

CIÊNCIA ET AL
PROGRAMA
EDUCATIVO |
i3S - INSTITUTO DE
INVESTIGAÇÃO
E INOVAÇÃO EM
SAÚDE

A Herança d'Os Maias



KIT PARA IMPLEMENTAÇÃO
AUTÓNOMA DO WORKSHOP

**KIT:
EQUIPAMENTOS E MATERIAIS
DISPONIBILIZADOS**

EQUIPAMENTOS (A TÍTULO DE EMPRÉSTIMO):

- Sistema FlashGel Dock (sistema de eletroforese “seco” com transiluminador incorporado) (1)
- Fonte de alimentação (1)
- Micropipetas monovolume (7 10ul + 3 de 25ul 6+ P20+P200)

MATERIAIS E REAGENTES CONSUMÍVEIS:

- Cassete FlashGel DNA (gel encastrado para o sistema FlashGel Dock) (1)
- Pontas para pipetas (descartáveis)
- Eppendorffs (25)
- DNA (3) Stocks contendo: um fragmento, de maior peso molecular (HH); três fragmentos (Hh) e dois fragmentos, com pesos moleculares menores (hh). As soluções contêm loading buffer adicionado.
- Marcador de peso molecular de DNA (1GeneRuler 50 bp DNA Ladder, ready-to-use, Catalog number: SM0373)

**MATERIAIS E REAGENTES A PROVIDENCIAR
PELA ESCOLA:**

- Água desionizada
- Lenços de papel

Autores: Ana Barros, Célia Melo, Anabela Nunes, Júlio Borlido-Santos, Susana Pereira. **Adaptação:** Filipa Dias, Filipe Monteiro, Paulo Oliveira, Steeve Lima, Marta Teixeira Pinto.

DESCRIÇÃO DA ATIVIDADE:

A “Herança d’ Os Maias” é uma atividade prática interdisciplinar que cruza conteúdos da disciplina de **Português 11º ano** e **Biologia 12º**. O desafio colocado aos alunos é identificar o herdeiro d’ Os Maias através do uso de **testes genéticos**.

Esta atividade está centrada na análise do clássico da literatura do século XIX **“Os Maias” de Eça de Queiroz** e na transmissão de características genéticas envolvendo conceitos tais como fenótipo, genótipo, hereditariedade, dominância e recessividade.

OBJETIVOS:

- Abordar conceitos de genética: fenótipo, genótipo, homocigótico, heterocigótico (recessivo e dominante) e alelos.
- Utilizar técnicas de biologia molecular - eletroforese.
- Relacionar conceitos de genética e com a árvore genealógica.
- Discutir o papel da hereditariedade vs. educação vs. ambiente cultural da obra.

DESENVOLVIMENTO

Cada aluno assume uma personagem com base na história da família d’ Os Maias.

Para além da história original, é introduzida uma nova trama com dados suplementares nos quais se baseia o **desafio: “Quem é o herdeiro d’ Os Maias?”**

Cinco membros da família, três dos quais descendentes ilegítimos, apresentam-se como tendo os direitos de herdar por sucessão.

Assim é iniciada a discussão que levará ao esboço de uma árvore genealógica e à realização do trabalho laboratorial **(VER PROTOCOLO DETALHADO ABAIXO)**.

Cada participante incorpora um membro da família e terá que analisar uma amostra de DNA, de modo a estudar a transmissão de uma dada característica genética. Para isso, é usada a **eletroforese em gel de agarose**.

Os resultados do teste, acrescentados à árvore genealógica d'Os Maias, permitem a **identificação dos indivíduos homocigóticos e heterocigóticos para o gene analisado**. É traçada a transmissão do gene ao longo das várias gerações, encontrando-se a resposta ao desafio.

1. **“Desafio”**: A discussão começa com o reconhecimento da necessidade de investigar o genótipo dos presumíveis herdeiros.

