



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA ROBERTO ALCÂNTARA GOMES

DEPARTAMENTO DE ENSINO DE CIÊNCIAS E BIOLOGIA

**A TECNOLOGIA DO PROTEOMA REPRESENTADA EM MATERIAL DIDÁTICO:
APLICAÇÃO NO ESTUDO DO CÂNCER.**

Rodrigo Silva de Sant'ana

Orientadora: Dr^a Andréa Carla de Souza Góes

Co-Orientador: Vagner Ramos

Trabalho Final apresentado ao Departamento de
Ensino de Ciências e Biologia, do Instituto de Biologia
Roberto Alcântara Gomes, da Universidade do Estado do
Rio de Janeiro, como requisito parcial para obtenção do
grau de licenciado em Ciências Biológicas.

RIO DE JANEIRO

2010



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA ROBERTO ALCÂNTARA GOMES

DEPARTAMENTO DE ENSINO DE CIÊNCIAS E BIOLOGIA

**A TECNOLOGIA DO PROTEOMA REPRESENTADA EM MATERIAL DIDÁTICO:
APLICAÇÃO NO ESTUDO DO CÂNCER.**

Rodrigo Silva de Sant'ana

Orientadora: Dr^a Andréa Carla de Souza Góes

Co-Orientador: Vagner Ramos

Trabalho Final apresentado ao Departamento de
Ensino de Ciências e Biologia, do Instituto de Biologia
Roberto Alcântara Gomes, da Universidade do Estado do
Rio de Janeiro, como requisito parcial para obtenção do
grau de licenciado em Ciências Biológicas.

RIO DE JANEIRO

2010

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CB/A

S231 Sant'ana, Rodrigo Silva de.
A tecnologia do proteoma representada em material didático: aplicação
no estudo do câncer/ Rodrigo Silva de Sant'ana. –
2010.

62 f.: il.

Orientadora: Andréa Carla de Souza Góes.

Co-Orientador: Vagner Ramos

TCC (Trabalho de conclusão de curso) – Universidade do Estado do
Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

1. Material didático – Monografias. 2. Proteínas – Monografias. 3.
Câncer – Monografias. I. Góes, Andréa Carla de Souza. II. Universidade
do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara
Gomes. III. Título.

CDU 547.96

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial deste trabalho, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

“Estudar não é apenas um
ato de consumir idéias,
mas de criá-las e recriá-las”
(Paulo Freire)



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA ROBERTO ALCÂNTARA GOMES
DEPARTAMENTO DE ENSINO DE CIÊNCIAS E BIOLOGIA

**A TECNOLOGIA DO PROTEOMA REPRESENTADA EM MATERIAL DIDÁTICO:
APLICAÇÃO NO ESTUDO DO CÂNCER.**

Rodrigo Silva de Sant'ana

Orientadora: Dr^a Andréa Carla de Souza Góes

Departamento de Ensino de Ciências e Biologia (DECB) – UERJ

Co-orientador: Vagner Ramos

Departamento de Ensino de Ciências e Biologia (DECB) – UERJ

Aprovada em 16 de Julho de 2010

Banca Examinadora

Prof: Dr^a Carla Verônica Loureiro y Penha
Departamento de Biologia Celular - UERJ

Prof: Ms. Gilson Costa dos Santos Junior
Departamento de Genética - UERJ

Prof. Ms. Roberto Irineu da Silva
Departamento de Biofísica (IBCCF) - UFRJ

RIO DE JANEIRO
2010

Dedico este trabalho aos meus pais,
meus familiares e especialmente
minha avó que sempre acreditaram
em mim

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, pois sem Ele nada seria como foi. Também por toda inspiração e força nos momentos mais difíceis.

Meus pais, Severino e Nilda que sempre me apoiaram em todos os momentos da minha vida, tanto naqueles mais complicados, os quais batiam aquele desespero. Quanto naqueles mais tranquilos. Principalmente minha mãe que viu a maioria dos meus momentos mais difíceis e sempre dizia uma palavra de incentivo, por mais que o incentivo parecesse uma coisa boba, sempre ajudava de alguma forma.

Minha avó de criação, Maria da Glória merece muito mais que este mero agradecimento, pois se não fosse ela, acho que não teria atingido metade ou menos que isso de todas as minhas metas que já alcancei. Desde quando tive a oportunidade de trilhar meu próprio caminho, ela foi fundamental para que tudo isso se realizasse.

Também devo agradecer meus familiares, minhas tias por parte da minha mãe: Neide, Angela e Rosária porque sempre me ajudaram de alguma forma. Além dos meus tios, primos e todos os outros parentes que fazem parte do que sou hoje. Não posso me esquecer das pessoas que não são meus parentes como os amigos dos meus pais e aos meus professores que foram importantes nesta caminhada.

Devo agradecer também aos meus amigos nos vários momentos. Aqueles que conheci logo no início no Jardim de Infância Patinho Amarelo, depois aqueles no C. M. Albertina Campos, no Instituto Abel, no Curso de Inglês Brasil-América e no Curso Argumento que ainda cultivo uma boa amizade com essas pessoas que ajudaram em vários momentos. Especialmente ao Felipe, a Larissa, a Fernanda, a Lauanny, o Cadu, o Diogo, o Daniel Eller, o Caio, o Angelo, o Gabriel, o Pedro Mol, o Bernardo, a Jennifer, a Renata, a Aninha, a Rachel, o Marcelo Guedes, o Thiago, o Daniel Lanhas e ao Hugo, pois são as pessoas que estiveram mais próximas em vários momentos.

Devo agradecer as pessoas que me ajudaram a entrar na UERJ e que me apoiaram em tomar essa decisão de estudar na UERJ. Não posso esquecer dos meus amigos da UERJ que trilharam esse caminho ao meu lado. Principalmente a algumas pessoas em especial:

Pedro Meirelles, meu amigo desde os primeiros dias de UERJ que sempre estava lá na maioria dos momentos que passei na UERJ. Ajudou-me em várias situações e foi importante em boa parte da minha vida na UERJ. Os pais do Pedro que sempre me acolheram quando precisei.

Nathalia Costa, a pessoa que mais me ajudou a escrever esta monografia porque ela também tinha que escrever a dela, simplesmente nos ajudamos. Além da monografia, é uma pessoa que sempre esteve disposta a ajudar em várias situações.

Thaís Parméra, Thiago Farias, Nathália Viana e todos outros amigos da UERJ que de alguma forma ajudaram de alguma maneira.

Devo também citar todas as pessoas do Laboratório de Genética Aplicada no INCA que além de me oferecer uma oportunidade de pesquisa, também me apoiou em várias situações.

Devo agradecer muito ao Vagner Ramos, meu co-orientador no projeto, pois sempre esteve disposto a ajudar, mesmo super ocupado com todos os pedidos do Departamento de Ensino de Ciências e Biologia, com ele aprendi como fazer todo material didático.

Agradeço a professora Lucienne Andrade que mesmo fora da hora da aula, numa conversa a mais foi importante para arrumar várias questões relacionadas ao projeto.

Principalmente agradeço a pessoa mais envolvida no projeto, além de mim, a professora Andréa Goés, minha orientadora que sempre ajudou muito a escrever, mesmo com meus atrasos, não deixou que o projeto ficasse prejudicado e o resultado de todo esse trabalho está descrito nesta monografia.

ÍNDICE

1 - INTRODUÇÃO	01
1.1 - Importância de uma nova visão didática.....	01
1.2 - Papel da experimentação na prática pedagógica.....	03
1.3 - Material didático para a aula Proteoma e sua aplicação no diagnóstico do câncer.....	04
2 - OBJETIVOS	07
3 - METODOLOGIA	08
3.1 - Confeção do material didático.....	08
3.2 - Aula Teórica.....	11
3.3 - Aula Prática.....	16
3.4 - Instruções para as aulas práticas.....	16
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5 - CONCLUSÃO	31
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

FIGURAS

1 – Figura 1.....	08
2 – Figura 2.....	09
3 – Figura 3.....	09
4 – Figura 4.....	10
5 – Figura 5.....	11
6 – Figura 6.....	12
7 - Figura 7.....	17
8 – Figura 8.....	18
9 – Figura 9.....	19
10 – Figura 10.....	20
11 – Figura 11.....	22
12 – Figura 12.....	23
13 – Figura 13.....	24
14 – Figura 14.....	25

GRÁFICOS

1 – Gráfico 1.....	26
2 – Gráfico 2.....	27
3 – Gráfico 3.....	27
4 – Gráfico 4.....	28
5 – Gráfico 5.....	29
6 – Gráfico 6.....	30

ANEXOS

Anexo 1 - Questionário.....	35
Anexo 2 - Roteiro do Material didático para prática de aula Proteoma: Aplicação no diagnóstico do câncer.....	36

RESUMO

As aulas práticas são formas efetivas de modificar o sistema tradicional conservador que predominava no ensino de Biologia. O papel da experimentação é importante na construção do conhecimento científico e relevante no processo de ensino-aprendizagem. Desta forma, precisamos levar a experimentação para os alunos, na forma de aula prática. Este projeto consistiu em desenvolver um material didático de baixo custo que pode ser reproduzível e aplicado sem a necessidade de laboratórios especializados que terá como finalidade explorar fundamentos da técnica proteômica associando-a ao diagnóstico de câncer de boca. O material didático foi construído com o objetivo de divulgar uma metodologia científica de ponta e estimular o interesse científico em alunos do ensino médio, além de contribuir para a divulgação científica. O material foi dividido em um manual teórico que explica os conceitos relacionados à estrutura química de proteínas e separação eletroforética de moléculas, além de um manual prático para o desenvolvimento dos experimentos. Uma aula teórico-prática que abordou os temas Genética e Citologia foi realizada no Colégio Estadual João Alfredo com o material didático e houve a aplicação de um questionário antes e depois da aula para avaliação. Através da análise das respostas percebemos que os objetivos foram alcançados, os alunos conseguiram obter novas informações, mostrando que a aula prática é uma excelente ferramenta para a melhor compreensão e motivação dos alunos.

Palavras-chave: Material didático, Proteômica, Proteínas, Câncer, Divulgação científica.

ABSTRACT

The practical classes are an efficient way of modifying the traditional conservative system that prevailed in Biology teaching. The experimental practices are important in the construction of the scientific knowledge and relevant in teaching-learning process. This project aimed to develop a low cost teaching material that can be reproducible and applied without specialized laboratories in order to demonstrate the basics of the proteomic technique by associating it with the diagnosis of oral cancer. The teaching material contributed to divulge a top scientific methodology and to stimulate the scientific interest in high school students. The material was divided in theoretical manual that explain the concepts of protein chemical structure and electrophoretic separation of molecules, and a practice manual to develop the experiments. A theoretical-practical lesson of the Genetics and Cell biology subject was held at Colégio Estadual João Alfredo with the teaching material and a questionnaire was applied before and after the class in order to evaluate the students. Through analysis of the answers we observed that the goals were achieved, the students managed to obtain new information showing that classroom practice with the kit is an excellent tool for a better understanding and motivation of students.

Keywords: Courseware, Proteomics, Proteins, Cancer, Science divulgation.

1 - Introdução

1.1 - Importância de uma nova visão didática

A didática conservadora que predominava no ambiente escolar, há alguns anos atrás, deixou uma marca profunda no ensino de Ciências e Biologia. De acordo com aquele método, o papel principal do professor era transmitir conteúdos, sem ouvir opiniões dos alunos. Com isso, estes não eram nada além de meros receptores dos conteúdos. Como uma das consequências deste sistema, uma menor motivação foi sendo observada e constatada nos alunos. Porém, mesmo com novas iniciativas, essa falta de motivação continua sendo um dos maiores obstáculos de um professor em relação aos seus alunos. Uma das melhores opções para diminuir este desinteresse é aproximar os conteúdos do dia-a-dia dos alunos. *“Hoje não se pode mais conceber propostas para um ensino de ciências sem incluir nos currículos componentes que estejam orientados na busca de aspectos sociais e pessoais dos estudantes”* (CHASSOT, 2003).

A distância entre professor e aluno prevista pela didática tradicional também refletia no distanciamento da escola com a comunidade em sua volta e com as outras instituições que promovem o conhecimento. A ausência de parcerias entre escolas e instituições que promovem a produção do saber científico contribuiu para uma falta de conhecimento do trabalho dos cientistas e de como a ciência é construída no dia-a-dia. O aluno não percebe o papel de pesquisador que o professor pode desempenhar. *“Este distanciamento de como se fazem as ciências e como elas são ensinadas nos parece fonte de muitos equívocos e desajustes entre como se pensa o mundo e se resolvem problemas nas salas de aula de quaisquer das ciências”* (KOSMINSKY & GIORDAN, 2002).

A forma tradicional conservadora no ensino de Ciências e Biologia também não tem sido eficiente para reduzir a dificuldade da aprendizagem significativa de conceitos e processos biológicos. Muitos alunos inseridos neste contexto não recebem estímulos ao interesse e curiosidade sobre a área. Por isso que outras modalidades didáticas, diferentes da aula expositiva, estão sendo mais utilizadas para despertar o interesse dos alunos. *“É notável que uma forma didática tradicional, especialmente na área biológica, com muitas técnicas pouco ou totalmente ineficazes, torna o ensino monótono, desconexo e desvinculado do cotidiano do aluno”* (JUNIOR & BARBOSA, 2009).

Mas outro fator que se fazia presente no modo tradicional de ensino era a quantidade de conteúdo que era “transmitida”. Isso fez com que grande parte dos conhecimentos adquiridos numa aula fosse prontamente esquecido logo em seguida, pois não teriam sentido ou importância para o aluno. Esse acúmulo de conhecimentos que fora lembrado para uma determinada prova e depois prontamente esquecido faz com que os alunos tenham uma idéia vaga sobre determinado tema, levando a uma falha no desenvolvimento dos conceitos biológicos pelo aluno. *“Diante dessa realidade, parece evidente que o modo como o ensino é organizado e conduzido está sendo pouco eficaz em promover o desenvolvimento conceitual”* (PEDRANCINI *et al*, 2007).

Porém, hoje nos deparamos com uma realidade onde a transdisciplinaridade é um dos maiores desafios na escola, devido a um maior acúmulo de conhecimentos e uma ligação mútua entre eles.

“Atualmente, nos deparamos com um número acelerado e crescente de descobertas científicas e muitas dessas descobertas englobam o campo da biologia. Dessa forma, os professores de biologia ficam encarregados de estarem continuamente em atualização e sincronia com toda essa dinâmica científica” (JUNIOR & BARBOSA, 2009).

Com isso, na tentativa de conexão dos conteúdos das disciplinas, os professores utilizam-se de várias estratégias como aulas práticas, projetos interdisciplinares e feiras abertas. Além de promover uma união ao conteúdo fragmentado presente no ensino conservador, esses eventos também permitem uma atualização dos conteúdos, já que podem estar associados com o cotidiano dos alunos.

Existem várias formas do professor de ciências e biologia não seguir o velho método tradicional. Uma delas seria a utilização de recursos multimídia para realizar uma abordagem mais familiar aos alunos, outra seria a adoção de passeios às instituições dedicadas ao conhecimento como museus, exposições ou universidades, além de idas a marcos históricos. Porém, como este projeto é sobre uma aula prática, será investigado o papel da experimentação e das aulas práticas como mecanismo de escape da didática tradicional.

1. 2 - Papel da experimentação na prática pedagógica

As aulas práticas são formas de modificar o sistema vigente se forem bem planejadas e contextualizadas de forma que interesse ao aluno. O papel da experimentação é importante na construção do conhecimento científico e relevante no processo ensino-aprendizagem.

“É de conhecimento dos professores de ciências o fato de a experimentação despertar um forte interesse entre alunos de diversos níveis de escolarização. Em seus depoimentos, os alunos também costumam atribuir à experimentação um caráter motivador, lúdico, essencialmente vinculado aos sentidos” (GIORDAN, 1999).

Partindo destas afirmações percebemos o poder motivador que este tipo de aula provoca e temos que utilizar essa via para aproximar o conteúdo ao cotidiano do aluno.

O papel da experimentação no ensino também é destacado pelos Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN):

“... é muito importante que as atividades não se limitem a nomeações e manipulações de vidrarias e reagentes, fora do contexto experimental. É fundamental que as atividades práticas tenham garantido o espaço de reflexão, desenvolvimento e construção de ideias, ao lado de conhecimentos de procedimentos e atitudes. Como nos demais modos de busca de informações, sua interpretação e proposição são dependentes do referencial teórico previamente conhecido pelo professor e que está em processo de construção pelo aluno. Portanto, também durante a experimentação, a problematização é essencial para que os estudantes sejam guiados em suas observações” (BRASIL, 1998).

