanto sequências nucleotídicas individuais. Uma mutação pode se fixar e ter uma frequência na população superior a 1% e, quando isso acontece, recebe o nome de polimorfismo. As variações genéticas podem ou não gerar algum efeito no **fenótipo**, como podem também estar diretamente relacionadas a algum tipo de doença, como é o caso da anemia falciforme.

Recessivo - caráter que se manifesta apenas quando o alelo que o determina está presente em dose dupla.

Hipóxia - baixa disponibilidade de oxigênio.

Gene - sequência de DNA que é transcrita em um RNA.

A anemia falciforme é uma condição **hemolítica autossômica recessiva** caracterizada pela deformação das hemácias em **hipóxia**. A causa dessa doença é uma mutação no braço curto do cromossomo 11 (Figura 1A), mapeada na região 11p15.4, resultado da substituição de uma Adenina por uma Timina no **gene** da β globina (gene *HBB* - subunidade beta da hemoglobina), resultando em uma troca de aminoácido de ácido glutâmico pela valina (GAG→GTG: Glu6Val) no 6º aminoácido da sequência proteica. A sequência nucleotídica do gene β globina, apresentada na Figura 1B, é composta por 1608 pares de bases e codifica um polipeptídeo com 147 aminoácidos. Para se tornar funcionalmente ativa, após a tradução, essa proteína sofre algumas alterações que incluem a remoção do primeiro aminoácido traduzido, a metionina.

Fenótipo - características de um indivíduo formadas pela interação do genótipo com o ambiente em que a pessoa está inserida.

Hemolítica - relativo à lise das hemácias.

Autossômica - padrão de herança de genes localizados nos cromossomos autossomos (1 a 22).

Alelo - versões alternativas de um gene.

Como a anemia falciforme é uma doença com padrão de herança recessivo, os indivíduos com anemia falciforme precisam receber duas cópias do **alelo** mutado para formar o **genótipo** Hb^S/Hb^S. O principal efeito fenotípico em pacientes com essa condição, e o que deu origem ao nome da doença, é a forma de foice encontrada nas hemácias, que se forma devido à polimerização da hemoglobina em condições de pouco oxigênio. Já os heterozigotos (Hb^A/Hb^S) possuem traço falcêmico, ou seja, são clinicamente normais, mas as hemácias adquirem forma de foice em situações de baixa tensão de oxigênio, embora, na prática, haja poucas chances disso ocorrer. Em estudos de padrão de herança, os alelos Hb^A e Hb^S são substituídos pelas letras A e a, respectivamente, para análises de heredograma e cálculos de probabilidade. Neste caso, indivíduos homocigotos dominantes são denominados AA, os heterozigotos, Aa, e os homocigotos recessivos, aa.

Genótipo - alelos de uma ou mais regiões que estão sendo analisadas/consideradas.

