



Relatório Intercalar

2º Período

No segundo período, do ano lectivo de 2007/2008, no âmbito da disciplina de Área de Projecto, o grupo AGIV iniciou a nível laboratorial o projecto de investigação – Património Genético: Transmissão de Características Hereditárias –, tendo como um dos principais objectivos investigar a transmissão de características genéticas hereditárias, do modelo biológico em estudo, manipulando o seu genoma, de modo a obter uma dupla mutação.

Ao longo deste período, o grupo adoptou um método de trabalho distinto do anterior, na medida em que os objectivos e as actividades pré-definidos assim exigiam uma específica organização inter-grupal. Neste sentido, foi criado um dossier laboratorial, onde se encontra arquivado todo o material de auxílio laboratorial, tal como, os protocolos experimentais pré-realizados, os documentos e as imagens interpretativos da distinção de sexos ou da distinção de fêmeas virgens, as tabelas de análise do fenótipo e os esquemas de análise do ciclo de vida do modelo biológico em estudo. Além disso, este apresenta a separação das actividades experimentais pelos diferentes elementos do grupo, e assim, cada elemento realiza o estudo de um cruzamento genético de *Drosophila melanogaster*, sendo o responsável pela sua calendarização e pelo seu arquivo, nas respectivas fichas de registo laboratorial, de acordo com o estudo do protocolo experimental correspondente e com a análise dos resultados adquiridos na realização do cruzamento. Este dossier tem como principal funcionalidade simplificar e interpretar, de um modo mais eficaz, a actividade laboratorial do grupo.

Neste contexto, a nível laboratorial fiquei encarregue do cruzamento genético de mono-hibridismo – gene recessivo ligado ao sexo. Após o estudo do protocolo experimental¹, iniciei simultaneamente no dia 18 de Fevereiro o primeiro cruzamento entre mutantes yellow fêmeas e wildtype machos e o segundo cruzamento entre mutantes white fêmeas e wildtype machos. De acordo, com o ciclo de vida (à temperatura de 12°C) do modelo biológico em estudo, após cinco dias, aproximadamente, realizei a transferência dos parentais para novo tubo, ficando a espera do nascimento da primeira descendência,

¹ anexo 1 : Protocolo Experimental: Parte III: Cruzamento Genético de *Drosophila melanogaster*: Mono-hibridismo – envolvendo gene recessivo ligado ao sexo.

ou seja, da geração F1. Procedendo, também, ao registo² e à calendarização da actividade experimental em curso.

A geração F1 do primeiro cruzamento genético de mono-hibridismo – gene recessivo ligado ao sexo –, entre fêmeas white (olhos brancos) e machos wildtype (olhos vermelhos), deu origem a uma descendência constituída por 50% de indivíduos de olhos vermelhos e 50% de indivíduos de olhos brancos, em que todas as fêmeas apresentam olhos vermelhos e todos os machos olhos brancos.

Contudo, na contagem do cruzamento replicado da geração F1, no dia 6 de Março, surgiu uma fêmea white e, no dia 11 de Março, surgiram vários machos wildtype, o que teoricamente não deveria ter acontecido, de acordo com a análise do genótipo no xadrez mendeliano, do respectivo cruzamento em questão. Além disso, os resultados da geração F2 deste cruzamento são incompatíveis em relação a análise do genótipo no xadrez mendeliano; na medida em que, teoricamente, a descendência deveria ser constituída, aproximadamente, por 25% de fêmeas de olhos vermelhos, 25% de fêmeas de olhos brancos, 25% de machos de olhos vermelhos e 25% de machos de olhos brancos, mas na contagem da geração F2, 100% dos indivíduos são wildtype, ou seja, têm olhos vermelhos.

Deste modo, este acontecimento é negativo para o cruzamento, fazendo com que este tenha de ser totalmente reiniciado. Possivelmente, como solução proponho iniciar a geração recíproca, ou seja, entre machos white e fêmeas wildtype, que produzirá resultados diferentes, mas apesar de esta primeira fase do cruzamento não ter corrido conforme o planeado, os resultados teóricos são já conhecidos, a realização do cruzamento recíproco seria uma forma de obter novos conhecimentos e, também, de economizar tempo na repetição do cruzamento inicial.

No cruzamento recíproco, segundo as experiências de Morgan, será obtida uma geração F1 com 100% de indivíduos de olhos vermelhos, ao contrário da geração F1 do cruzamento inicial, resultando deste 50% de indivíduos de olhos vermelhos e 50% de indivíduos de olhos brancos.

Os resultados permitem concluir que o gene alelo³ responsável pela cor dos olhos da *Drosophila* se localiza no cromossoma X, isto é, num cromossoma para o qual não existisse um verdadeiro homólogo. Esta situação verifica-se no par de cromossomas sexuais. De facto, embora as fêmeas possuam dois cromossomas X, ou seja, são verdadeiros homólogos; os machos possuem um cromossoma X e um cromossoma Y, que não possuem genes correspondentes, e consequentemente não são totalmente homólogos. Daí conclui-se, também, que o alelo mutante (responsável pela cor branca dos olhos) é recessivo e, por isso, um fêmea apenas terá olhos brancos se possuir este alelo em ambos

² anexo 2: Fichas de Registo: Cruzamento Genético de *Drosophila melanogaster*: Mono-hibridismo – envolvendo gene recessivo ligado ao sexo.

