

QBQ0317N – Exercícios 10 – 01/06/2020

Sequenciamento de DNA

1. O método de sequenciamento de DNA inventado por Fred Sanger está baseado na síntese enzimática de DNA in vitro. Desenhe a estrutura modificada dos desoxirribonucleotídeos utilizados como precursores na polimerização do DNA neste método e aponte a diferença com os dNTPs não modificados.
2. Qual a importância de se utilizar os dNTPs modificados no método de Sanger?
3. Quais são os substratos necessários na reação de sequenciamento de DNA pelo método de Sanger?
4. Que tipo de modificação adicional tem os ddNTPs utilizados no sequenciamento automatizado?
5. A eletroforese utilizada para separar os fragmentos de DNA sintetizados na reação de sequenciamento pelo método de Sanger tem resolução para distinguir fragmentos de DNA que tem qual diferença de tamanho (em nucleotídeos)?
6. O gel de sequenciamento é lido de baixo para cima ou de cima para baixo? De $5' \rightarrow 3'$ ou de $3' \rightarrow 5'$?

Na próxima página.....

7. Determine a sequência do DNA que foi utilizado na reação de sequenciamento cujo autoradiograma do gel está mostrado na figura abaixo (pares de base da posição 50 a 116). Este DNA derivou de um cDNA de uma proteína de mamífero. Utilizando a tabela do código genético, determine a sequência de aminoácidos dessa porção da proteína.

Canaletas 1:ddG; 2:ddA; 3:ddT e 4: ddC



8. Os eletroferogramas abaixo mostram o resultado do sequenciamento automatizado (método de Sanger) de um produto de PCR obtido a partir da amplificação do DNA genômico humano de 3 indivíduos. A seta aponta um SNP (polimorfismo de único nucleotídeo). Note que a posição indicada pela seta apresenta um pico único ou dois picos superpostos, dependendo do indivíduo. Discuta este resultado.