2. A **atividade laboratorial** consiste numa simulação prática na qual será investigado um único gene. Este gene é denominado gene “Herança”. É construída uma árvore genealógica e cada membro da família Maia doará uma amostra de DNA. A tarefa é detetar que alelos do gene estão presentes na amostra através da interpretação de um padrão de fragmentos de DNA¹ separados por eletroforese em gel de agarose.

3. **Análise dos resultados e resolução do “desafio”**.

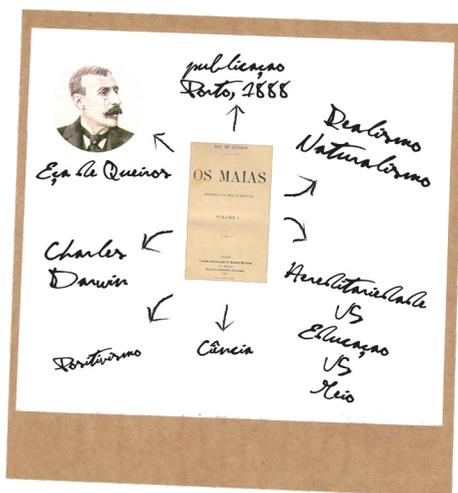
Os participantes devem analisar as bandas do teste genético identificando os membros da família que são homocigotos ou heterocigotos para o gene herança e inferir quem irá mostrar a característica herdada ou quem é portador e poderá transmitir aos descendentes. Uma árvore genealógica é construída de acordo com o genótipo observado e são tiradas conclusões.

NOTA:

¹Não será utilizado DNA humano, mas sim amostras de DNA de origem bacteriana previamente preparadas

GUIÃO DA ATIVIDADE

Esta é apenas uma proposta de apresentação e desenvolvimento do workshop “A Herança dos Maias” o professor deve adequar este guião consoante o número de alunos, objetivos pedagógicos e contextos de aprendizagem.



INTRODUÇÃO

- A. Recordar a obra
- B. Mostrar árvore sem bandas (PDF EM ANEXO)
- C. Distribuir os cartões das personagens (PDF EM ANEXO)
- D. Cada aluno lê a sua personagem

A TRAMA

Os Maias são a história de uma família ao longo de várias gerações. O romance de Eça de Queiroz termina com a Maria Eduarda da Maia e o Carlos Eduardo a descobrirem que são irmãos, apesar de estarem muito apaixonados, por isso separam-se. Maria Eduarda parte para Paris e o Carlos vai fazer uma longa viagem e acaba, depois, por voltar a Lisboa.

Acaba o romance do Eça.

Nós ficamos a saber que 50/60 anos depois, Carlos e Maria Eduarda morrem e surge a **necessidade de encontrar um herdeiro para a família d' Os Maias.**

Surgem **vários candidatos**:

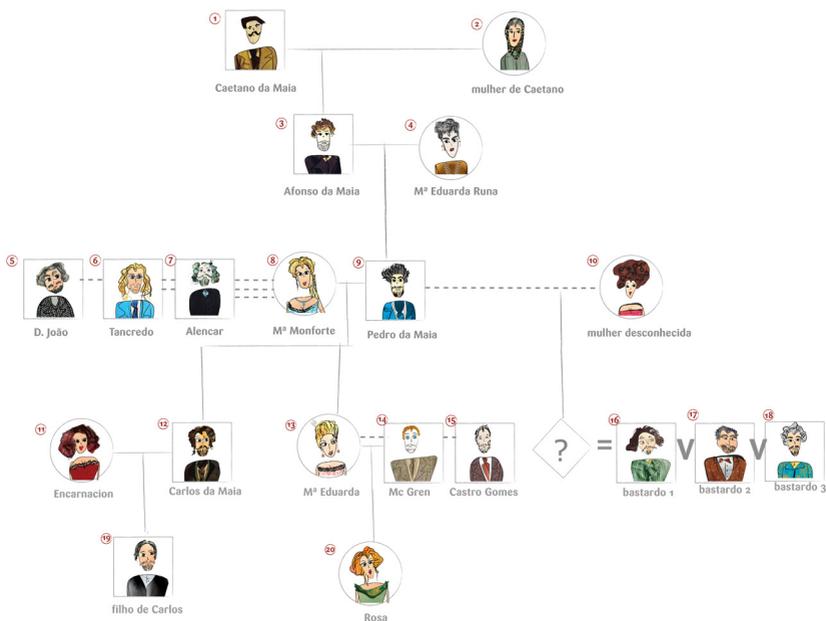
- Rosa diz ser filha de Maria Eduarda e, portanto, herdeira por direito;

