

NOME: _____

TURMA: _____

Lista de exercícios

ÁCIDOS NUCLEICOS

A- ESTRUTURA DOS ÁCIDOS NUCLEICOS E REPLICAÇÃO DO DNA

- 1) Os ácidos nucleicos são constituídos por cadeias polinucleotídicas. Descreva resumidamente este tipo de composto.
- 2) Quais são as diferenças de composição e estrutura entre RNA e DNA? Escreva os nomes das bases, ribonucleosídeos, desoxirribonucleosídeos, ribonucleotídeos e desoxirribonucleotídeos do DNA e RNA.
- 3) Quais as principais características da molécula de DNA?
- 4) Explique o que é e porque ocorre a complementaridade de bases nitrogenadas.
- 5) O que você entende por "orientação antiparalela das fitas de DNA"?
- 6) a) Escreva a sequência de bases da fita complementar do DNA dupla fita que apresenta uma fita com a sequência:
(5') ATGCCGTATGCATTGCATTC (3')
- b) Exprima, em porcentagem, a composição de bases do DNA de fita dupla.
- 7) Num organismo diploide um pesquisador verificou que uma molécula de DNA continha 28% de guanina. Com base nesta informação determine qual o percentual de cada uma das outras bases.
- 8) Uma molécula de ácido nucleico tem a seguinte composição de bases: C=24,1%; G=18,5%; T=24,6% e A=32,8%. O que se pode afirmar sobre a natureza desta molécula? Justifique para validar a questão.
- 9) RNA é facilmente hidrolizado por álcali, enquanto DNA não o é. Por quê?
- 10) O valor de Tm para o DNA pode ser calculado usando-se a fórmula: $T_m = 69,3 + 0,41 (\%GC)$, onde GC é a porcentagem de Guanina + Citosina. Sobre o tema e assuntos correlatos, responda:
 - a) O que é Tm? Qual o seu significado?
 - b) DNA de *E. coli* contém 50% GC. Calcular o Tm para o DNA desta bactéria.
 - c) As curvas de fusão da maioria dos DNAs que ocorrem naturalmente revelam que o Tm é normalmente maior do que 65°C. Por que isto é importante para a maioria dos organismos?
 - d) Explique por que o DNA é desnaturado quando submetido a altas temperaturas ou pHs extremos. Como estas moléculas podem ser renaturadas?
- 11) A tabela mostra a composição das bases nitrogenadas púricas, adenina e guanina, nos DNAs do homem e do boi.

	Adenina	Guanina
Homem	30,4%	?
Boi	?	21,0%

- a) Quais são as porcentagens que faltam para o homem e o boi? Justifique a sua resposta.
- b) Calcule o valor de Tm do DNA dupla fita de (A) e (B). Demonstre seus cálculos para validar o item.

<p>(Homem)</p> 	<p>(Boi)</p>
---	---

- c) A partir dos valores de Tm calculados no item **b**, responda: Qual das duas sequências é mais estável? Por quê? Considere na sua resposta o significado de Tm.
- 12) Que propriedades químicas possuem o DNA e as proteínas que permitem a marcação específica de uma ou de outra destas macromoléculas com um isótopo radioativo?

13) Qual a contribuição do experimento realizado por Hershey e Chase (1952) para a Genética? Como o objetivo foi alcançado?

14) O isótopo radioativo do nitrogênio N^{15} pode ser usado para marcar radioativamente compostos que possuam nitrogênio na sua composição, como é o caso dos ácidos nucleicos. Uma cultura de *Escherichia coli* cresceu em um meio contendo exclusivamente N^{15} até que todo o DNA estivesse marcado. Então transferiu-se a colônia para um meio contendo nitrogênio comum N^{14} e deixou-se que crescesse por, exatamente, duas gerações. Fazendo-se então uma avaliação do DNA, quanto deveria ser encontrado contendo:

- Somente N^{15} ?
- Híbrido (uma fita N^{14} e outra N^{15})?
- Somente N^{14} ?

15) Meselson e Stahl, em 1957, cultivaram, inicialmente, *Escherichia coli* (geração F0) na presença de N^{15} (isótopo pesado). Posteriormente, cresceram diversas gerações das bactérias em N^{14} (isótopo leve) e extraíram o DNA das sucessivas gerações, mediante precipitação baseada em suas diferentes densidades, conforme esquematizado.

