

Avaliação
Curso de Formação Pós-Graduada "da Biologia Molecular à Biologia Sintética"
15 de Julho de 2011

Nome _____

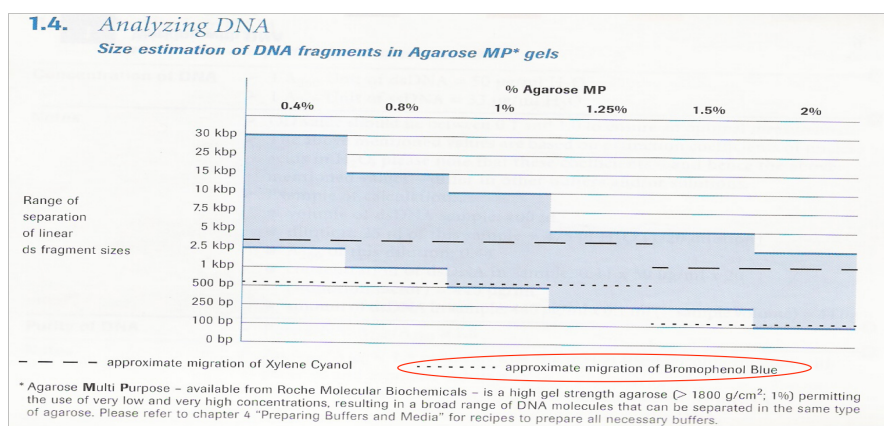
- 1 - As enzimas de restrição ou endonucleases recebem uma designação que provem (*1 valor*)
 - a) do nome do organismo sobre cujo DNA vão actuar
 - b) da sequência que reconhecem
 - c) do local de restrição
 - d) do fago cujo DNA destroem
 - e) do nome do organismo de onde foram isoladas

- 2 - Para ligar dois fragmentos de DNA com extremidades coesivas compatíveis utilizaria (*1 valor*)
 - a) *Taq* polimerase
 - b) T4 DNA ligase na presença de ATP
 - c) uma transcriptase reversa
 - d) a mesma enzima de restrição que utilizou para cortar os fragmentos
 - e) uma enzima de restrição diferente da que utilizou para para cortar os fragmentos

- 3 - A metilação do DNA (*1 valor*)
 - a) origina extremidades coesivas
 - b) origina extremidades a direito
 - c) permite a acção de enzimas de restrição
 - d) impede a acção de enzimas de restrição
 - e) restabelece as ligações fosfodiéster

- 4 - Um vector é uma molécula de DNA capaz de se replicar quando introduzida numa célula hospedeira. As características comuns aos vectores são: (*1 valor*)
 - a) origem de replicação, local de clonagem múltipla e promotor que promove a sobreexpressão
 - b) enzimas de restrição, local de clonagem múltipla e marcador de selecção
 - c) origem de replicação, local de clonagem múltipla e corpos de inclusão
 - d) origem de replicação, local de clonagem múltipla e marcador de selecção
 - e) origem de replicação, local de clonagem múltipla e gene que codifica a proteína fluorescente verde

- 5 - Se pretendesse separar por electroforese fragmentos de DNA com tamanhos abaixo dos 400 bp escolheria uma concentração de agarose acima de _____ (consulte a imagem abaixo). (*1 valor*)



6 - Dos seguintes oligonucleótidos de iniciação (*primers*) qual o que escolheria para utilizar numa reacção em cadeia da polimerase (*PCR*)? (**1 valor**)

Primer A – ggtggatggttctggtgcatat, **Primer B** – gtgatatatatatacatat

- a) O oligonucleótido A porque tem o tamanho adequado
- b) O oligonucleótido B porque tem o tamanho adequado
- c) O oligonucleótido B porque tem sequências repetitivas
- d) O oligonucleótido A porque não tem sequências repetitivas
- e) O oligonucleótido A porque é mais específico

7 - A proteína reguladora do operão do triptofano (**1 valor**)

- a) liga-se ao operador quando há triptofano no meio
- b) liga-se ao operador quando não há triptofano no meio
- c) activa a transcrição dos genes
- d) favorece a ligação da RNA polimerase ao DNA
- e) na presença de triptofano fica inactiva

