

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



Teste de envelhecimento e mobilidade em *Drosophila melanogaster*

GUIA DO PROFESSOR



O KIT CONSISTE EM:

1 tubo de moscas wild type

12 tubos de papa para as primeiras transferências

4 tubos vazios, construção dos tubos de escalada

Anexo: tabela de escalada

Kit “*Drosophila* na sala de aula: Guia do professor”

DOWNLOAD >>

Excel (para dados das moscas individuais ou em grupo)

DOWNLOAD >>

Autor: Augusta Monteiro.

Revisão: Carla Lopes. Design: Anabela Nunes

Bibliografia:

Harbottle, J., Strangward, P., Alnuamaani, C., Lawes, S., Patel, S., Prokop, A. (2016). Making research fly in schools: *Drosophila* as a powerful modern tool for teaching Biology. *School Science Review* 97, 19-23

Patel, S., DeMaine, S., Heafield, J., Bianchi, L., Prokop, A. (2017). The droso4schools project: long-term scientist-teacher collaborations to promote science communication and education in schools. *Sem Cell Dev Biol*, published online

Melanie R. Watson, Robert D. Lagow, Kexiang Xu, Bing Zhang, and Nancy M. Bonini (2008). A *drosophila* model for amyotrophic lateral sclerosis reveals motor neuron damage by human SOD1. *J Biol Chem* 283(36): 24972-81.doi:10.1074/jbc.M804817200.

ESTUDAR ENVELHECIMENTO E NEURODEGENERAÇÃO, UTILIZANDO A MOSCA DA FRUTA NA SALA DE AULA

Este guia experimental tem como objetivo **analisar o impacto do envelhecimento no sistema nervoso**, através da análise da capacidade motora dos indivíduos.

Para tal vamos recorrer a ***Drosophila melanogaster***, nome científico da mosca da fruta, como modelo experimental.

A capacidade motora da mosca é utilizada para avaliar os **efeitos do envelhecimento e neuro-degeneração**.

Aborda também tópicos como **recolha e tratamento de dados, apresentação e interpretação de resultados** sob a forma de gráfico e tabelas, na sala de aula. Esta atividade desenvolve as capacidades dos alunos de análise de dados, organização e interpretação, e ainda, a importância do tamanho da amostra.

Para a execução deste trabalho é fundamental conhecer a *Drosophila*, o seu genoma e o seu ciclo de vida, assim como adquirir previamente materiais para cultivo da espécie em sala de aula (**guia do professor – nível 1**), e construção dos tubos para o ensaio experimental de mobilidade.

INTRODUÇÃO

A utilização da mosca da fruta para **estudar doenças humanas** parece, à primeira vista, ser no mínimo estranha! Como é que um inseto pode ser semelhante aos humanos ao ponto de o podermos usar para estudar a biologia humana, o mecanismo da divisão celular, a polaridade celular, a biologia de desenvolvimento, o comportamento, envelhecimento, nutrição, cancro e doenças neurodegenerativas?

Isto deve-se à semelhança, a nível celular e molecular, que as moscas da fruta têm connosco!

Ficamos a conhecer melhor este organismo modelo quando na viragem do século, em 2000, um grupo de cientistas¹ publicaram o **genoma completo da *Drosophila***.

Este estudo permitiu perceber que as moscas têm cerca de **14 000 genes, comparando com os 21 000 dos humanos**. Mas, o mais impressionante é que cerca de **65% dos genes humanos associados a doenças têm uma correlação (homologia) com genes presentes na *Drosophila***. Isto significa que podemos estudar na mosca da fruta a função de muitos desses genes e o impacto de alterações que podem levar a doença.

Os cientistas vêem imensas vantagens na utilização da *Drosophila* como modelo animal experimental. Os indivíduos **são pequenos e fáceis de manter**, têm um **ciclo de vida muito rápido**, e **em cada ciclo reprodutivo são gerados muitos indivíduos**, o que também facilita o uso experimental. Para além disso a sua alimentação é relativamente **barata** e não é necessário muito **espaço** para manter vários exemplares. O seu genoma está totalmente sequenciado e existem muitas **técnicas eficientes para alterar o seu genoma**.