A partir desse experimento, julgue os itens a seguir e coloque a soma dos itens corretos no espaço apropriado abaixo. OBS.: apenas o resultado da soma será considerado na correção.

(01) Todas as moléculas da geração F1 terão a mesma sequência de nucleotídeos, não importando o isótopo presente no meio.

(02) Desconsiderando qualquer tipo de mutação, todas as moléculas de DNA em F2 serão idênticas às moléculas de F1 quanto à sequência nucleotídica, mas terão composição de isótopos radioativos diferentes dos observados em F0.

(04) Meselson e Stahl concluíram, como foi antecipado por Watson e Crick, que as fitas de DNA serviam de modelo para sua própria replicação.

(08) A composição do meio de cultura não exerceu influência no experimento uma vez que a bactéria cresceu em todos os meios.

SOMA =

16) Compare e contraste a replicação do DNA de procarionotos e eucariotos.

17) Quais são as principais enzimas envolvidas na replicação do DNA em eucariotos? Cite e explique suas funções.

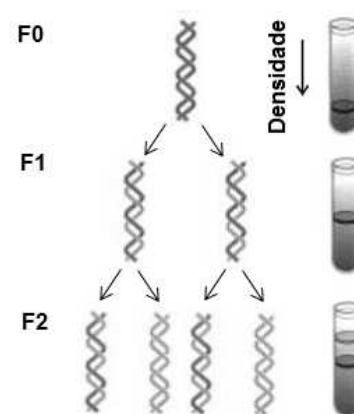
18) O que é replicação semiconservativa?

19) Que propriedades do DNA e da DNA polimerase sugerem que as duas fitas não podem ser replicadas pelo crescimento no mesmo sentido?

20) Porque surgem os fragmentos de Okasaki?

21) Que similaridades e diferenças existem nas atividades enzimáticas das DNA polimerase I, II e III? Qual a função de cada tipo de DNA polimerase nas células bacterianas?

22) Por que é necessária a primase (iniciase) para a replicação do DNA?



B- TRANSCRIÇÃO E TRADUÇÃO

1) Compare e contraste a transcrição e a tradução de procarionotos e eucariotos.

2) Três diferentes RNAs polimerases sintetizam RNA em eucariotos. Quais são os produtos de cada uma delas e suas respectivas funções?

3) Considere o segmento de fita de DNA abaixo:
3' AAAGAACGATGATTCGGATT 5'

a) Qual a sequência de bases do mRNA correspondente?

b) Quais os anti-códons dos tRNAs acima considerados?

Dados:

① A orexina/hipocretina apresenta 131 aminoácidos e é produzida a partir de um RNAm maduro de 577 bases, transcrito pelo gene HCRT, região do DNA localizada no cromossomo 17 com 1.393 pb (pares de bases).

② Os neuropeptídeos orexina A e orexina B maduros são produzidos por um processo proteolítico (pós-traducional) a partir do precursor orexina: a orexina A corresponde, na proteína precursora, aos aminoácidos de posição 34 (glutamina) a 67 (glicina) e a orexina B, aos aminoácidos de posição 70 (arginina) a 97 (metionina).

③ Uma mutação no gene HCRT que provoca a substituição de uma leucina por uma arginina na posição 16 da proteína precursora (LEU16ARG) foi associada à narcolepsia.

Abaixo são dadas as sequências parentais (recebidas de cada um dos pais) responsáveis pela tradução do aminoácido 16 de três indivíduos.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	Indivíduo 3
GAA (sequência materna)	GAC (sequência materna)	GCC (sequência materna)
GAG (sequência paterna)	GCC (sequência paterna)	TCT (sequência paterna)

Levando em conta as informações contidas no texto e nos dados e sabendo que os códons da leucina são UUA, UUG, CUU, CUC, CUA e CUG, e que os códons da arginina são CGU, CGC, CGA, CGG, AGA E AGG, responda.

a) Qual (is) dos indivíduos provavelmente sofre(m) de narcolepsia? Justifique sua resposta para validar o item.

b) Qual (is) dos indivíduos teria(m) mais tendência à insônia, por produzir uma maior quantidade de orexina? Justifique sua resposta para validar o item.