De acordo com o trecho, a experimentação deve partir de uma ótica construtivista, onde basicamente o professor assume dois papéis:

“O primeiro é o de professor tutor, no qual o docente é um guia de aprendizagem e assume uma função intermediária entre uma ação totalmente dirigida pelo professor e uma atividade autogerida pelo aluno. O segundo é o de professor assessor, que assume muito mais a função de questionar do que de dar respostas; provoca, ainda, a reflexão e a solução autônoma de

problemas que possam surgir na realização de projetos que os alunos proponham realizar” (MOREIRA & DINIZ, 2002).

Na aula prática, o aluno desenvolve dois tipos de habilidades ligadas ao processo científico: as habilidades processuais e as integradas. Entre as habilidades processuais estão a capacidade de observação, inferência, medição, comunicação, classificação e predição. Entre as integradas estão o controle de variáveis, definição operacional, formulação de hipóteses, interpretação de dados e conclusão. As habilidades integradas podem ser desenvolvidas a partir das processuais ou ao mesmo tempo. Os dois tipos estão intimamente ligados aos objetivos do ensino de ciências, pois despertam a curiosidade e o interesse pela natureza e estimulam o hábito de estudo e a observação condições necessárias para o aprimoramento do espírito lógico e desenvolvimento do raciocínio indutivo e dedutivo. *“A prática científica moderna e criativa deve, portanto contemplar um conjunto de procedimentos que aproximem os alunos às formas de trabalho mais rigorosas e criativas, mais coerentes com o modo de produção do conhecimento científico”* (VASCONCELOS *et al*, 2002). Além de desenvolverem as habilidades e serem interessantes aos alunos, as aulas práticas possibilitam uma aproximação dos alunos com a construção do conhecimento científico.

Porém, a adoção de aulas práticas não é uma solução para um problema de aprendizagem. Estas aulas devem ser planejadas com antecedência, devem ser coerentes com o nível de conhecimento dos alunos e ao conteúdo curricular do determinado ano.

“A principal causa da insatisfação com o trabalho prático nas escolas é que os professores o utilizam de forma impensada. Não porque sejam pessoas incapazes de pensar, mas porque tem sido submetidos à retórica que considera o trabalho prático em sala de aula como a solução para os problemas de aprendizagem” (HODSON, 2008).

Assim, temos que organizar essas aulas para que não se distanciem de um objetivo.

1.3 - Material didático para a aula Proteoma e sua aplicação no diagnóstico do câncer

Este projeto consiste em desenvolver um material didático que auxilie o professor no ensino da tecnologia associada ao estudo do proteoma. O termo proteoma foi usado pela

primeira vez por WASINGER em 1995, tendo sido definido como o “conjunto de proteínas expressas por um genoma, uma célula ou um tecido”. Portanto, o proteoma seria “a análise sistemática de proteínas e suas características, quantidades e funções”.

A importância da proteômica está diretamente ligada ao fim do projeto genoma humano. Quando o projeto genoma foi finalizado em 2003, muita expectativa foi criada ao seu redor, porém as informações obtidas não solucionaram os problemas que a comunidade científica previa quando iniciou o processo de sequenciamento do genoma humano. *“O grande desafio agora para os biólogos é a utilização da riqueza da informação genética disponível a partir do programa de sequenciamento genômico não apenas para decodificar o aminoácido da seqüência das proteínas codificadas, mas também para descobrir as suas funções.”* (BANKS *et al*, 2000)

O projeto genoma humano, quando foi finalizado, frustrou a comunidade científica em um ponto: a limitação do genoma em explicar a regulação celular. Muitos pensaram que o sequenciamento do genoma humano pudesse explicar como as doenças se desenvolviam ou como ocorre a mudança de comportamento, porém não podemos reduzir a complexidade de todo um organismo apenas à uma seqüência de genes.

“Como consequência do Projeto Genoma Humano, dois novos campos da biologia molecular foram abertos e estão sendo explorados com o objetivo de propiciar um entendimento globalizado dos fenômenos biológicos celulares: a proteômica e a transcriptômica. A proteômica é o estudo das proteínas codificadas pelos genes e a transcriptômica dedica-se a determinar onde e quando os genes se expressam. Ambos os campos parecem promissores no estudo do desenvolvimento de doenças.”(BERNARDINO *et al*, 2010)

A evolução da biotecnologia contribuiu para que a proteômica deixasse de ser uma análise isolada de química de proteínas para que se tornasse uma tecnologia de larga escala que pode ser aplicada às diversas áreas de pesquisas biomédicas e na clínica.

“A proteômica é uma poderosa abordagem para realizar o estudo global da estrutura e a função de todas as proteínas expressas em um sistema biológico. A grande sensibilidade e acurada medição de massa permitida pelo espectrômetro de massa, fez com que este tornasse uma das bases da tecnologia proteômica. Sua abordagem mais usual é a construção de mapas de proteínas

utilizando a eletroforese bidimensional de géis 2D seguida da digestão enzimática do gel e a medição do fragmento do peptídeo através da espectrometria de massas” (HU et al, 2006).

O câncer é uma doença que possui várias causas que se relacionam aos fatores genéticos individuais, variações ambientais e o cotidiano do paciente. As alterações que ocorrem no genoma das células do indivíduo levam a alteração do padrão de expressão gênica, o que levará a modificação da estrutura e da função das proteínas. Conseqüentemente, proteínas desconhecidas podem surgir e outras perdem suas funções, modificando assim a homeostase de um paciente. As alterações ocorridas nas células cancerígenas podem levar a uma menor regulação da sua expressão gênica, estas células se dividem rapidamente competindo com as outras células adjacentes por espaço e por nutrientes necessários para seu crescimento. *“O objetivo principal na terapia anti-câncer é encontrar as células cancerígenas e eliminá-las com o mínimo de toxicidade possível” (WU et al, 2002).* Além disso o tempo é fundamental, pois o diagnóstico precoce aumenta drasticamente a possibilidade de cura.

Em relação ao câncer de boca não existe até o presente momento, um perfil da expressão total das proteínas da matriz extracelular e das proteínas celulares nos tecidos da cavidade oral. A melhor compreensão das proteínas celulares e de matriz expressas no local podem fornecer um bom início para os futuros avanços na tentativa de compreender melhor como o câncer se manifesta na cavidade oral no que tange ao seu prognóstico (desenvolvimento de lesão maligna), além de auxiliar o desenvolvimento de instrumentos diagnósticos e prognósticos. Uma das possibilidades de investigar o câncer de boca é analisar o proteoma da saliva. O emprego da saliva para mapeamento ou diagnóstico de lesões cancerígenas ainda não foi fruto de análise até o presente momento no que tange ao proteoma dessas lesões, e para o câncer bucal, ela ainda está nos primeiros passos (WANG et al, 2008).

Neste projeto, a aula prática proposta associa os conteúdos abordados em Genética e Citologia do primeiro ano do ensino médio com uma doença muito abordada pela mídia, o câncer que infelizmente ainda não tem uma cura definitiva. Estes temas serão abordados de modo a despertar o interesse dos alunos para a investigação científica através da prática que demonstra a tecnologia científica associada à proteômica.

2 - Objetivos

Objetivo Geral

Construção de um material didático de baixo custo que auxilie o educador no ensino da metodologia científica de um conjunto de técnicas da área proteômica. O material didático terá como finalidade explorar a técnica associando-a ao diagnóstico de câncer de boca.

Objetivos específicos

- Desenvolver as possibilidades do material didático com os alunos do Colégio Estadual João Alfredo, no Rio de Janeiro, através de uma aula teórica e prática específicas.
- Avaliar o conhecimento destes alunos antes e depois da aula prática específica com a utilização do material didático, através de um questionário.

3 - Metodologia

3.1 - Confeção do material didático

Para a construção do sistema eletroforético, confeccionamos primeiramente o molde para o gel, com os seguintes materiais: uma caixa de ponteiras para pipeta 1000 μl e ferramenta rotativa série 300 DREMEL[®]. Primeiramente, deve-se retirar uma das partes da caixa de ponteiras. Cortar a parte traseira da caixa de ponteiras com auxílio da ferramenta e fazer as entradas nas laterais da caixa para servir de apoio para o pente com auxílio da ferramenta. A figura 1 mostra o molde pronto.

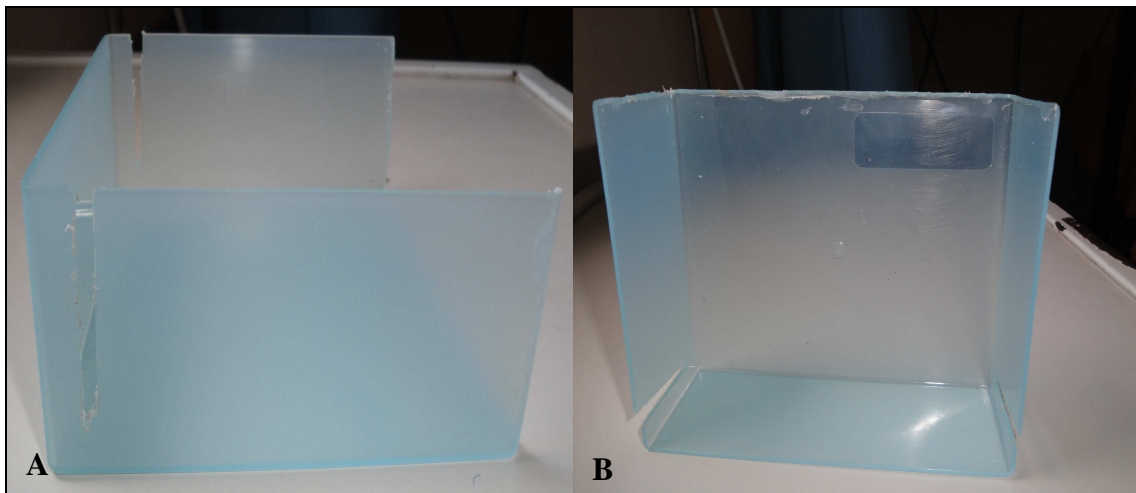


Figura 1: Molde para o gel. A) Vista lateral do molde. B) Vista anterior do molde.

Para a confecção do conector da cuba, os materiais necessários são: fio grosso (de preferência preto e vermelho), alternador (110 v), dois plugues banana preto e vermelho, faca ou alicate, fita isolante e tomada macho MarGirus Electric[®]. Primeiramente, deve-se descascar as pontas do fio com a faca ou alicate. Em seguida, enrola-se uma das pontas do fio no plugue banana preto e a outra ponta no plugue banana vermelho. A tomada macho é aberta e o alternador é encaixado dentro da tomada. As pontas do alternador são enroladas nas duas extremidades do fio, as duas outras pontas do alternador devem ser encaixadas na parte interna do plugue da tomada. Em seguida, todas as pontas dos fios e do alternador são

encapadas com fita isolante para evitar contato entre elas. A tomada é aparafusada. A figura 2 mostra o fio conector da cuba pronto.

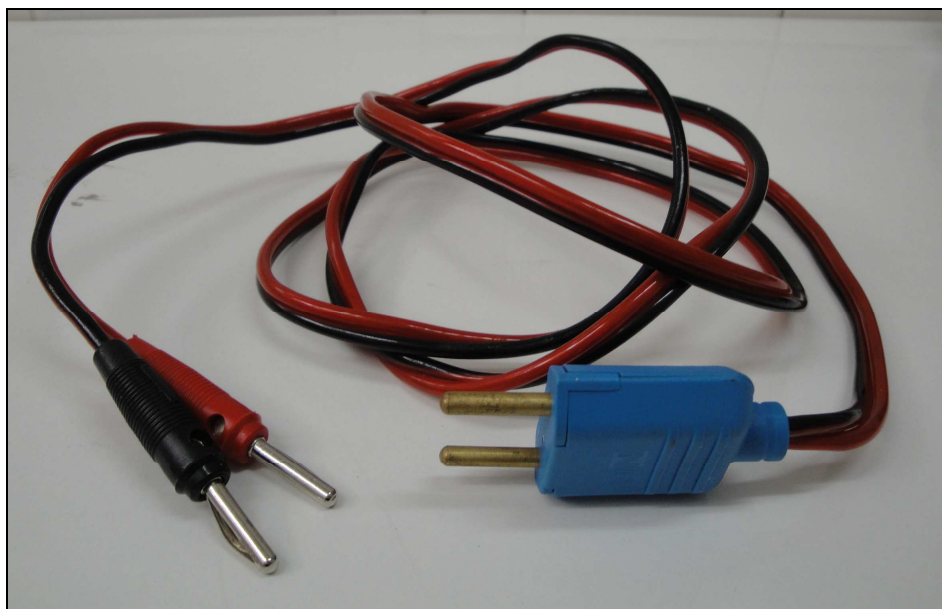


Figura 2: Fio conector da cuba.

Para construir o pente formador de poços no gel, utilizou-se os seguintes materiais: régua plástica de 20 cm e ferramenta rotativa série 300 DREMEL[®]. Primeiramente deve-se cortar a régua com o auxílio da ferramenta, de modo que apenas duas partes em forma de “U” de aproximadamente 0,5 cm sobrem na régua, formando assim o pente (figura 3).



Figura 3: Pente formador de poços no gel.

Para construir a pipeta, são necessários os seguintes materiais: seringa plástica pequena de 50 ml (sem agulha), mola pequena de aproximadamente 3 cm, ponteira para pipeta p20 ou p200. Deve-se encaixar a ponteira de pipeta no local da agulha da seringa e retirar a parte interna da seringa e encaixar a mola. A figura 4 mostra a pipeta pronta.



Figura 4: Pipeta.

Para construir a cuba de eletroforese, os materiais necessários são: caixa de ponteiras para pipeta 1000 μ l, ferramenta rotativa série 300 DREMEL[®], corda de violão inox n^o 2, dois borners (vermelho e preto), cola Araldite[®], fita adesiva e alicate para fio. Primeiramente, deve-se retirar uma das partes da caixa de ponteiras. Furar duas extremidades na parte frontal da caixa de ponteira, com auxílio da ferramenta, cerca de 1 cm de distância do fundo da caixa. O borner preto é encaixado no furo da extremidade esquerda da caixa e o borner vermelho no furo da extremidade direita da caixa. Cortar duas partes da corda de violão, com auxílio do alicate, de acordo com a distância entre as partes frontal e traseira da caixa. É recomendável cortar cerca de 5 cm maior do que a distância entre as partes frontal e traseira da caixa. Dobrar suavemente uma das extremidades das cordas de violão. Esticar as cordas de violão rente ao fundo e as laterais da caixa. Enrolar uma das extremidade das cordas nos parafusos dos borners. Utilizar a fita adesiva para colar as partes expostas das cordas de violão para que elas fiquem rente ao fundo da caixa. Utilizar a cola Araldite[®] para colar as extremidades soltas das cordas de violão na parte traseira da caixa. Para testar a cuba de eletroforese, adiciona-se 100 ml de solução tampão (vide página 19) na cuba (nunca ligue a cuba sem tampão) e conecta-se o plugue do pino banana preto no borner preto e o plugue do pino banana vermelho no borner

vermelho da cuba. Se a solução tampão que está sobre os fios estiver borbulhando, considera-se que a cuba está funcionando. A figura 5 mostra a cuba de eletroforese.