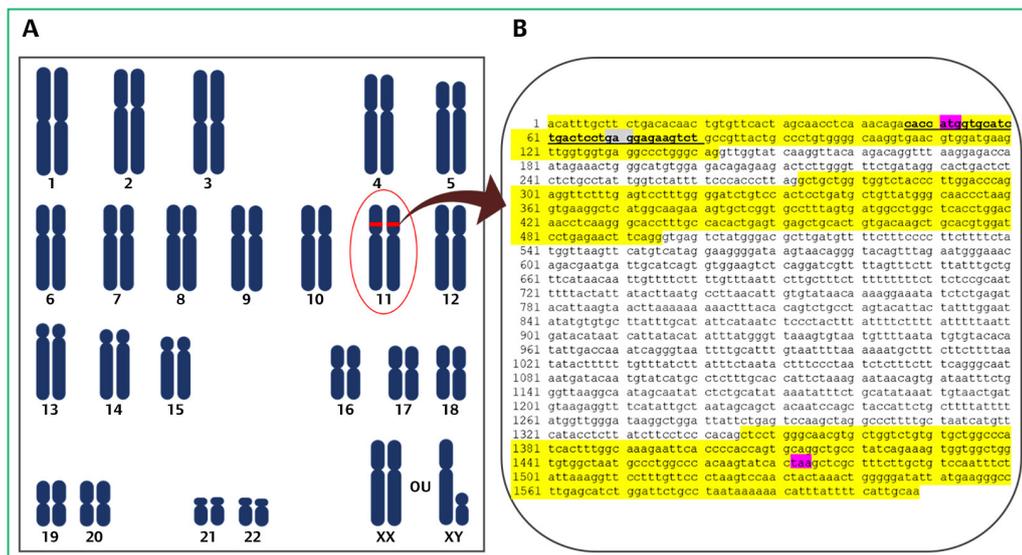
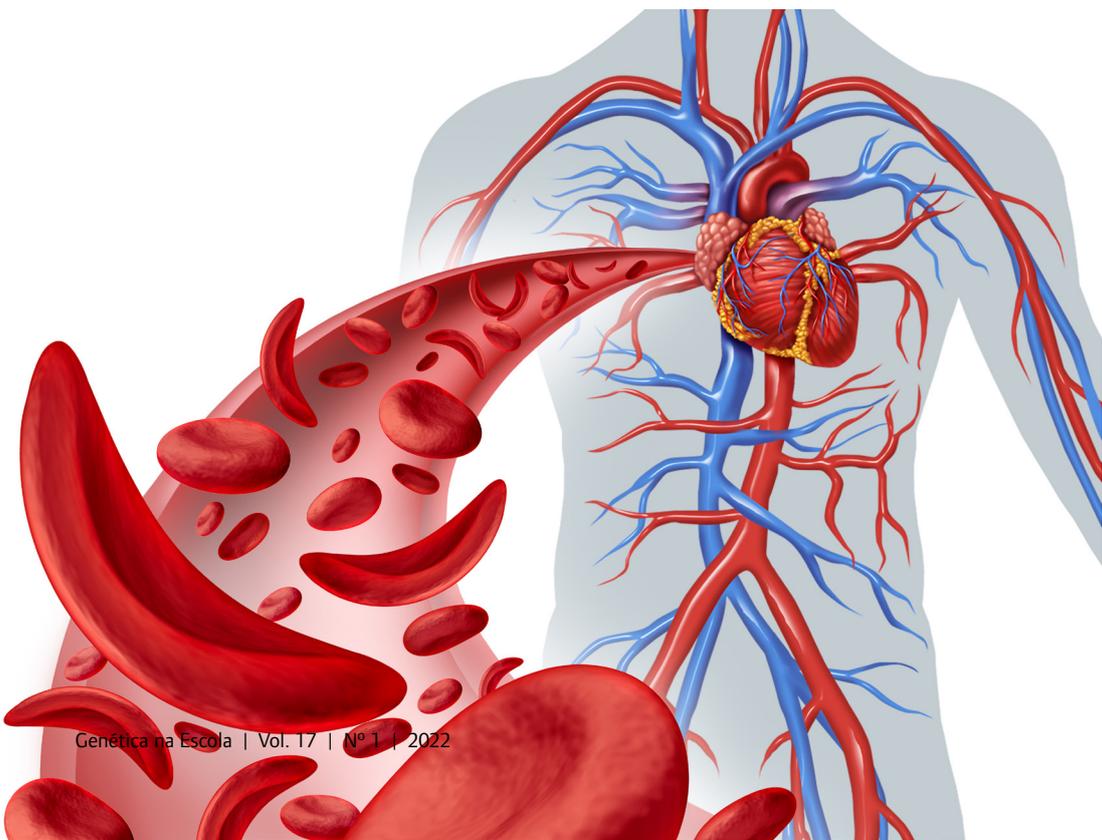


Figura 1.

A) Imagem representativa do cariótipo humano, com destaque para o braço curto do cromossomo 11, região onde está localizado o gene da β globina. **B)** Sequência do gene da β globina. Estão destacados, em amarelo, os éxons e, em rosa, os **códons** de início (atg) e de finalização (taa) da tradução. O equivalente, no DNA, ao 6º códon do RNAm, posição em que ocorre a mutação que causa a anemia falciforme, está realçado em cinza (NCBI, 2021). A sequência selecionada para ser trabalhada na atividade prática está destacada em negrito e sublinhada.

Códon - uma trinca de bases em uma molécula de RNA mensageiro que codifica um único aminoácido ou sinaliza a parada na síntese proteica.



Informações para o professor

1. Antes da aula

- ♦ Abordar os assuntos de transcrição e tradução com os alunos;
- ♦ Disponibilizar previamente o texto introdutório do artigo (Contextualizando);
- ♦ Imprimir em papel tamanho A4 (colorido ou escala de cinza) as figuras 2 a 6 para cada grupo (idealmente grupos de até 5 alunos);
- ♦ Imprimir em papel tamanho A4 as folhas com as sequências de DNA dos membros da família;
- ♦ A família contém 5 membros (pai, mãe, filho 1, filho 2 e filho 3), caso queira trabalhar com mais de 5 grupos, imprimir maior quantidade de folhas de sequências de DNA. Uma dica é distribuir duas sequências de DNA de cada membro da família para grupos diferentes e comparar as respostas.
- ♦ Imprimir, em número suficiente para cada grupo, o item Instruções, que corresponde ao procedimento dos alunos durante a aula;
- ♦ Pedir para os alunos os seguintes objetos para a atividade: uma tesoura e/ou estilete e régua no dia da aula prática.

Observação: Deve-se destacar que o modelo aqui proposto é mais adequado a ser realizado com alunos que tiveram contato prévio com os assuntos de transcrição e tradução, além de terem feito a leitura da seção “Contextualizando” do artigo.