- um homem aparece e afirma ser filho de Carlos da Maia. Conta que Carlos teve uma amante espanhola em Coimbra, nos seus tempos de estudante, de seu nome Encarnación e que, quando esta partiu para Espanha, ia grávida de Carlos e que ele é esse filho que Carlos nunca conheceu.

- Pedro, pai de Carlos Eduardo e M^ã Eduarda, teve um bastardo quando era jovem, com apenas 19 anos. Até agora nada se soube do bastardo; contudo, agora três senhores afirmam ser esse filho bastardo. Qual deles será? Será algum deles?

PROBLEMA

Quem é o herdeiro d'Os Maias?



INVESTIGAÇÃO - ANÁLISE GENÉTICA

Para descobrir o herdeiro fizemos **análise de DNA a toda a família**. E porquê a toda a família?

Como é visível no romance de Eça, nesta família nada é o que parece, há sempre romances e intrigas escondidas. Por via das dúvidas achamos melhor confirmar os laços entre os elementos conhecidos da família.

Como descobrimos o herdeiro através do DNA?

Usamos um gene, a que chamamos de **“gene Herança”**, que não tem manifestação visível (ou seja, não é uma característica fenotípica).

A hereditariedade aborda os processos biológicos que asseguram a passagem da informação genética de geração em geração. Toda essa informação está em células e cada uma contém **46 cromossomas**.

No núcleo celular encontramos o DNA onde se encontram os genes. Neles estão codificadas todas as características de um ser vivo, que são únicas em cada indivíduo.

A **genética** estuda a estrutura dos genes no organismo, a sua diversidade e a transmissão de características de pais para filhos. Herdamos de cada um dos nossos progenitores 23 cromossomas. Os genes são porções de DNA - a porção mais pequena de um cromossoma, que não permite a divisão ou rutura por recombinação e que condiciona a transmissão e a manifestação dos caracteres hereditários. O código genético é traduzido em proteínas, expressando-se desta forma determinada característica.

O “gene herança”, possui **dois alelos: “H” e “h”**, sendo o alelo **“H” de transmissão dominante e o alelo “h” de transmissão recessiva**. Assim a característica “Herança”, se for de transmissão dominante, basta um alelo dominante para se manifestar (“HH” ou “Hh”). Se tiver dois alelos recessivos (“hh”), não se manifestará. *(nota: uma dada característica com transmissão for recessiva, só se manifestará se estiverem presentes 2 alelos recessivos).*

Após a **amplificação do gene** de interesse, **juntamos ao DNA uma enzima de restrição que corta a sequência num local específico** existente apenas no alelo “h” do gene herança.

Assim, sempre que existe um alelo “h” a enzima quebra o fragmento em duas partes. No caso de existir um alelo “H”, a enzima não atua, mantendo-se a sequência completa².

NOTA:

²No KIT são fornecidos **3 Stocks de DNA representativos do produto final de uma digestão: um fragmento, de maior peso molecular (HH); três fragmentos (Hh) e dois fragmentos, com pesos moleculares menores (hh).**



Para separar os fragmentos de DNA amplificados e digeridos, usaremos a **técnica de Eletroforese**. Esta técnica consiste na **separação de moléculas carregadas** (o DNA tem carga negativa) conseguida pela aplicação de um campo elétrico. O DNA, **previamente cortado, migrará num suporte físico (gel de agarose) de acordo com o seu tamanho**. Moléculas menores percorrerão distâncias maiores do que moléculas mais pesadas. O tamanho/peso de cada fragmento é determinado por comparação com um marcador de peso molecular, que é incluído no mesmo gel.