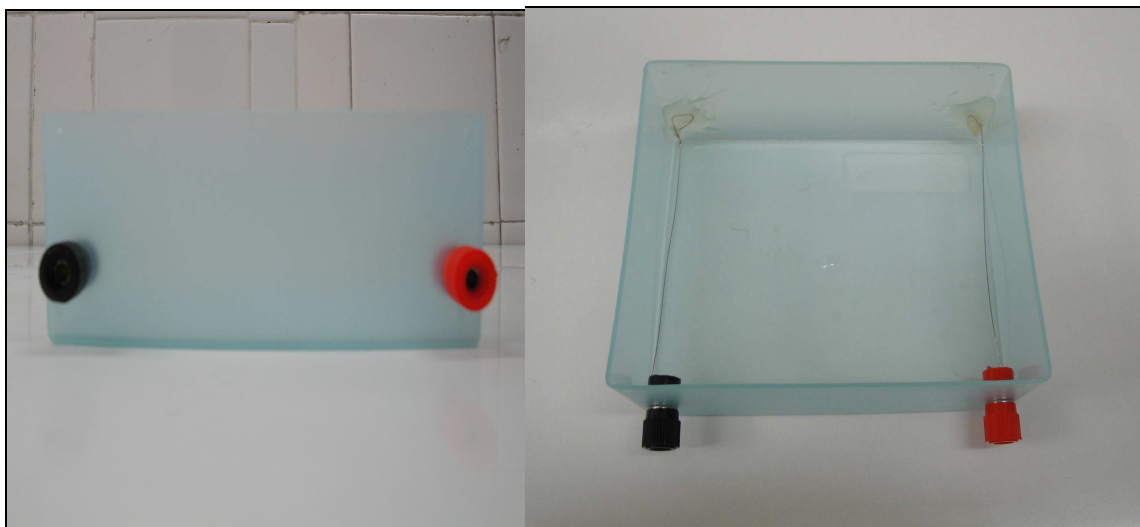


Figura 5: Cuba de eletroforese. Esquerda: vista frontal da cuba.

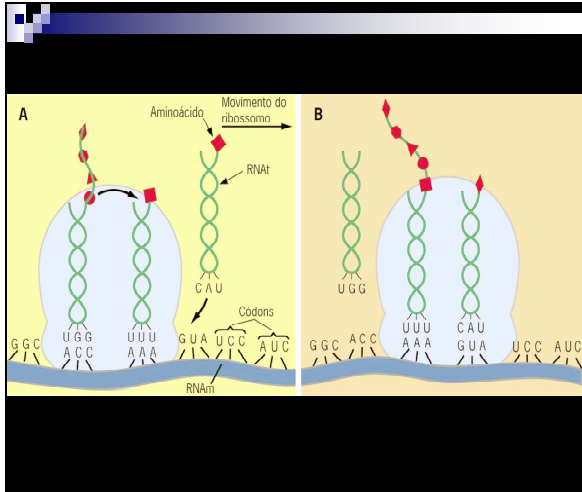
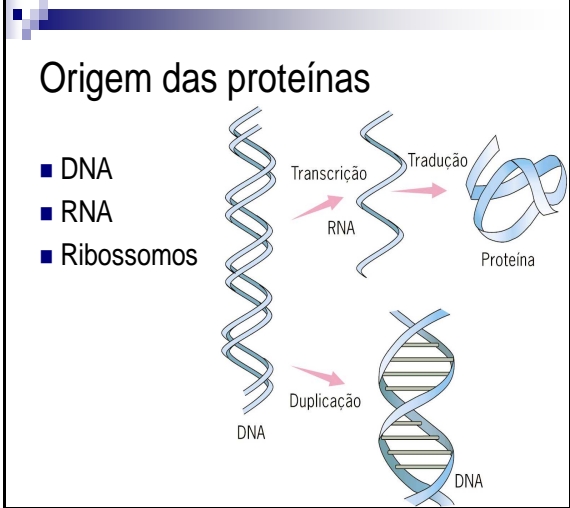
Direita: vista superior da cuba.

3.2 - Aula teórica

A aula teórica foi aplicada na turma 1005 do primeiro ano do ensino médio, no dia 1º de julho de 2010, no Colégio Estadual João Alfredo, no Boulevard Vinte e oito de setembro nº 109, em Vila Isabel, na cidade do Rio de Janeiro. A turma era constituída de 35 alunos.

A aula teórica teve como objetivo abordar o tema proteínas. Este tema foi subdividido em síntese de proteínas, aminoácidos, estrutura das proteínas, câncer e proteômica. Também foi utilizado um questionário (Anexo 1) no início e no fim da aula como instrumento de avaliação. A sequência de slides utilizados para a aula encontra-se na figura 6.

Proteínas



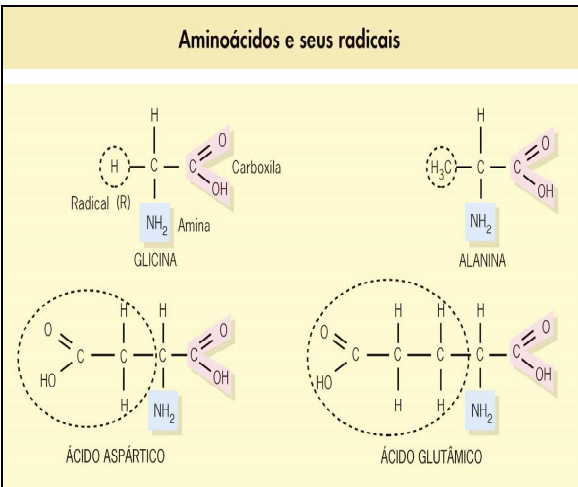
Segunda base do códon

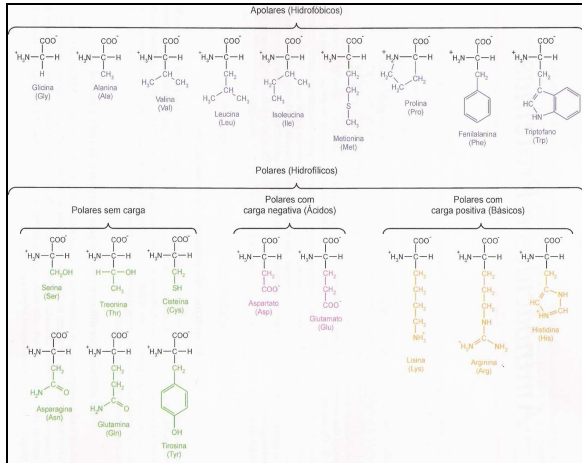
		U	C	A	G			
U	UUU	Phe	UCU	SER	UAU	Tyr	UGU	Cys
	UUC		UCC		UAC		UGC	
	UUA	Leu	UCA		UAA		UGA	
	UUG		UCG		UAG		UGG	Trp
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg
	CUC		CCC		CAC		CGC	
	CUA		CCA		CAA	Gln	CGA	
A	AUU	Ile	ACU	Thy	AAU	Asn	AGU	Ser
	AUC		ACC		AAC		AGC	
	AUA		ACA		AAA	Lys	AGA	
	AUG	Met	ACG		AAG		AGG	
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly
	GUC		GCC		GAC		GGC	
	GUA		GCA		GAA		GGA	
	GUG		GCG		CAG		GGG	

Primeira base do códon
Terceira base do códon

Tabela mostrando a ordem da ligação dos aminoácidos de acordo com as bases do códon do RNA-m. O códon AUG destacado em verde é o códon de iniciação e os códons UAA, UAG e UGA destacados em vermelho são códons que indicam parada.

- ## Aminoácidos
- Menor unidade das proteínas.
 - Existem mais de 200 tipos de aminoácidos na natureza. Porém nas proteínas humanas encontramos apenas 20 tipos de aminoácidos.
 - Sua molécula é formada por cadeias de carbono com hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e, às vezes enxofre.
 - É formada por uma porção ácida, com o grupamento carboxila (COOH), uma porção básica, com o grupamento amina (NH) e o radical R.
 - O radical R determina se a molécula será polar, apolar, ácida ou básica.





Aminoácidos

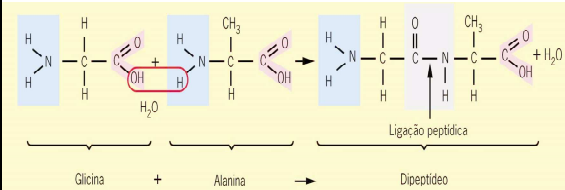
- Os vegetais fabricam aminoácidos a partir de cadeias de carbono obtidas da fotossíntese e de nitrato (NO_3^-) retirado do ambiente.
- Alguns aminoácidos são obtidos através da degradação de nossas proteínas, porém os outros são obtidos apenas na alimentação.

Aminoácidos

- Um **aminoácido essencial** é aquele que o organismo não é capaz de sintetizar mas é requerido para o seu funcionamento.
- Aminoácidos Essenciais: Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Treonina, Triptofano e Valina.

Ligação peptídica

- União entre aminoácidos
- Sempre é feita entre a carboxila (COOH) de uma unidade com a amina (NH_2) da outra.

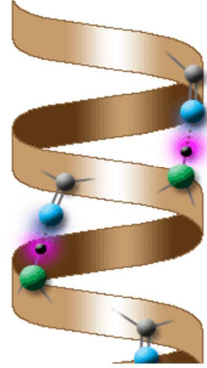


Estrutura Primária

- A sequência de aminoácidos que forma uma proteína.
- Com apenas 20 aminoácidos, podemos ter um número quase infinito de proteínas.

Estrutura Secundária e Terciária

- A proteína não é apenas um filamento esticado no espaço. Ela se enovela, originando uma região de enovelamento, configurando uma estrutura secundária.
- Um dos tipos de estrutura secundária é a α -hélice onde as pontes de hidrogênio unem os fios uns aos outros, produzindo uma hélice (α -hélice). Outro tipo é a folha β -pregueada.
- Quando há mais de um enrolamento, a proteína ganha uma forma tridimensional, dobrando-se sobre si mesma ganhando uma conformação espacial. A esta forma, chamamos de estrutura terciária.



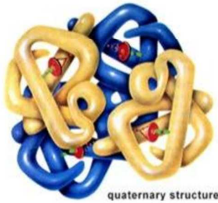
Os aminoácidos da estrutura primária são unidos por pontes de hidrogênio, o que acaba contribuindo para o enrolamento da proteína formando assim a alfa-hélice da estrutura secundária.

Estrutura da proteína

- O que faz a proteína se dobrar?
 - Pontes de Hidrogênio
 - Atrações elétricas entre aminoácidos (carga)
 - Pontes bissulfeto (enxofre)
 - Aminoácidos apolares tendem a se aproximar.
- Conclui-se:
A estrutura depende da sequência de aminoácidos

Estrutura Quaternária

- Quando ocorre união de mais de uma estrutura primária.
- A junção de cadeias polipeptídicas pode produzir diferentes funções para as proteínas.

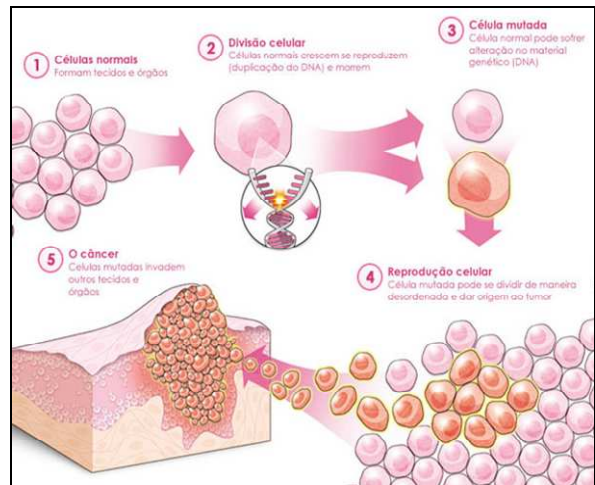


Importância das proteínas

- Enzimas → Catalisam reações bioquímicas.
Ex: lipases, catalases, desidrogenases
- Hormônios → Desempenham funções específicas em algum órgão do corpo humano.
Ex: Insulina, glucagon, adrenalina
- Anticorpos → Defesa do organismo contra vírus, bactérias e outras substâncias nocivas.
Ex: Fibrinogênio, trombina
- Condução de gases → Transporte de gases no organismo.
Ex: Hemoglobina, hemocianina
- Estrutural → Participam na estrutura dos tecidos dando rigidez, consistência e elasticidade.
Ex: Colágeno, queratina, albumina, actina, miosina

Câncer

- O que é?
Uma doença onde um grupo de células começa a crescer e se dividir desordenadamente, invadindo e destruindo os tecidos adjacentes.



Diagnóstico do câncer

- As alterações no DNA das células que causam o câncer provocam mudanças que podem ser detectadas com exames médicos e a biópsia.
- Porém, as pessoas com câncer só descobrem que estão doentes após os sintomas aparecerem.
- Em muitos casos, os sintomas aparecem quando a situação já está irreversível, por isso que é importante novos métodos diagnósticos para identificar o câncer, o mais rápido possível.

Proteínas no diagnóstico do câncer

- A análise das proteínas é um diagnóstico baseado na alteração do padrão das proteínas causada pelas modificações do DNA das células cancerígenas.

Proteômica

- Análise em larga escala das proteínas de um organismo, particularmente suas estruturas e funções.

Aplicações práticas da proteômica

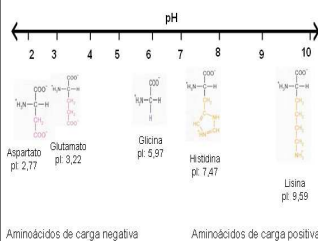
- Descoberta de novas drogas
- Estudos em patologia
- **Diagnóstico**
- Terapias
- Microbiologia
- Bioquímica
- Fisiologia de plantas
- Controle de qualidade

Separação horizontal

Início da eletroforese +



Fim da eletroforese



Separação horizontal

- Separação por ponto isoelétrico.
- Depende do pI (Ponto Isoelétrico).
- Proteínas ácidas, básicas ou neutras.

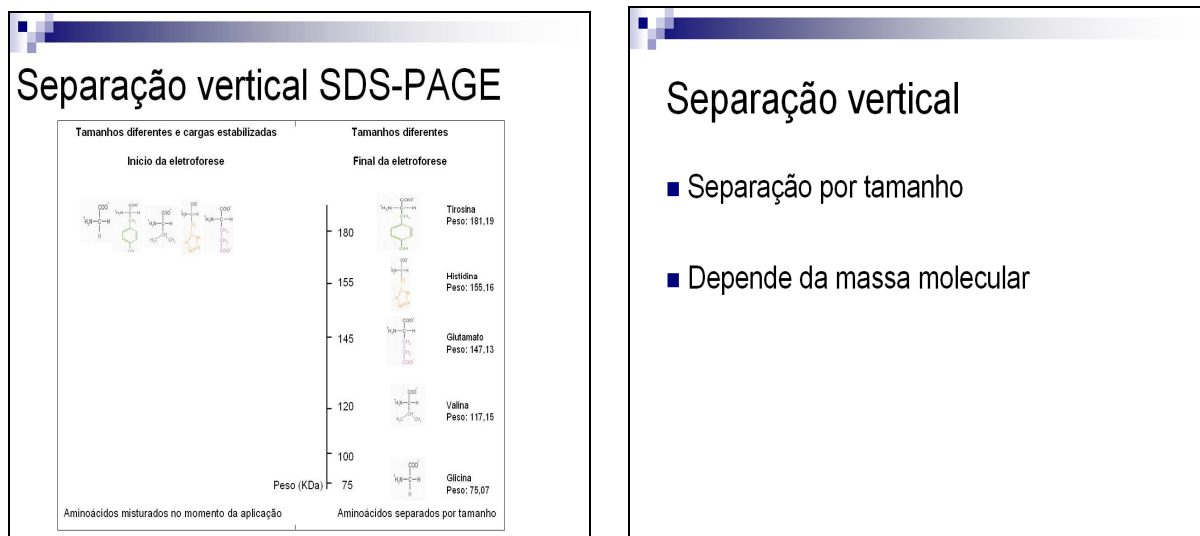


Figura 6: Slides utilizados na aula teórica.

3.3 - Aula prática

A aula prática foi aplicada logo após a aula teórica e constituiu-se de duas etapas: a primeira foi uma identificação de proteínas na saliva através da utilização de um kit e a segunda parte foi uma corrida eletroforética com o gel de maisena.

3.4 - Instruções para as aulas práticas

Prática 1 - Identificação de proteínas

Material (Kit de identificação de proteínas): (figura 7a)

- 2 plaquinhas de Petri de plástico
- Solução de sulfato de cobre 5%
- Solução de hidróxido de sódio 25%
- 2 espátulas pequenas
- leite em pó
- pote pequeno com saliva
- água

Procedimentos

1 - Coloque nas duas plaquinhas e no pote com saliva, um pouco de água (5 ml), cinco gotas da solução de sulfato de cobre e cinco gotas da solução de hidróxido de sódio.

2 - Em uma das placas adicione com a espátula um pouco de leite em pó.

3 - Misture cada solução com cuidado e verifique o resultado.

Espera-se que, na placa que contém o leite, a solução se torne roxa. No pote com saliva a solução se torne azul escuro e na placa com água, a solução ficará na cor azul claro (figura 7b).



