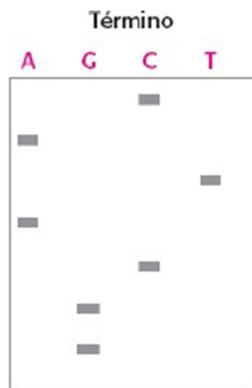
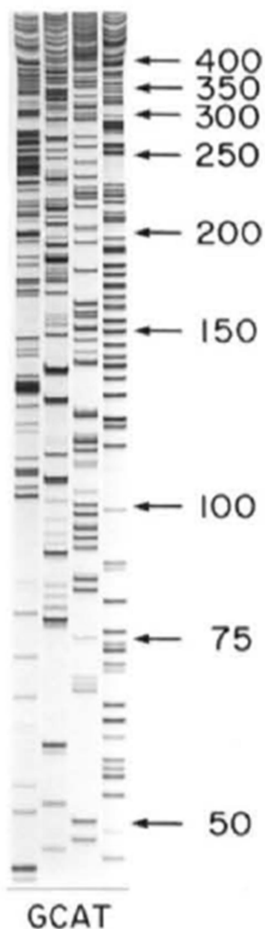


EXERCICIOS 2 - QBQ1354

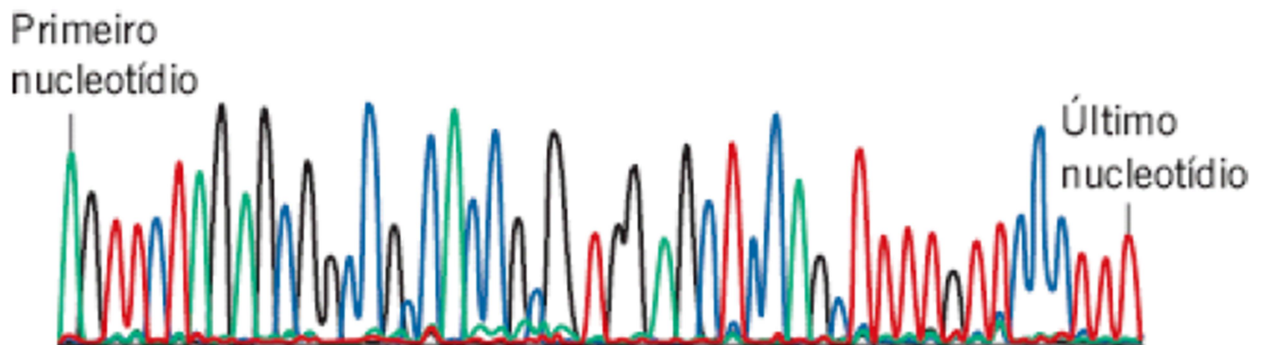
1. Lendo seqüências. Uma autorradiografia de um gel de sequenciamento que contém quatro colunas de fragmentos de DNA é exibida na ilustração anexa. (a) Qual a seqüência do fragmento de DNA?(b) Suponha que o método didesoxi de Sanger mostre que a seqüência da fita molde é 5'-TGCAATGGC-3'. Faça o rascunho do padrão do gel que levaria a esta conclusão



2. A abaixo mostra a autorradiografia do gel de sequenciamento de um DNA que foi tratado de acordo com o método de Sanger para sequenciamento de DNA. Qual é a seqüência da fita- molde correspondente às bases 50 a 100? Se houver qualquer posição no gel em que a banda parecer estar ausente, deixe na seqüência um ponto de interrogação referente à base indeterminada.

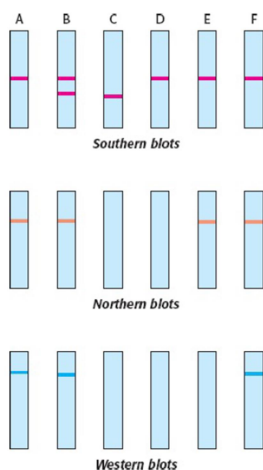


3. Os aparelhos automáticos de sequenciamento de DNA usam corantes fluorescentes para detectar as cadeias de DNA nascentes sintetizadas na presença dos quatro finalizadores de cadeia didesóxi (ddX), cada um deles marcado com um diferente corante fluorescente. A fluorescência de cada corante tem um comprimento de onda diferente, registrado por uma fotocélula quando os produtos das reações são separados por eletroforese capilar em gel. Nas reações de sequenciamento clássicas, as cadeias que terminam com ddG têm fluorescência azul escura (na imagem impressa os picos são pretos); as cadeias que terminam com ddC, azul clara; as cadeias que terminam com ddA, verde; e as cadeias que terminam com ddT, vermelha. A imagem impressa da sequência de um segmento curto de DNA é a seguinte:



- Qual é a sequência nucleotídica do filamento nascente de DNA?
- Qual é a sequência nucleotídica do filamento molde de DNA?

4. Uma série de pessoas tem dificuldade de eliminar certas substâncias de suas correntes sanguíneas. O problema parece estar ligado com o gene X, que codifica a enzima Y. Seis pessoas foram testadas com o uso de várias técnicas de biologia molecular. O indivíduo A é o controle normal, o indivíduo B é assintomático, mas alguns de seus filhos têm o problema metabólico, e os indivíduos de C a F exibem o traço. Amostras de tecidos de cada um foram obtidas. Análises por Southern foram executadas no DNA com a enzima de restrição HindIII. A análise por Northern do mRNA também foi feita. Em ambas as análises, a sonda usada nos géis foi o cDNA de X marcado. Finalmente, um Western blot com anticorpo marcado para a enzima foi utilizado para avaliar a presença da proteína Y. Os resultados são exibidos aqui. Por que o indivíduo B não apresenta os sintomas? Sugira os possíveis defeitos nas outras pessoas.



5. Você recebeu uma proteína desconhecida para identificar. Você faz a digestão da proteína com tripsina e, pela degradação de Edman, verifica que um dos fragmentos peptídicos resultantes tem a sequência GIWGEDTLMEYLENPK. Usando BLAST, descubra a identidade (ou identidades) mais provável dessa proteína desconhecida. (Para realizar uma busca no programa BLAST, acesse <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi> e, sob o comando "Basic BLAST", acesse a conexão "protein blast" [função do BLAST para comparar a sequência de aminoácidos em questão contra uma base de dados de sequências de proteínas]. Na janela que se abre, coloque a sequência acima [sem espaços ou pontuação] no box "Enter Query Sequence", do menu "Database" selecione "Non-redundant protein sequences", sob o comando "Program Selection" selecione o botão "blastp (protein-protein BLAST)", e clique no botão "BLAST" na parte inferior da janela.)