8 - Em biologia sintética os módulos ou circuitos que são construídos a partir de partes padronizadas são introduzidos num *chassis* (**1 valor**)

- a) o *chassis* é obrigatoriamente um organismo procariótico
- b) as partes padronizadas (bio-legos) têm bases nucleotídicas artificiais (diferentes das do DNA)
- c) o *chassis* pode ser um organismo procariótico ou eucariótico
- d) as partes padronizadas (bio-legos) não necessitam de ser compatíveis umas com as outras
- e) as partes padronizadas (bio-legos) não necessitam de ter determinados locais de restrição

Assinale com V (verdadeiro) ou F (falso)

9 – Para que uma enzima de restrição actue é importante (**1, 2 valores**)

- ___ a temperatura
- ___ a composição e pH da solução tampão
- ___ que o DNA sobre o qual vai actuar não esteja metilado

10 - Na separação electroforética de fragmentos de DNA em gel de agarose (**1, 2 valores**)

- ___ o DNA migra para o pólo positivo
- ___ os fragmentos de DNA adquirem carga positiva
- ___ os fragmentos de DNA são separados de acordo com o seu tamanho

11 - Num vector de clonagem o marcador de selecção pode ser (**1, 2 valores**)

- ___ o gene que codifica a gfp (proteína verde fluorescente)
- ___ um gene que codifica a resistência a um antibiótico
- ___ o local de clonagem múltipla

12 - O genoma mínimo de um organismo (**1, 2 valores**)

- ___ é o número mínimo de genes necessários para que o organismo sobreviva em determinadas condições
- ___ são os genes necessários para o cumprimento de uma determinada função
- ___ é constituído pelos genes que podem ser inactivados sem que o organismo morra

I - A Tabela abaixo apresenta as condições indicadas pelo fabricante para a actuação de duas enzimas de restrição.

I.1. Para fazer uma restrição com as duas enzimas *Bgl*II e *Not*I em simultâneo deveria usar **(1 valor)**

a) tampão B

b) tampão Tango™

c) tampão O

d) tampão R

e) tampão G

Reaction Conditions for Restriction Endonucleases in Fermentas Five Buffer System

	Incubation temp.	Recommended buffer	Units for overnight incubation	Thermal inactivation	Restriction endonuclease activity, %					
					B	G	O	R	Tango™	
									1X	2X
<i>Bgl</i> II	37°C		0.1	No	0-20	20-50	100	50-100	0-20	100
<i>Not</i> I	37°C		0.1	65°C	0-20	20-50	100	20-50	0-20	20-50

B, G, O, R e Tango são tampões diferentes.

I.2. Se pretendesse fazer uma restrição apenas com *Bgl*II poderia (assinalar com V-verdadeiro ou F-falso) **(1 valor)**

___ incubar a 65 °C

___ utilizar o tampão Tango™ na concentração final de 2x

___ inactivar a enzima pelo calor após ter terminado o período de incubação

___ utilizar o tampão O

___ utilizar o tampão B

II. Estime o tamanho do fragmento de DNA obtido por PCR que observa na Figura 1, sabendo que o marcador utilizado foi uma escada de 100 bp. **(1,1 valores)**

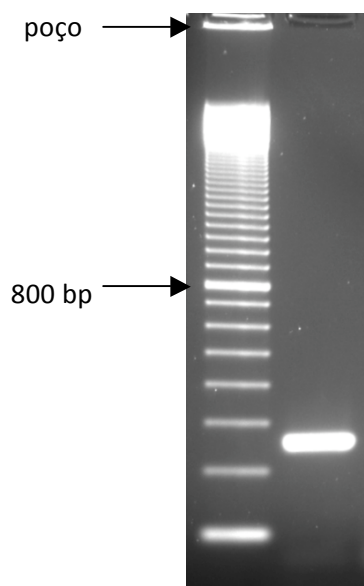


Fig. 1

Tamanho do fragmento: _____

III. Um fragmento de DNA foi cortado com duas enzimas de restrição (A e B), separadamente e em simultâneo. O DNA digerido foi separado por electroforese em gel de agarose. Os resultados obtidos encontram-se esquematizados na Figura 2. **(2 valores)**