2. Durante a prática

- ♦ Formar grupos de 3 a 5 alunos;
- ♦ Distribuir para cada grupo o item Instruções;

- ♦ Distribuir as Figuras 2 a 6 e a sequência de DNA de um dos membros da família Almeida;
- ♦ Definir o tempo. Sugestão: 30 minutos;
- ♦ A atividade pode ser realizada na forma de jogo, para isso, estabeleça tempo e/ou acertos como critério de pontuação. Ao final, pode ser dada alguma premiação para o grupo vencedor;
- ♦ Recolher o resultado da investigação genética para conferência das respostas (Figura 6);
- ♦ Apresentar os resultados da investigação genética de cada membro da família. Caso o(s) grupo(s) tenha(m) errado, verificar por quê e corrigir.

Etapa 1. Leitura da simulação

Vocês estão fazendo estágio no Laboratório de Hemoglobinopatias do Hospital Universitário e cada grupo receberá amostra de DNA de um membro da família Almeida para investigação de anemia falciforme. O casal Eduardo Almeida e Clara Almeida possuem 3 filhos: Henrique (5 anos) e dois filhos gêmeos, Maria e Miguel, de 3 meses. Miguel, recentemente, começou a apresentar edema doloroso em seus dedos, palidez e baço palpável. Após exames hematológicos, foi diagnosticado com anemia falciforme. Por conta disso, o médico responsável encaminhou a família para o laboratório de Hemoglobinopatias do Departamento de Genética para realizar investigação genética, bem como para avaliar os riscos de ocorrência em futuras gestações. Sua equipe ficará responsável por realizar a investigação genética de um dos membros da família e emitir o diagnóstico.

Etapa 2. Preparo dos materiais

1. Cada grupo receberá:

- ♦ Figuras 2 a 6;
- ♦ Instruções para os estudantes;
- ♦ Sequência de DNA de um membro da família.

Instruções para os estudantes

1. Recortar os **tracejados pretos** nas sequências de DNA (ver modelo na Figura 2A). A fita de DNA entrará no molde da RNA polimerase pelo corte da direita e sairá pelo corte da esquerda.

2. Recortar os **tracejados verticais brancos** indicados na RNA polimerase (Figura 3). Notar que na RNA polimerase serão feitos apenas dois cortes verticais.

3. Recortar os **tracejados verticais brancos** indicados no ribossomo. Serão feitos 5 cortes verticais (Figura 4).

Para facilitar o corte, utilizar um estilete e régua ou dobrar o papel horizontalmente para cortar com a tesoura.

4. Com os materiais em mãos, cada equipe deverá encaixar a fita molde do DNA na RNA polimerase. Puxar a fita na direção do sentido de transcrição (5'-3') e completar os espaços em branco da fita de RNAm (RNA mensageiro) com os nucleotídeos correspondentes (ver modelo na Figura 2B).

5. Com a maquinaria de **tradução** (ribossomo) em mãos, encaixar, no espaço recortado do ribossomo, a fita de RNAm e a sequência em branco da proteína. A fita do RNA entrará pelo corte da direita e seguirá para esquerda. Puxar a fita na direção do sentido de tradução. Os espaços em branco serão completados com os aminoácidos correspondentes (ver modelo na Figura 2C). Para esta etapa, utilizar a tabela de aminoácidos como suporte (Figura 5).

6. Repetir os passos de 4 e 5 com a outra fita de DNA (lembrar-se de que o genoma humano possui duas cópias para o gene que está sendo investigado).

7. Iniciando a análise dos resultados, identificar e circular o 6º aminoácido que contém o ponto de variação genética na anemia falciforme.

Lembrar-se de que não se contará o primeiro aminoácido (metionina), que será removido da sequência final da proteína.

8. Circular o códon do RNAm e a trinca no DNA correspondente ao 6º aminoácido.

9. Com base na sequência de DNA, responder, na tabela de resultados (Figura 6), o nome do indivíduo investigado e qual seu genótipo. Considerar as trincas **GAG** e **GTG** como alelos **A** e **a**, respectivamente.

10. De acordo com as sequências de aminoácidos formadas, responder na tabela de resultados (Figura 6) qual fenótipo do indivíduo (lembrar-se de que o aminoácido **GLU** corresponde à ausência da mutação e o aminoácido **VAL**, corresponde à presença da mutação).

Após a realização dos itens 7 a 10 das Instruções para os alunos e resolução dos resultados para os outros membros da família, o professor(a) deve conduzir os alunos a discutirem e responderem as seguintes questões:

- a) Como é a organização de um gene?
- b) Quantas cópias do gene da β globina existem no genoma humano?
- c) O que é genótipo e fenótipo?
- d) Considerando os genótipos do casal Almeida, quais as probabilidades de ocorrência para cada genótipo dos 3 filhos (AA, Aa e aa)?
- e) Por que Maria e Miguel, que são gêmeos, apresentam fenótipos diferentes para a anemia falciforme?

