

## LGN0232 – Genética Molecular - 2023

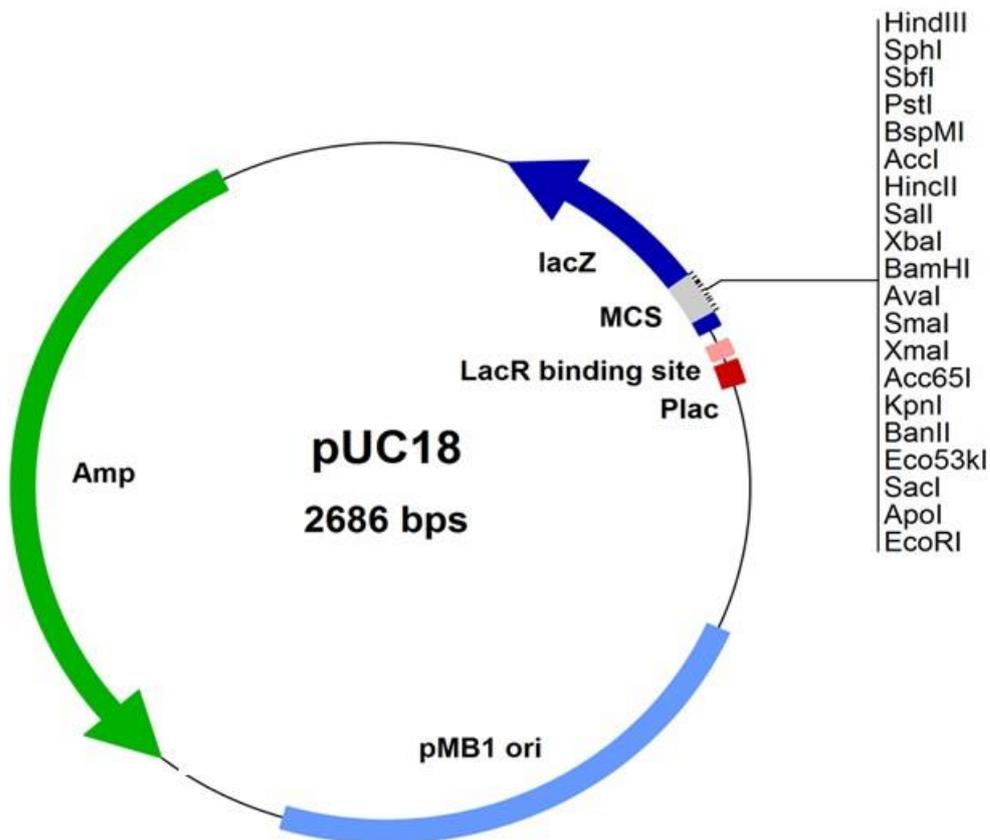
**Aula prática 1 – Clonagem por PCR (*Polimerase Chain Reaction*),  
clivagem de DNA por enzima de restrição e eletroforese em gel de agarose**

### Relatório da aula prática

Observe o plasmídeo pUC18 e responda:

1. Encontre no plasmídeo puC 18 as três características essenciais que um vetor deve ter. Descreva a importância de cada uma delas.