Utilize a tabela de aminoácidos ao lado e as informações contidas no dado ② para responder o item c.

Aminoácido	Códons
Glutamina	CAA, CAG
Glicina	GGU, GGC, GGA, GGG
Arginina	CGU, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG
Metionina	AUG

c) Quais seriam as sequências de bases no **gene HCRT**, responsáveis, respectivamente, pela tradução dos aminoácidos inicial e final da:

orexina A:

orexina B:

Utilize as informações contidas nos dados ① e ② para responder os itens que se seguem.

d) Uma vez que nosso corpo não desperdiça energia nem matéria-prima inutilmente e os processos de transcrição e tradução necessitam de energia e de matéria-prima para ocorrerem, forneça um argumento biologicamente aceitável que possa explicar a informação fornecida no trecho grifado do dado ①. (Lembre-se de mencionar na sua resposta, qual o tamanho esperado da proteína precursora orexina a partir do RNAm citado.)

e) Mediante conhecimentos sobre estrutura dos ácidos nucleicos e transcrição, explique por que no DNA a informação fornecida pelo dado ① foi em pares de bases, enquanto no RNAm, em bases.

f) Qual o percentual do RNAm maduro em relação ao gene HCRT? Demonstre seus cálculos para validar o item.

17) Durante a síntese proteica 5 aminoácidos foram adicionados à uma cadeia polipeptídica. Os anticódons dos tRNAs que entraram sequencialmente no ribossomo foram:

5'CAU3' ; 5' AGG3' ; 5'UAG3' ; 5'UCC3' ; 5'AUU3'

a. Qual a sequência do pentapeptídeo assim formado?

b. Qual a sequência da fita codante do DNA que codifica este pentapeptídeo?

c. Qual a sequência do mRNA?

18) Após um surto de uma doença misteriosa (início com febre, coriza, mal-estar, dores abdominais, diarreia, manchas vermelhadas espalhadas pelo corpo) que acometeu crianças com até cinco anos de idade em uma creche, os pesquisadores conseguiram sequenciar o material genético do agente causador da doença e concluíram que se tratava de um vírus. Um segmento dessa sequência era 5'...UACCCGUUAAAG...3'.

a) Explique por que os pesquisadores concluíram que o agente infeccioso era um vírus.

b) Sabendo-se que a sequência apresentada no texto dará origem a uma fita complementar de DNA (cDNA), que posteriormente sofrerá replicação para originar a molécula de DNA de fita dupla, escreva a sequência e a polaridade da nova fita que será sintetizada a partir da fita de cDNA.

c) Qual seria a sequência de aminoácidos codificada pela nova fita de DNA sintetizada a partir da fita de cDNA (item c), caso ela fosse usada como molde para a síntese de proteínas virais? Utilize a tabela de códons ao lado para responder.

UUU: PHE	UCU: SER	UAU: TYR	UGU: CYS
UUC: PHE	UCC: SER	UAC: TYR	UGC: CYS
UUA: LEU	UCA: SER	UAA:	UGA:
UUG: LEU	UCG: SER	UAG:	UGG: TRP
CUU: LEU	CCU: PRO	CAU: HIS	CGU: ARG
CUC: LEU	CCC: PRO	CAC: HIS	CGC: ARG
CUA: LEU	CCA: PRO	CAA: GLN	CGA: ARG
CUG: LEU	CCG: PRO	CAG: GLN	CGG: ARG
AUU: ILE	ACU: THR	AAU: ASN	AGU: SER
AUC: ILE	ACC: THR	AAC: ASN	AGC: SER
AUA: ILE	ACA: THR	AAA: LYS	AGA: ARG
AUG: MET	ACG: THR	AAG: LYS	AGG: ARG
GUU: VAL	GCU: ALA	GAU: ASP	GGU: GLY
GUC: VAL	GCC: ALA	GAC: ASP	GGC: GLY
GUA: VAL	GCA: ALA	GAA: GLU	GGA: GLY
GUG: VAL	GCG: ALA	GAG: GLU	GGG: GLY