Figura 7: Identificação de proteínas. a) Kit de identificação de proteínas, proveniente do material didático elaborado pela professora Marly Veiga no Departamento de Ensino de Ciências e Biologia da UERJ.

b) Resultado da identificação quando utilizamos água, saliva e leite.

2 - Eletroforese

Todo o material utilizado na eletroforese está representado na figura 8.



Figura 8: Kit eletroforese completo.

A - Preparo do molde

Materiais:

- Molde para gel
- Fita crepe

Procedimentos

- 1 - Desacoplar o molde da cuba de eletroforese.
- 2 - Vedar a parte traseira com fita crepe (figura 9).



Figura 9: Molde com fita crepe.

B - Preparo do tampão de eletroforese

Materiais:

- 50 ml de água boricada 2%
- Uma colher de café rasa de bicarbonato de sódio
- Água filtrada (500 ml)

Obs: Se a água boricada disponível for de 3% convertê-la para 2% acrescentando 50 ml de água filtrada a cada 100 ml de água boricada.

Procedimentos

- 1 - Colocar a água boricada no copo de medidas.
- 2 - Acrescentar o bicarbonato de sódio.
- 3 - Acrescentar a água filtrada até completar 500 ml.
- 4 - Misturar bem a solução.

C - Preparo do gel de maisena

Materiais:

- Maisena (10 gramas)
- Tampão de eletroforese (100 ml)
- Copo de vidro
- Espátula de madeira
- Molde vedado com fita crepe
- Pente

Procedimentos

- 1 - No copo de vidro, misturar a maisena e a solução tampão de eletroforese com a espátula de madeira.
- 2 - Levar o copo de vidro ao microondas para aquecer a solução.
- 3 - Retirar o copo do microondas antes que a solução entorne.
- 4 - Mexer o gel com a espátula, rapidamente, até homogeneizar.
- 5 - Repetir as etapas 2, 3 e 4.
- 6 - Despejar rapidamente o gel no molde e encaixar o pente (figura 10).



Figura 10: Gel de maisena com o pente acoplado.

7 - Manter o molde com o gel no congelador de 5 a 10 minutos, até adquirir consistência.

8 - Retirar o molde do congelador e mantê-lo em temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da sua utilização.

9 - Retirar o pente e a fita crepe do molde. Verificar se os poços (espaços deixados pelo pente) foram bem formados.

D - Preparo dos corantes

Materiais:

- Corantes 10 ml - verde e preto (anilina comestível marca Arcolor)
- Glicerina líquida

Procedimentos

- 1 - Acrescentar os corantes até a metade dos recipientes de amostras controle e paciente (verde para controle e preto para paciente).
- 2 - A cada recipiente de amostra acrescentar 10 gotas de glicerina.
- 3 - Misturar bem.

E - Corrida eletroforética

Materiais:

- Molde contendo o gel de maisena
- Tampão de eletroforese (100 ml)
- Cuba de eletroforese
- Amostras (Controle e Paciente)
- Pipeta
- Tomada de ligação elétrica

- Copo de vidro
- Faca sem ponta

Procedimentos

- 1 - Com o auxílio da faca sem ponta, cortar o gel ao meio.
- 2 - Colocar uma das partes do gel no centro da cuba de eletroforese, posicionando os poços para o lado do pólo negativo (preto) (figura 11).
- 3 - Guardar a outra parte do gel envelopado, de preferência em papel alumínio, para o caso de repetir a corrida eletroforética.

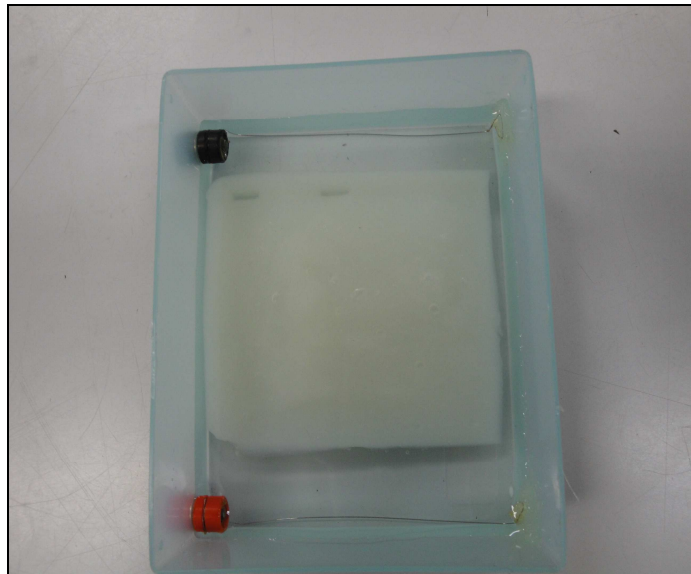


Figura 11: Gel de maisena. Posicionado no centro da cuba de eletroforese com os poços para o lado do pólo negativo.

- 4 - Sobre o gel, adicione 100 ml da solução tampão de eletroforese (se o gel flutuar, afunde-o pressionando levemente).
 - 5 - Com a pipeta, encher os poços até a metade com as amostras rotuladas como paciente (poço da esquerda) e como controle (poço da direita) (figura 12).
- Obs: Manter o copo de vidro com água limpa ao lado da cuba para lavar a pipeta entre uma aplicação e outra.

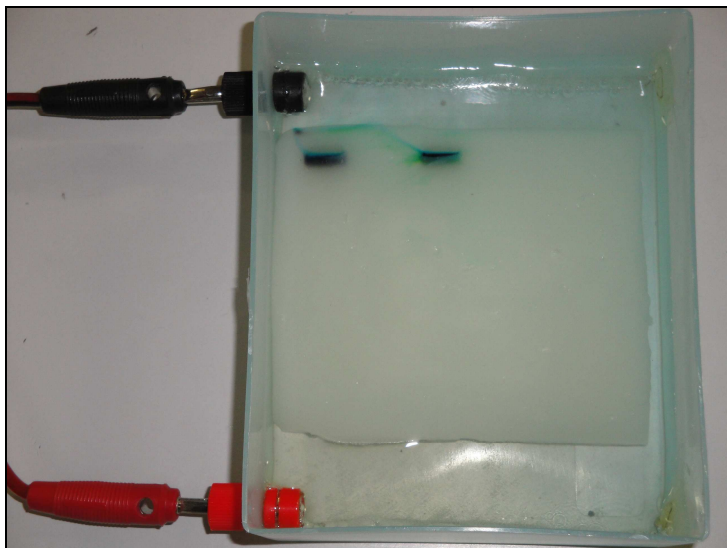


Figura 12: Amostras aplicadas no gel antes de ligar a cuba na tomada.

6 - Ligar a cuba de eletroforese (110 V) utilizando a tomada de ligação elétrica. Os plugs devem ser conectados às suas cores correspondentes (preto - pólo negativo e vermelho - pólo positivo).

CUIDADO: Não coloque a mão na cuba durante a corrida eletroforética (passagem de corrente elétrica).

7 - Quando aparecer as cores azul e vermelho na corrida da amostra paciente, desligar a cuba da tomada (figura 13a). Virar o gel para a direita (sentido horário) para realizar a corrida no sentido horizontal (figura 13b).

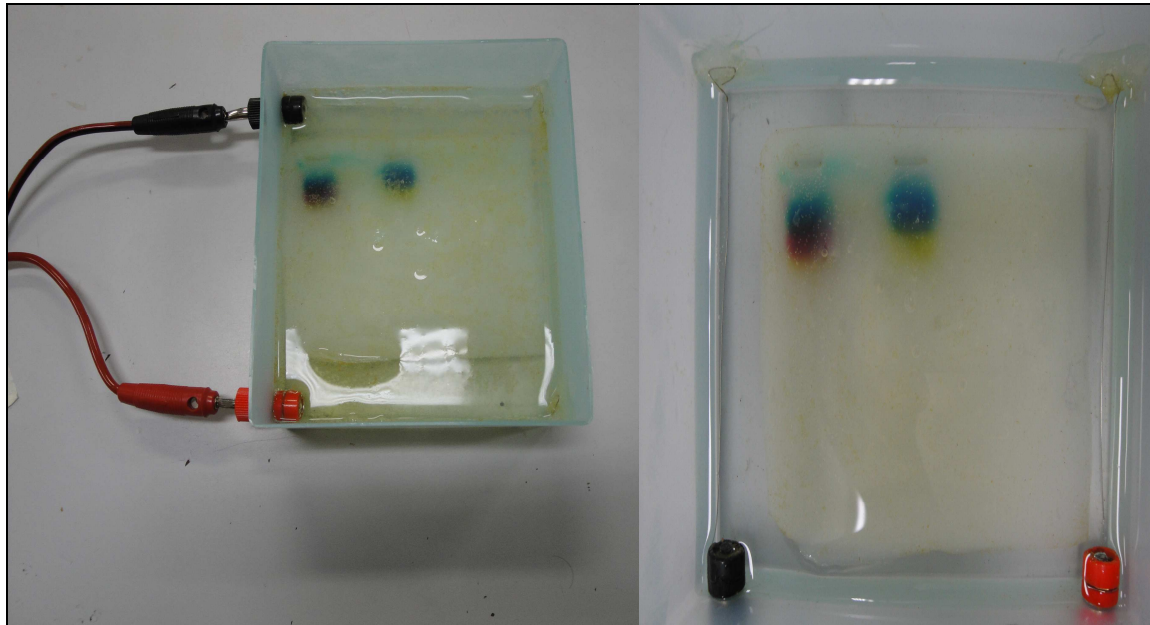


Figura 13: Mudança na posição do gel. a) Momento onde a amostra paciente fica com as cores vermelho e azul.
b) Gel deslocado para a direita para iniciar a corrida no sentido horizontal.

8 - Ligar a cuba novamente.

9 - Após 5 minutos, desligar a cuba da tomada.

10 - Após desligar a cuba, descartar a solução tampão.

11 - Retirar o gel e apoiá-lo em uma superfície seca com sua face inferior para cima.

12 - Em seguida, observaremos as bandas no gel, as quais corresponderiam às proteínas das amostras dos pacientes e controles (figura 14).

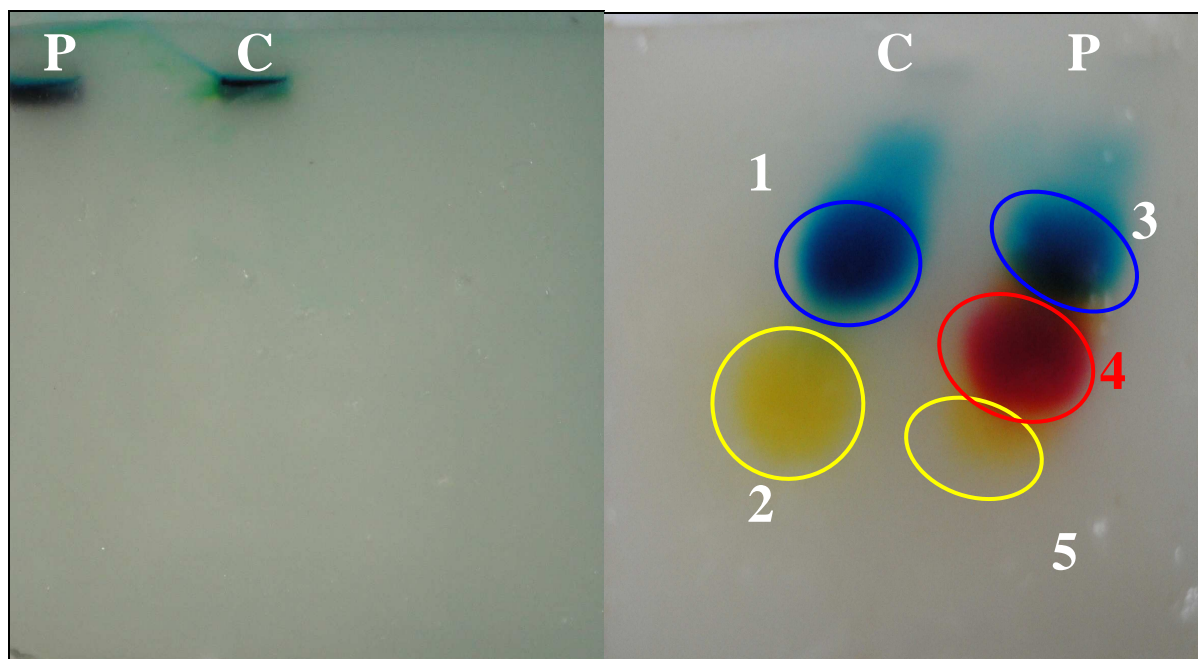


Figura 14: A figura mostra a comparação entre géis no início (esquerda) e no fim da corrida eletroforética (direita), P: paciente e C: controle.

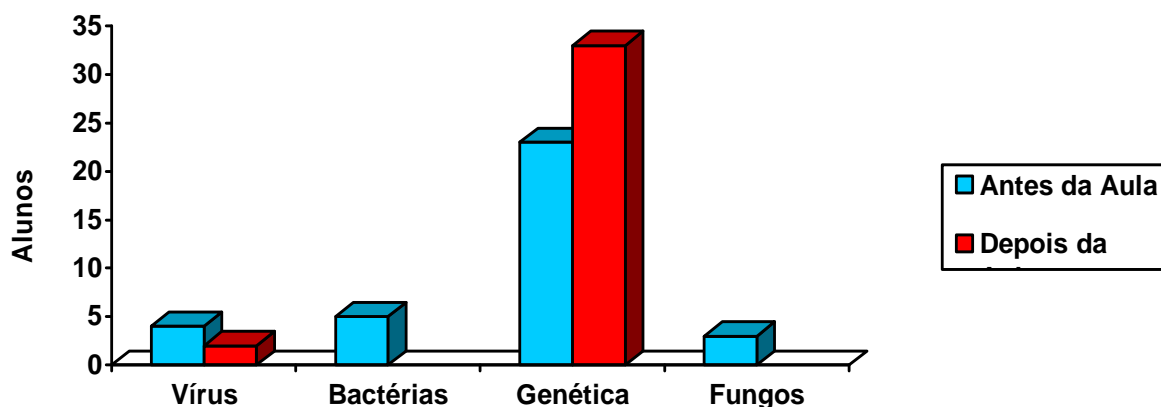
No gel à esquerda observamos uma amostra controle de cor verde (C) e uma amostra obtida de pacientes na cor preta (P) no início da corrida eletroforética. Após o fim da corrida, observamos o deslocamento horizontal e vertical das proteínas. A partir da amostra de cor verde vemos o aparecimento de duas proteínas (1 e 2) e a partir da amostra de cor preta observamos o aparecimento de três proteínas (3, 4 e 5). Observamos que tanto a proteína 1 quanto a 3, possuem cor azul, com isso podemos dizer que estas proteínas são semelhantes e não serão utilizadas no diagnóstico de doenças, assim como as proteínas 2 e 5 de cor amarela. Porém a proteína 4 de cor vermelha proveniente da amostra paciente pode ser considerada um marcador para o aparecimento de câncer, já que é ausente ou pouco expressada na amostra controle.

4 - Resultados e Discussão

Os resultados foram obtidos a partir das respostas dos alunos antes e após a aula teórica seguida de prática. Quatro perguntas do questionário são objetivas e duas são discursivas.

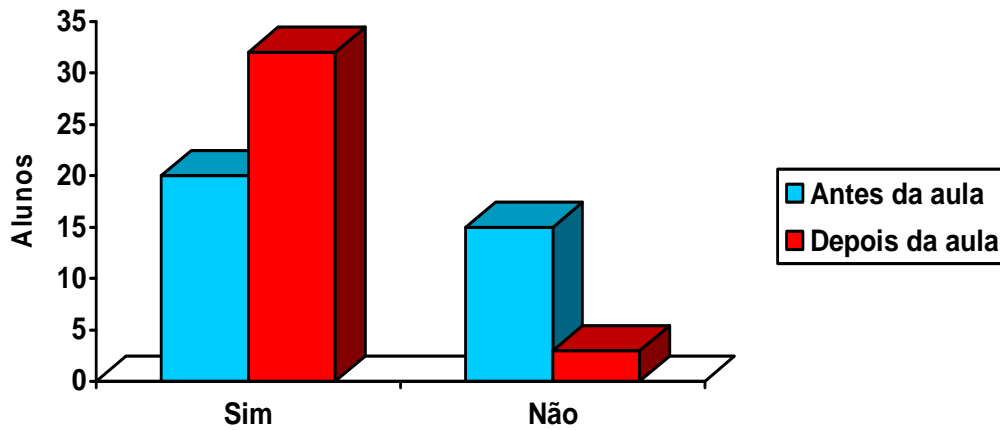
A seguir, os gráficos mostram as respostas dos alunos nos questionários.

