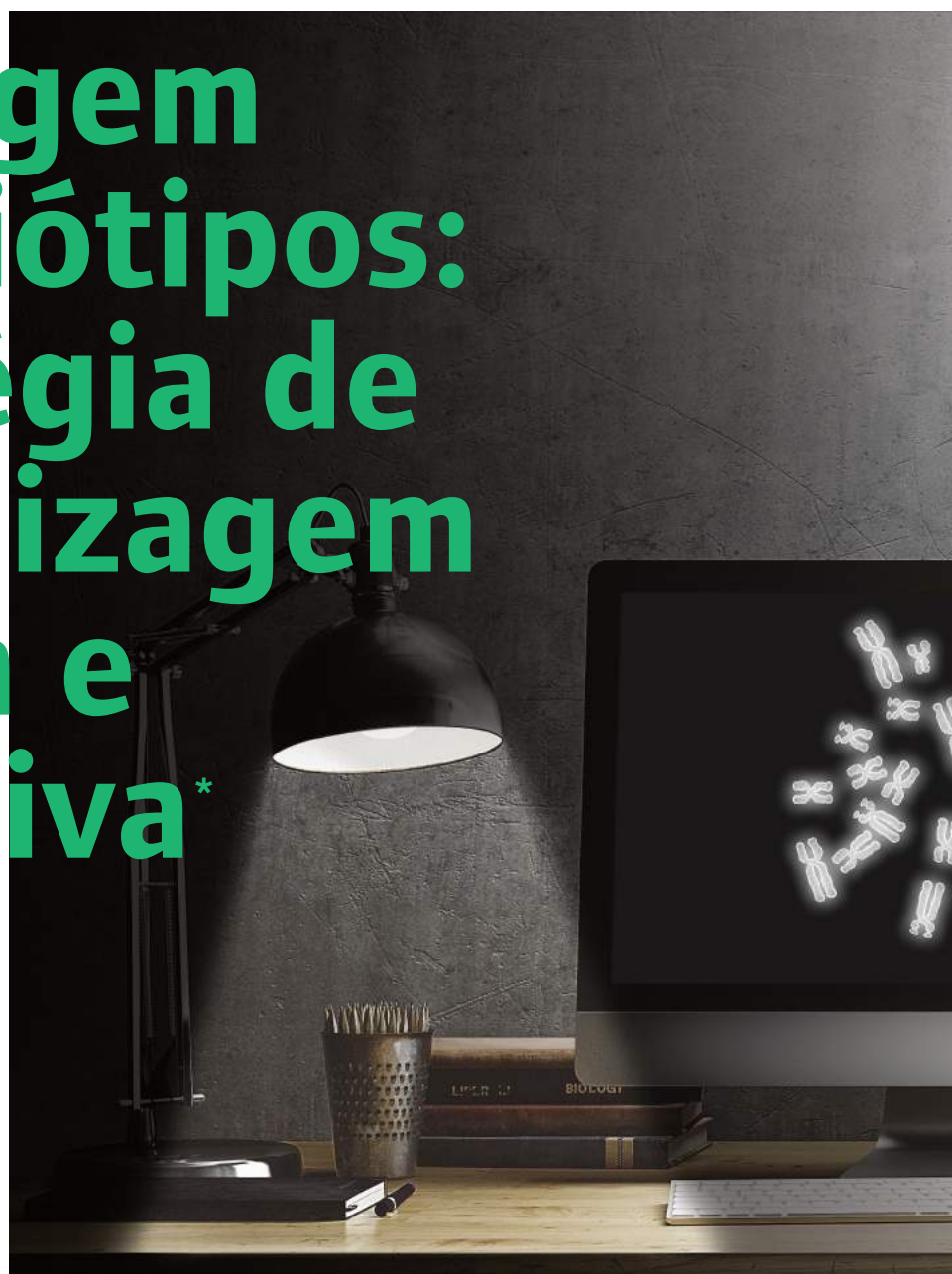


Montagem de Cariótipos: estratégia de aprendizagem remota e interativa*



Cintia Pelegrineti Targueta¹, Victória Borges Albernaz², Ramilla dos Santos Braga-Ferreira², Luciana Bolsoni Lourenço³, Pedro Brito⁴, Mariana Pires de Campos Telles⁵

¹ Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Biodiversidade, Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, Campus II/UFG, Goiânia, GO

² Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Campus II/UFG, Goiânia, GO

³ Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP


⁴ Departamento de Histologia, Embriologia e Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Campus II/UFG, Goiânia, GO

⁵ Escola de Ciências Médicas e da Vida, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, GO

Autor para correspondência - cincintia@hotmail.com

Palavras-chave: cromossomos, citogenética, cariograma, organização cariotípica, atividade remota, ordenação de cromossomos

*Material didático desenvolvido no Simpósio de Ecologia, Evolução e Conservação da Biodiversidade 2020 (SEECBio2020) realizado no contexto do INCT Ecologia Evolução e Conservação da Biodiversidade



A descrição do cariótipo de uma espécie é importante para avaliar padrões genéticos referentes às estruturas e morfologias dos cromossomos e ao número cromossômico em cada conjunto. O objetivo desse material didático é apresentar uma atividade digital que pode ser realizada de maneira remota e interativa, utilizando a internet, em que os alunos poderão montar cariótipos de diferentes espécies, para facilitar a compreensão de conteúdos básicos de genética e citogenética.