ALA: Alanina	LEU: Leucina
ARG: Arginina	LYS: Lisina
ASN: Asparagina	MET: Metionina
ASP: Ácido aspártico	PHE: Fenilalanina
CYS: Cisteína	PRO: Prolina
GLN: Glutamina	SER: Serina
GLU: Ácido glutâmico	THR: Treonina
GLY: Glicina	TRP: Triptofano
HIS: Histidina	TYR: Tirosina
ILE: Isoleucina	VAL: Valina

d) Calcule o percentual de cada uma das bases pirimídicas do DNA de fita dupla que será originado a partir da sequência apresentada no texto. **Demonstre seus cálculos para validar o item.**

e) Sabe-se que a taxa de mutação espontânea na replicação do DNA é de aproximadamente 10^{-9} , mas no retrovírus em questão, que possui genoma diploide de RNA fita simples apresentando 5' CAP e cauda poli(A), as taxas de mutação são da ordem de 10^{-3} a 10^{-5} por nucleotídeo por ciclo de replicação. Isto significa dizer que pode existir a incorporação de um nucleotídeo errado a cada mil ou cem mil bases copiadas.

e.1.) Que papéis essenciais dos terminais 5' CAP e cauda poli(A) poderiam dar a esse retrovírus uma vantagem para garantir a infecção?

e.2.) Explique um motivo biologicamente plausível para a taxa de mutação espontânea desse retrovírus ser mais elevada do que a taxa de mutação espontânea na replicação do DNA.

19) Pesquisadores norte-americanos descobriram que as diferentes formas das pessoas perceberem a dor podem ter origem genética.

A variação de apenas um gene pode explicar porque algumas pessoas suportam mais dor do que outras. Segundo uma equipe da Universidade de Michigan, a sensação de dor está ligada ao gene COMT que produz a enzima transferase catecol-O-metil (COMT), que ajuda a regular quantos analgésicos naturais - as chamadas endorfinas - um organismo produz. O gene COMT pode ser encontrado em duas formas, de acordo com o aminoácido presente. Na transcrição do códon 158, a troca de um único aminoácido, valina → metionina pode determinar decréscimo da atividade da enzima COMT, ou seja, o gene da COMT que contém o aminoácido metionina, ou "met", é menos ativo do que aquele que contém o aminoácido valina, ou "val".

Esta pequena variação tem um grande efeito na atividade do COMT, dizem os pesquisadores. Cada indivíduo tem duas cópias desse gene, uma herdada de cada um dos pais. Pessoas com a forma mais "lenta" do gene - que tem duas cópias com metionina - produzem enzimas três a quatro vezes menos efetivas que outras, como as que contêm apenas cópias com valina ou ambos os aminoácidos. O estudo mostrou que as pessoas em que as duas cópias traziam metionina sofriam mais com a dor do que aquelas com duas cópias trazendo valina. Os voluntários com uma cópia de cada tipo apresentaram uma tolerância à dor intermediária.

(<http://www.anbio.org.br/bio/biotec134.htm>, com adaptações)

Abaixo são dadas as sequências parentais (recebidas de cada um dos pais) responsáveis pela transcrição do códon 158 do gene COMT de quatro indivíduos.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	Indivíduo 3	Indivíduo 4
CAA (sequência materna)	TAC (sequência materna)	CAC (sequência materna)	CAT (sequência materna)
CAG (sequência paterna)	TAC (sequência paterna)	CAT (sequência paterna)	TAC (sequência paterna)

Sabendo-se com os códons da metionina e da valina são, respectivamente, AUG e GUU, GUC, GUA, GUG, que a enzima transferase catecol-O-metil (COMT) possui 271 aminoácidos e que o gene COMT dos quatro indivíduos possui 1,5 Kb (1.500 pb), responda.

a) Qual (is) indivíduo(s) possui(em):

- Maior sensibilidade à dor:
- Sensibilidade intermediária à dor:
- Menor sensibilidade à dor:

b) Justifique sua resposta.

c) Calcule o percentual do RNAm maduro em relação ao gene COMT.

d) Considerando apenas o RNAm maduro, quantos códons e quantas ligações peptídicas foram necessários para a síntese da enzima transferase catecol-O-metil (COMT)? Justifique sua resposta.

e) Explique os 2 principais motivos que poderiam explicar o fato da proteína ter apenas 271 aminoácidos.

