

'GENES' NAS POPULAÇÕES

Marcadores Genéticos Polimórficos

alsimoes@fmrp.usp.br / AGO 2014

Fundamentos Moleculares

- Estrutura em dupla hélice
- Cadeias complementares (A/T, C/G)
- Cadeias antiparalelas

- 5' ATTCGA3'
- 3' TAAGCA5'

Qual é a 3^a Base?

- 5' ATTCGA 3'
 - 3' TAAGCT 5'
- T
- 5' TCGAAT 3'
 - 3' AGCTTA 5'
- G
- 3' TAAGCT 5'
 - 5' ATTCGA 3'
- A
- 3' AGCTTA 5'
 - 5' TCGAAT 3'
- C

REFERÊNCIAS

- Sequência de referência 5' → 3'
- Necessidade de endereçamento:
 - Nr da base, região cromossômica, 'nome', 'apelido', etc.
- Nomes ou 'apelidos'
- → **MARCADORES GENÉTICOS**
- Um cromossomo, uma cadeia DNA
- Os Marcadores Genéticos se dispõem ao longo dos cromossomos com “contas de um colar”

Determinando sequências do DNA

- Sequenciar todo o genoma ainda tem custo elevado e ainda exige muito trabalho
- Pequenos fragmentos pode ser sequenciados e comparados a
 - Sequência de referência
 - Ou outras sequências obtidas de outros indivíduos
- OBS: o DNA de dois cromossomos homólogos não são necessariamente iguais.
- Sequências homólogas pode ser diferentes.

Comparação em Populações

- As sequências homólogas de um indivíduo podem ser diferentes entre si → $S1$ e $S2$
- Outros indivíduos da mesma população (para a mesma região genômica) podem apresentar $S1, S2, S3, \dots S_n$
- Em uma amostra de n indivíduos, (excluindo-se as regiões haplóides), para uma mesma região genômica, serão encontradas $2n$ sequências homólogas.

Locus e Alelos

- No conjunto de $2n$ sequências, são encontradas diferentes tipos: $S_1, S_2, S_3, \dots S_x$.
- Exemplo: em $n = 50$ ($2n = 100$), encontradas 20 S_1 , 30 S_2 e 50 S_3 . As frequências relativas serão, respectivamente, 20%, 30% e 50%.
- Não importa quais as sequências e o quanto sejam diferentes uma das outras:
 - O sítio em que ocorrem é comparado a Locus
 - Cada uma das formas compartilha-se como Alelos

CONCEITOS

- Não mais GENES, mas MARCADORES GENÉTICOS
- Podemos (devemos) falar em Locus (sítios) e Alelos (sequências)
- Para o estudo da dinâmica populacional, não importa se tais variantes se encontrem ou não dentro de um Gene (unidade funcionante)
- Apesar de estudar diretamente o DNA, os resultados são obtidos por procedimentos laboratoriais e seus resultados devem ser relatados como Fenótipos e não Genótipos.

VARIABILIDADE DO DNA

Mutação pontual (SNPS)

3'-CGTAAATCTATACGTATCGTACGTACGTA-5'
5'-GCATTTAGATATGCATAGCATGCATGCAT-3'
5'-GCATTTAGATATGCATCGCATGCATGCAT-3'
3'-CGTAAATCTATACGTAGCGTACGTACGTA-5'

Deleção/Inserção

3'-CGTAAATCTATACG.....TACGTACT-5'
5'-GCATTTAGATATGC.....ATGCATGA-3'
5'-GCATTTAGATATGCCCTGAAAGTCATGCATG-3'
3'-CGTAAATCTATACGGGGACTTTCAGTACGTAC-5'

Inversão

3'-CGTAAATCTATACGTACGTACGTACGTA-5'
5'-GCATTTAGATATGCATGCATGCATGCAT-3'
5'-GCATTTAGATAACGTACGTTGCATGCAT-3'
3'-CGTAAATCTATTGCATGCAACGTACGTA-5'