O que é cariótipo e quais métodos para montagem?

O cariótipo de uma espécie é formado pelo conjunto de cromossomos, característico da espécie, e pode ser apresentado por um cariógrama em que os cromossomos homólogos estão emparelhados e ordenados. Os cromossomos homólogos autossômicos são os cromossomos que emparelham durante a meiose e apresentam normalmente os mesmos locos gênicos, podendo diferir um do outro em relação ao alelo presente em cada locus, e não estão envolvidos na determinação do sexo do organismo. Os cromossomos sexuais, por sua vez, estão envolvidos na determinação do sexo e podem ser heteromórficos em um dos sexos, como no caso de aves com o par ZW heteromórfico nas fêmeas, ou em humanos, com o par heteromórfico XY nos machos.

A correta identificação dos pares de cromossomos é o primeiro passo para comparar cariótipos e realizar possíveis inferências evolutivas, analisar a existência de eventos como translocações, inversões ou quebras cromossômicas. Por exemplo, para o genoma humano, a montagem do cariótipo auxilia na identificação de possíveis mutações cromossômicas que resultam em síndromes genéticas. No entanto, a montagem de um cariótipo apresenta alguns desafios, já que diferentes cromossomos podem ser morfológicamente semelhantes entre si.

Desde o início dos estudos dos cromossomos em meados do século XIX, várias técnicas já foram utilizadas para esquematizar e descrever as características cromossômicas das espécies. As primeiras formas de análise baseavam-se em desenhos de imagens vistas em microscópios. Com o avanço da tecnologia, passaram a ser utilizadas fotografias geradas por câmeras acopladas aos microscópios e reveladas em papel. Atualmente são utilizadas fotografias digitais analisadas em computador com o auxílio de programas de análise

de imagens, como exemplos Image Pro Plus (Media Cybernetics) e ImageJ (SciJava).

Em aulas de Genética e Biologia Molecular, muitas vezes os estudantes são estimulados a montarem cariótipos para auxiliar na compreensão de conteúdos referentes à composição genética, número diploide dos organismos, doenças relacionadas à alteração de número cromossômico e detecção de variações nas estruturas cromossômicas. Em função da pandemia COVID-19 a partir de 2020, causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, foi necessário desenvolver novas práticas para o ensino de genética utilizando as Tecnologias de Informação e Comunicação (TICs) de maneira remota. Dentre as atividades de genética, a montagem de cariótipos de forma manual é um grande desafio, pois requer a disponibilidade de impressão de imagens pelos estudantes. Da mesma forma, o uso de programas de edição de imagem pode ser oneroso pois muitos não estão disponíveis gratuitamente. Nesse contexto, foi desenvolvida uma atividade de montagem de cariótipo para estudantes do ensino médio e superior, que pode ser realizada de forma interativa e de maneira remota, por meio do acesso de plataformas gratuitas disponíveis online.

A plataforma utilizada nessa atividade é o “Google Jamboard”, acessada por meio do aplicativo ou site (<https://jamboard.google.com/>). O Jamboard foi criado para funcionar como uma lousa branca digital, que permite a criação de materiais de forma individual ou colaborativa, muito útil para realização de reuniões à distância, por exemplo. No meio educacional, o Jamboard pode ser utilizado como uma lousa de sala de aula durante as aulas síncronas, mas também pode ser utilizado para realização de atividades interativas, já que várias pessoas podem escrever e editar as imagens presentes na lousa simultaneamente, utilizando as ferramentas disponíveis (Figura 1). Dessa forma, os estudantes são incentivados a trabalhar em equipes para discussão da atividade, tomada de decisões e execução das atividades de aprendizagem propostas.



Figura 1. Lousa digital do Google Jamboard com a indicação das ferramentas disponíveis na plataforma.

Como montar a atividade?