A mosca da fruta, contribuiu para a ciência e tornou-se um importante modelo animal experimental. Contribuiu para **mais de 100 000 publicações científicas**, e os trabalhos desenvolvidos em *Drosophila* estiveram **na base de sete prémios Nobel da Fisiologia e Medicina**.

Curiosidades:

1. Qual o nome científico da mosca da fruta?

Drosophila melanogaster

2. Para quantos prémios Nobel, a *Drosophila* contribuiu?

7 e a contar....

3. De onde é originária a mosca da fruta?

África Equatorial

4. Quando é que, supostamente, a mosca da fruta entrou na América?

Segunda metade do século 19

5. Quem utilizou a mosca da fruta para demonstrar a ligação entre mutação, genes, cromossomas e hereditariedade?

Thomas Hunt Morgan

6. Quantas moscas consegues manter num tabuleiro de laboratório?

A população de Londres

7. Quanto tempo precisam as moscas para se tornarem avós?

25 dias

8. Verdadeiro ou Falso – Humanos e moscas da fruta partilham a maioria dos genes.

Verdadeiro

Conhecendo melhor a *Drosophila* torna-se ainda mais fácil usá-la na **compreensão do envelhecimento**. Podemos começar por perguntar aos alunos para relacionarem **envelhecimento e mobilidade**. A maioria irá mencionar que em novos, saltamos mais alto, corremos mais depressa, levantamos pesos maiores, algo que está diminuído nos idosos, ou seja, vai diminuindo com a idade/envelhecimento. Nesta atividade os alunos podem **testar se as moscas apresentam sintomas semelhantes aos humanos**. Consiste num **ensaio de escalada**, em que é **comparada a capacidade motora de moscas envelhecidas com moscas jovens**.

Existem diferentes **doenças neurológicas que podem afetar a mobilidade e coordenação, independentemente da idade**. A doença de **Parkinson**, por exemplo, é uma doença neurológica progressiva que geralmente afeta pessoas com mais idade, mas também pode afetar pessoas jovens em casos menos comuns. Outras condições, como **distúrbios musculares, lesões na medula espinhal, doenças genéticas ou autoimunes**, entre outras, também **podem causar problemas de mobilidade** em pessoas jovens. Além disso, certas condições de saúde mental, como **demência, depressão e ansiedade**, podem impactar a maneira como uma pessoa

se movimenta e interage com o ambiente ao seu redor. Em resumo, a **mobilidade e coordenação não são determinadas apenas pela idade, mas também por uma série de fatores genéticos, de saúde e ambientais.**

Um exemplo que podemos mencionar aos alunos é o do professor **Stephen Hawking**, que sofria de **Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA)** uma **Distrofia dos Neurónios Motores (DNM)**, cuja **causa primária está no sistema nervoso** e não nos músculos.

Para ilustrar isto, peça aos alunos dobrem os braços: a **decisão é tomada no cérebro**, esta informação é transmitida através de impulsos nervosos até à medula espinal e depois pelos nervos até ao músculo bíceps que se contrai.

Os **elementos celulares que medeiam essa transmissão** de informações são os **neurónios motores superiores e inferiores** que enviam potenciais de ação ao longo de suas extensões semelhantes a cabos, chamados axónios.

Mas **o que acontece se estas conexões neuronais forem danificadas ou perdidas?** Os comandos deixam de ser transmitidos aos músculos e, na MND/DNM, isso leva à perda progressiva das atividades musculares, incluindo agarrar, caminhar, falar, engolir e, eventualmente, respirar. A partir do momento do diagnóstico, a esperança média de vida pode ser de apenas três anos. Atualmente, ainda não entendemos completamente **como ou porquê os neurónios morrem precocemente.**

A *Drosophila* desempenha um papel importante na compreensão de como funcionam doenças neurodegenerativas como a MND/DNM. Tal como os humanos, a **mosca da fruta também possui neurónios motores.**

Através da tecnologia moderna da genética – a transgénese – podemos **inserir genes humanos associados à MND/DNM no genoma da mosca**, o que leva a uma perda progressiva da função dos neurónios motores.