Assim, sempre que estivermos na presença de um indivíduo homozigótico para o alelo “H” (“H” para cada um dos alelos desse gene) a **enzima não vai cortar a sequência em nenhum local**, resultando num único fragmento de DNA. Observa-se uma **única banda**, mais pesada.

Se se tratar de um indivíduo **homozigótico para o “h”** (“h” para cada um dos alelos desse gene) a **enzima vai cortar o DNA**, resultando daí **dois fragmentos por alelo**, isto é, **4 pedaços em que cada 2 são iguais**. Observam-se assim duas bandas de tamanhos menores que a resultante na presença do alelo “H”.

No caso de um indivíduo heterozigótico, com um **alelo “h” e um alelo “H”**, o resultado da restrição enzimática serão três fragmentos (**observam-se 3 bandas**) já que o alelo “H” fica intacto e o alelo “h” é cortado em dois fragmentos menores.

A análise integrada, contextualizada na história **d’Os Maias de Eça de Queirós** e dos resultados genéticos observados experimentalmente, permitirá estabelecer/verificar se as pessoas são familiares umas das outras.

A. Distribuir a cada aluno o eppendorf com o número correspondente à personagem

(As 20 amostras, relativas às 20 personagens, devem ser previamente preparadas pelo professor a partir dos stocks de DNA do Kit.)

B. Realizar a parte experimental:

C. Preparação do sistema de eletroforese, preenchimento dos poços, fazer a eletroforese.

VER PROTOCOLO DETALHADO

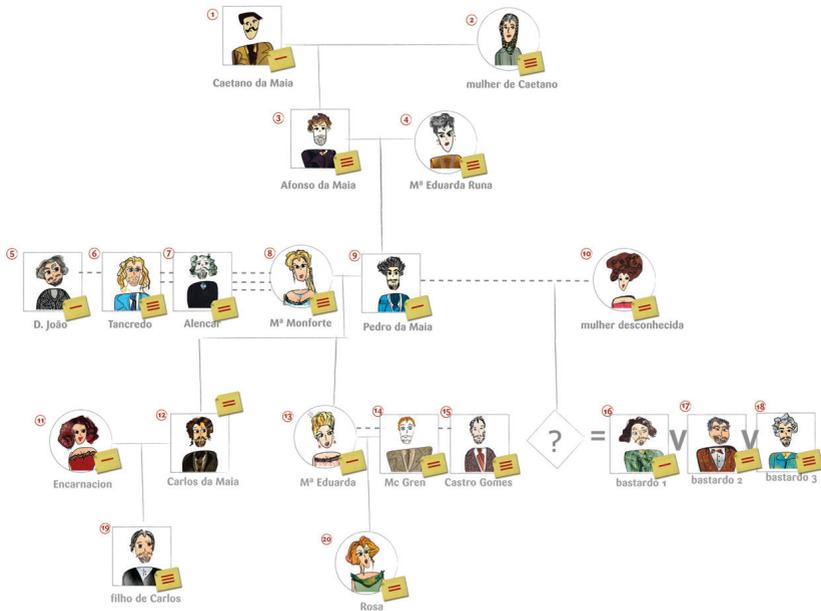
NOTA PRÁTICA:

Apesar do professor (e dos alunos) terem acesso direto aos fragmentos prontos a carregar no gel, em função do tempo disponível pode-se, em sala de aula, fazer a simulação do passo relativo à digestão do DNA.

INTERPRETAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

Preencher os post-its da árvore com as bandas reveladas correspondentes

1. O senhor que afirma ser filho de Carlos, pode ser filho dele?
2. A Rosa pode ser filha da Maria Eduarda com uma das suas relações: McGren e Castro Gomes?
3. Algum destes senhores que dizem ser filhos bastardos de Pedro com a mulher desconhecida pode realmente ser filho deles?
4. O Carlos da Maia e a Maria Eduarda podem realmente ser filhos de Pedro e Maria Monforte?
5. Quem será o pai de Carlos da Maia? Mais de um dos sujeitos analisados pode ser pai de Carlos. Justifique.



CONCLUSÕES

1. O senhor que afirma ser filho de Carlos da Maia, pode ser filho dele?

Sim, pode ser filho de Carlos e de Encarnacion. Não pode ser herdeiro uma vez que não é neto de Pedro da Maia.

2. A Rosa pode ser filha da Maria Eduarda com uma das suas relações: McGren e Castro Gomes?

A Rosa não pode ser filha de Maria Eduarda.

3. Algum destes senhores que dizem ser filhos bastardos de Pedro com uma mulher desconhecida pode realmente ser filho deles?

Sim, o Bastardo 3 pode ser filho de Pedro da Maia e da mulher desconhecida.

4. O Carlos da Maia e a Maria Eduarda podem realmente ser filhos de Pedro e Maria Monforte?

Podem ser ambos filhos de Maria Monforte, no entanto Carlos não é filho de Pedro da Maia

5. Quem será o pai de Carlos da Maia? Mais de um dos sujeitos analisados pode ser pai de Carlos. Justifique.

Embora o Tancredo pela informação do gene h pudesse ser pai de Carlos, é pouco provável que o seja, uma vez que, segundo o romance, quando conhece Maria Monforte, já Carlos era nascido. Como tal, o mais provável é que o pai seja o outro candidato, o Alencar.

NOTA:

Numa análise de DNA em contexto real, por exemplo num teste de paternidade, não se usa um só marcador, mas vários, para uma comparação mais completa dos genes. Uma análise com base num único marcador é limitativa.

PROTOCOLO EXPERIMENTAL - ELETROFORESE

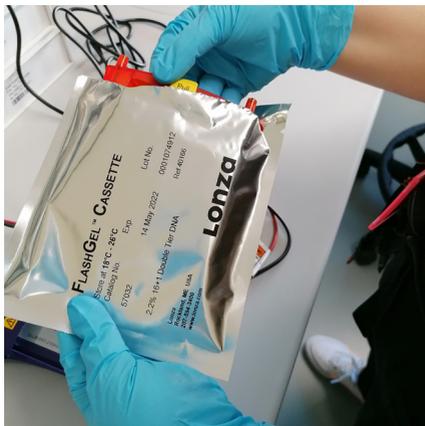
NOTA PRÉVIA:



Caso os alunos não tenham experiência no **manuseamento de micropipetas**, será importante explicar a posição correta das mãos - segurar firmemente colocando o com o polegar no embolo (ver imagem abaixo); e treinar o movimento de expulsão de ar, sentindo os dois pontos de pressão. Deve-se ir até ao primeiro ponto de pressão antes de aspirar o volume pré-definido, pressionando até ao 2º ponto apenas após a expulsão da solução.

Neste trabalho, este procedimento terá

lugar no **Preenchimento dos poços do gel (B)**, pelo que é necessário assegurar que a bolha de ar gerada, não deslocará a solução do poço. Pode ser feito treino prévio, com um gel preparado com gelatina, usando água destilada.



A. PREPARAÇÃO DO SISTEMA DE ELETROFORESE

1. Abra a bolsa e remova a cassette.

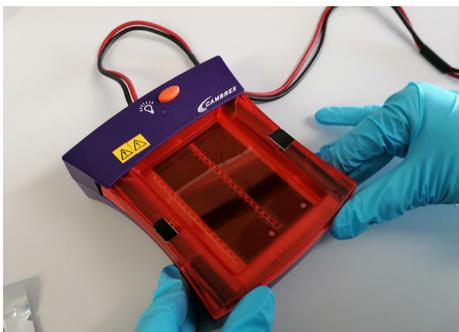
NOTA: Se a cassette estiver molhada, seque com papel absorvente suave (lenço de papel).

