

FIOCRUZ – IOC – LIRN/CAVAISC

Pamela Ferreira Braga da Silva (Colégio Pedro II – Realengo); Eduarda Salles Vidon Cidrini (Instituto Metodista Bennett).
 Orientador: Alessandro Ponce de Leão Giupponi

Introdução

Estudos acerca dos aracnídeos (classe Arachnida), pertencente ao filo dos Artrópodes, que inclui, dentre outros, as ordens: aranhas (Araneae), escorpiões (Scorpiones), ácaros e carrapatos (Acari). Por meio de atividades que permitiram o conhecimento desde a sua morfologia até o comportamento desses grupos animais.

Os aracnídeos são caracterizados por terem um corpo dividido em cefalotórax e abdômen, um par de quelíceras (apêndice 1 cefalotorácico), um par de pedipalpos (apêndice 2 cefalotorácico), quatro pares de pernas (apêndices 3-6 cefalotorácicos), e não possuem antena. Apresentam respiração por pulmões foliáceos e secundariamente por traqueias, e em algumas espécies menores a respiração é pela superfície do corpo.

Desenvolvimento

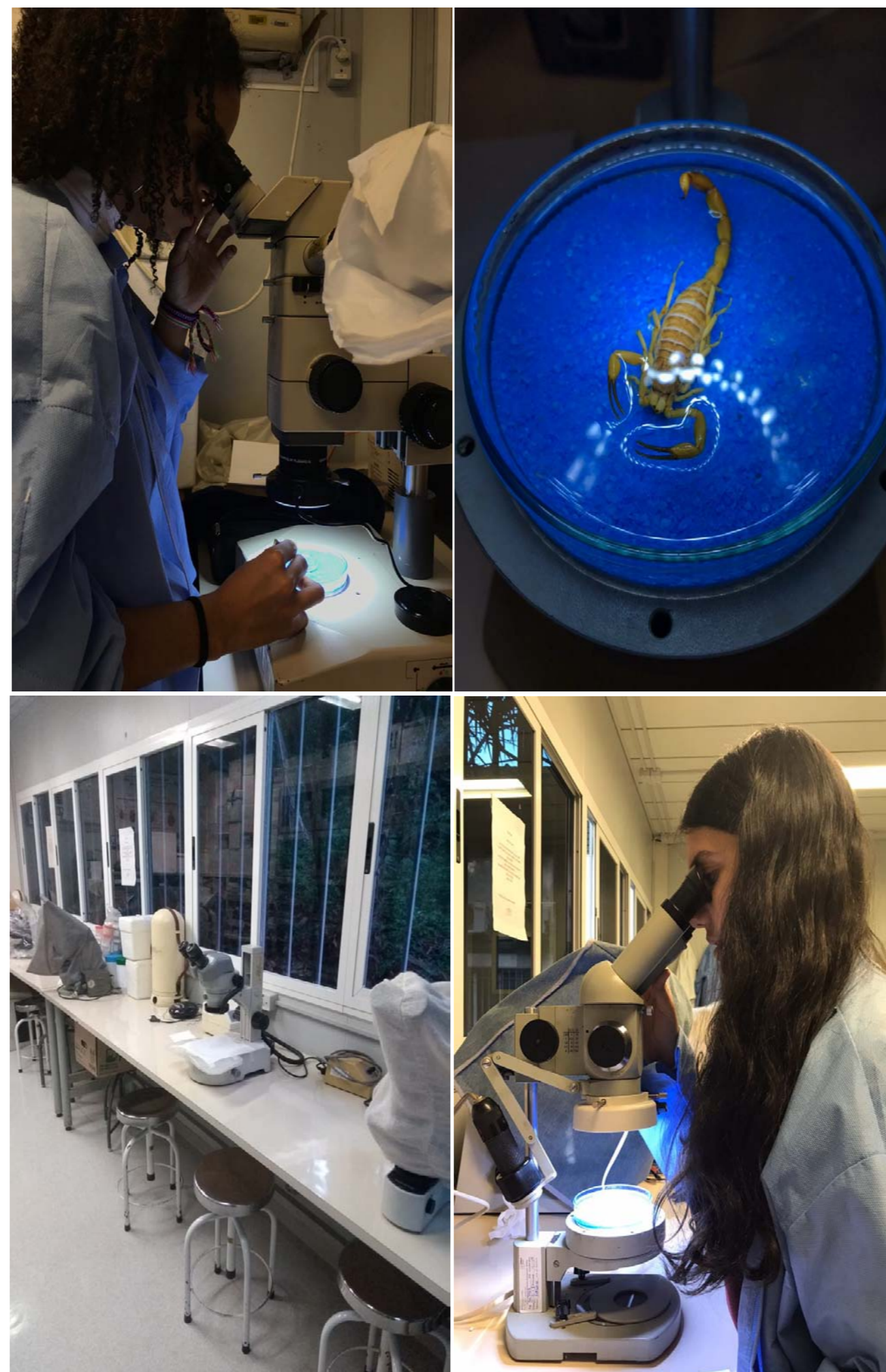
Atuações durante o período iniciação PROVOC:

Aula prática de utilização de equipamento óptico (microscópio estereoscópico)

No laboratório efetuou-se o aprendizado de um melhor manuseio em lupas, utilizando de forma correta zoom e foco, enquanto era analisado aracnídeos como escorpiões, aranhas e carrapatos.