Gráfico 1: Respostas em relação à pergunta a: O câncer é uma doença?



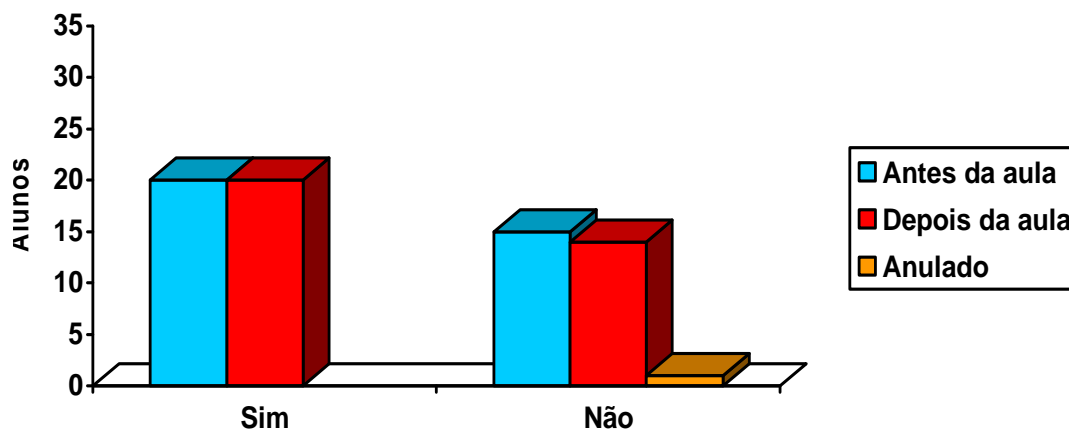
Observou-se que, antes da aula, alguns alunos achavam que o câncer era uma doença causada por vírus (11,4%), causada por bactérias (14,3%) ou causada por fungos (8,5%), porém a maioria já tinha conhecimento de que o câncer é causado por fatores genéticos (65,8%). Depois da aula, foi observado que poucos alunos (5,7%) marcaram a opção vírus e a grande maioria (94,3%) optaram pela resposta genética. Podemos dizer que antes da aula, os alunos apresentavam uma tendência a acreditar que o câncer era uma doença causada por fatores genéticos. Percebemos que existe um conhecimento prévio dos alunos sobre o tema câncer, porém em nenhum momento este tema é abordado na sala de aula. Isto contrasta muito com o ensino deste tema em outras regiões do mundo. De acordo com (BURNS *et al*, 2004), cerca de 90% dos estados norte-americanos exigem aulas sobre saúde, onde o tema câncer é abordado. Com isso, vemos que o câncer é um tema importante nas aulas de saúde, porém é pouco explorado pelos professores brasileiros.

Gráfico 2: Respostas em relação à pergunta b: Você acha que o câncer modifica o DNA das células?



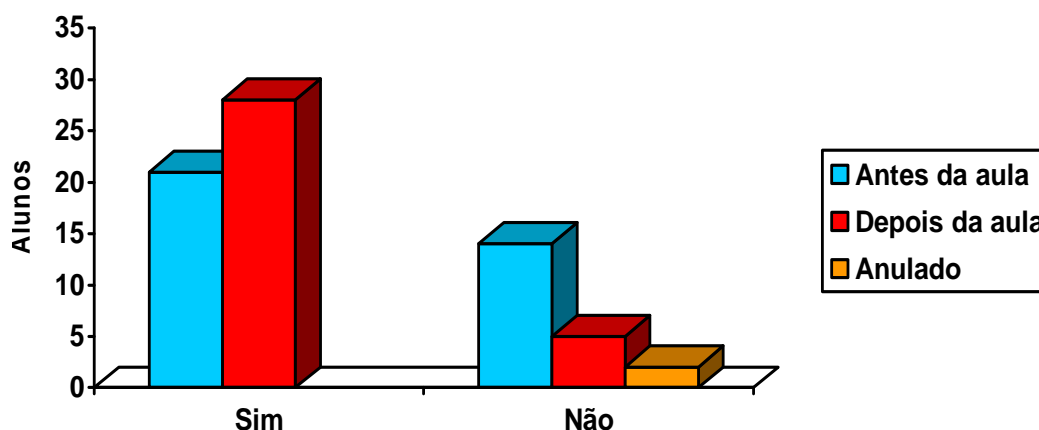
De acordo com as respostas, observou-se que, antes da aula, os alunos achavam que as modificações do DNA das células não estão relacionadas ao desenvolvimento do câncer, já que 42,9% responderam não. Depois da aula, foi visto que a maioria dos alunos (91,5%) passaram a considerar que as modificações do DNA estão diretamente ligadas ao desenvolvimento do câncer. A ausência de abordagem do tema câncer contribuiu para os resultados antes da aula. Apesar que o tema mutação é abordado nas aulas de Genética no ensino médio, porém ele não é associado ao câncer.

Gráfico 3: Respostas em relação à pergunta c: As proteínas expressas pelas células desempenham um papel importante no desenvolvimento do câncer?



Não foi observada diferença significativa entre o primeiro e o segundo resultado, em relação à terceira pergunta. Isto mostra que o conceito pode não ter sido bem trabalhado na aula teórica. Deve-se ressaltar que a aula teórica foi iniciada atrasada devido à impuntualidade dos alunos prejudicando a assimilação de conhecimentos.

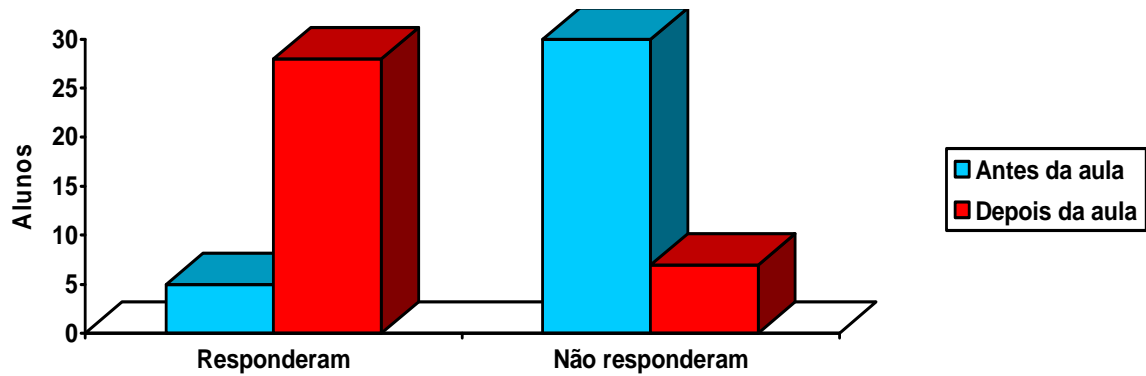
Gráfico 4: Respostas em relação à pergunta d: Você acha que o câncer pode ser previsto?



Antes da aula, foi observado que 60% dos alunos acreditam que o câncer pode ser previsto e os outros 40% responderam que não pode ser previsto. Depois da aula, 80% dos alunos passaram a considerar que o câncer pode ser diagnosticado com antecedência. Este resultado mostra essencialmente a eficiência da aula prática utilizada após a aula teórica, pois esta mostra um diagnóstico do câncer através das proteínas e essa visualização dos resultados manteve os alunos bastante interessados até o fim da aula. Desta forma, constatamos o caráter motivador que as aulas práticas provocam nos alunos.

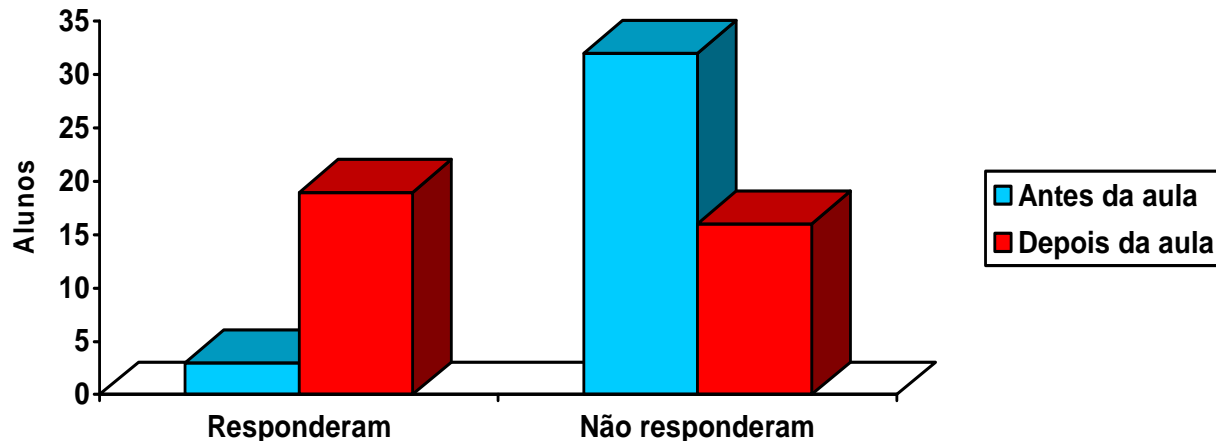
Foi observado que todos os alunos responderam as quatro perguntas objetivas, tanto antes quanto depois da aula. Porém apenas 14,3% responderam pelo menos uma das duas perguntas discursivas antes da aula. Quando o questionário foi aplicado pela segunda vez, 82,8% responderam ao menos uma das duas perguntas discursivas.

Gráfico 5: Respostas em relação à pergunta discursiva 1: O que o câncer provoca nas células do nosso organismo?



Foi observado que apenas 14,3% responderam a pergunta antes da aula. O baixo número de alunos que responderam as perguntas se deve ao fato da falta de pontualidade anteriormente citada, além da falta de conhecimento sobre o tema e a não obrigatoriedade de responder as perguntas do questionário, apesar de que todos os alunos presentes no momento da aula responderam pelo menos as quatro perguntas objetivas do questionário. Destes cinco alunos, três responderam que o câncer enfraquece as células do organismo e os outros dois responderam que o câncer destrói as células. Estas respostas mostram que existe realmente um conhecimento prévio dos alunos sobre o câncer, porém como o assunto não é muito abordado na sala de aula, os alunos não sabem explicar muito bem o que realmente acontece. Depois da aula, foi observado que 80% responderam a pergunta e apenas 20% não responderam. A resposta desta pergunta foi apresentada durante a aula teórica e todos os alunos que responderam escreveram que o câncer altera a expressão gênica, modificando a regulação celular.

Gráfico 6: Respostas em relação à pergunta discursiva 2: Cite três funções das proteínas no organismo humano?



Apenas 8,5% dos alunos responderam a pergunta antes da aula. O baixo número de alunos deve-se aos mesmos fatos que ocorreram em relação à pergunta anterior. Dos três alunos que responderam, nenhum deles conseguiu descrever mais de uma função das proteínas, sendo que um respondeu que as proteínas reestruturam as células (função estrutural) e os outros dois responderam sobre a função energética das proteínas, um disse que as proteínas dão energia ao corpo humano e outro respondeu que elas produzem energia. Após a aula, 51,4% dos alunos já foram capazes de responder a pergunta. Entre os 18 alunos que responderam, metade foi capaz de descrever três funções para as proteínas no mínimo, como enzimática, defesa do organismo e estruturação. Os outros nove alunos responderam de maneira incorreta ou citaram apenas uma das funções.

5 - Conclusão

O material didático construído foi eficiente em divulgar uma metodologia científica de ponta e estimular o interesse científico em alunos do ensino médio, além de contribuir para a divulgação científica. O material foi confeccionado com materiais de baixo custo e pode ser reproduzido para aplicação de aulas práticas, sem a necessidade de laboratórios e infraestrutura especial. O material teórico suporte que acompanha as aulas práticas proporcionam o devido suporte técnico em linguagem acessível aos alunos.

Além da divulgação da metodologia de ponta ligada às técnicas proteômicas, o material teórico pode desenvolver uma interdisciplinaridade com a Química através dos temas relacionados à estrutura e características químicas dos aminoácidos. Podemos fazer uma conexão do conteúdo com o cotidiano do aluno através das perguntas em relação ao desenvolvimento do câncer, uma doença cada vez mais frequente e divulgada dentro e fora do meio científico.

6 - Referências bibliográficas

BANKS, R.E.; DUNN, M.J.; HOCHSTRASSER, D.F.; SANCHEZ, J.; BLACKSTOCK, W.; PAPPIN, D.J.; SELBY, P.J. Proteomics: new perspectives, new biomedical opportunities. **Lancet**; 356(9243):1749-56. Nov 18, 2000.

BERNARDINO, M.V.; GOMES, H. M.; GÓES, A.C.S. A influência do pensamento cartesiano no projeto genoma humano. Manuscrito em preparação; 2010.

BRASIL. Secretaria de Educação Fundamental. **Parâmetros Curriculares Nacionais: Ciências Naturais**. Brasília: MEC/SEF, 138p; 1998.

BURNS, E.R. & LINDSEY, M.S. Cancer education and Cancer Prevention Education for k-12 Students and Teachers. **J. Cancer Educ.** 2004; 19:105-110.

CHASSOT, A. Alfabetização científica: uma possibilidade para a inclusão social. **Revista Brasileira de Educação**. Jan/Fev/Mar/Abr 2003, n° 22, p: 89-100, 2003.

GIORDAN, M. O papel da experimentação no ensino de ciências; **Química Nova na Escola**, Experimentação e Ensino de Ciências, n° 10, p. 43-49, 1999.

HODSON D. Uma visão crítica em relação ao trabalho prático nas aulas de ciências; **School Science Review**. Vol. 71, n°. 256, 2008.

HU, S.; XIE, Y.; RAMACHANDRAN, P.; OGORZALEK LOO, R.R.; LI, Y.; LOO, J.A.; WONG, D.T. Large-scale identification of proteins in human salivary proteome by liquid chromatography/mass spectrometry and two-dimensional gel electrophoresis-mass spectrometry. **Proteomics**. 5(6):1714-28, 2005.

JUNIOR, A.N.S. & BARBOSA, J.R.A. Repensando o Ensino de Ciências e de Biologia na Educação Básica: o Caminho para a Construção do Conhecimento Científico e Biotecnológico; **Democratizar.**, Vol. III, n. 1, jan/abr, 2009.

KOSMINSKY, L. & GIORDAN, M. Visões sobre Ciências e sobre o cientista entre estudantes do Ensino Médio. **Química Nova na Escola**. São Paulo, n° 15, p. 11-18, 2002.

MOREIRA, M.L. & DINIZ, R.E.S. O Laboratório de Biologia no Ensino Médio: Infra-Estrutura e Outros Aspectos Relevantes; **Departamento de Educação do Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP**, 295-305, 2002.

PEDRANCINI, V.D.; CORAZZA-NUNES, M.J.; GALUCH, M.T.B.; MOREIRA, A.L.O.R.; RIBEIRO, A.C. Ensino e aprendizagem de Biologia no ensino médio e a apropriação do saber científico e biotecnológico. **Revista eletrônica de Ensino de Ciências**. Vol.6, N° 2, 299-309, 2007.

VASCONCELOS, A.L.S.; COSTA, C.H.C.; SANTANA, J.R.; CECCATTO V.M. Importância da abordagem prática para o ensino de Biologia para a formação de professores (licenciatura plena em Ciências/habilitação em Biologia/Química - UECE) em Limoeiro do Norte - CE. **VI Semana Universitária da UECE – 18 a 22 de novembro de 2002. Resumos**. 2002.

WANG, Z.; JIANG, L.; HUANG, C.; LI, Z.; CHEN, L.; GOU, L.; CHEN, P.; TONG, A.; TANG, M.; GAO, F.; SHEN, J.; ZHANG, Y.; BAI, J.; ZHOU, M.; MIAO, D.; CHEN, Q. Comparative proteomics approach to screening of potential diagnostic and therapeutic targets for oral squamous cell carcinoma. **Molecular & Cellular Proteomics**. 7:1639-1650, 2008.