Anexo 1

Figuras 2-6

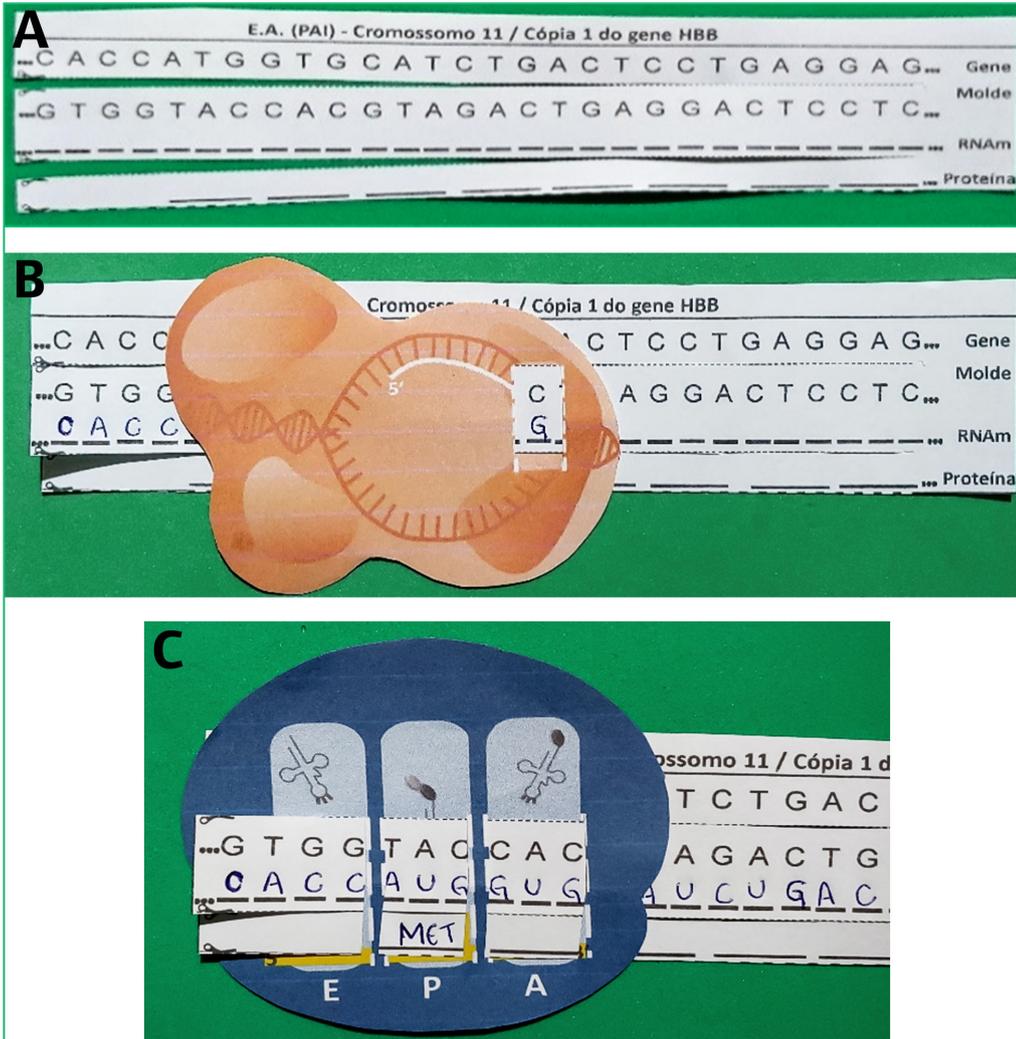


Figura 2. Representação dos processos de transcrição e tradução. **A** - indica os locais de corte; **B** - posicionamento da RNA polimerase e **C** - posicionamento do ribossomo.

