

Curso de Ciências Biológicas do Instituto de Biociências da USP

BIO-0307 - Biologia Molecular para o Bacharelado

M5 - Desafios Experimentais – 2017

- 1) Você conseguiu mapear um gene que causa uma doença renal de herança autossômica dominante, após varredura genômica com microssatélites, utilizando o material genético dos membros de uma enorme família com essa doença. O gene foi mapeado em um segmento cromossômico específico que abrange cerca de 20cM e existem, de acordo com os bancos de dados, 190 genes identificados nessa região. Responda:
 - a. Quais passos você seguiria a partir dessa etapa para continuar o trabalho de identificar o gene responsável pela doença?
 - b. Novas metodologias de sequenciamento estão hoje disponíveis e são chamadas coletivamente de “Next-Generation Sequencing”. Explique como essas estratégias de sequenciamento podem ser úteis para identificar o gene da doença descrita acima.
- 2) DmSN1 e DmTM 3 são dois genes de *Drosophila*, o primeiro expresso em sistema nervoso e o segundo em túbulos de Malpighi (órgão com função excretora). Duas construções contendo toda a região a 5' do início da transcrição de cada gene seguidas da sequência que codifica para GFP foram usadas para produzir uma linhagem transgênica. Larvas procedentes desta dupla transformação foram observadas em lupa sob luz UV, tendo sido vista fluorescência nos túbulos de Malpighi, mas não em gânglios cerebrais. Após a metamorfose, moscas desta linhagem foram dissecadas e seus tecidos imediatamente observados com lupa de UV. Fluorescência foi vista em túbulos de Malpighi e também em gânglios cerebrais.
 - a. Já que todas as células de *Drosophila* têm estas construções inseridas em seu genoma, por que não se observou fluorescência generalizada (em todos os tecidos)?
 - b. Como explicar as diferenças de resultados entre as fases de larva e adulto, tendo como base as características dos órgãos analisados?
- 3) Uma abordagem muito inovadora tem se concentrado em vírus oncolíticos como alternativa real para o tratamento de algumas formas de neoplasia. Selecione uma delas e explique porque o vírus oncolítico
 - a. infecta preferencialmente células tumorais e tende a poupar as células não-tumorais.
 - b. exacerba a resposta imune às células do tumor *in situ* e também nas de ‘metástases ocultas’.
- 4) Foi realizado um experimento de “microarray” com hibridação de sondas de cDNAs de um “chip” de oligonucleotídeos. Dois grupos foram comparados: o primeiro compunha um “pool” de amostras de cDNA obtido de DNA de adenocarcinoma de mama (mesmo tipo histológico e estadiamento) de sete pacientes. O segundo grupo era um “pool” de amostras de cDNA sintetizado a partir de RNA de tecido mamário adjacente ao tumor das mesmas pacientes do grupo anterior, mas com aspecto histológico normal. Explique quais são as etapas de um estudo comparativo de expressão gênica por meio de “microarrays”, que tipos de resultados podem ser obtidos e como estes resultados são analisados.
- 5) Explique como a determinação de sexo em moscas depende da regulação diferencial de *splicing* de transcritos específicos na via do gene *sxl*, em indivíduos XX ou XY.
- 6) Ao contrário de bacteriófagos que possuem genomas muito compactos, alguns vírus que infectam células de eucariontes apresentam sequências espaçadoras entre as sequências codificadoras para proteínas, mas seus genomas têm tamanhos semelhantes (~35 kb). Que mecanismo é utilizado para expressão desses genes de vírus eucarióticos que preserva a sua capacidade para codificar proteínas? Explique utilizando como exemplo o caso dos Adenovírus.