Repetição *in tandem*

3'-CGTAAATCTAGGTGTCGTCTACTAAAG-5'
5'-GCATTTAGATCCACAGCAGATGATTTTC-3'
5'-GCATTTAGATCCACAGCAGCAGCAGCAGATGTTTC-3'
3'-CGTAAATCTAGGTGTCGTCTCGTCGTCTACAAAG-5'

VARIABILIDADE DO DNA

Mutação pontual

3'-CGTAAATCTATACGTATCGTACGTACGTA-5'
5'-GCATTTAGATATGCATAGCATGCATGCAT-3'
5'-GCATTTAGATATGCATCGCATGCATGCAT-3'
3'-CGTAAATCTATACGTAGCGTACGTACGTA-5'

Deleção/Inserção (*indels*)

3'-CGTAAATCTATACG.....TACGTACT-5'
5'-GCATTTAGATATGC.....ATGCATGA-3'
5'-GCATTTAGATATGCCCCTGAAAGTCATGCATG-3'
3'-CGTAAATCTATACGGGGACTTTCAGTACGTAC-5'

Inversão

3'-CGTAAATCTATACGTACGTACGTACGTA-5'
5'-GCATTTAGATATGCATGCATGCATGCAT-3'
5'-GCATTTAGATAACGTACGTTGCATGCAT-3'
3'-CGTAAATCTATTGCATGCAACGTACGTA-5'

Repetição *in tandem*

3'-CGTAAATCTAGGTGTCGTCTACTAAAAG-5'
5'-GCATTTAGATCCACAGCAGATGATTTTC-3'
5'-GCATTTAGATCCACAGCAGCAGCAGCAGATGTTTC-3'
3'-CGTAAATCTAGGTGTCGTGTCGTGTCGTCTACAAAAG-5'

VARIABILIDADE DO DNA

Mutação pontual

3'-CGTAAATCTATACGTATCGTACGTACGTA-5'
5'-GCATTTAGATATGCATAGCATGCATGCAT-3'
5'-GCATTTAGATATGCATCGCATGCATGCAT-3'
3'-CGTAAATCTATACGTAGCGTACGTACGTA-5'

Deleção/Inserção

3'-CGTAAATCTATACG.....TACGTACT-5'
5'-GCATTTAGATATGC.....ATGCATGA-3'
5'-GCATTTAGATATGCCCTGAAAGTCATGCATG-3'
3'-CGTAAATCTATACGGGGACTTTTCAGTACGTAC-5'

Inversão

3'-CGTAAATCTATACGTACGTACGTACGTA-5'
5'-GCATTTAGATATGCATGCATGCATGCAT-3'
5'-GCATTTAGATAACGTACGTTGCATGCAT-3'
3'-CGTAAATCTATTGCATGCAACGTACGTA-5'

Repetição *in tandem*

3'-CGTAAATCTAGGTGTCGTCTACTAAAG-5'
5'-GCATTTAGATCCACAGCAGATGATTTTC-3'
5'-GCATTTAGATCCACAGCAGCAGCAGCAGATGTTTC-3'
3'-CGTAAATCTAGGTGTCGTCTCGTCGTCTACAAAG-5'

VARIABILIDADE DO DNA

Mutação puntual

3'-CGTAAATCTATACGTATCGTACGTACGTA-5'
5'-GCATTTAGATATGCATAGCATGCATGCAT-3'
5'-GCATTTAGATATGCATCGCATGCATGCAT-3'
3'-CGTAAATCTATACGTAGCGTACGTACGTA-5'

Deleção/Inserção

3'-CGTAAATCTATACG.....TACGTACT-5'
5'-GCATTTAGATATGC.....ATGCATGA-3'
5'-GCATTTAGATATGCCCTGAAAGTCATGCATG-3'
3'-CGTAAATCTATACGGGGACTTTTCAGTACGTAC-5'