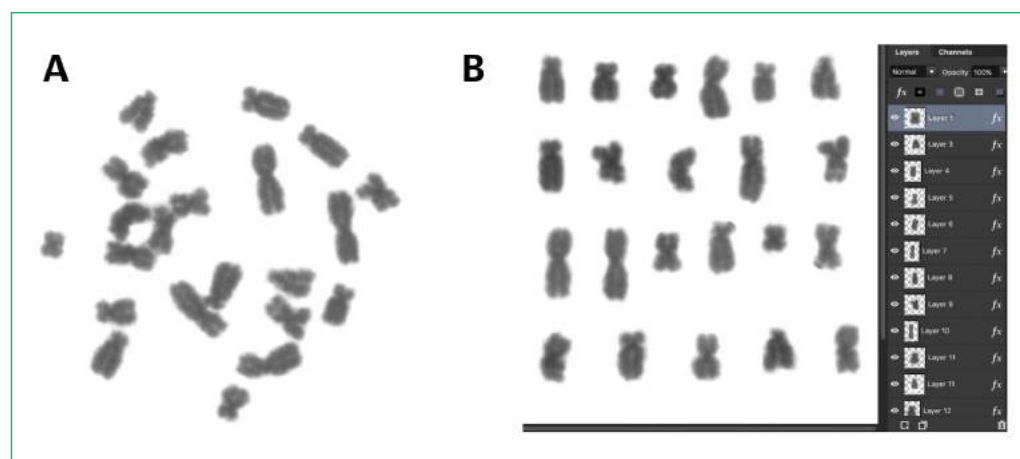
Para preparação do material, sugerimos que o professor siga as seguintes orientações

- 1- a) buscar cariótipos conhecidos ou utilizar fotos de metáfases previamente obtidas (Figura 2).
- b) trabalhar com diversos grupos de animais e/ou plantas. A sugestão é que o cariótipo não contenha um número

diploide muito alto para que a montagem dos materiais não seja desgastante.

- c) escolher o objetivo de aprendizagem a ser trabalhado para que os materiais montados tenham relação entre si. Por exemplo, se forem trabalhadas alterações cromossômicas numéricas em humanos, é interessante que cada grupo trabalhe com uma metáfase humana de uma determinada síndrome, para que, ao final da atividade, possa ser realizada uma discussão com a resolução de cada grupo e o assunto teórico.

Figura 2. Metáfase original a ser trabalhada obtida de um indivíduo da espécie de anuro *Engystomops freibergi* corada com Giemsa 10% (A). Cromossomos recortados da metáfase original, utilizando um software de edição de imagens (B).



- 2- A plataforma utilizada para montagem do Cariótipo é o “Google Jamboard”. Para a montagem da atividade proposta, os professores devem criar um “Jam” (que seria o equivalente à lousa) para cada metáfase a ser analisada e utilizada para a atividade de montagem do cariótipo. Dentro de um Jam é possível adicionar mais de um “frame” (outra lousa dentro do mesmo Jamboard), que pode conter informações adicionais do organismo a ser trabalhado, a técnica de citogenética aplicada, entre outras informações.
- 3- O professor deve recortar os cromossomos da foto original e embaralhar os cromossomos para montar o desafio da atividade para os estudantes (Figura 3).