20) O gene supressor de tumor p-53 é um dos principais alvos de mutação durante o processo de carcinogênese. Está localizado no braço curto do cromossomo 17 e codifica a nucleoproteína p-53 que é responsável pela regulação da transcrição nuclear, funcionando como um “policia molecular”. Se a célula for exposta a agentes mutagênicos externos a p-53 acumula-se no núcleo freando o ciclo celular em G1, dando tempo para que a célula repare seu DNA. Caso a célula não o repare, a p-53 dispara a morte celular por apoptose. Na versão mutagênica desse gene, a célula que sofre lesão em seu material genético não tem sua divisão celular interrompida e deste modo, o dano celular se transmite às células filhas. A mutação de p-53 não causa a transformação maligna sozinha, porém predispõe a célula a outras mutações que a levarão a uma transformação maligna.

Baseando-se no texto e em conhecimentos correlatos, responda ao que se pede.

a. Sabendo que a p-53 é uma proteína constituída por 393 aminoácidos, quantos nucleotídeos serão necessários apenas para a codificação desses aminoácidos? Justifique.

b. Quantos códons serão necessários para a síntese dos 393 aminoácidos? Justifique.

c. Que evento indispensável para que ocorra a divisão celular será bloqueado com a informação dada no trecho grifado no texto?

21) Os vírus HPV tipo 16 e tipo 18 (grupo II) estão associados ao câncer oral e de colo uterino. O genoma desses vírus pode integrar-se ao genoma humano em áreas próximas a proto-oncogenes, produzindo uma versão mutante desse genes. Além disso, o genoma viral controla a transcrição dos genes virais E6 e E7 que interferem nos mecanismos de controle do ciclo celular. A proteína E6 interage com a proteína p-53, impedindo sua ação supressora de tumor no núcleo celular. Logo, se outra proteína supressora de tumor – como a pRb, por exemplo – não compensar a reduzida atividade da p-53, a transformação celular pode de fato ocorrer. No entanto, a proteína E7 desses vírus tem mostrado não só a capacidade de formar complexo com a pRb, desativando-a, mas também de degradar a p-53. A ativação de oncogenes somada à perda ou à anulação dos genes supressores de tumor acabam por levar ao crescimento desordenado e à formação de tumores.

(<http://www.digene.com.br/banconot/64atualiz.htm> e <http://www.patologiaoral.com.br/texto06.asp>, com adaptações)

Abaixo é apresentado um esquema do proto-oncogene ras e de sua versão mutante, após inserção viral.

Proto-oncogene ras

TAC TGC CTT ATA TTC GAC CAC CAC CAC CCG CGG **CCG** CCG...GAG AGC

Oncogene ras

TAC TGC CTT ATA TTC GAC CAC CAC CAC CCG CGG **CAG** CCG...GAG AGC

Baseando-se nas informações acima e em conhecimentos correlatos, responda o que se pede.

a) Dê a sequência de aminoácidos do proto-oncogene **ras**.

b) Considerando que os genes supressores de tumor foram inativados pelos vírus, caso a mutação na trinca destacada em negrito provoque a substituição da 3ª base por uma citosina no proto-oncogene, o produto do gene ainda poderá levar ao descontrole da divisão celular? Justifique.

22) A doença de Parkinson está entre os problemas neurológicos mais preponderantes hoje em dia. Se caracteriza por tremor nas mãos, nos braços e em outros locais, rigidez nos membros, lentidão de movimentos, equilíbrio e coordenação debilitados. Alguns pacientes têm, também, dificuldade para andar, falar, dormir, urinar e dificuldades no desempenho sexual.