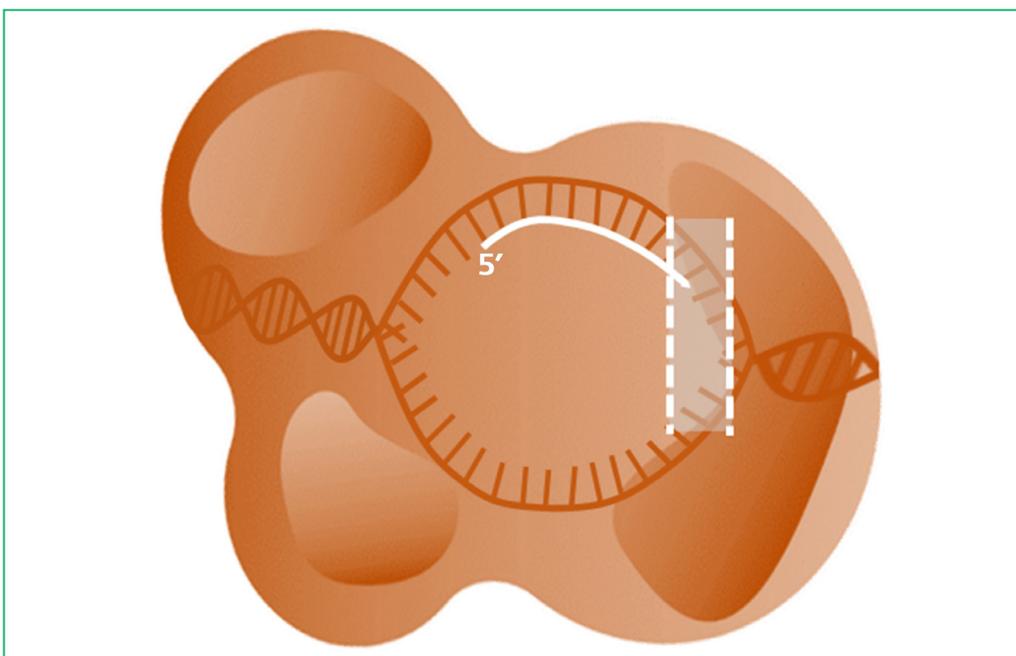


Figura 3. RNA polimerase. A linha branca representa o RNAm em processo de síntese, com a extremidade 5' destacada. Os tracejados verticais deverão ser recortados para entrada (à direita) e saída (à esquerda) da fita molde de DNA.

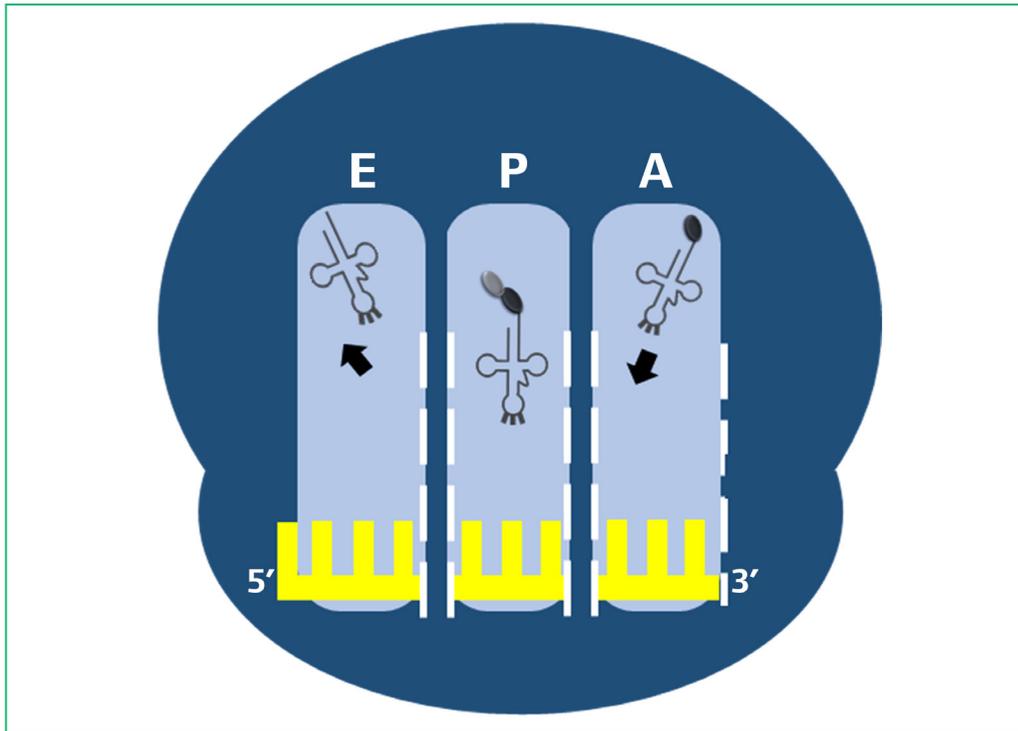


Figura 4. Ribossomo. Estão representados 3 locais de ligação ao tRNA: E (saída), P (ligação dos aminoácidos) e A (entrada dos tRNA). Para cada local, é demonstrado o tRNA. Em amarelo, encontra-se o RNAm (obtido na etapa anterior) com indicação para extremidades 5' e 3'. As linhas verticais tracejadas indicam o local onde deve ser cortado.

		2ª Base								
		U	C	A	G					
1ª Base	U	UUU	Fenilalanina (Fen / F)	UCU	Serina (Ser / S)	UAU	Tirosina (Tir / Y)	UGU	Cisteína (Cis / C)	U
		UUC		UCC		UAC		UGC		C
		UUA	Leucina (Leu / L)	UCA		UAA	Fim	UGA	Fim	A
		UUG		UCG		UAG	Fim	UGG	Triptofano (Trp / W)	G
	C	CUU	Leucina (Leu / L)	CCU	Prolina (Pro / P)	CAU	Histidina (His / H)	CGU	Arginina (Arg / R)	U
		CUC		CCC		CAC		CGC		C
		CUA		CCA		CAA	Glutamina (Gln / Q)	CGA		A
		CUG		CCG		CAG		CGG		G
	A	AUU	Isoleucina (Ile / I)	ACU	Treonina (Tre / T)	AAU	Asparagina (Asn / N)	AGU	Serina (Ser / S)	U
		AUC		ACC		AAC		AGC		C
		AUA		ACA		AAA	Lisina (Lis / K)	AGA	Arginina (Arg / R)	A
		AUG (início)	Metionina (Met / M)	ACG		AAG		AGG		G
G	GUU	Valina (Val / V)	GCU	Alanina (Ala / A)	GAU	Aspartato (Asp / D)	GGU	Glicina (Gli / G)	U	
	GUC		GCC		GAC		GGC		C	
	GUA		GCA		GAA	Ácido Glutâmico (Glu / E)	GGA		A	
	GUG		GCG		GAG		GGG		G	

Figura 5. O código genético. Organização da informação genética em formato de trinca de bases nucleotídicas, os códons.