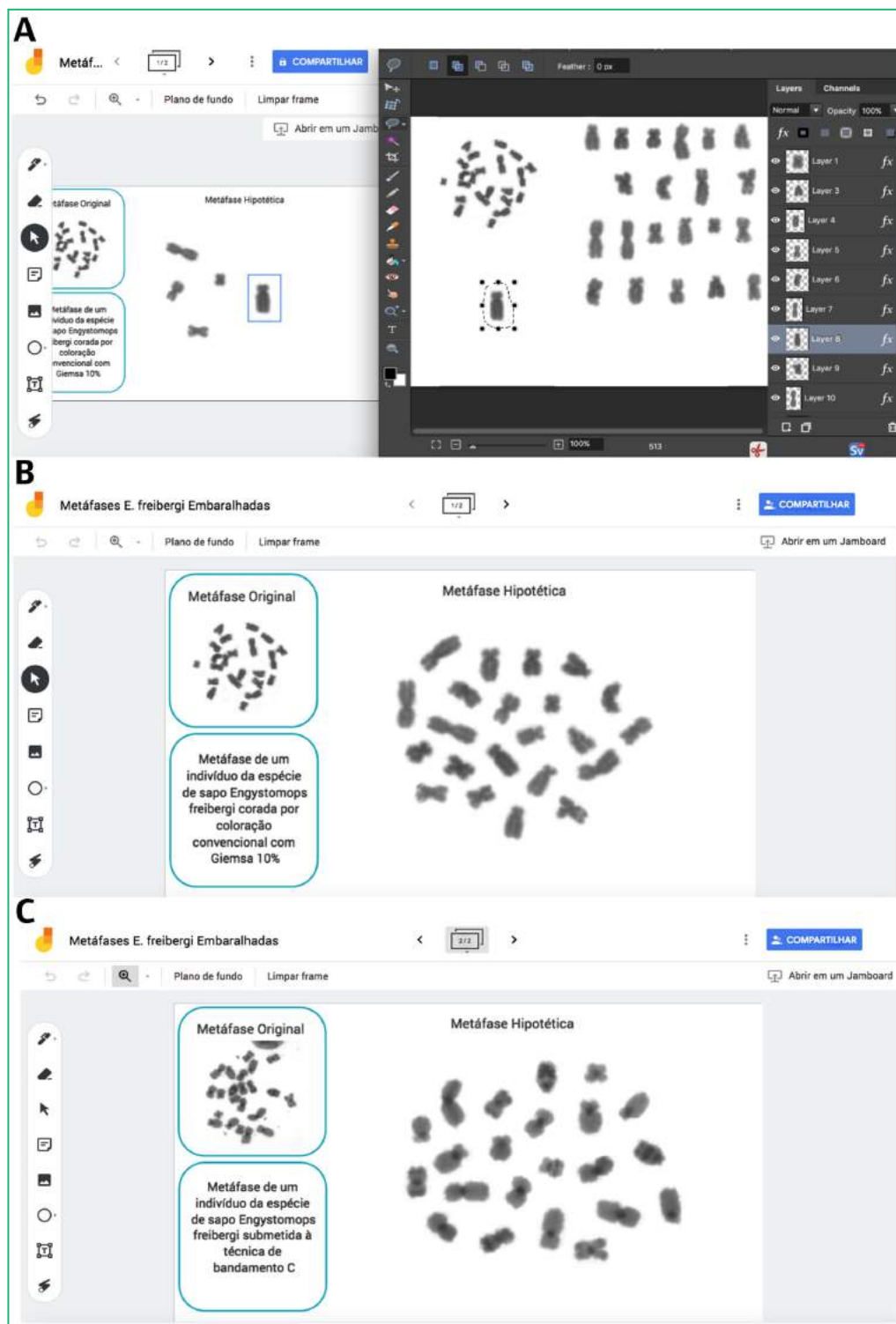
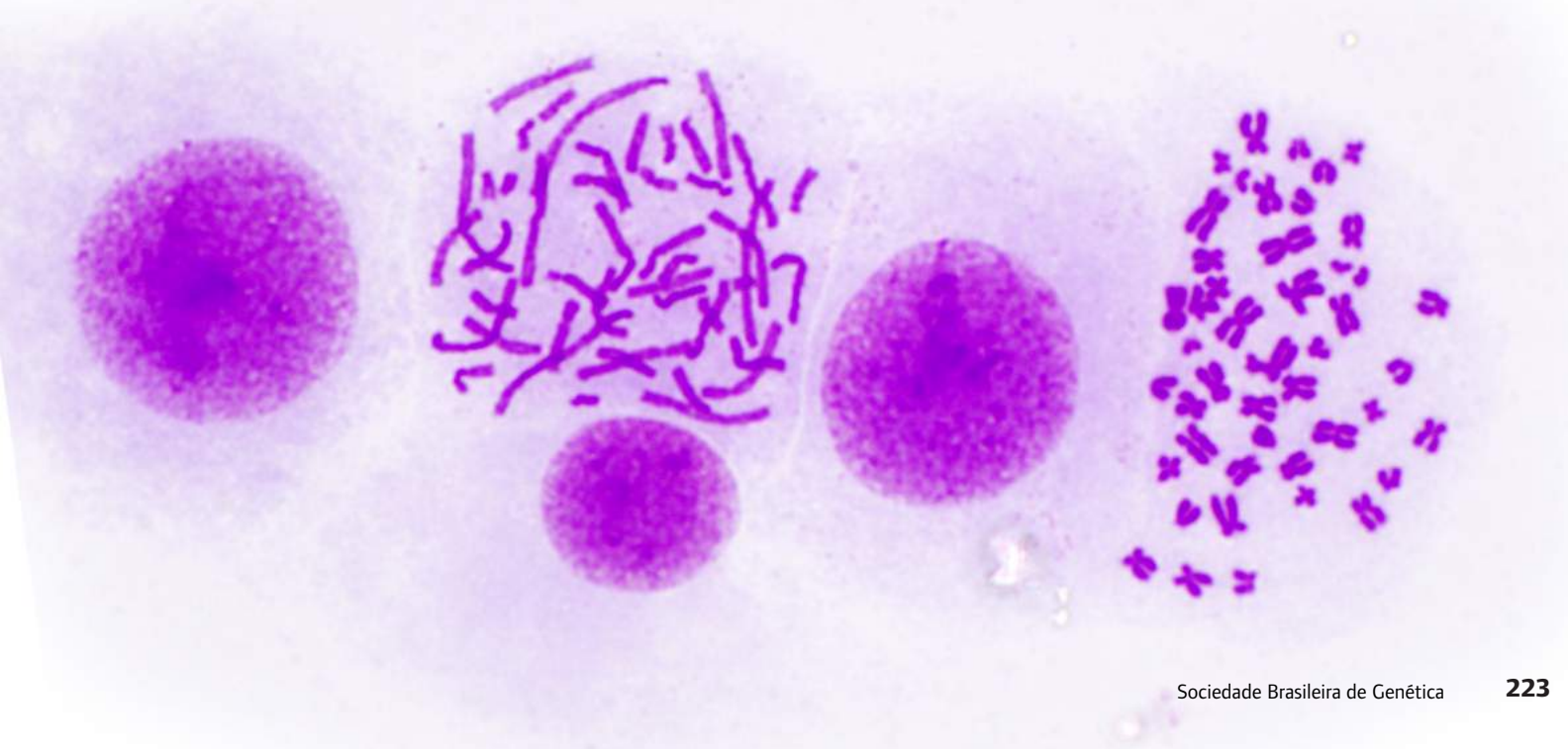