WASINGER, V.C.; CORDWELL, S.J.; CERPA-POLJAK, A.; YAN, J.X.; GOOLEY, A.A.; WILKINS, M.R.; DUNCAN, M.W.; HARRIS, R.; WILLIAMS, K.L.; HUMPHERY-SMITH, I. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. **Electrophoresis**. (7):1090-4, 1995.

WU, W.; HU, W.; KAVANAGH, J. Proteomics in cancer research. **Int J Gynecol Cancer**. 12:409–423; 2002.

Questionário aluno

1) Marque a alternativa que você acha correta:

a) O câncer é uma doença?

causada por vírus causada por bactérias genética causada por fungos

b) Você acha que o câncer modifica o DNA das células?

sim não

c) As proteínas expressas pelas células desempenham um papel importante no desenvolvimento do câncer?

sim não

d) Você acha que o câncer pode ser previsto?

sim não

2) Responda as questões abaixo:

a) O que o câncer provoca nas células do nosso organismo?

R: _____

b) Cite três funções das proteínas no organismo humano?

R: _____

Roteiro do Material didático para prática de aula Proteoma: Aplicação no diagnóstico do câncer

1 - Da Genômica para a Proteômica

O genoma está contido no conjunto de cromossomos de um organismo. Os cromossomos são constituídos de DNA. As fitas do DNA são formadas por nucleotídeos, que possuem uma molécula de açúcar chamada desoxirribose, um grupamento fosfato e uma base nitrogenada. Existem quatro tipos de bases nitrogenadas, elas são a adenina (A), citosina (C), timina (T) e guanina (G). A genômica é o estudo do conjunto de genes dos organismos. A figura 1 mostra a sequência de um dos genes do rato.

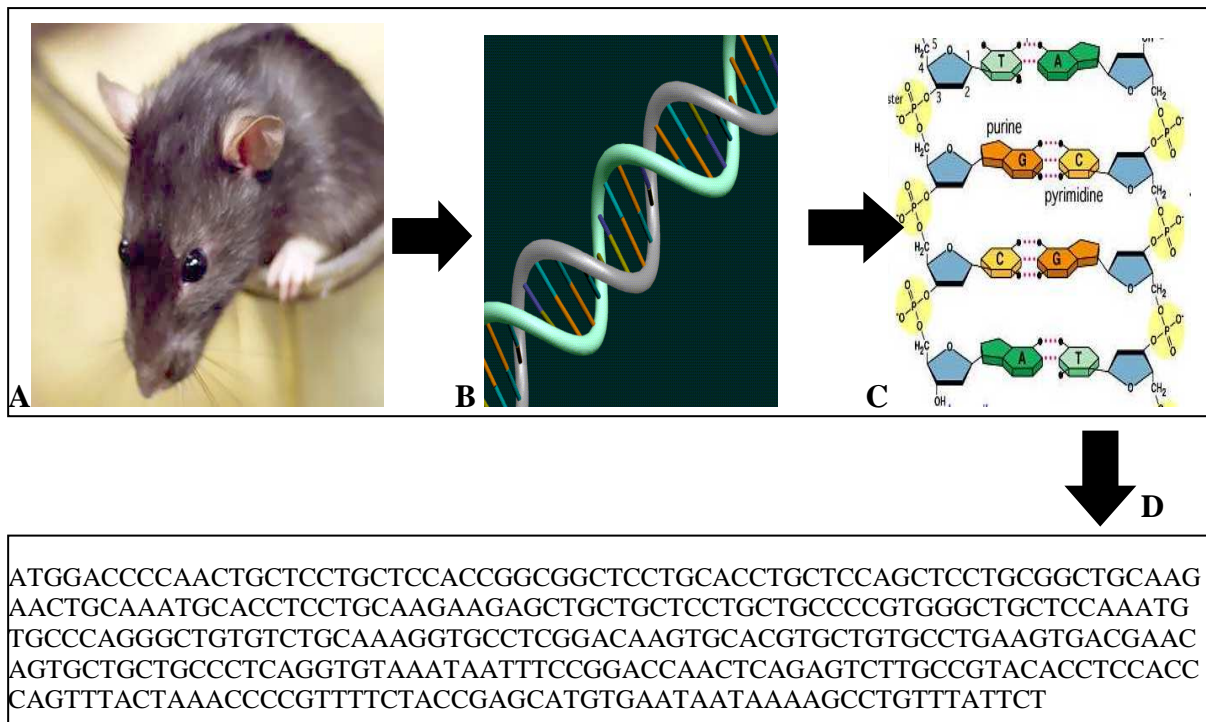
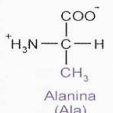
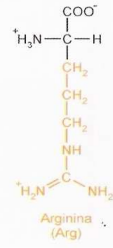
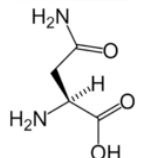
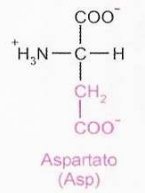
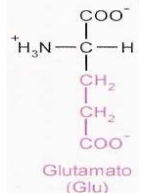
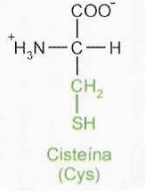
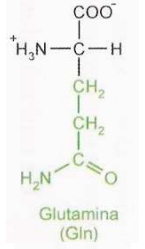
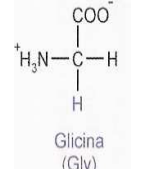


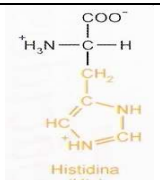
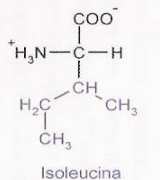
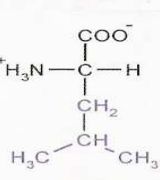
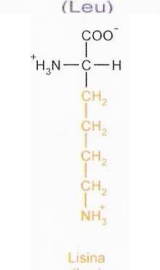
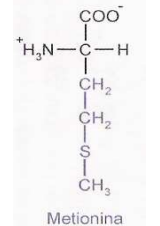
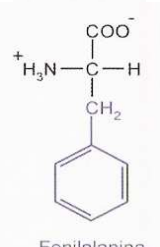
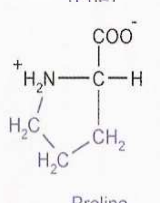
Figura 1: Sequência de um dos genes do rato. Na figura A vemos o rato (*Rattus norvegicus*). A figura B representa a estrutura helicoidal do DNA. Na figura C, observamos as bases nitrogenadas pareadas: a adenina com a timina através de duas pontes de hidrogênio e guanina com a citosina através de três pontes de hidrogênio. Na figura D vemos a sequência de bases de um dos genes de uma das fitas do DNA do rato.

O projeto genoma, finalizado em 2003, tinha como objetivo mapear toda a sequência do DNA humano. O projeto criou grande expectativa nos cientistas e na comunidade em geral, já que acreditava-se que sabendo-se a sequência do DNA humano seria possível criar remédios mais eficientes e tratamentos específicos para muitas doenças. Porém, não é possível compreender todo um organismo apenas conhecendo-se a sequência do seu DNA.

Parte da informação que está contida no DNA é revelada nas proteínas que constituem esse organismo. A síntese das proteínas está intimamente ligada ao DNA das células. As proteínas são construídas pela união de aminoácidos, que é a menor unidade de uma proteína (o aminoácido é como se fosse um tijolo e a proteína, um muro construído). Em humanos, existem 20 tipos de aminoácidos. Na tabela 1, estão discriminadas as características químicas dos aminoácidos.

Tabela 1: Tabela mostrando os 20 aminoácidos com suas características químicas e estruturais, pI e massa molecular.

Aminoácido	Estrutura	pI	Massa molecular
Alanina	 <p>Alanina (Ala)</p>	6,00	89,09
Arginina	 <p>Arginina (Arg)</p>	11,15	174,2
Asparagina		5,41	132,12
Aspartato (Ácido aspártico)	 <p>Aspartato (Asp)</p>	2,77	133,1
Glutamato (Ácido glutâmico)	 <p>Glutamato (Glu)</p>	3,22	147,13
Cisteína	 <p>Cisteína (Cys)</p>	5,02	121,15
Glutamina	 <p>Glutamina (Gln)</p>	5,65	146,15
Glicina	 <p>Glicina (Gly)</p>	5,97	75,07

Histidina	 <p style="text-align: center;">Histidina (His)</p>	7,47	155,16
Isoleucina	 <p style="text-align: center;">Isoleucina (Ile)</p>	5,94	131,17
Leucina	 <p style="text-align: center;">Leucina (Leu)</p>	5,98	131,17
Lisina	 <p style="text-align: center;">Lisina (Lys)</p>	9,59	146,19
Metionina	 <p style="text-align: center;">Metionina (Met)</p>	5,74	149,21
Fenilalanina	 <p style="text-align: center;">Fenilalanina (Phe)</p>	5,48	165,19
Prolina	 <p style="text-align: center;">Prolina (Pro)</p>	6,3	115,13

Serina	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \\ \text{Serina} \\ \text{(Ser)} \end{array} $	5,68	105,09
Treonina	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \\ \text{Treonina} \\ \text{(Thr)} \end{array} $	5,64	119,12
Tirosina	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \\ \text{Tirosina} \\ \text{(Tyr)} \end{array} $	5,66	181,19
Triptofano	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{HC} \quad \text{C}_6\text{H}_4 \\ \backslash \quad / \\ \text{HN} \end{array} $ <p>Triptofano (Trp)</p>	5,89	204,23
Valina	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{H}_3\text{C} - \text{CH} - \text{CH}_3 \end{array} $ <p>Valina (Val)</p>	5,96	117,15

A figura 2 mostra a união de aminoácidos, sendo este o início da síntese de uma proteína.

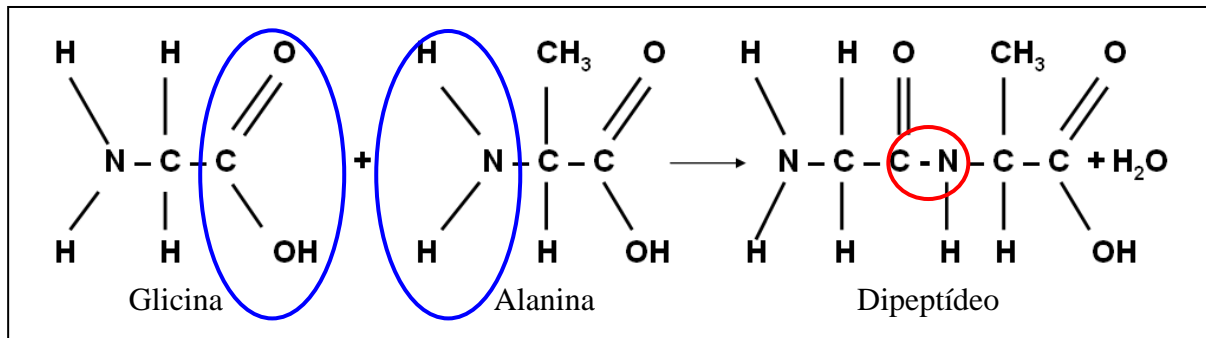


Figura 2: União de dois aminoácidos formando um dipeptídeo. Através de uma ligação peptídica, entre os grupamentos carboxila do aminoácido glicina e amina do aminoácido alanina, destacados em azul, ocorre a formação de um dipeptídeo e uma molécula de água. A ligação peptídica está destacada em vermelho.

A comunidade científica percebeu, após o sequenciamento do genoma humano, que é necessário conhecer o maior número possível de proteínas para uma melhor identificação de um organismo, por isso que passamos a estudar o proteoma de um organismo. O proteoma é o conjunto de todas as proteínas expressas pelo genoma de um organismo e os cientistas da área da proteômica devem analisar as características, qualidades e funções destas proteínas.

2 - Síntese de proteínas

Para que as proteínas sejam sintetizadas ou expressas, dois processos fundamentais ocorrem: a transcrição e a tradução. Na transcrição, os fatores de transcrição junto com a enzima RNA polimerase irão romper as pontes de hidrogênio entre as bases nitrogenadas que mantém as fitas de DNA unidas. As fitas se separam como se fosse um zíper. Após a abertura, a enzima RNA polimerase escolhe uma das fitas e a utiliza como molde para sintetizar uma nova molécula chamada RNA mensageiro (RNA-m). O RNA é uma molécula muito parecida com o DNA, mas tem algumas diferenças. Uma delas é que não possui dupla fita, apenas uma. Outra é que nenhum RNA possui a base nitrogenada timina, mas eles possuem uma base diferente chamada de uracila que não existe no DNA. Outra é que o açúcar de cinco carbonos do RNA é a ribose (e não a desoxirribose do DNA). O RNA se encontra nas células realizando diferentes funções e, por isto, existem vários tipos de RNAs. A figura 3 mostra o processo de transcrição do RNA a partir de uma fita molde do DNA.

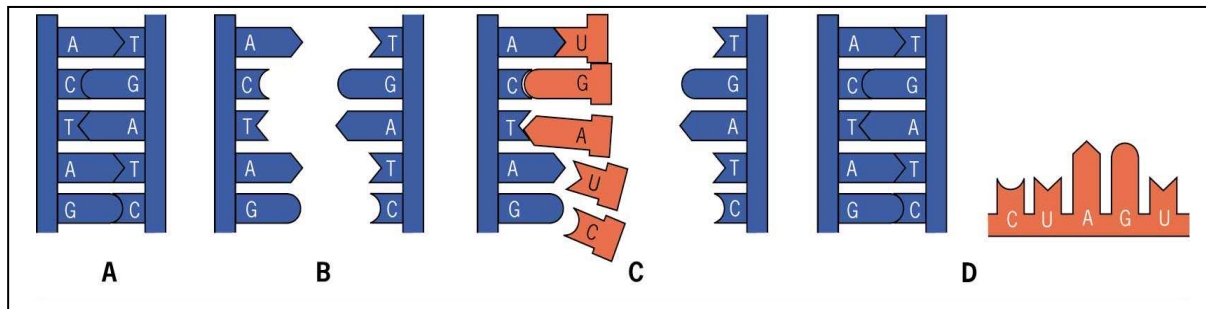


Figura 3: Transcrição. Na figura A, vemos as duas fitas do DNA unidas (cor azul). Como as fitas são complementares, a base adenina forma par com a timina e a citosina com a guanina. Na figura B, vemos a separação das fitas do DNA para o início da transcrição. Na figura C, vemos a formação do RNA-m (cor laranja) de acordo com as bases de uma das fitas do DNA, ou seja, por complementariedade a citosina pareia com a guanina e a adenina faz par com a base uracila (U). Na figura D observamos o final da transcrição, onde as pontes de hidrogênio voltam a se formar unindo as fitas do DNA e a fita de RNA-m é liberada.

Como vimos, o RNA-m é o RNA sintetizado a partir de uma das fitas do DNA, e um conjunto de três nucleotídeos deste RNA recebe o nome de códon. O RNA-m possui a informação genética necessária para a construção de proteínas. O RNA-m consegue sair do núcleo da célula (onde foi formado) e viaja até o citoplasma onde ele se encontra com outro RNA, o RNA transportador (RNA-t). O RNA-t e o RNA-m interagem em uma organela chamada ribossomo.

No ribossomo, os códons do RNA-m se combinam com outro conjunto de nucleotídeos do RNA-t (chamados de anti-códons). Cada códon do RNA-m representa um aminoácido. O RNA-t transporta o aminoácido correspondente ao códon do RNA-m. Quando ocorre a associação entre códon e anti-códon nos ribossomos é iniciada a estrutura primária da proteína, onde os aminoácidos serão organizados de acordo com a sequência de códons do RNA-m. A figura 4 mostra a sequência de eventos necessárias para a síntese de proteínas.