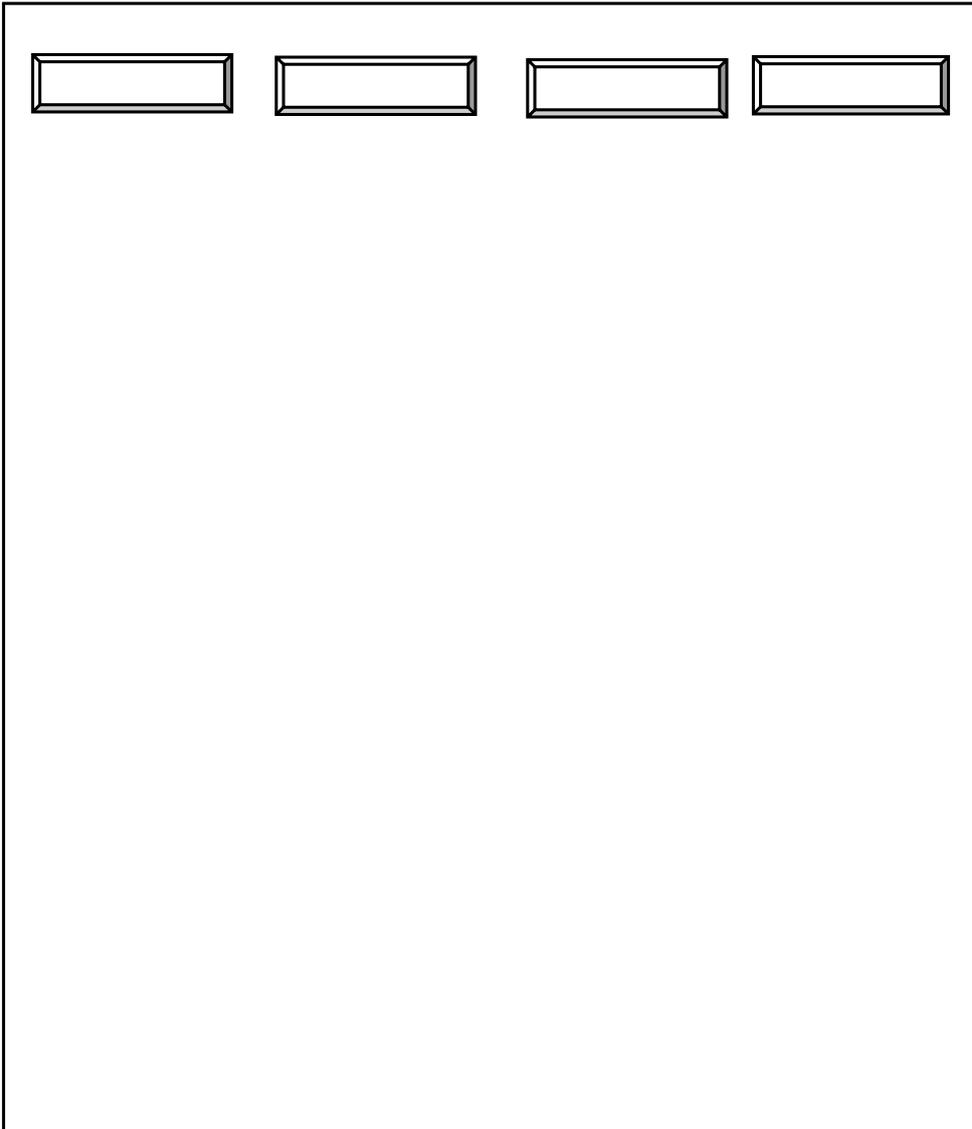
2. Explique o sistema LacZ no plasmídeo pUC18 que garante que colônias azuis não contêm o inserto desejado.



3. Esquematize o resultado da PCR utilizando como DNA molde:

- 1 – Marcador molecular
- 2 - Plasmídeo proveniente de colônia azul
- 3 - Plasmídeo proveniente de colônia branca
- Puc DNA bacteria...
4. - Controle

Obs: indique o tamanho das bandas obtidas



The image shows a large rectangular box with a double-line border. At the top of this box, there are four smaller, horizontally-oriented rectangular boxes, also with double-line borders, spaced evenly across the width. These are intended for the student to write the sizes of the PCR bands. The rest of the large box is empty space for the student to provide answers to the questions below.

4. Qual a importância de usar um controle negativo na reação de PCR?

5. A partir da sequência do gene *cry1a* abaixo, proponha um Primer Forward (PF) e um Primer Reverse (PR), ambos com aproximadamente 15 bases. Indique a direção 5' – 3' de cada um deles. Lembrando a sequência abaixo está na direção 5' – 3'.

1 tatgttttaa attgtagtaa tgaaaaacag tattatatca taatgaattg gtatcttaat  
61 aaaagagatg gaggtaactt atggataaca atccgaacat caatgaatgc attccttata  
121 attgtttaag taacctgaa gtagaagtat taggtggaga aagaatagaa actggttaca  
181 cccaatcga ttttccttg tcgctaacgc aatttctttt gagtgaattt gttcccggtg  
241 ctggatttgt gttaggacta gttgatataa tatggggaat ttttggccc tctcaatggg

...

3541 ggattgagat tggagaaacg gaaggaacat ttatcgtgga cagcgtggaa ttactcctta  
3601 tggaggaata gtctcatgca aactcaggtt taaatcgtt tttcaaatca attgtccaag  
3661 agcagcatta caaatagata agtaatttgt tgtaatgaaa aacggacatc acctccattg  
3721 aaacggagtg atgtccgttt tactatgta ttttctagta atacata

6. Esquematize o resultado da digestão de DNA utilizando os DNA's abaixo:

- 1 – Marcador molecular
- 2 - Plasmídeo proveniente de colônia azul
- 3 - Plasmídeo proveniente de colônia branca
4. – DNA da bactéria BT

Obs: indique o tamanho das bandas obtidas.

The diagram shows a rectangular gel electrophoresis apparatus. At the top, there are four rectangular wells representing lanes. The first lane is the narrowest, representing the DNA ladder. The second and third lanes are wider, representing the plasmid DNA from blue and white colonies, respectively. The fourth lane is the widest, representing the bacterial DNA. The rest of the gel area is empty, intended for the student to draw the bands and their sizes.