Figura 3. Inserção dos cromossomos recortados no “Google Jamboard” (A). Em (A), a imagem mostra a seleção do cromossomo recortado à direita e a colagem desse cromossomo na lousa do Jamboard à esquerda. Note que alguns cromossomos já foram inseridos na lousa anteriormente. Em (B), sugestão de lousa do Jamboard preparada com uma foto da metáfase original, informações referentes ao organismo, às técnicas aplicadas e uma metáfase hipotética com os cromossomos para montagem do cariótipo. Em (C), sugestão de preparação de segundo slide dentro do mesmo Jam utilizando outra técnica citogenética para auxiliar na montagem dos cromossomos.

Diversos programas de edição de imagem podem ser utilizados para fazer esse recorte dos cromossomos de forma digital. A colagem embaralhada dos cromossomos deve ser realizada diretamente no Jamboard e deve ser feita com um cromossomo por vez para que cada cromossomo se torne um objeto independente na plataforma. Além dos cromossomos individualizados, é interessante a inclusão de informações que auxiliarão os estudantes a realizar a atividade.

Compartilhamento com os estudantes

- 1- Para o compartilhamento da lousa, existe um botão de compartilhamento no canto direito de cada Jamboard. Assim que acessar o botão, o professor deve incluir o endereço de e-mail dos estudantes que trabalharão na atividade, para cada Jam específico. Os estudantes devem aceitar o convite por e-mail, dessa forma, já terão acesso ao Jam. O professor pode pedir a um estudante que acesse um Jam para demonstrar as ferramentas que podem ser utilizadas.
 - a) agendar um encontro no “Google Meet” ou outra plataforma de videoconferência, referente a cada um dos Jamboards propostos.
- 2- Para o trabalho colaborativo, é interessante que os estudantes discutam entre si para realizar a atividade. Para agilizar o encontro dos estudantes, o professor deve:
 - a) informar aos estudantes o acesso para a videoconferência no início da explicação da atividade.
 - b) os estudantes podem fazer uso de outros métodos de comunicação, caso seja necessário, como telefonemas e chamadas de vídeo pelo aplicativo “Whatsapp”. O importante é que eles se encontrem de forma remota para discutir a montagem dos cariótipos.
- 3- A atividade pode ser desenvolvida em diferentes etapas:
 - a) em uma primeira etapa, sugerimos que o professor explique como a atividade ocorrerá de forma síncrona com a participação de todos os estudantes;
 - b) em seguida, os estudantes devem se encontrar com seu grupo para montar o cariótipo. Os estudantes devem realizar de forma simultânea o emparelhamento dos cromossomos utilizando a plataforma. Para isso, eles devem usar as ferramentas do Jamboard disponíveis para girar os cromossomos, mover para emparelhar os homólogos e inserir a numeração dos pares cromossômicos (Figura 4);
 - c) depois de cerca de 30 minutos, os estudantes devem ter um segundo momento síncrono com o professor para apresentarem seus resultados e discutirem a montagem com toda a turma.