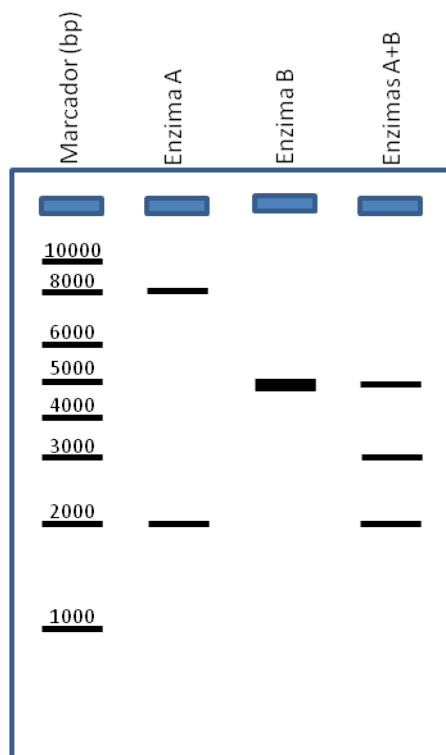


Fig. 2

Faça o mapa de restrição do fragmento de DNA, indicando os locais de corte de cada uma das enzimas e o tamanho dos fragmentos.

Mapa de
restrição
enzimas A+B



1000 bp

IV. Na Figura 3 está representada uma experiência em que são utilizados dois tubos contendo células competentes de *E. coli*: ao “**tubo +**” foi adicionado plasmídio pGLO, enquanto o “**tubo -**” continha apenas células competentes. Após choque térmico e recuperação, as células foram cultivadas em meio sólido nutritivo LB com ou sem os aditivos indicados (placas de Petri 1 a 4). Os resultados obtidos foram os seguintes:

Placa 1 – 70 colónias de cor branca

Placa 2 – 67 colónias de cor branca que fluorescem de verde com UV

Placa 3 – não há crescimento

Placa 4 – crescimento em camada/filme

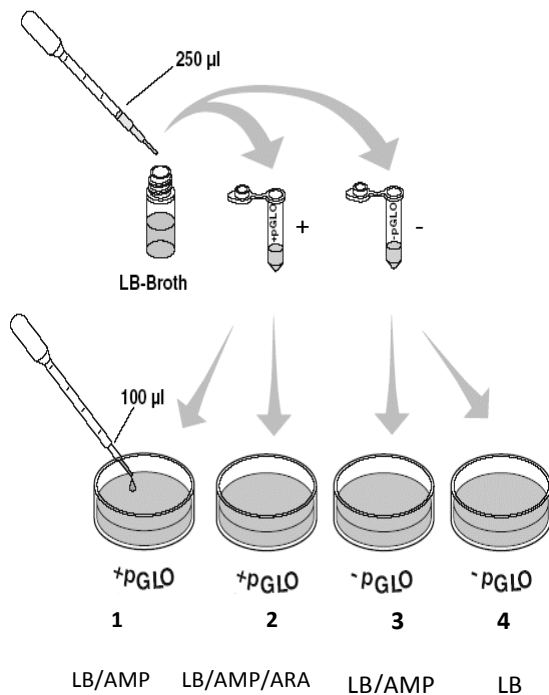


Fig. 3

AMP- ampicilina, ARA- arabinose

Perante os resultados observados podemos afirmar que (assinalar com V-verdadeiro ou F-falso)

(2,1 valores)

- ___ as bactérias que cresceram na placa 1 não possuíam o gene da GFP
- ___ as bactérias que cresceram na placa 1 não possuíam a proteína GFP
- ___ as bactérias que cresceram na placa 1 possuíam a proteína GFP mas esta só seria fluorescente sob radiação UV
- ___ somente as bactérias que cresceram na placa 2 possuíam a proteína GFP
- ___ na placa 2 não seria necessário fonte de radiação UV para observar a GFP
- ___ só há síntese da proteína GFP nas colónias da placa 2 se estas forem expostas a radiação UV

_____ na placa 1 as células não foram transformadas e por isso não fluorescem com radiação UV