

Exercícios – 12 - Gabarito

Proteínas recombinantes e Organismos Transgênicos

NOTA:

- Este é o tipo de questões que constam de minha prova. Quanto mais completa a resposta, maior a nota....

1. Justifique por que, visando a **produção de uma proteína recombinante de eucarioto em bactéria**, devemos partir de uma população de **RNA mensageiro maduro e não do DNA genômico**.

R:

- O DNA genômico de eucariotos, que codifica para determinado gene, quando transcrito, forma inicialmente um pré-mRNA composto por éxons e íntrons.
- Os éxons são sequências codificadoras de aminoácidos da proteína; os íntrons são regiões não codificantes.
- O transcrito primário precisa ser processado a fim de originar o mRNA maduro, sendo uma das etapas desse processo o splicing (remoção dos íntrons).
- Bactérias não possuem maquinaria para processar o transcrito primário.
- Se o DNA genômico do eucarioto for expresso em bactéria, a proteína recombinante seria **totalmente** diferente da proteína que queremos produzir.

2. Uma empresa deseja obter a Taq polimerase da bactéria *Thermus aquaticus* recombinante para vender a pesquisadores que trabalham em Biologia Molecular.

A Taq DNA polimerase é uma proteína de 94.000 de massa molecular.

(a) Assumindo que cada aminoácido tenha uma massa molecular média de 110, quantos aminoácidos teria a Taq polimerase? Indique o cálculo executado.

R: $94000/110 = 854$ aminoácidos

(b) Calcule o número aproximado de nucleotídeos do gene que codifica a Taq polimerase. Indique o cálculo executado.

R: $854 \times 3 = 2562$ nucleotídeos

(c) Para a expressão da Taq polimerase recombinante a empresa precisa clonar o gene em um vetor de expressão. Cite TODAS as regiões que devem estar presentes em um vetor de expressão.

R: ORI; Marcador de Seleção; MCS; na MCS, região promotora e região de terminação da transcrição.

(d) É possível expressar o gene Taq polimerase de *T. aquaticus* na bactéria *E. coli*? **Justifique sua resposta.**

R: Sim. Tanto *T. aquaticus* quanto *E. coli* são seres procariotos. A maquinaria de *E. coli* processará corretamente a replicação, transcrição e tradução do gene da Taq polimerase.

3. Você recebeu duas plantas, uma selvagem e outra transgênica que apresenta resistência a insetos por expressar o gene *Cry* da bactéria *Bacillus thuringiensis*. Você tem que identificar qual das duas plantas é transgênica **utilizando a técnica de PCR**. Indique as etapas experimentais necessárias para resolver o problema.

Nota: A sequência nucleotídica do gene *Cry* de *B. thuringiensis* está disponível no banco de dados. Este gene apresenta 1.000 pares de bases.

R:

- Desenhar e sintetizar primers para amplificar o gene a partir da sequência do gene *Cry de B. thuringiensis*.
- Isolar o DNA total das folhas (ou de outro órgão) das duas plantas.
- Amplificar por PCR o gene de interesse com os primers, DNA das duas amostras e demais reagentes.
- Analisar o produto da PCR das duas amostras por eletroforese em gel de agarose. Analisar em paralelo um controle positivo e um controle negativo da PCR.
- A amostra que apresentar uma banda de 1000 pb corresponde à planta transgênica.

4. Para pesquisar.

(a) Qual é a característica GENÉTICA da soja transgênica “Soja RR” produzida pela Embrapa? (ou seja, que gene exógeno a soja apresenta?).

R: A soja RR carrega o gene **cp4-epsps^R** para a enzima EPSPS mutante.

(b) Qual a função do gene que codifica a enzima EPSPS (5-enolpiruvato- shiquimato-3-fosfato sintase)?

R: A enzima é responsável pela síntese de aminoácidos aromáticos, essenciais para o crescimento do vegetal.

(c) Qual é a característica FENOTÍPICA da soja transgênica “Soja RR”? (ou seja, qual característica fisiológica a soja apresenta?).

R: A soja RR é resistente ao herbicida Glifosato

(d) Quais são as vantagens que esta soja transgênica apresenta em relação à soja convencional (não recombinante)?

R: Quando pulverizar Glifosato na plantação, as ervas daninhas morrem e a soja resistente cresce.