Nos Institutos Nacionais da Saúde (NIH) dos EUA, em 1997, foi identificada uma mutação no gene da alfa-sinucleína em famílias italianas e gregas que tinham a forma hereditária do mal de Parkinson; posteriormente esta mesma mutação foi também detectada em famílias brasileiras com a doença. Esse gene codifica uma proteína muito pequena, com apenas 144 aminoácidos, à qual se atribui um papel na sinalização entre neurônios. A mutação referida é denominada G209A, pois provoca a substituição de uma guanina por uma adenina no nucleotídeo 209 do gene da alfa-sinucleína, conduzindo a uma substituição de alanina por treonina na posição 53 da proteína (Ala53Thr). É uma mutação de herança autossômica dominante, o que significa dizer que apenas uma cópia (da mãe ou do pai) é suficiente para desencadear a doença. Ela é extremamente rara e responde por menos de 1% dos pacientes.

Pouco tempo depois, descobriu-se outra mutação autossômica dominante no mesmo gene em uma família de origem alemã, em que a alanina da posição 30 era substituída por uma prolina (Ala30Pro).

(*Arch Neurol.* 55(12):1521-1523, 1998; *Arq. Neuro-Psiquiatr.* 59(3B): 722-724, 2001; *Scientific American Brasil* n° 40, 2005)

CÓDONS	AMINOÁCIDO
GCU, GCC, GCA, GCG	alanina
ACU, ACC, ACA, ACG	treonina
CCU, CCC, CCA, CCG	prolina

Abaixo são dadas as sequências parentais (recebidas de cada um dos pais) responsáveis pela transcrição dos códons 30 e 53 do gene da alfa-sinucleína de três indivíduos.

Indivíduo 1:

Códon 30	Códon 53
CGA (sequência materna)	CGA (sequência materna)
CGG (sequência paterna)	TGA (sequência paterna)

Indivíduo 2:

Códon 30	Códon 53
CGG (sequência materna)	CGA (sequência materna)
CGT (sequência paterna)	CGC (sequência paterna)

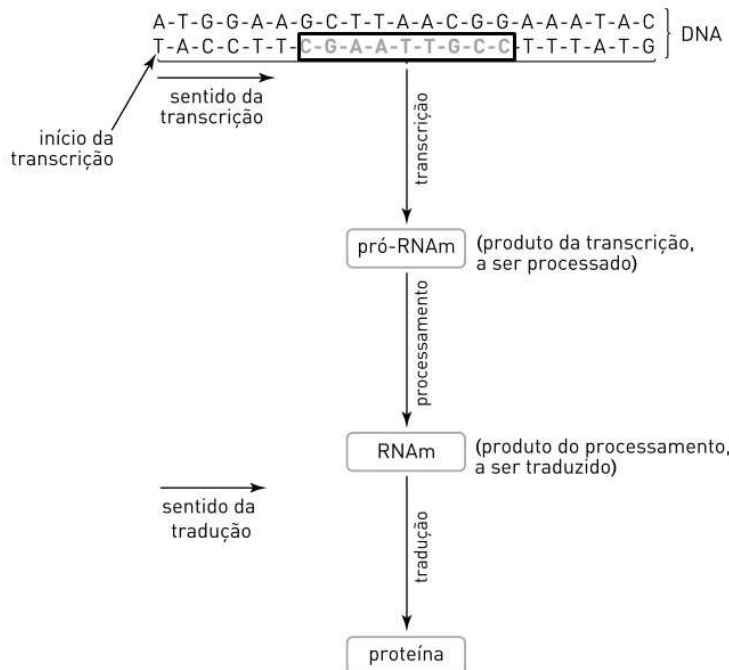
Indivíduo 3:

Códon 30	Códon 53
GGG (sequência materna)	CGA (sequência materna)
CGT (sequência paterna)	CGC (sequência paterna)

Baseando-se nas informações contidas no texto, nas tabelas e em conhecimentos correlatos, responda.

- Em relação ao tipo de substituição de base, como é denominada a mutação descrita no segundo parágrafo? Justifique.
- Qual(is) dos três indivíduos tem predisposição para desenvolver a doença devido a pelo menos uma das mutações citadas? Justifique para validar o item.
- Considerando apenas o RNAm maduro, quantos códons e quantas ligações peptídicas foram necessários para a síntese da proteína alfa-sinucleína? Justifique.
- Considerando apenas os códons necessários para início e finalização da síntese proteica, quantas bases no RNAm maduro foram necessárias para codificar os aminoácidos da proteína alfa-sinucleína? Apresente os cálculos para validar o item.
- Considerando que o gene da proteína alfa-sinucleína tem 1543 bases, explique os 2 principais motivos que poderiam explicar o fato da proteína ter apenas 144 aminoácidos.