Resultado da investigação genética - Aluno		
Nome do paciente / grau de parentesco	Genótipo Glu/Glu = AA Glu/Val = Aa Val/Val = aa	Fenótipo (não afetado, traço falcêmico, anemia falciforme)
Pai (Eduardo)		
Mãe (Clara)		
Filho 1 (Henrique)		
Filho 2 (Maria)		
Filho 3 (Miguel)		

Resultado da investigação genética – entregar para o professor

Nomes dos integrantes do grupo:

Nome do paciente / grau de parentesco	Genótipo Glu/Glu = AA Glu/Val = Aa Val/Val = aa	Fenótipo (não afetado, traço falcêmico, anemia falciforme)

Figura 6.

Tabela de resultados da investigação genética. Os alunos devem adicionar a resposta da investigação genética analisada pelo grupo e entregar uma cópia da resposta para o professor(a). Após a discussão da atividade pelo(a) professor(a), preencher o restante da tabela com os demais genótipos e fenótipos. Prosseguir com as respostas do item 11.

Respostas para a investigação genética

Resultado da investigação genética		
Nome do paciente	Genótipo (AA, Aa, aa)	Fenótipo (não afetado, traço falcêmico, anemia falciforme)
Pai (Eduardo)	Aa	traço falcêmico
Mãe (Clara)	Aa	traço falcêmico
Filho 1 (Henrique)	Aa	traço falcêmico
Filho 2 (Maria)	AA	não afetado
Filho 3 (Miguel)	aa	anemia falciforme

Respostas para as perguntas do item Instruções para os estudantes (Item 11)

- a) Um gene é constituído por regiões codificantes, os éxons, alternadas por regiões não-codificantes, os íntrons. Após o processo de transcrição, o RNA mensageiro formado passa por um processo de retirada dos íntrons, restando apenas a sequência codificadora. Nos éxons estão presentes os códons de início e finalização da tradução, os quais sinalizam onde começa e termina a sequência de aminoácidos da proteína.
- b) Nos seres humanos há 2 cópias do gene da β globina.
- c) Genótipo refere-se à combinação de alelos que um indivíduo possui. Já o fenótipo, trata das características observáveis, sejam elas morfológicas, bioquímicas ou fisiológicas.

d)

	♂ Aa	x	♀ Aa
♀	A		a
♂	A	AA	Aa
	a	Aa	aa

Genótipo Aa (Henrique): probabilidade = $2/4 \rightarrow 50\%$.

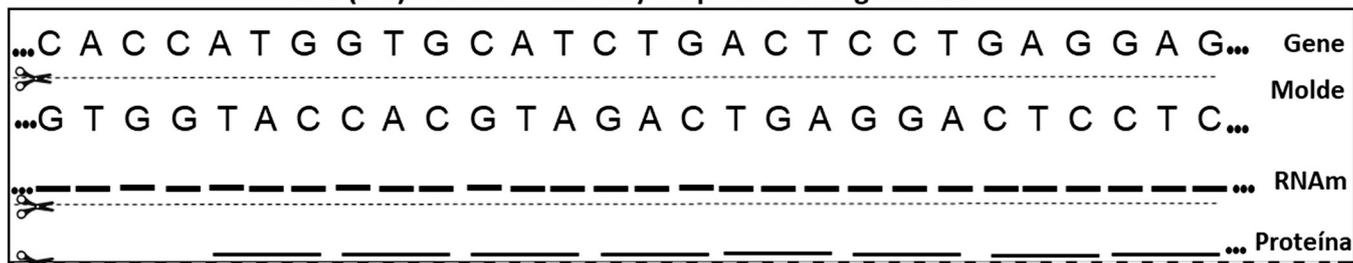
Genótipo AA (Maria): probabilidade = $1/4 \rightarrow 25\%$.

Genótipo aa (Miguel): probabilidade = $1/4 \rightarrow 25\%$.