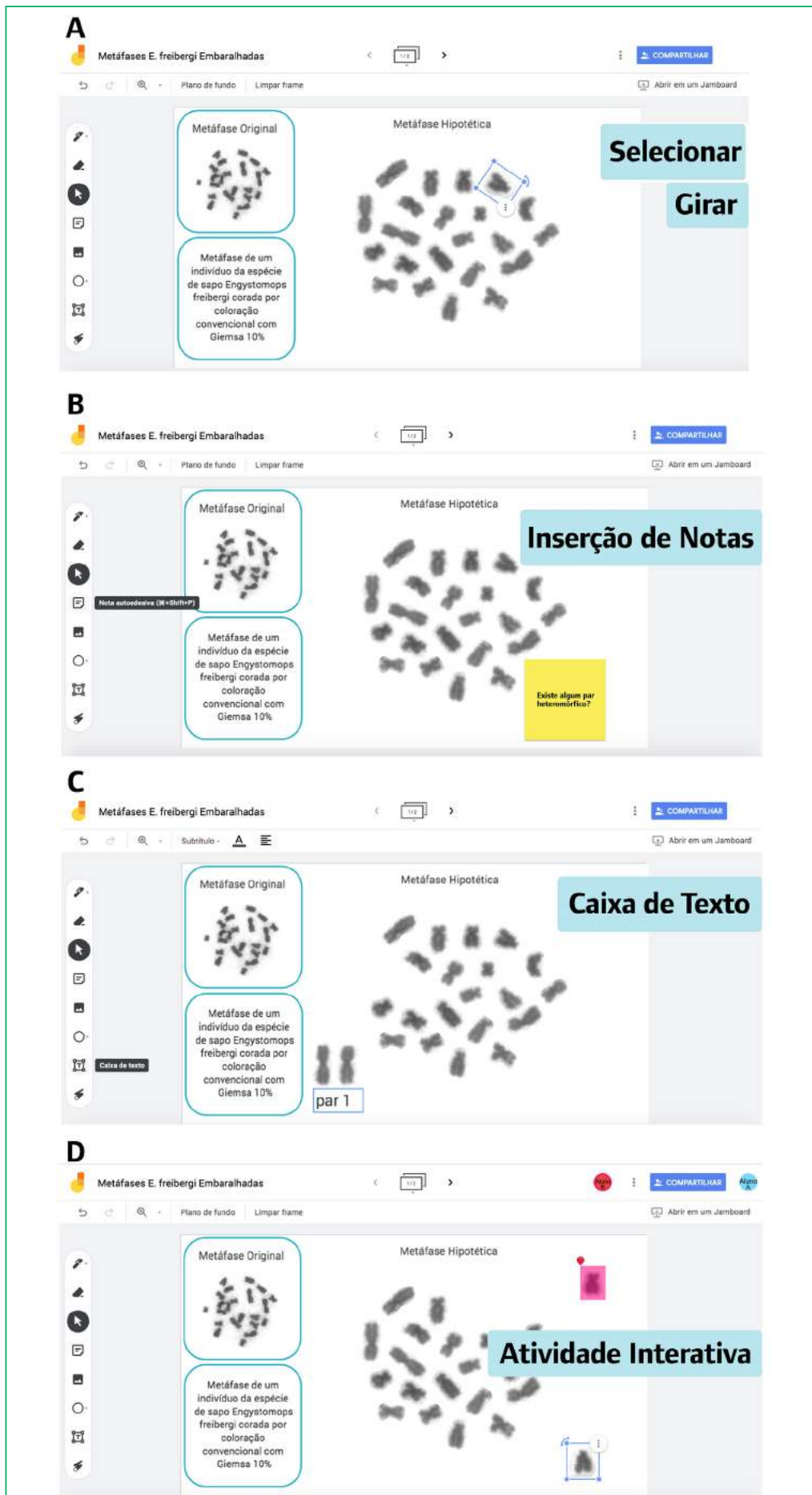


Figura 4. Uso de ferramentas do “Google Jamboard” para montagem dos cariótipos. (A) Ferramenta de selecionar a imagem do cromossomo e girar. (B) Inserção de notas autoadesivas. (C) Inserção de caixa de texto para identificar os pares cromossômicos. (D) Visualização de ação colaborativa entre dois estudantes para montagem do cariótipo. Ações do “Aluno A” sinalizadas em azul e ações do “Aluno B” sinalizadas em vermelho.

Momento Síncrono Final

Para o segundo momento síncrono, realizado para a apresentação das atividades (Figura 5), o professor deve trabalhar as teorias da citogenética e realizar perguntas aos estudantes que envolvam os pontos abordados em aula teórica. Uma série de questões podem ser

formuladas, baseadas nas características do cariótipo, nas técnicas utilizadas e nas questões evolutivas, como as que estão sugeridas na Figura 6. O ideal é que as respostas não sejam distribuídas aos estudantes, mas sirvam de orientação para o professor que está aplicando a atividade.