Estas moscas têm um desempenho significativamente pior no ensaio de escalada, como mostrado por Watson et al em 2008. Estes ensaios de escalada podem, portanto, ser **usados para rastrear um grande número de moscas mutantes em busca de genes relevantes para condições neurodegenerativas**, como MND/DNM.

ATIVIDADE PROPOSTA: ENVELHECIMENTO E MOBILIDADE

Para começar a utilizar *Drosophila* como modelo experimental, é essencial saber distinguir machos e fêmeas. As fêmeas são normalmente maiores que os machos e possuem abdômen segmentado, tal como os machos, mas com pigmentação negra alternada, dando a aparência de barras. Já os machos possuem os segmentos finais do abdômen todos pigmentados e por essa razão a parte final é mais escura, têm na parte ventral, uma placa genital larga e escura, e nas patas frontais têm uns pelos grossos, chamados de *sex combs* ou pente sexual, tal como está representado na figura 1.

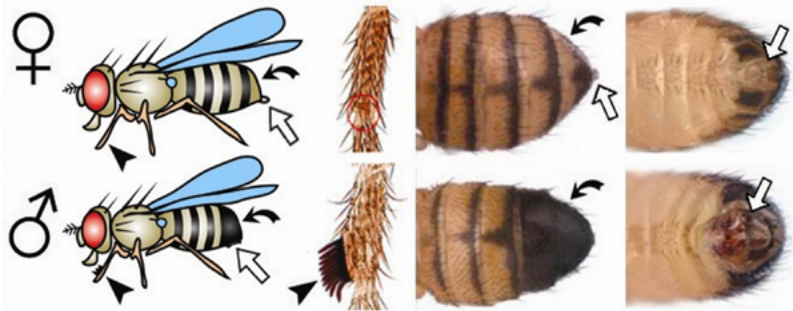
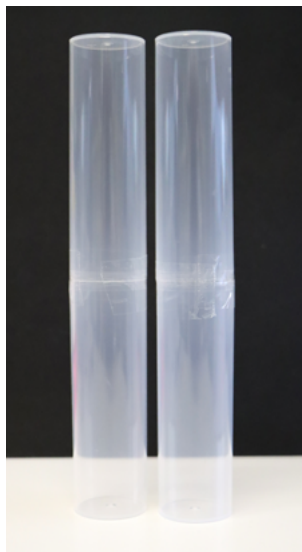


Figura 1:

Macho e fêmea, ventral e dorsal. Adaptado de Harbottle, J., Strangward, P., Alnuamaani, C., Lawes, S., Patel, S., Prokop, A. (2016).

Uma vez distinguidos os machos e fêmeas, começamos por recolher os machos de tipo selvagem (utilizarão 10 machos, mas podem e devem recolher o dobro, alguns poderão não resistir a este tempo de espera) e deixe envelhecer entre 4 a 5 semanas em frascos com comida para moscas (**tubo envelhecido**). Para evitar que as moscas fiquem presas na comida, coloque uma tira de papel de filtro de lado no frasco para as moscas subirem e transfira as moscas para frascos novos a cada 2-3 dias.

Utilize os mesmos métodos para preparar um segundo tubo (**tubo jovem**), mas desta vez contendo 10 moscas machos jovens eclodidas durante os últimos 1-3 dias, tenha a atenção de recolher estes machos na última semana de envelhecimento do **tubo envelhecido**. Desta forma, garante que as duas populações terão as idades correspondentes para realizar o ensaio (**tubo envelhecido - 4 a 5 semanas, tubo jovem - 1 sem**).