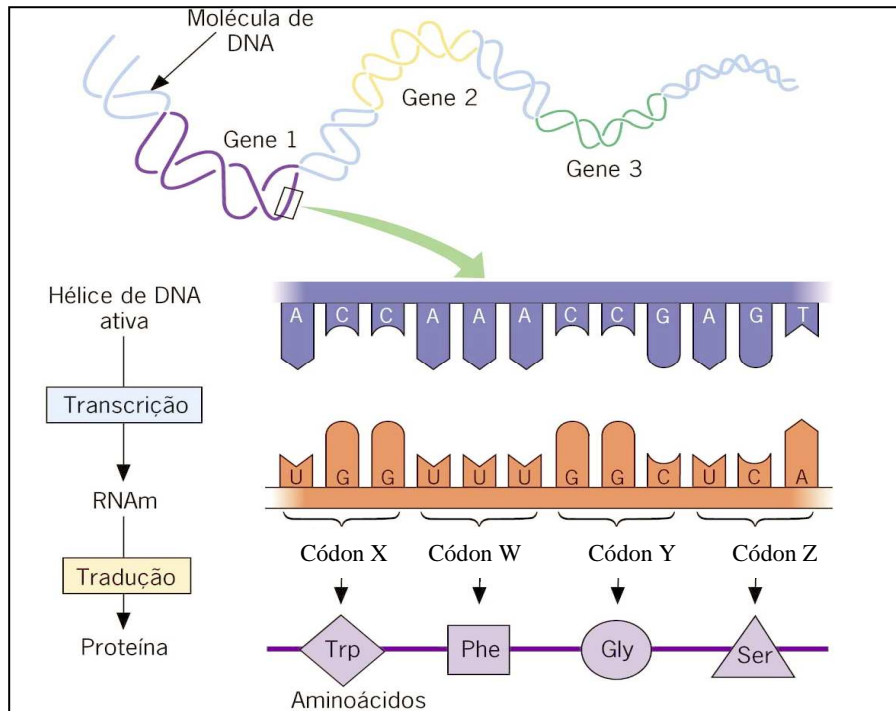


Figura 4: Sequencia de eventos necessários para a síntese de proteínas a partir do gene 1. Uma das fitas do DNA do gene 1 é utilizada como molde para a transcrição ou síntese da fita de RNA-m (laranja). A partir do RNA-m é realizada a tradução ou síntese protéica. Os códonos X, W, Y e Z sinalizam a inserção dos aminoácidos Trp-Phe-Gly-Ser (triptofano, fenilalanina, glicina e serina).

A figura 5 mostra como os RNA-m interagem com o RNA-t no ribossomo durante a síntese protéica. Os aminoácidos se conectam através das ligações peptídicas formando a estrutura primária que é o primeiro passo para a síntese de proteínas. As proteínas se modificam de acordo com a função que ela irá desempenhar no corpo humano. Por exemplo, a hemoglobina é uma proteína que transporta oxigênio e gás carbônico no sangue. Ela ganha um grupo Fe (ferro) na sua última fase de modificação. As proteínas possuem inúmeras funções como transporte de gases, hormônios que interagem com um órgão específico e realizam alguma função neste, enzimas que aceleram reações bioquímicas, defesa como os anticorpos que destroem organismos nocivos, entre outras.

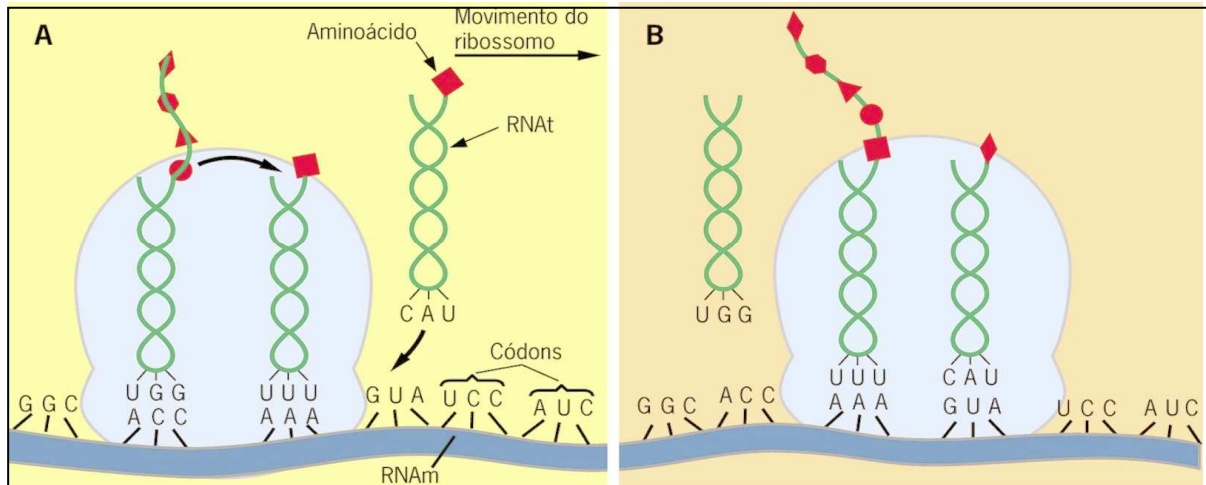


Figura 5: Interação entre RNA-m e RNA-t na síntese protéica. A figura A mostra o movimento do ribossomo durante a interação entre os códons ACC e AAA do RNA-m e os anti-códons UGG e UUU dos RNA-ts. O RNA-t de anti-códon UGG contém o oligopeptídeo recém-sintetizado. O RNA-t de anti-códon UUU contém o novo aminoácido (fenilalanina) que será adicionado à cadeia peptídica, como mostra a figura B. Também verificamos a presença do novo aminoácido (representado pelo losango vermelho) ligado no RNA-t com anti-códon CAU que vai interagir com o códon GUA do RNA-m. A figura B mostra a continuação do movimento do ribossomo que resultou na união do aminoácido representado pelo quadrado vermelho na seqüência de peptídeos formando a estrutura primária da proteína. Desta vez haverá a interação do RNA-t com anti-códon CAU carregando o aminoácido histidina e o códon GUA do RNA-m no ribossomo. Também observamos a liberação do RNA-t com anti-códon UGG, já sem seu aminoácido ligado.

3 - Diagnóstico de doenças através da identificação de proteínas

O câncer é uma doença que é desenvolvida entre outros fatores, devido à modificação no DNA das células causando uma super-expressão ou diminuição da expressão de determinados genes. Desta forma, o padrão de proteínas expressas é alterado. As proteínas podem ter sua estrutura modificada, perdendo ou ganhando funções e até deixando de ser sintetizadas. Como estas proteínas modificadas aparecem apenas nas pessoas com câncer, podemos identificar estas proteínas no diagnóstico desta doença. Para conseguirmos identificar uma doença através das proteínas temos que investigar o padrão normal destas no organismo que será estudado. O diagnóstico de uma doença como o câncer pode ser deduzido através da tecnologia de proteômica. Para isto, realizamos experimentos para separar essas proteínas e identificá-las isoladamente.

Para que as proteínas possam ser analisadas com o objetivo de identificar padrões de perfis que estejam relacionados com o desenvolvimento de doenças, os cientistas criam listas extensas de várias proteínas encontradas nos diferentes organismos. Essa coleção de proteínas organizadas é chamado de banco de dados. Esses bancos são consultados para descobrirmos a sequência de aminoácidos de uma determinada proteína, saber em qual organismo ela é encontrada. A figura 6 exemplifica a comparação entre a amostra de proteínas coletadas de pessoas saudáveis e amostra coletada de pessoas com câncer de boca.

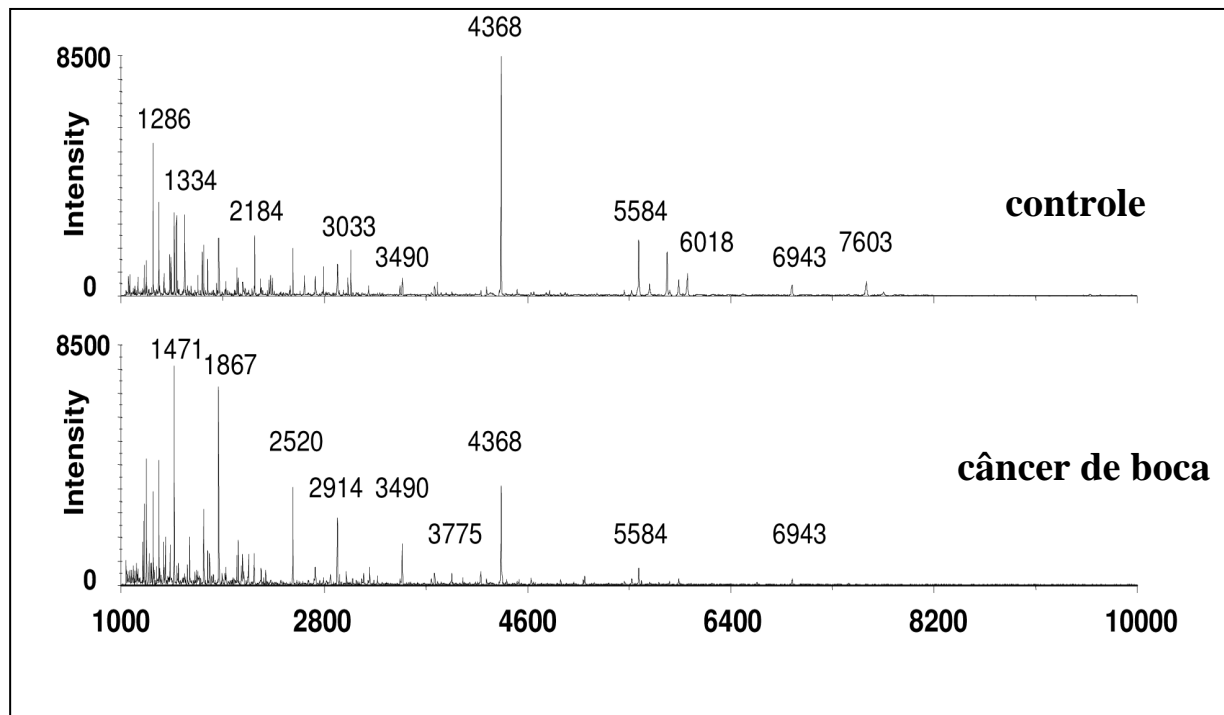


Figura 6: Representação do padrão de proteínas de amostras coletadas de pessoas saudáveis (controle) e de pacientes com câncer de boca através da técnica de espectrometria de massa. Podemos notar a diferença na quantidade de proteínas identificadas nas amostras. Observa-se que as proteínas 4368 e 5584 apresentam quantidades aumentadas no controle em relação às amostras de câncer. Entretanto, as proteínas 1471, 1867, 2520 e 2914 estão muito aumentadas nas amostras das pessoas com câncer de boca em relação à amostra controle.

Como primeiro passo para identificarmos o perfil das proteínas de uma pessoa normal ou doente, temos que extraí-las. No câncer, líquidos corporais podem ser utilizados como fontes de proteínas. Por exemplo, numa pessoa com câncer de rim ou bexiga, encontramos as proteínas úteis para identificar a doença na urina destas pessoas. No câncer de boca, podemos utilizar a saliva e na leucemia analisamos as proteínas presentes no sangue.

No nosso material didático, testaremos a presença de proteínas na saliva com o kit de identificação de proteínas. Neste material, utilizamos uma mistura de soluções de sulfato de cobre e hidróxido de sódio. Se proteínas forem adicionadas a mistura, como as presentes no leite em pó, observamos uma mudança de cor (figura 7), pois o cobre reage em meio alcalino com o nitrogênio presente nas ligações peptídicas (carbo-amínicas) das proteínas.

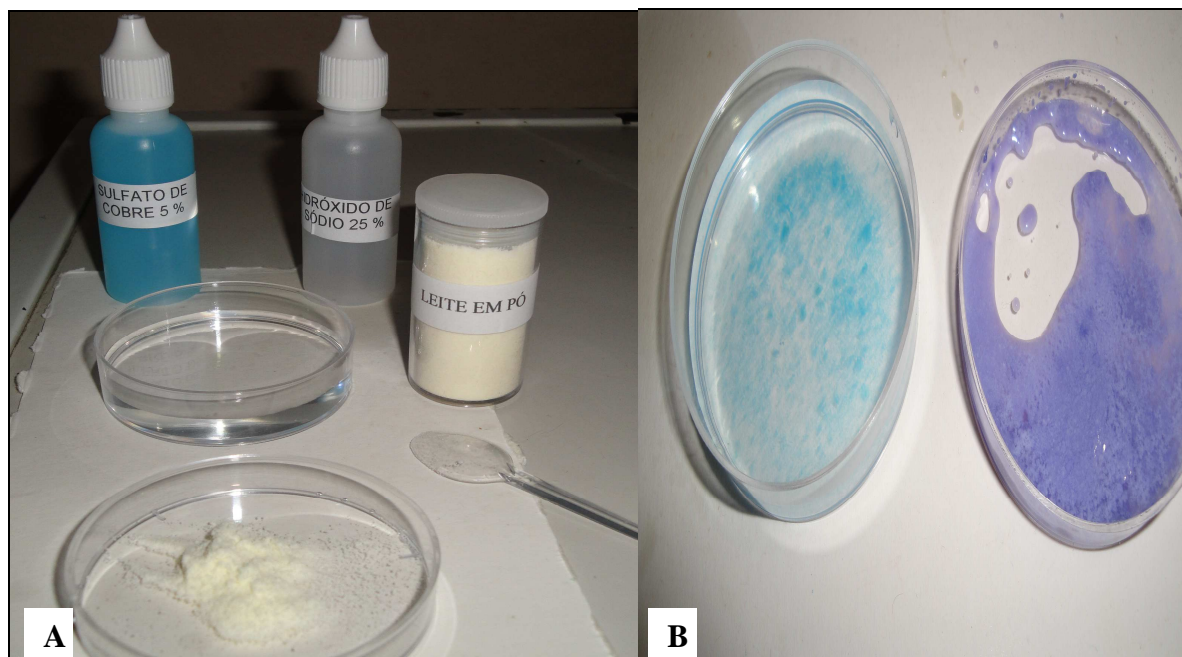


Figura 7: Kit de identificação de proteínas. Figura A: o kit de identificação de proteínas composto pelos reagentes sulfato de cobre 5% e hidróxido de sódio 25%. As placas são utilizadas para comparar uma amostra sem proteínas (com água) e uma amostra com proteínas (leite em pó). Figura B: a placa que contém água (não contém proteínas) permanece em cor azul clara. Porém, na placa que contém leite em pó observamos uma mudança de cor. A solução azul-clara, em contato com as proteínas presentes no leite, torna-se roxa. Essa mudança de cor deve-se a interação do cobre com as ligações peptídicas das proteínas.

Como segundo passo para a identificação do perfil de proteínas, estas devem ser separadas através de uma corrida eletroforética bidimensional em gel. As proteínas são separadas por tamanho no sentido vertical e por carga no sentido horizontal. Ao contrário do DNA que possui carga final negativa, as proteínas possuem distintas cargas dependendo dos radicais de seus aminoácidos. Por exemplo, os aminoácidos arginina e lisina apresentam carga final positiva devido aos seus grupamentos amina e os aminoácidos ácido aspártico e glutâmico apresentam carga final negativa devido aos seus grupamentos carboxila (figura 8).