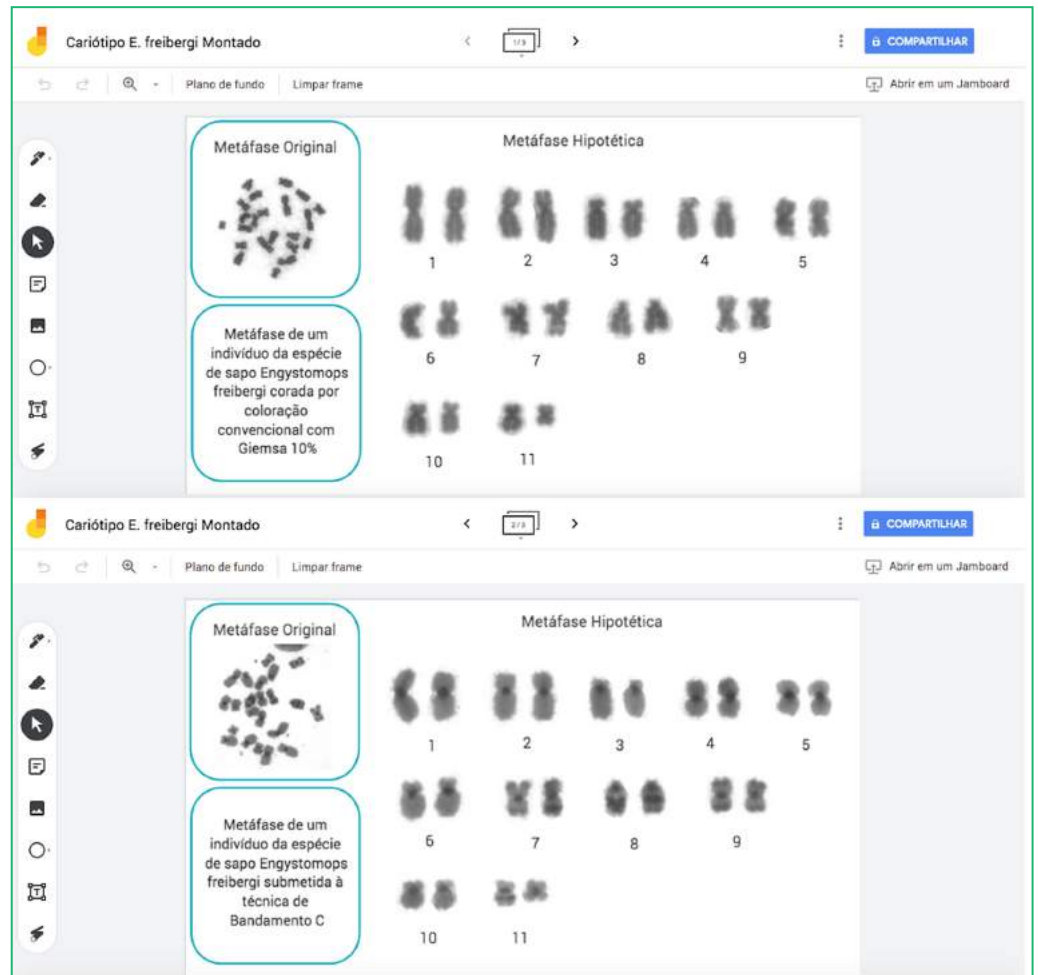


Figura 5. Finalização da montagem do cariótipo.

Disponibilização do material

As imagens das metáfases utilizadas para desenvolvimento do material didático foram obtidas por meio de preparações cromossômicas de espécies de sapo e de preparações cromossômicas de humanos (Figura 7 – Ficha dos materiais disponibilizados). As imagens disponibilizadas são referentes às seguintes descrições:

I- Metáfases da espécie de anuro *Engystomops freibergi*, que apresenta $2n=22$, co-

radas com Giemsa 10% e submetidas à técnica de Bandamento C que evidencia as regiões heterocromáticas.

II- Metáfase de um indivíduo aneuploide da espécie *Engystomops petersi* que apresenta $2n=23$, corada com Giemsa 10%.

III- Metáfase de um indivíduo triploide da espécie *Engystomops coloradorum* que apresenta $3x=30$, corada com Giemsa 10%.

IV- Metáfase de preparação cromossômica humana corada com Giemsa 10%.

Quadro de Perguntas - Cariótipo de *Engystomops freibergeri*



Questão 1 - Quantos cromossomos estão presentes na célula metafásica que você está analisando? Quantas cromátides estão presentes em cada cromossomo observado? Quantas moléculas de DNA (fita dupla) estão presentes em cada um dessas cromátides?

Questão 2 - Considere que uma célula metafásica (como a que deu origem ao material que você está analisando) conclua a mitose. Quantas células resultariam desse processo? Quantos cromossomos estariam presentes em cada uma dessas células filhas?

Questão 3 - Quantos cromossomos do cariótipo em análise são metacêntricos, submetacêntricos, subtelocêntricos e telocêntricos? Explique sua resposta.

Questão 4 - Existe algum par heteromórfico? Se sim, como é possível saber se esse par é de cromossomos sexuais ou de autosomos?

Questão 5 - Quais foram as diferenças observadas entre os homólogos desse par heteromórfico? Qual foi a importância de utilizar diferentes técnicas para a comparação desses cromossomos?

Quadro de Respostas - Cariótipo de *Engystomops freibergeri*



Questão 1 - Estão presentes 22 cromossomos. Cada cromossomo possui duas cromátides, denominadas de cromátides-irmãs. Em cada cromátide está presente uma molécula de DNA (fita dupla).

Questão 2 - Resultariam 2 células. Em cada uma das células estaria presente a mesma quantidade de cromossomos da célula original que entrou em mitose. Nesse caso, cada célula possuiria 22 cromossomos.