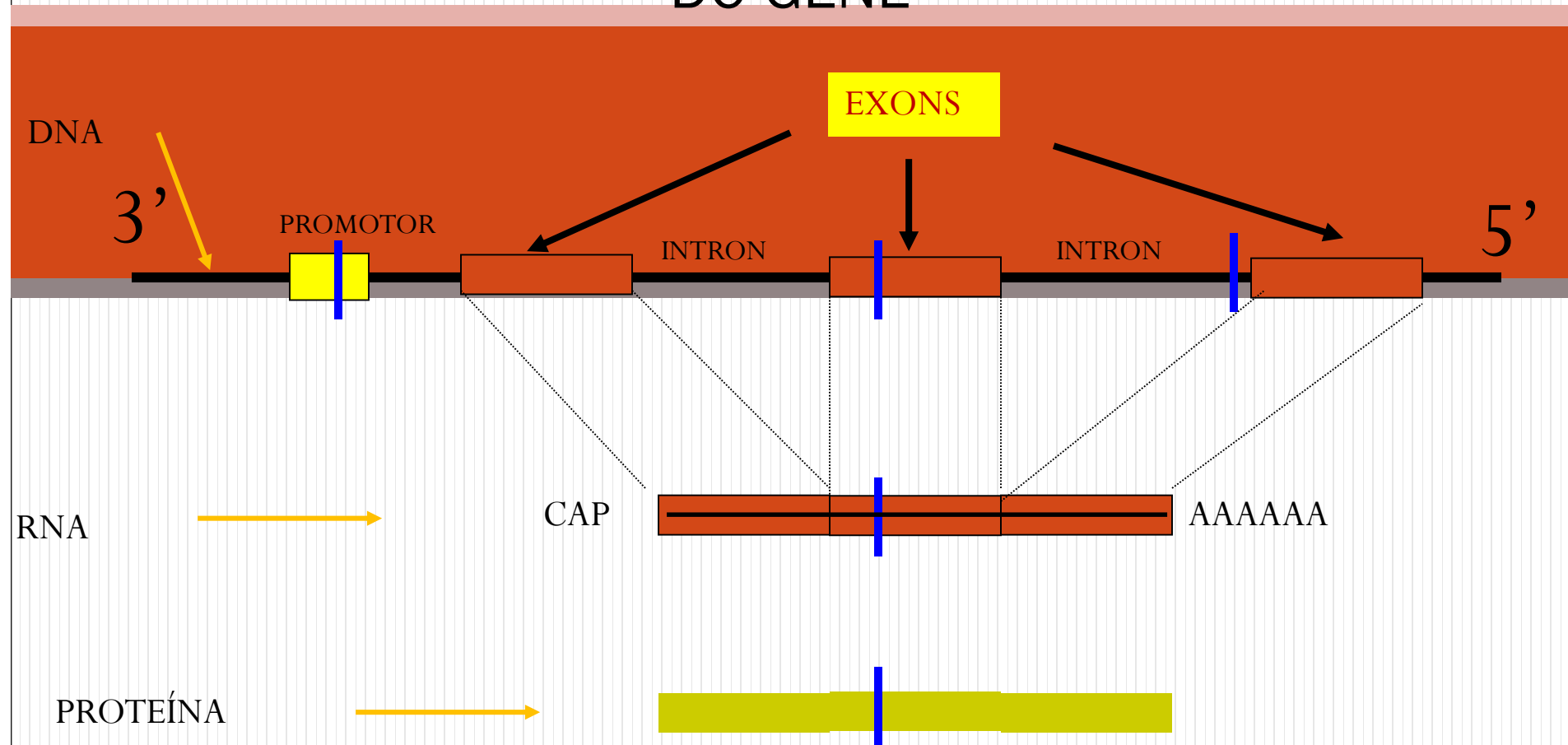
Inversão

3'-CGTAAATCTATACGTACGTACGTACGTA-5'
5'-GCATTTAGATATGCATGCATGCATGCAT-3'
5'-GCATTTAGATAACGTACGTTGCATGCAT-3'
3'-CGTAAATCTATTGCATGCAACGTACGTA-5'