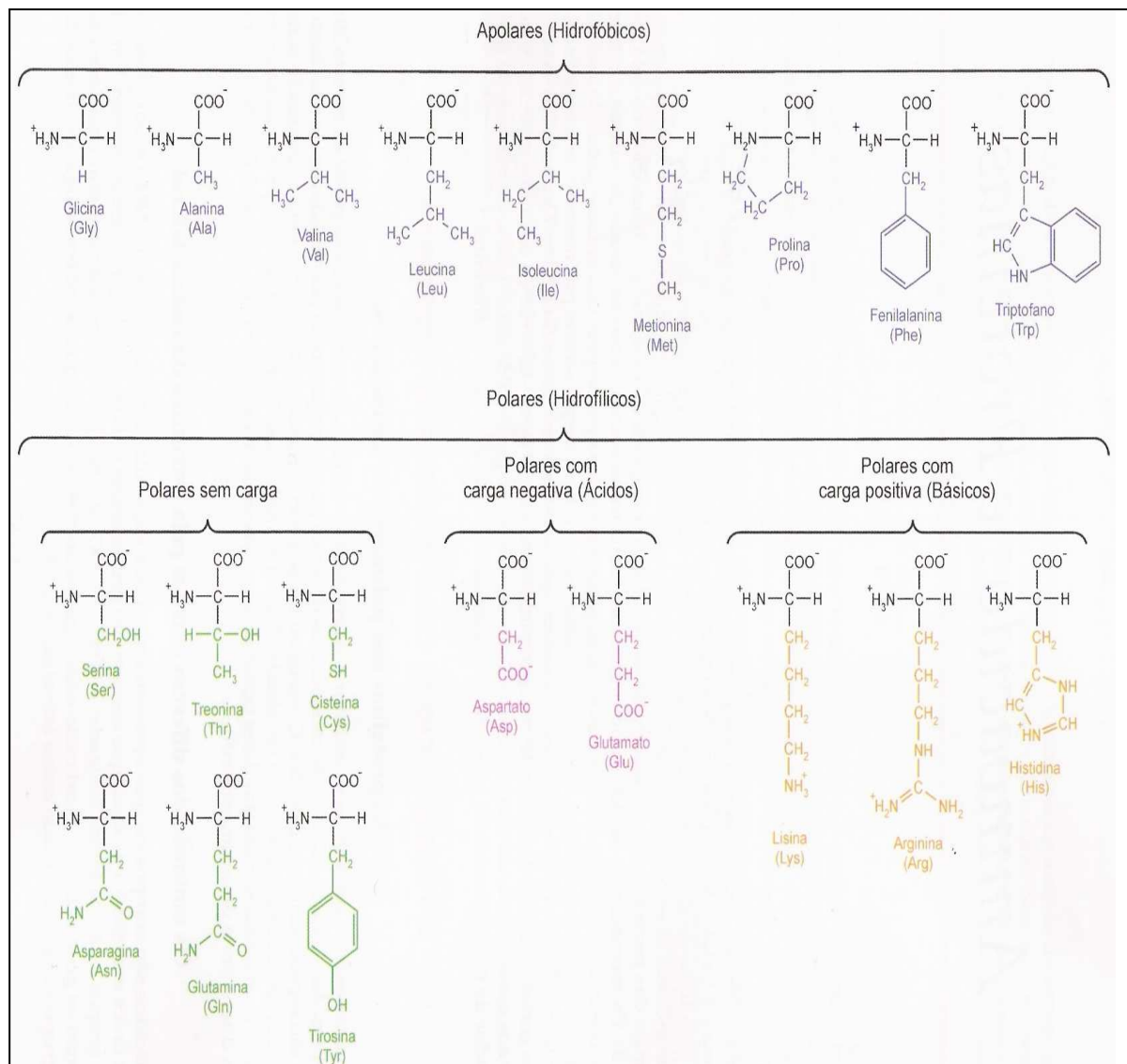


Figura 8: Os aminoácidos podem ser polares ou apolares. Os aminoácidos polares podem não ter carga, podem ser negativos ou positivos. As proteínas com carga final negativa contêm maior quantidade dos aminoácidos aspartato (ácido aspártico) e glutamato (ácido glutâmico). As proteínas com carga final positiva contêm maior quantidade dos aminoácidos lisina, arginina e histidina.

No sentido horizontal, as proteínas serão separadas por ponto isoelétrico. As proteínas com maior quantidade de aminoácidos com carga final positiva como a lisina, a arginina e a histidina migram para o pólo negativo e para a parte do pH básico do gel. A figura 9 exemplifica, através dos aminoácidos, uma corrida eletroforética para separar as proteínas por ponto isoelétrico. As proteínas não chegam a correr até o fim do gel onde se encontram os pólos porque em algum momento estacionam numa posição que corresponde ao valor exato de seu ponto isoelétrico ou pI. Isto acontece porque o gel é confeccionado com um gradiente de pH que cria uma variação de pH e divide o gel em três partes. Uma das partes corresponde ao pH ácido (2 ao 6), a outra parte corresponde ao pH neutro (6 ao 7) e outra parte corresponde ao pH básico (7 ao 10). O pI, a massa molecular e a estrutura dos aminoácidos podem ser verificados na tabela 1.

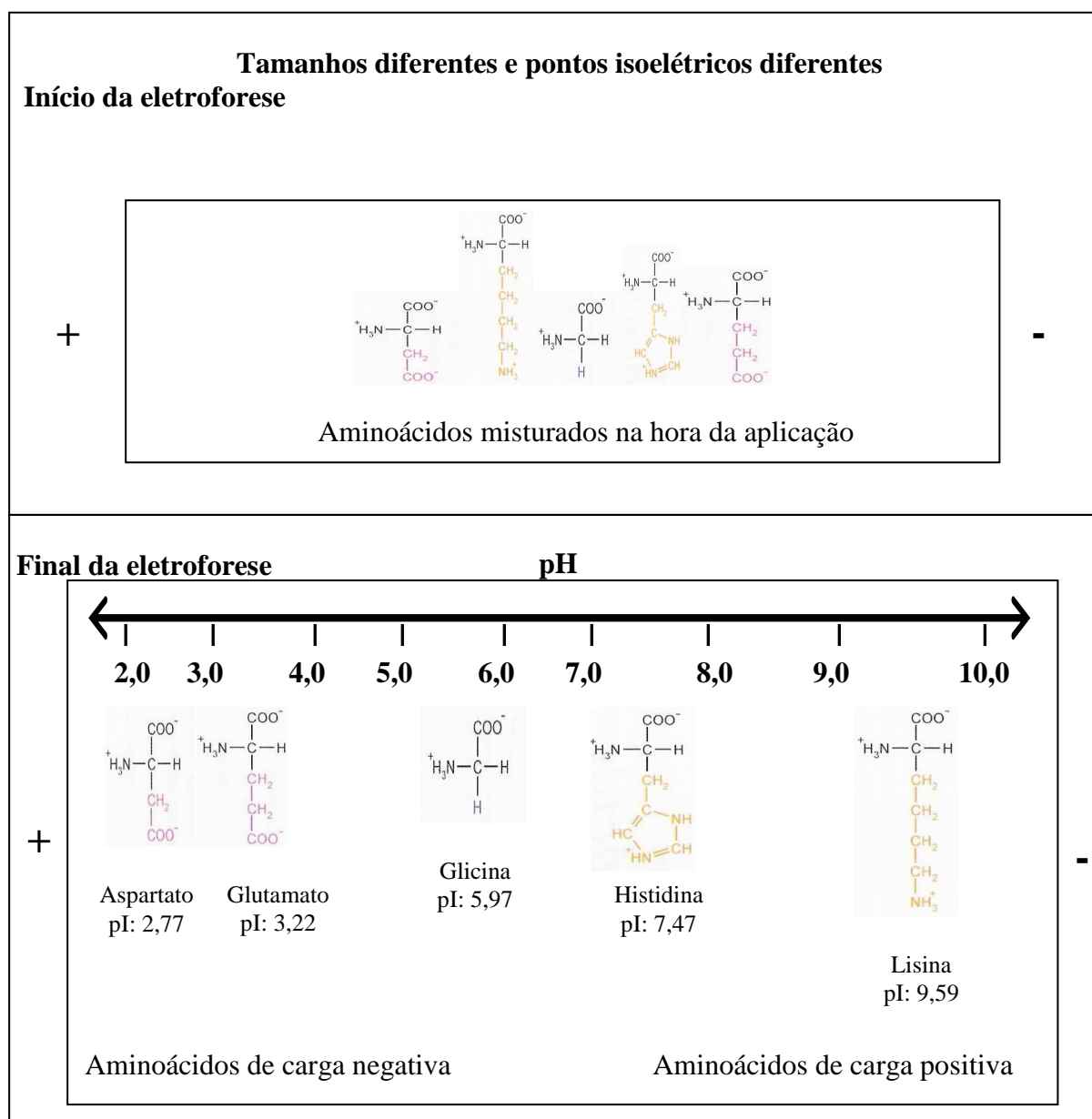


Figura 9: Separação dos aminoácidos por ponto isoeletrico através da corrida eletroforética. Observamos a movimentação lateral dos aminoácidos de carga negativa para a esquerda em direção ao pólo positivo e dos aminoácidos de carga positiva para a direita em direção ao pólo negativo. O aspartato e glutamato são aminoácidos com pI na faixa do pH ácido. A histidina e a lisina são aminoácidos com pI na faixa do pH básico. A glicina é um aminoácido com pI próximo ao pH neutro, por isso permanece próximo ao centro do gel.

Na separação em sentido vertical, as proteínas com menor tamanho conseguem se deslocar mais rapidamente no gel até a parte inferior e as de maior tamanho ficam retidas logo no início do gel. Isto ocorre porque o gel forma uma espécie de “rede” que dificulta o movimento das proteínas maiores. A figura 10 exemplifica, através dos aminoácidos, uma corrida eletroforética para separar proteínas por tamanho. Como o peso molecular das proteínas é consequência do conteúdo dos aminoácidos, ao final da corrida as proteínas que são constituídas, na sua maior parte, por aminoácidos pequenos como a glicina, migram mais.

As proteínas constituídas em sua maior parte por aminoácidos maiores como o triptofano, fenilalanina e tirosina, migram menos.

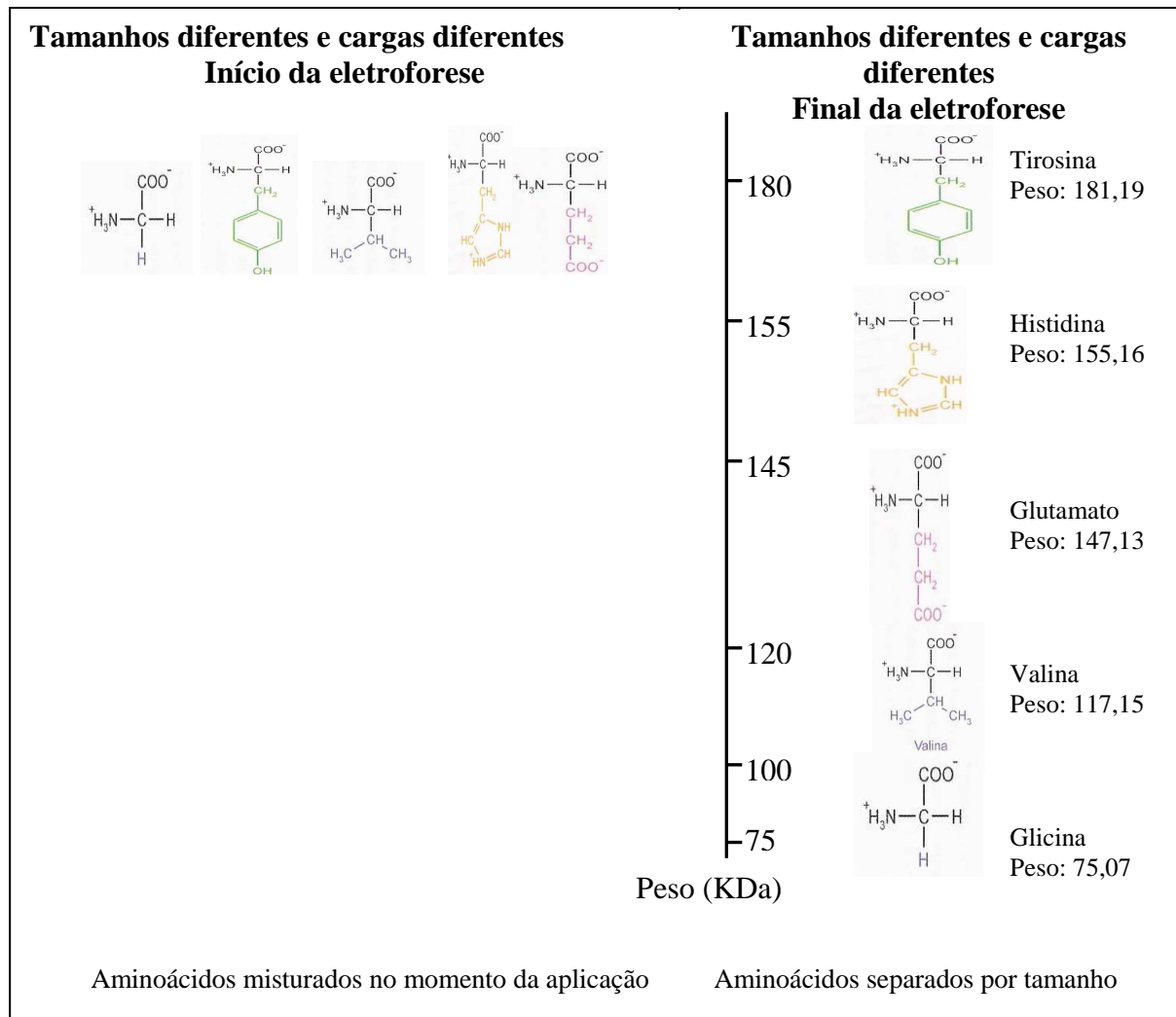


Figura 10: Separação dos aminoácidos por tamanho através da corrida eletroforética. Observamos o deslocamento maior dos aminoácidos menores e um deslocamento menor dos aminoácidos maiores. O aminoácido glicina migra mais rapidamente do que o aminoácido valina, seguido pelos aminoácidos glutamato, histidina e tirosina.

Os géis na figura 11 demonstram as corridas eletroforéticas bidimensionais de proteínas provenientes de indivíduos portadores de câncer de boca e indivíduos saudáveis. A comparação entre os géis pode ser feita visualmente.

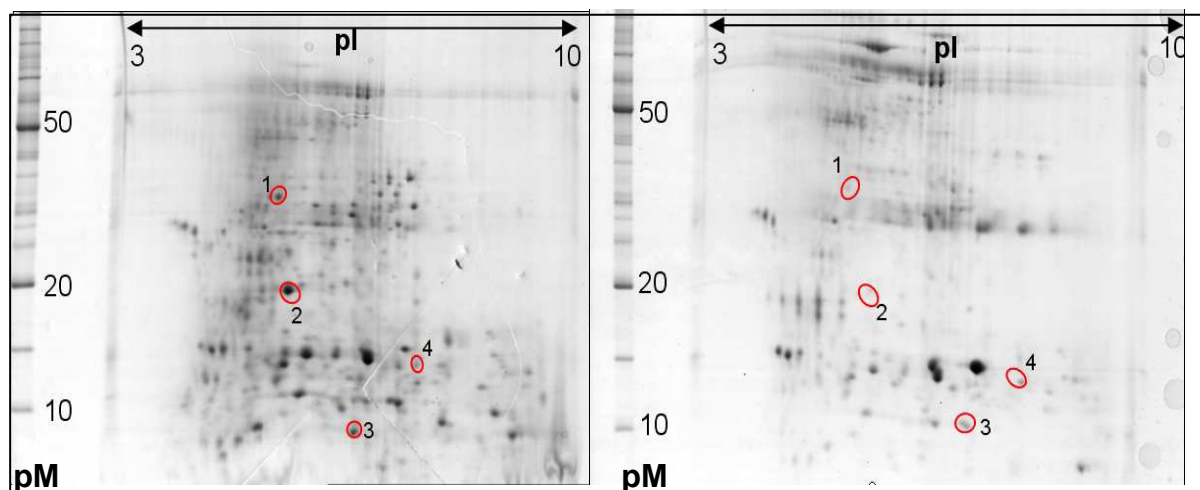


Figura 11: Comparação visual entre dois géis bidimensionais. O gel da esquerda representa a corrida eletroforética de uma amostra de saliva de indivíduos com câncer de boca e o gel da direita representa uma corrida com amostras do grupo controle. Percebemos visualmente a diferença no perfil protéico entre paciente e controle. As manchas destacadas (1,2,3,4) são proteínas específicas da doença. Percebemos que no controle estas manchas são muito fracas ou inexistentes e na doença, estão bem fortes e localizadas no gel. O pI na figura representa o ponto isoelétrico (a fita gradiente de pH utilizada no experimento criou uma variação do pH 3,0 ao 10,0) e o pM representa o peso molecular em KDa.

Através da posição de cada mancha no gel, podemos identificar as proteínas separadamente. Para isso a mancha deve ser retirada do gel através da digestão com a enzima tripsina. Em seguida, cada mancha é analisada em um espectrômetro de massa que identifica a sequência de aminoácidos. A sequência encontrada é conferida com um banco de dados, e a partir desta análise podemos identificar as proteínas.

Após a identificação das proteínas podemos organizar as diferenças entre os perfis encontrados numa tabela comparativa e com isso conseguimos diagnosticar a confirmação ou a ausência da doença. A tabela abaixo, por exemplo, mostra dados comparativos com as manchas destacadas nos géis acima.

Tabela 2: Tabela comparativa entre as proteínas destacadas nos géis com amostras provenientes de indivíduos controle e indivíduos com câncer de boca.

Spot	Nome da Proteína	Controle	Doença
1	Proteína S110-A7	ausência	presença
2	Lisozima C	ausência	presença
3	Cistatina-SN	ausência	presença
4	Calgranulina-B	ausência	presença