2. Coloque a cassete numa superfície plana (pode ser no próprio encaixe/dock) e puxe a aba para remover o selo branco do poço. Não remova as vedações transparentes que cobrem os orifícios de ventilação laterais.



3. Preencha todos os poços de amostra com água destilada ou desionizada. Incline a cassete e com papel absorvente suave (lenço de papel) remova o excesso de água. Não seque os poços diretamente.

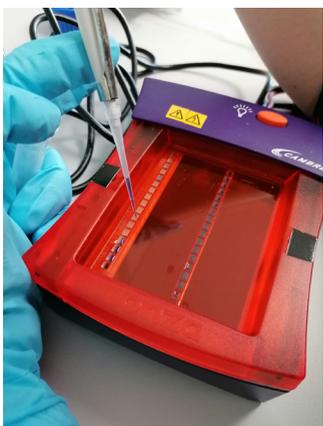




4. Coloque a cassete no encaixe e deslize-a até encaixar firmemente no encaixe (dock).

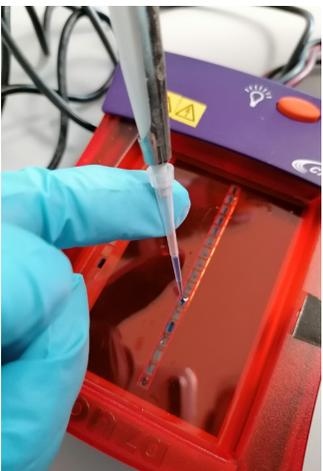
B. PREENCHIMENTO DOS POÇOS DO GEL

5. Carregue as amostras e marcadores.



NOTA 1: se possível use luvas e bata para manusear as cassetes FlashGel™. CUIDADO: Para evitar a exposição acidental a alta tensão, não hidrate os poços enquanto a cassete estiver conectada à fonte de alimentação de alta tensão.

NOTA 2: Uma vez que o volume no eppendorf é reduzido, poderá ser necessário fazer um centrifugação prévia dos tubos (manual, com movimento de chicote ; ou usando a microcentrifuga)



6. Conecte a fonte de alimentação de baixa tensão ao dock inserindo o cabo na respectiva ligação na parte de trás do dock e ligando a fonte de alimentação. Esta é a fonte de alimentação para a fonte de luz.

7. Ligue a luz do dock pressionando o botão laranja na parte superior da unidade.

NOTA: A luz será desligada automaticamente após 10 minutos. Reinicie pressionando o botão laranja.



C. ELETROFORESE

8. Conecte os cabos de alta tensão à fonte de alimentação e ajuste a alimentação na tensão recomendada. NOTA: As correntes de partida típicas devem variar de 20-25 mA para géis de DNA (entre 80 e 150V) Execute até que a separação desejada seja obtida para os fragmentos de interesse. Sob as condições descritas, fragmentos de DNA de 50 bp-100 bp migrarão para fora do gel em 7-8 minutos. Monitorize a separação e reduza a tensão (mA) e o tempo de execução, se necessário. NOTA: Alguma expressão de tampão dos poços é normal.

9. Deixe correr até que a separação desejada seja alcançada para o fragmento de interesse. CUIDADO: Para evitar exposição acidental a alta tensão, não carregue amostras enquanto a cassete estiver ligada à fonte de alimentação de alta tensão. CUIDADO: Manuseie as cassetes somente depois de desligar os fios da corrente. Desligue a fonte e os cabos da fonte de alimentação antes de remover a cassete.

10. Registre os dados do gel usando a um qualquer sistema captura de imagem (ex: camara de telemóvel)

Outros recursos explicativos:
Ver Video: <https://youtu.be/BXMaczwdapc>



RUA ALFREDO ALLEN, 208
4200-135 PORTO, PORTUGAL
PHONE: +351 226 074 900
EMAIL: ESCOLAS@I3S.UP.PT

