

Preparação para o GD1 Biologia Molecular Ciências Biológicas e Farmácia Diurno

Para pensar, fazer em casa no final de semana e discutir em grupo na próxima aula....

Parte 1: Estrutura e função do DNA e da cromatina

1. Escreva uma fita de DNA codificadora de 120 nucleotídeos de extensão, 30 bases por linha, na orientação 5'-3' e que contenha um gene procarioto completo para uma proteína de exatamente 15 aminoácidos, além das regiões promotoras .
2. Escreva a seqüência de bases de um oligonucleotídeo que inclua os primeiros nucleotídeos da região codificadora da fita de DNA escrita no item 1, de modo que a temperatura de pareamento seja em torno de 55-60°C (considere 2°C para cada A ou T e 4°C para cada C ou G componente do oligonucleotídeo).
3. Escrever a seqüência de bases de um oligonucleotídeo que seja complementar à fita desenhada no item 1, capaz de iniciar a síntese de uma fita complementar à codificadora, a partir do final da região codificadora incluindo o STOP CODON que você deve ter colocado no item 1.
4. Os dois oligonucleotídeos acima podem ser utilizados para amplificar o gene descrito no item 1 através da técnica de PCR. Além dos oligonucleotídeos, quais reagentes são necessários para a PCR?
5. Como você modificaria os oligonucleotídeos acima se desejasse clonar o fragmento amplificado pela PCR no sítio da enzima de restrição Eco RI de um plasmídeo?
6. Dois DNAs, A e B fitas simples foram incubados separadamente a 37°C com um outro DNA C fita simples também. Após 2h de incubação foi medida a absorção em 260nm dos DNAs A e B. O DNA A tinha reduzido a sua Absorção pela metade (50%) em quanto o DNA B perdeu 5% da absorção original. Interpretar a causa mais provável pelo ocorrido nestes experimentos.
7. Faça um quadro comparativo entre os processos de replicação de DNA eucarioto e procarioto abordando as enzimas e outros fatores necessários, o sentido da síntese, origens e término da replicação.

Parte II: Estrutura e função do RNA

8. Dê a seqüência da fita molde de DNA e do mRNA correspondente ao gene descrito no item 1.
9. Se o objetivo fosse produzir uma sonda “radioativa” para ser usada em experimentos de Northern Blot, para o gene descrito no item 1 qual reagente poderia ter um átomo substituído por um isótopo radioativo? Qual reagente poderia ter o fosfato substituído por fosfato radioativo e qual a posição desse fosfato na molécula? Indique ilustrativamente na fórmula estrutural. Como você faria esta sonda.
10. Se desejasse expressar a proteína codificada pelo gene descrito no item 1 em uma levedura, que características adicionais do vetor e do inserto deveriam ser observadas?
11. Faça um quadro comparativo entre o processo de transcrição de genes eucarioto e procarioto abordando as enzimas e outros fatores necessários, o sentido da síntese, os sinais de iniciação, de alongamento, e término da transcrição, além do processamento do mRNA.

Parte III: Tecnologia do DNA recombinante

12. Descreva ilustrando o princípio, as diferentes etapas e os reagentes necessários das seguintes técnicas moleculares:
- a) Sequenciamento de DNA – Método de Sanger
 - b) Southern blot
 - c) PCR
 - d) Clonagem

Questões fechadas DNA e RNA

Nas questões 13-17 assinalar as alternativas corretas, justificando:

Questão 13

- a () Para que o pareamento de bases seja correto, durante a síntese de DNA, é necessária a participação de outras proteínas, uma vez que a DNA polimerase não possui a atividade revisora exonucleásica 3' → 5'.
- b () A temperatura de dissociação das fitas de DNA depende acentuadamente de sua composição de bases, sendo tanto mais alta quanto maior for o conteúdo G+C.
- c () Um nucleosídeo consiste em um éster fosfórico de uma purina ou pirimidina ligada a uma pentose (ribose ou desoxirribose).
- d () As DNA polimerases de procariotos não necessitam de “primer” ou iniciador para a síntese de DNA.
- e () No DNA, as duas cadeias polinucleotídicas são mantidas juntas por interações de van der Waals entre os pares de base.

Questão 14

- a () A transcriptase reversa é uma DNA polimerase que pode utilizar tanto RNA quanto DNA fita simples como molde.
- b () A RNA replicase é uma enzima que sintetiza RNA a partir de DNA fita dupla, utilizando ribonucleotídeos como precursores.
- c () O RNA é mais estável estrutural e quimicamente que o DNA, sendo por isso utilizado como repositório da informação genética por diversos vírus.
- d () As RNA polimerases são mais eficientes do que as DNA polimerases, por possuírem atividade revisora 3' → 5'.

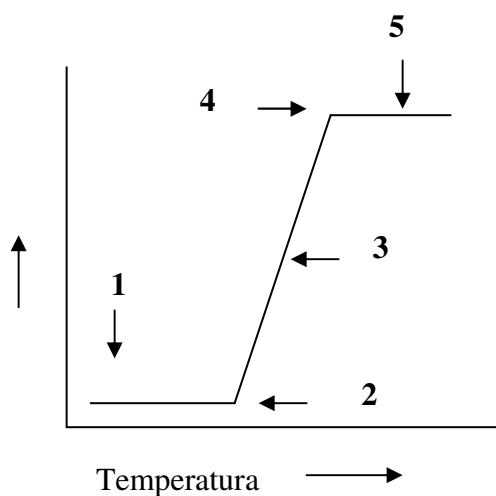
Questão 15

Qual das seguintes seqüências complementares, a replicação da seqüência TAGTAT iria produzir?

- a () ATCATA
- b () ATACTA
- c () TAGTAT
- d () TATGAT
- e () Nenhuma das respostas acima

Questão 16

Qual dos pontos indicados no diagrama abaixo representa a chamada de T_m (temperatura de dissociação ou “melting temperature”) de uma molécula de DNA fita dupla.



- a () 1
- b () 2
- c () 3
- d () 4
- e () 5

Questão 17

Se uma molécula de DNA dupla-fita, completamente radioativa, sofre duas rodadas de replicação em uma solução livre de nucleotídeos radioativos, das quatro moléculas resultantes...

- a () ...metade não terá radioatividade.
- b () ...todas terão radioatividade.
- c () ...metade conterá radioatividade em ambas as fitas de DNA.
- d () ...uma conterá radioatividade em ambas as fitas de DNA.
- e () ...nenhuma conterá radioatividade.