



Asma Brônquica

Introdução

Clonagem Posicional

Existem duas formas para a identificação de genes.

1. Uma inicia-se com uma proteína conhecida, determina-se a seqüência de aminoácidos e se empregam estas informações para isolar o gene.
2. A outra identifica genes por sua posição no genoma (Clonagem Posicional).

A clonagem posicional é uma estratégia utilizada para identificar genes e sua posição relativa no genoma e o seu produto protéico. A clonagem posicional não necessita de nenhum conhecimento prévio da função do gene. A clonagem posicional baseia-se apenas na localização cromossômica do gene.

Essencialmente, envolve o "*screening*" de todo o DNA, analisado cuidadosamente através de milhares de fragmentos de DNA. São necessárias duas instâncias para mapear genes de uma doença:

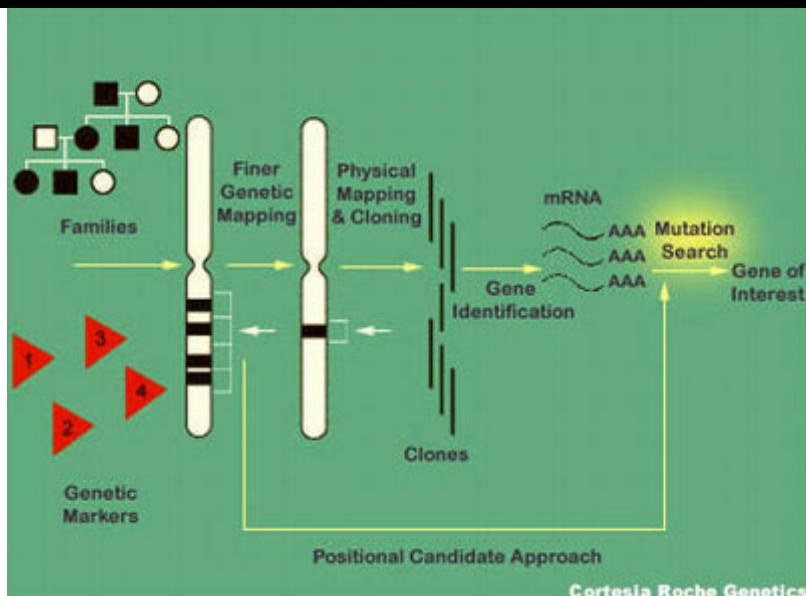
1. Um número suficiente de famílias, com a doença bem documentada, para estabelecer a [ligação \(linkage\)](#) e,
2. Marcadores genéticos adequados de DNA.

A segunda exigência pode ser encontrada com relativa facilidade na atualidade pois, o projeto humano do genoma identificou milhares de marcadores úteis do DNA. Uma vez identificadas as famílias, os investigadores determinam se as pessoas doentes na família apresentam seqüências particulares de DNA em posições específicas, não encontradas nos seus membros saudáveis. Este processo é feito através da coleta de sangue (10 ml) dos membros da família, da análise genética dos marcadores de DNA, através de técnicas que utilizam a PCR (*polymerase chain reaction*) e análises de seqüenciamentos automatizadas de genes entre os membros doentes e saudáveis da família, através de máquinas computadorizadas com potente capacidade em "bioinformática".

Assim um mapeamento genético de ligação revelará quais genes são os principais suspeitos e a seqüência dos mesmos que poderá ser então analisada diretamente em pacientes individuais.

Um marcador particular do DNA é correlacionado à doença (*linked*) se, em geral, membros da família com certos nucleotídeos no marcador sempre apresentam a doença e membros da família com outros nucleotídeos no marcador não apresentam a doença.

Quando surgem evidências para uma determinada região de um cromossomo, esta região deve ser decomposta para aproximadamente 1 Mb (megabase) (1 Mb = 1 000 000 pares de base). Para isto, a região requer saturação com um grande número de marcadores >> **polimórficos**, previamente estudados em indivíduos com asma. Após decompor a região, torna-se possível procurar genes que possam estar implicados na doença, por clonagem posicional. Isola-se o gene e efetua-se o teste para a presença de mutações particulares que conferem características da doença, sendo a região DNA clonada através de uma variedade de vetores de clonagem, como por exemplo, o >> **YAC**, abreviatura em inglês para *yeast artificial chromosomes* (cromossomo artificial de levedura).



Os vetores que contêm fragmentos do DNA da região de interesse são isolados verificando-os para ver se há a presença dos marcadores polimórficos para lócus de ligação. Estes fragmentos contribuem para um mapa genético da região chamada de >> **contig** de YAC. A ordem dos clones é definida por pequenas seqüências de DNA, chamadas de STS (*sequence-tagged site*). Tendo-se construído um contig, os genes podem ser isolados por uma variedade de métodos: p. ex: o YACs que mapeia a região de interesse pode ser rotulado com radioatividade e usado diretamente como sonda para a análise das bibliotecas de DNA complementar (cDNA).

[Informações Médicas](#)
[Home](#)

Design by Walter Serralheiro

[Anterior << Introdução](#)