Repetição *in tandem*

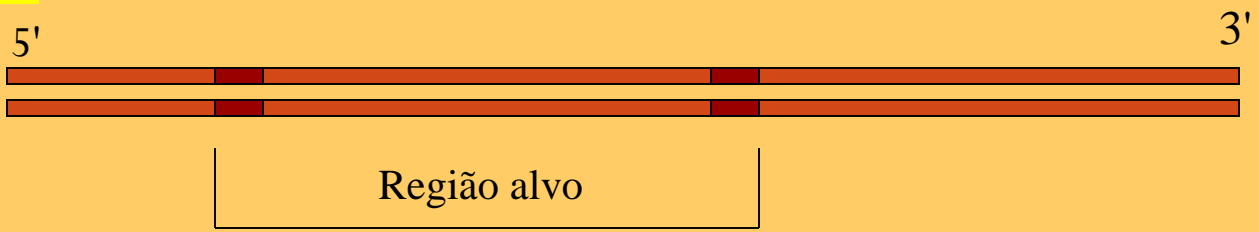
3'-CGTAAATCTAGGTGTCGTCTACTAAAG-5'
5'-GCATTTAGATCCACAGCAGATGATTTC-3'
5'-GCATTTAGATCCACAGCAGCAGCAGCAGATGTTTC-3'
3'-CGTAAATCTAGGTGTCGTTCGTTCGTCTACAAAG-5'

ESTRUTURA GENÉRICA DO GENE



PCR - CICLO 1

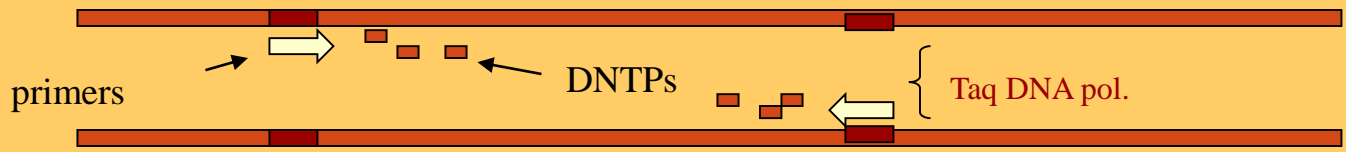
DNA dupla fita



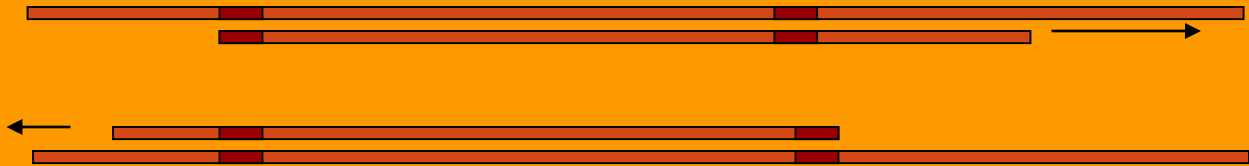
Desnaturação



Pareamento dos Iniciadores



Alongamento das novas fitas

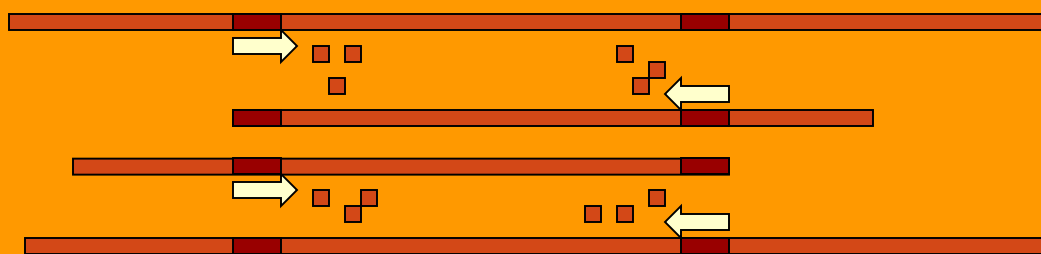


PCR - CICLO 2

Desnaturação



Pareamento dos Iniciadores



Alongamento das novas fitas

