**Tarefa 3 – Biologia Molecular Noturno – 2020\_1**

**Nomes completos da dupla:**

1. Abaixo a sequencia da gp120 do HIV1. Desenhe *primers forward*e *reverse*que amplifiquem a região codificadora (CDS) que vai do nucleotídeo 5870 a 7303. Explique como se faz para desenhar esses *primers*.

5821 gggcaccatg ctccttggga tgttgatgat ctgtagtgct acagaaaaat tgtgggtcac

5881 agtctattat ggggtacctg tgtggaagga agcaaccacc actctatttt gtgcatcaga

5941 tgctaaagca tatgatacag aggtacataa tgtttgggcc acacatgcct gtgtacccac

6001 agaccccaac ccacaagaag tagtattggt aaatgtgaca gaaaatttta acatgtggaa

*6061 aaatgacatg gtagaacaga tgcatgagga tataatcagt ttatgggatc aaagcctaaa*

*6121 gccatgtgta aaattaaccc cactctgtgt tagtttaaag tgcactgatt tgaagaatga*

*6181 tactaatacc aatagtagta gcgggagaat gataatggag aaaggagaga taaaaaactg*

*6241 ctctttcaat atcagcacaa gcataagagg taaggtgcag aaagaatatg cattttttta*

*6301 taaacttgat ataataccaa tagataatga tactaccagc tataagttga caagttgtaa*

*6361 cacctcagtc attacacagg cctgtccaaa ggtatccttt gagccaattc ccatacatta*

*6421 ttgtgccccg gctggttttg cgattctaaa atgtaataat aagacgttca atggaacagg*

*6481 accatgtaca aatgtcagca cagtacaatg tacacatgga attaggccag tagtatcaac*

*6541 tcaactgctg ttaaatggca gtctagcaga agaagaggta gtaattagat ctgtcaattt*

*6601 cacggacaat gctaaaacca taatagtaca gctgaacaca tctgtagaaa ttaattgtac*

*6661 aagacccaac aacaatacaa gaaaaagaat ccgtatccag agaggaccag ggagagcatt*

*6721 tgttacaata ggaaaaatag gaaatatgag acaagcacat tgtaacatta gtagagcaaa*

*6781 atggaataac actttaaaac agatagctag caaattaaga gaacaatttg gaaataataa*

*6841 aacaataatc tttaagcaat cctcaggagg ggacccagaa attgtaacgc acagttttaa*

*6901 ttgtggaggg gaatttttct actgtaattc aacacaactg tttaatagta cttggtttaa*

*6961 tagtacttgg agtactgaag ggtcaaataa cactgaagga agtgacacaa tcaccctccc*

*7021 atgcagaata aaacaaatta taaacatgtg gcagaaagta ggaaaagcaa tgtatgcccc*

*7081 tcccatcagt ggacaaatta gatgttcatc aaatattaca gggctgctat taacaagaga*

*7141 tggtggtaat agcaacaatg agtccgagat cttcagacct ggaggaggag atatgaggga*

*7201 caattggaga agtgaattat ataaatataa agtagtaaaa attgaaccat taggagtagc*

7261 acccaccaag gcaaagagaa gagtggtgca gagagaaaaa agagcagtgg gaataggagc

1. Se vc for usar esses *primers* para amplificar a gp120 a partir do sangue de pacientes, quais são os reagentes necessários para a PCR. Alguma enzima especial além da Taq precisa ser utilizada? Por que não é necessário adicionar ATP em uma reação de PCR? Quais são as temperaturas utilizadas para a PCR ocorrer?
2. Para um plasmídio ser utilizado em biologia molecular ele precisa ter algumas características que (a) o permitem replicar nas bactérias, (b) fazem com que as bactérias que o contenham sejam distinguidas das que não os contêm, e (c) permitem verificar se a clonagem foi completada. Que sequencias precisam estar presentes nele?
3. Plasmídios naturais (de bactérias do intestino de pererecas da Amazônia, por exemplo) quando cortados com enzimas de restrição e o DNA é separado por eletroforese em um gel, dão muitos fragmentos, enquanto plasmídios usados nos laboratórios de biologia molecular dão 1 só, por que? Qual enzima produziria mais fragmentos ao cortar um plasmídio circular, a EcoRI cujo sítio é GAATTC ou a HaeIII cujo sítio é GGCC? Por quẽ? Descubra uma enzima que produziria menos fragmentos que a EcoRI.