Questão 3 - Nesse cariótipo é possível identificar: 6 pares de cromossomos metacêntricos, 3 pares de cromossomos submetacêntricos, 2 pares de cromossomos subtelocêntricos e nenhum telocêntrico. Os cromossomos são classificados segundo a posição do centrômero e, conseqüentemente, o tamanho relativo dos braços. Os cromossomos metacêntricos possuem os dois braços iguais ou muito semelhantes; os submetacêntricos apresentam um dos braços um pouco menor do que o outro; os subtelocêntricos possuem o braço curto bem pequeno e, nos telocêntricos, o braço curto dificilmente é visualizado em microscopia de luz. Essa classificação pode variar para determinados grupos de organismos.

Cartão resposta 1

Quadro de Respostas - Cariótipo de *Engystomops freibergeri*



Questão 4 - Sim. O par 11 é heteromórfico. Para identificar se esse par possui heteromorfismo ligado ao sexo, devem ser analisadas diferentes metafases provenientes de indivíduos machos e fêmeas. Se o heteromorfismo ocorrer somente em um dos sexos, provavelmente se trata de um par de cromossomos sexuais.

Questão 5 - Os cromossomos possuíam tamanhos diferentes pois diferiam no tamanho do braço longo. Pela análise da metafase submetida à técnica de Bandamento C, foi possível identificar a presença de uma região heterocromática em somente um dos cromossomos.

Cartão resposta 2

Figura 6.

Exemplo dos cartões de perguntas e respostas, com questões sugeridas para serem trabalhadas com o cariótipo montado, demonstrado na Figura 5. Os cartões perguntas e respostas de cada material disponibilizado estão disponíveis nos sites do Laboratório de Estudos Cromossômicos da UNICAMP (<https://www.labesc.ib.unicamp.br/sistema/material.php>), do Laboratório de Genética e Biodiversidade da UFC (<https://www.lgbioufg.com>) e no provedor da Sociedade Brasileira de Genética.

Lista dos materiais disponibilizados

As imagens usadas para desenvolvimento da atividade proposta estão disponíveis nos seguintes sites:

- Laboratório de Estudos Cromossômicos da UNICAMP - <https://www.labesc.ib.unicamp.br/sistema/material.php>
- Laboratório de Genética e Biodiversidade da UFG - <https://www.lgbioufg.com>
- Provedor da Sociedade Brasileira de Genética

Abaixo estão listados todos os materiais disponibilizados:

1. Imagem com cromossomos recortados de metáfases da espécie de anuro *Engystomops freibergeri*, apresentando $2n = 22$ sem alterações cromossômicas numéricas, coradas com Giemsa 10% e submetidas à técnica de Bandamento C, que evidencia as regiões heterocromáticas.
2. Imagem com cromossomos recortados de metáfase de indivíduo aneuploide da espécie de anuro *Engystomops petersi*, com $2n = 23$, corada com Giemsa 10%.
3. Imagem com cromossomos recortados de metáfase de indivíduos triploide da espécie de anuro *Engystomops coloradorum*, com $3x = 30$, corada com Giemsa 10%.
4. Imagem com cromossomos humanos corados com Giemsa 10%.
5. Vídeo tutorial sobre a preparação de um Jamboard para montagem de cariótipo.

Cariótipos das espécies de *Engystomops* descritos em:

Targueta, C.P., Rivera, M., Souza, M.B., Recco-Pimentel, S.M., Lourenço, L.B. Cytogenetic contributions for the study of the Amazonian *Engystomops* (Anura; Leiuperidae) assessed in the light of phylogenetic relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54, Issue 3, 709-725 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.10.018>.

Targueta, C.P., Rivera, M., Lourenço, L.B. Karyotypic differentiation via $2n$ reduction and a finding of a case of triploidy in anurans of the genus *Engystomops* (Anura, Leiuperidae). *Genetica* 139, 1339-1347 (2011). <https://doi.org/10.1007/s10709-012-9636-y>.

Figura 7.

Lista dos materiais disponibilizados para preparação da atividade.

As imagens contêm os cromossomos recortados e prontos para serem incluídos no Jamboard. Essas imagens e os Jamboards já construídos a partir desse mesmo material foram disponibilizados nos sites do Laboratório de Estudos Cromossômicos da UNICAMP (<https://www.labesc.ib.unicamp.br/sistema/material.php>), do Laboratório de Genética e Biodiversidade da UFG (<https://www.lgbioufg.com>) e no provedor da Sociedade Brasileira de Genética. Para acesso aos Jamboards prontos, é necessário preencher breve formulário eletrônico disponível nos sites citados. Também nesses sites, foi disponibili-

zado um vídeo tutorial para a montagem de um dos Jamboards propostos.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio do INCT em Ecologia Evolução e Conservação da Biodiversidade EECBio pela oportunidade de realização do minicurso e a todos os estudantes envolvidos na organização do SEECBio2020. CPT agradece a bolsa de pós-doutorado PNPd/Capes. Agradecemos ao apoio da FAPEG - Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Goiás e à Capes e ao CNPq.