Para anestesiá-las as moscas pode usar éter, um curto período no congelador ou uma almofada de CO₂ e transferir 10 moscas para um tubo de plástico vazio usando um pequeno pincel ou pinça. Anexe a extremidade aberta do frasco a um segundo frasco para criar um tubo longo e fechado e prenda os tubos com fita adesiva (fig 2). Deixe as moscas recuperar da anestesia durante 10 minutos (mínimo) antes de fazer o ensaio.

Figura 2:

Tubos colados, a altura dos tubos será compatível com a tabela do ensaio de mobilidade. Adaptado de Harbottle, J., Strangward, P., Alnuamaani, C., Lawes, S., Patel, S., Prokop, A. (2016).

Marque o topo do tubo que contém as moscas envelhecidas para distingui-las das moscas jovens, exemplo N - 1 semana, V - 4 semanas. Coloque a escala atrás dos tubos, em anexo, adaptado de Harbottle, J., Strangward, P., Alnuamaani, C., Lawes, S., Patel, S., Prokop, A. (2016). Prepare o telemóvel para utilizar o cronómetro e a fotografia.

Figura 3:

Tabela de escalada, em anexo



Finalmente, bata com os tubos na bancada mantendo a posição vertical, para assegurar que todas as moscas descem, mantendo os tubos lado a lado (moscas com 4-5 semanas de idade e moscas com 1 semana de idade) em frente à escala, como mostra na figura 4. Depois de 15 segundos, **tire uma foto aos tubos**, para visualizar a posição das moscas ao longo do tubo. Os dados das moscas individuais ou em grupo, podem ser explorados em **gráfico ou em Excel**, que deverá demonstrar que a mobilidade/ função motora vai diminuir com a idade.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
8	young					trials					
9	height	A	B	C	D	E	F	G	H	sum	product
10		1				1				1	1
11		2								0	0
12		3		1						1	3
13		4					2			2	8
14		5	1				1			2	10
15		6	2	1		1				4	24
16		7		1		3		1		5	35
17		8		1		1		1		3	24
18		9		1	2					3	27
19		10	5	4		4		3		16	160
20	sum (per trial)	0	84	74	0	76	0	68	0	37	292
21	average (per trial)		8.4	8.22		7.6		7.25		average	7.89

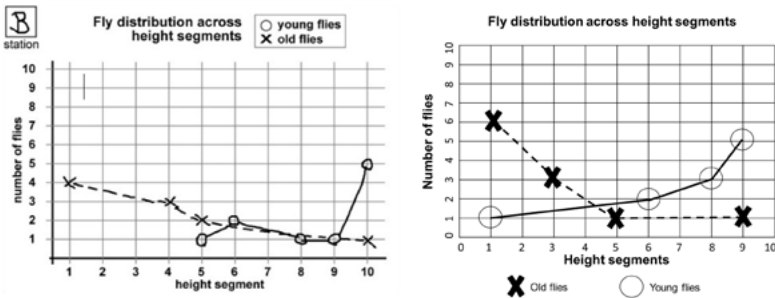


Figura 4: Representação dos dados. Adaptado de Harbottle, J., Strangward, P., Alnuamaani, C., Lawes, S., Patel, S., Prokop, A. (2016).

CONCEITOS ESTATÍSTICOS A TER EM CONTA, ANTES DE REALIZAR ESTA ATIVIDADE:

- **Dados quantitativos, são numéricos**
- **Dados qualitativos, são descritivos**
- **Dados quantitativos:**
 - Discretos, são fornecidos como contagens, apenas números positivos inteiros
 - Contínuos
- **Distribuição Normal (Gaussiana)**
- **Valores discrepantes**

Anexo 1:
Tabela de Escalada: teste de mobilidade *Drosophilas* envelhecidas vs. jovens

Turma:

Ano:

10	
9	
8	
7	
6	
5	
4	
3	
2	
1	

3s



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