Aula prática sobre morfologia de Arachnida

Realizado um importante estudo morfológico, no objetivo de expandir nossos conhecimentos a respeito da estrutura desses animais. Produzindo assim esboços de determinados aracnídeos, no mesmo momento em que ocorria a observação no microscópio estereoscópico. Além deste, o auxílio de livros como "O mundo dos artrópodes" de Eurico Santos e "Acúleos que matam" de Wolfgang Bucherl que possibilitaram um maior e melhor entendimento sobre morfologia, comportamento, acasalamento e sorologia desse filo animal.



Execução do projeto de curadoria e recuperação da antiga coleção de escorpiões de Adolf Lutz (realizado na CEIOC - Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz)

Durante o projeto, trabalhamos manuseando espécimes de escorpiões, pertencentes à coleção recém - encontrada de Adolf Lutz, médico e cientista brasileiro, importantíssimo na história do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), a partir de 1908 quando começou a trabalhar na instituição.

Os escorpiões são caracterizados por seus pedipalpos terminando em pinças e seu metassoma em forma de cauda longa, terminando em ferrão com glândulas peçonhentas. É um dos animais terrestres invertebrados mais antigos, dentre os animais vivos. Na CEIOC era feito a identificação desses animais, realizado fotografias dos exemplares e suas etiquetas, e documentado todas as informações de coleta, além do mais, era efetuado a limpeza dos frascos (trocando o álcool) e principalmente à procura de exemplares tipos entre as amostras analisadas.