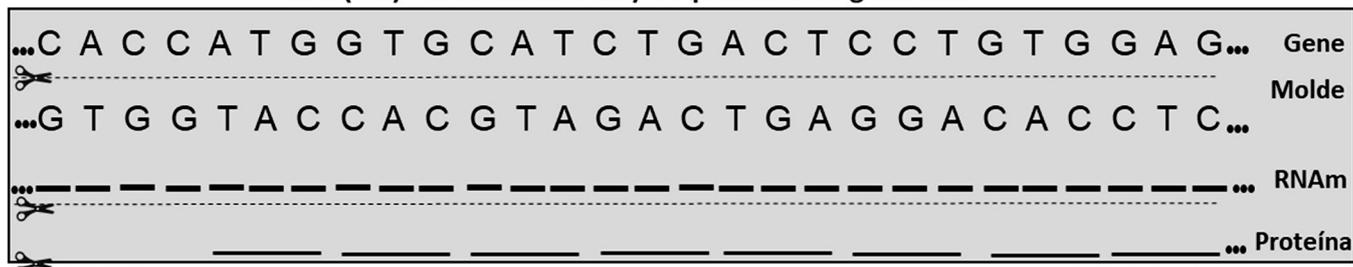
- e) Maria e Miguel são gêmeos dizigóticos, ou seja, ocorreu a fertilização simultânea de 2 óvulos por 2 espermatozoides. Portanto, qualquer um dos irmãos pode herdar dos pais quaisquer um dos 3 genótipos (Aa, AA e aa) possíveis nesta situação problema. Isto explica Miguel (aa) possuir anemia falciforme, enquanto Maria (AA) não é afetada.

ANEXO 2 – Sequência do DNA do pai, mãe e filho menor

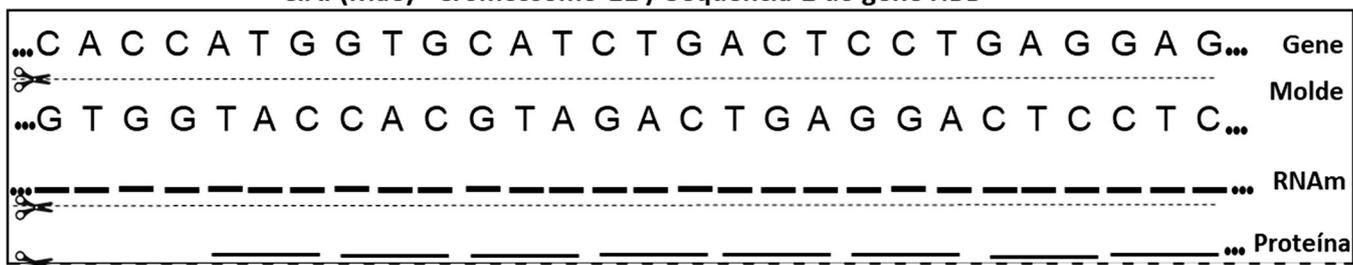
E.A. (PAI) - Cromossomo 11 / Sequência 1 do gene HBB



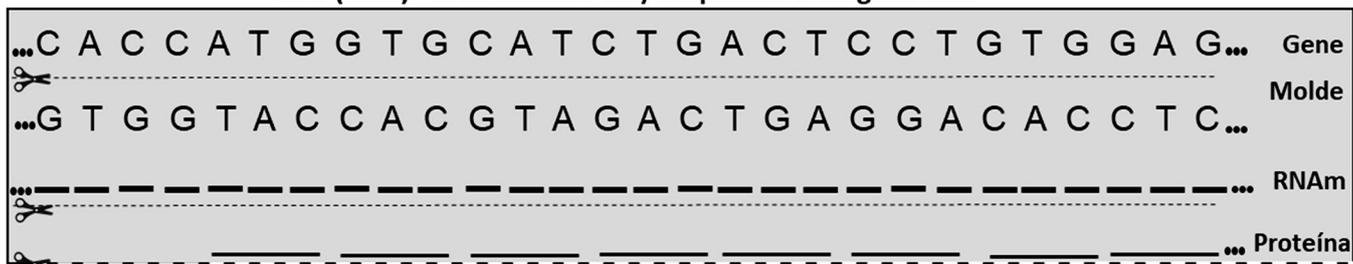
E.A. (PAI) - Cromossomo 11 / Sequência 2 do gene HBB



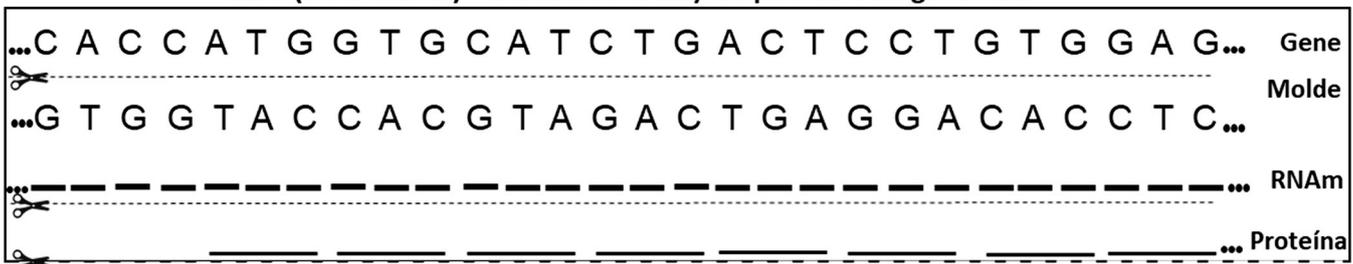
C.A. (Mãe) - Cromossomo 11 / Sequência 1 do gene HBB