³ Gene alelo: a forma alternativa dos genes responsáveis pela transmissão das características hereditárias.

os cromossomas X. E, ainda, a presença do alelo responsável pela cor vermelha determinará o aparecimento do fenótipo selvagem, uma vez que é dominante sobre a forma mutante. Por outro lado, os machos possuem apenas um cromossoma X e, por isso, são portadores apenas de um alelo para as características presentes neste cromossoma. Assim, a cor dos olhos é determinada apenas por um alelo e, por isso, se os machos herdarem um cromossoma X portador do gene normal, terão olhos vermelhos.

A geração F1 do segundo cruzamento genético de mono-hibridismo – gene recessivo ligado ao sexo –, entre fêmeas yellow (corpo amarelo claro) e machos wildtype (corpo dourado), deu origem a uma descendência constituída por 50% de indivíduos de corpo dourado e 50% de indivíduos de corpo amarelo claro, em que todas as fêmeas apresentam corpo dourado e todos os machos de corpo amarelo claro.

Porém, os resultados da geração F2 deste cruzamento são incompatíveis em relação a análise do genótipo no xadrez mendeliano; na medida em que, teoricamente, a descendência deveria ser constituída, aproximadamente, por 25% de fêmeas de corpo dourado, 25% de fêmeas de corpo amarelo claro, 25% de machos de corpo dourado e 25% de machos de corpo amarelo claro, mas na contagem da geração F2, 50% dos indivíduos apresentavam corpo dourado e os restantes 50% corpo amarelo claro, independentemente do seu sexo. Este acontecimento é negativo para o cruzamento, fazendo com que este tenha de ser totalmente reiniciado. Sendo assim, apresento a mesma solução que propôs para o primeiro cruzamento de mono-hibridismo, isto é, iniciar o cruzamento recíproco.

Tal como no cruzamento anterior, conforme as experiências de Morgan, a realização do cruzamento recíproco, ou seja, machos yellow e fêmeas wildtype, produzirá resultados diferentes. Sendo que, será obtida uma geração F1 com 100% de indivíduos de corpo dourado.

Assim, estes resultados permitem concluir que o gene alelo responsável pela cor do corpo da *Drosophila* se localiza no cromossoma X. Deste modo, o alelo mutante (responsável pela cor amarela clara do corpo) é recessivo e, por isso, um fêmea apenas terá corpo amarelo claro se possuir este alelo em ambos os cromossomas X. E, ainda a presença do alelo responsável pela cor dourada do corpo determinará o aparecimento do fenótipo selvagem, uma vez que é dominante sobre a forma mutante. Por outro lado, os machos possuem apenas um cromossoma X e, por isso, são portadores apenas de um alelo para as características presentes neste cromossoma. Assim, a cor dos olhos é determinada apenas por um alelo e, por isso, se os machos herdarem um cromossoma X portador do gene normal, terão corpo dourado.

Para a iniciação das actividades experimentais foi necessário pedir auxílio a instituições, como o instituto de biologia molecular e celular do Porto (IBMC) para requisitar o material necessário, para o grupo poder realizar os cruzamentos genéticos anteriormente planificados. Por exemplo, um dos obstáculos encontrados foi o fornecimento do meio de

cultura, uma vez que são necessários bastantes tubos de cultura para a realização dos cruzamentos e o IBMC, nomeadamente uma das coordenadoras do projecto Mokidros, Dra. Rita Portela, têm colaborado para a resolução do problema.

Ao longo deste período, o trabalho no projecto a nível laboratorial, apesar de todos os obstáculos e resistências, foi positivo e gratificante, uma vez que foi facultada uma eficaz manutenção laboratorial do meio de cultura e um bom desenvolvimento dos cruzamentos genéticos em estudo. Uma das resistências com que o grupo se tem confrontado é, por exemplo, o facto dos indivíduos, quando em meio de cultura, encontram-se bastante agitados, sendo que é bastante difícil adormecerem para observação.

Para além do trabalho laboratorial-prático, ainda foi iniciada a organização da palestra sobre o Cancro do Cólon do Útero, tendo como convidada a Dra. Raquel Seruca. Sendo que o principal objectivo é fornecer informações importantes, à comunidade escolar e educacional, que ajudam a compreender esta doença. Assim como o cancro do cólon do útero pode ser detectado, tratado e prevenido.

Tendo tudo em conta, neste final de período, posso afirmar que o balanço do trabalho desenvolvido no projecto é positivo, na medida em que houve cumprimento das tarefas que foram estipuladas nos diários de bordo, dos objectivos e finalidades pré-estabelecidos para o projecto e das datas estipuladas para a entrega do relatório intercalar. Contudo, os cruzamentos genéticos de mono-hibridismo, gene recessivo ligado ao sexo, em estudo estavam a correr como planificados, mas na contagem dos indivíduos verificaram-se erros no fenótipo destes, sendo que este não correspondia com a análise do genótipo no xadrez mendeliano pré-estabelecido para cada geração dos cruzamentos. Além disso, esta é a fase do projecto mais interessante, pois o grupo sente-se mais activo laboratorialmente, sentindo-se mais motivado para a concretização do projecto.

A nível pessoal este projecto de investigação científica é bastante gratificante, na medida em que me permite interagir com o mundo da comunidade científica a todos os níveis, desenvolvendo e aprofundando, deste modo, um processo de metodologia de trabalho concreto, relacionado com a área de investigação científica, na qual tenho interesse pessoal e vocacional.

Virgínia Moura Gouveia
grupo AGIV

1