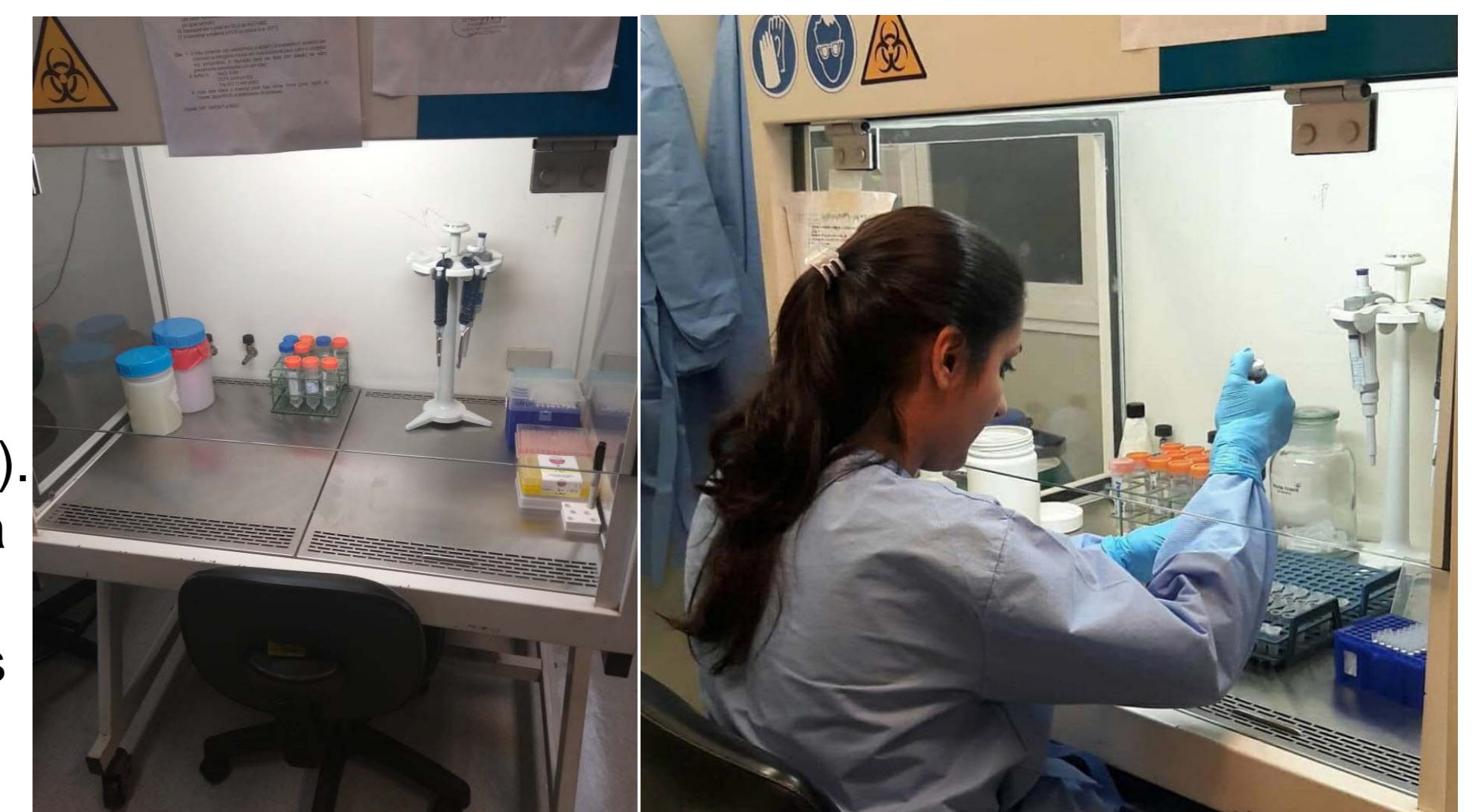


Aula prática de extração de DNA e PCR

Teve como objetivo a busca por DNA de riquetsias (Rickettsia), bactéria causadora da febre maculosa, transmitida por carrapatos. Na qual, das quinze amostras de carrapatos avaliadas, três obtiveram em seu DNA resíduos das riquetsias.

Basicamente, o processo de extração de DNA ocorre em três etapas principais. A primeira etapa chamada de Lise consiste, inicialmente, em uma quebra mecânica na intenção de arrebentar o exoesqueleto do animal e assim romper (lisar) a sua estrutura celular (e consequentemente exteriorizar o DNA). Na segunda fase ocorre a remoção das proteínas não desejadas e de restos celulares, com o uso de alguns reagentes químicos e da centrífuga. A última etapa baseia-se em após separar o DNA dos outros componentes celulares, pode-se proceder uma precipitação do DNA para garantir a máxima pureza do material, está precipitação geralmente faz-se utilizando álcool (etanol ou isopropanol) que, em presença de cátions monovalentes, promove uma transição estrutural na molécula de ácido nucléico, resultando em agregação e precipitação. Aproximando-se assim do puro DNA de carrapato.

Após esse procedimento o DNA de carrapato foi levado para ser estudado junto das aplicações da técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Essa técnica baseia-se na amplificação em vidro de um único genoma milhões de vezes.



Junto desse DNA incluímos primers, nucleotídeos (dNTPs) e um Taq DNA Polimerase. A PCR ocorre em três passos e todos eles dependem de um gradiente de temperatura.

- ✓ 1º passo: Desnaturação (a 95°C) da dupla fita do DNA, que ocorre devido a elevação da temperatura.
- ✓ 2º passo: Anelamento (57°C a 63°C) dos primers, que pode ocorrer numa variação de temperatura entre 57°C a 63°C.
- ✓ 3º passo: Extensão (a 72°C) com o funcionamento da Taq Polimerase, que auxilia na introdução dos nucleotídeos que irão complementar a cadeia que está sendo sintetizada.

Uma PCR normal tem por volta de 36 ciclos, sendo que cada um deles engloba os três passos acima descritos. E a cada ciclo ocorre a multiplicação ou amplificação exponencial da quantidade de moléculas de DNA. Toda esse sistema foi realizado em um termociclador, ou máquina de PCR. Ao final dos ciclos obtivemos bilhões de cópias do DNA que estávamos analisando no laboratório. Essa análise ocorreu através da utilização de um gel eletroforese, que recebe a aplicação de uma corrente elétrica.

Estudo de campo

Ação em área externa buscando material vivo para estudo, no intuito de entender locais de habitação, estratégias de alimentação e sobrevivência.

Aula teórica sobre Arachnida

ATIVIDADES NÃO REALIZADAS:

Aulas teóricas e práticas de preparação de material para Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV



Conclusão

Conclui-se que as atividades durante o PROVOC iniciação, aqui desenvolvidas, foram e são de excelente oportunidade e proveito, tendo em vista que adquirimos aprendizados e partilhamos de experiências únicas dentro de uma centenária Instituição Pública Federal de pesquisa, tão renomada e nobre como a FIOCRUZ.

Aprendemos a utilizar equipamentos, instrumentos e técnicas científicas, além do importante estudo em biossegurança dentro de um laboratório. Em tudo isso, ainda é necessário destacar que em tempos tão conturbados, a educação de qualidade e o acesso ao meio científico, erroneamente ainda se tornam muito distante da maioria dos jovens brasileiros. Através dessa oportunidade queremos honrar a pesquisa e permanecer engrandecendo e compartilhando desse importante meio de ascensão a ciência brasileira.