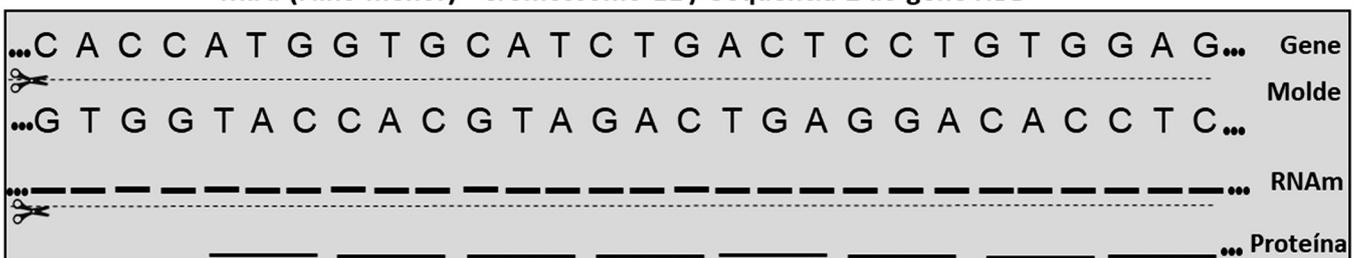
C.A. (Mãe) - Cromossomo 11 / Sequência 2 do gene HBB



M.A. (Filho menor) - Cromossomo 11 / Sequência 1 do gene HBB



M.A. (Filho menor) - Cromossomo 11 / Sequência 2 do gene HBB

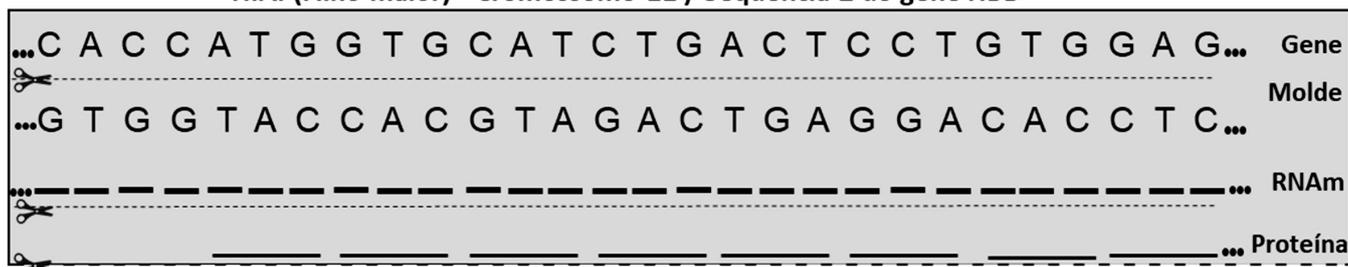


ANEXO 3 – Sequência de DNA do filho maior e filha

H.A. (Filho maior) - Cromossomo 11 / Sequência 1 do gene HBB



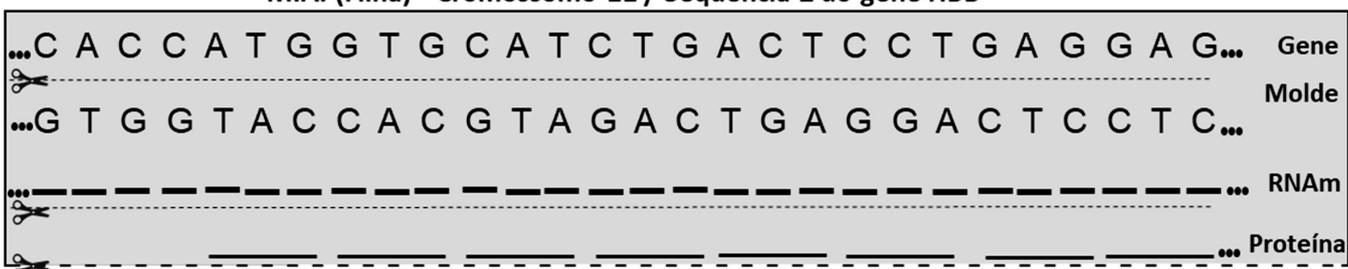
H.A. (Filho maior) - Cromossomo 11 / Sequência 2 do gene HBB



M.A. (Filha) - Cromossomo 11 / Sequência 1 do gene HBB



M.A. (Filha) - Cromossomo 11 / Sequência 2 do gene HBB



Para saber mais

INUSA, B. P. D.; HSU, L. L.; KOHLI, N, et al. Sickle Cell Disease-Genetics, Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatment. *Int. J. Neonatal Screen*, v. 5, n. 20. p. 1-15, 2019.

NCBI. (2021) National Center for Biotechnology Information (NCBI). Bethesda (MD). *National*

Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. <Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3043>>. Disponível em 12/03/2021.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 6ª. Edição. Porto Alegre: Artmed, 2014.