

Exercício 4 - Aula "PCR"

A sequência de DNA abaixo contém o gene que codifica para a cadeia A da insulina humana. Os códons de início e fim da região codificadora estão sublinhados e em negrito.

```
5' AGCCCTCCAGGACAGGCTGCATCAGAAGAGGCCATCAAGCAGATCACTGTCCTTCTGCCATGGCCCTG
TGGATGCGCCTCCTGCCCTGCTGGCGCTGCTGGCCCTCTGGGGACCTGACCCAGCCGCAGCCTTTGTGA
ACCAACACCTGTGCGGCTCACACCTGGTGGAAAGCTCTCTACCTAGTGTGCGGGGAACGAGGCTTCTTCTA
CACACCCAAGACCCGCCGGGAGGCAGAGGACCTGCAGGTGGGGCAGGTGGAGCTGGGCGGGGGCCCTGGT
GCAGGCAGCCTGCAGCCCTTGGCCCTGGAGGGGTCCCTGCAGAAGCGTGGCATTGTGGAACAATGCTGTA
CCAGCATCTGCTCCCTTACCAGCTGGAGAACTACTGCAACTAGACGCAGCCCGCAGGCAGCCCCACACC
CGCCGCTCCTGCACCCGAGAGATGGAATAAAGCCCTTGAACCAGCAAAA3`
```

- a) Desenhe a sequência de um par de iniciadores com 16 nucleotídeos (primers) que permitam a amplificação do gene da insulina. Indique a orientação 5' e 3' dos primers.

Forward: 5' ATGGCCCTGTGGATGC 3'

Reverse: 3' GAACTACTGCAACTAG 5'

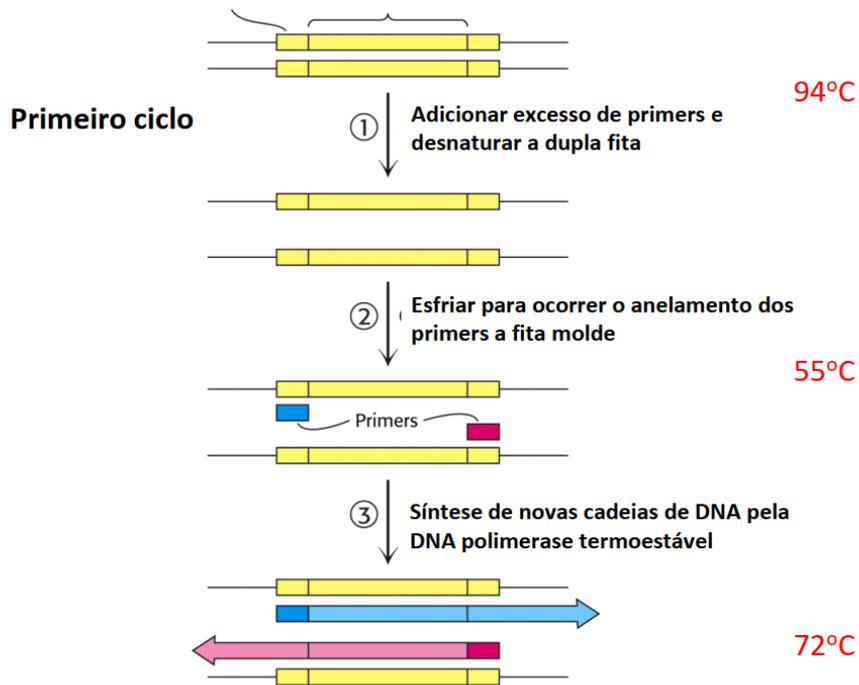
Reverse: 5' CTAGTTGCAGTAGTTC 3'

Acima é apenas um dos diversos primers que poderia ser desenhado. Abaixo assinalo a região onde os primers poderiam ser desenhados para garantir a amplificação de todo o gene.



- b) Faça um esquema ilustrando a amplificação da região pretendida ao longo do 1º ciclo da PCR. Indique a orientação das fitas de DNA no esquema.

A ideia é fazer algo nesse estilo, mostrar que no primeiro ciclo a extensão vai além da região onde o outro primer se ligaria



c) Quantas vezes a quantidade inicial de DNA seria amplificada após 10 ciclos de PCR?

Teríamos 1024 vezes mais DNA que em comparação ao ciclo inicial.
 $2^{10} = 1024$

Ciclo	Número de moléculas
Condição inicial	1
1	2
2	4
3	8
4	16
5	32
6	64
7	128
8	256
9	512
10	1024

Importante: para desenvolver suas respostas lembre que o DNA consiste de duas fitas antiparalelas.