23) (UERJ 2012) O esquema abaixo representa o mecanismo de biossíntese proteica em um trecho de DNA de uma célula eucariota. Observe que sua hélice inferior será transcrita e que as bases nitrogenadas, em destaque no retângulo, compõem um íntron, a ser removido no processamento do pró-RNAm.



Em relação ao apresentado e conhecimentos sobre estrutura e função dos ácidos nucleicos, responda ao que se pede.

- Identifique a sequência de bases que irá compor o trecho de RNA mensageiro maduro.
- Determine o número de aminoácidos a serem introduzidos na proteína nascente a partir do trecho apresentado. Justifique.
- Com base na tabela do código genético abaixo, dê a sequência dos aminoácidos codificados pelo trecho apresentado.

24) (UFRJ 2009) Usando a tabela do código genético, é possível deduzir a sequência de aminoácidos de uma proteína a partir da sequência de nucleotídeos do RNA mensageiro que a codifica. Indique se é possível, dada a sequência de aminoácidos de uma proteína de um eucarioto, deduzir a sequência de seu gene. Justifique sua resposta.

UUU: PHE	UCU: SER	UAU: TYR	UGU: CYS
UUC: PHE	UCC: SER	UAC: TYR	UGC: CYS
UUA: LEU	UCA: SER	UAA:	UGA:
UUG: LEU	UCG: SER	UAG:	UGG: TRP
CUU: LEU	CCU: PRO	CAU: HIS	CGU: ARG
CUC: LEU	CCC: PRO	CAC: HIS	CGC: ARG
CUA: LEU	CCA: PRO	CAA: GLN	CGA: ARG
CUG: LEU	CCG: PRO	CAG: GLN	CGG: ARG
AUU: ILE	ACU: THR	AAU: ASN	AGU: SER
AUC: ILE	ACC: THR	AAC: ASN	AGC: SER
AUA: ILE	ACA: THR	AAA: LYS	AGA: ARG
AUG: MET	ACG: THR	AAG: LYS	AGG: ARG
GUU: VAL	GCU: ALA	GAU: ASP	GGU: GLY
GUC: VAL	GCC: ALA	GAC: ASP	GGC: GLY
GUA: VAL	GCA: ALA	GAA: GLU	GGA: GLY
GUG: VAL	GCG: ALA	GAG: GLU	GGG: GLY

ALA: Alanina	LEU: Leucina
ARG: Arginina	LYS: Lisina
ASN: Asparagina	MET: Metionina
ASP: Ácido aspártico	PHE: Fenilalanina
CYS: Cisteína	PRO: Prolina
GLN: Glutamina	SER: Serina
GLU: Ácido glutâmico	THR: Treonina
GLY: Glicina	TRP: Triptofano
HIS: Histidina	TYR: Tirosina
ILE: Isoleucina	VAL: Valina

25) (UFRJ 2011) A sequência de DNA de um gene dos procaríotos pode ser deduzida a partir da sequência de seu RNA mensageiro (mRNA). Já no caso dos eucariotos, frequentemente essa técnica não é adequada para determinar a sequência completa dos nucleotídeos do gene. Explique por que, no caso dos eucariotos, nem sempre é possível obter a sequência de um gene a partir do mRNA.

26) (UERJ 2009) Uma mutação em uma célula dá origem a um códon de terminação UAG na porção central de um RNA mensageiro que codifica uma determinada proteína. Uma mutação em outro gene dessa mesma célula leva à alteração de uma base nitrogenada no anticódon do RNA transportador (RNAt) a reconhecer o códon UAG como sendo da tirosina e a continuar tirosina. Essa alteração faz o RNAt a transportá-la normalmente.

Identifique a trinca de bases do DNA que originou o anticódon mutado e indique como a presença desse RNAt alterado pode interferir nas estruturas primárias das proteínas sintetizadas a partir de genes normais.

27) (FUVEST 2005) Abaixo está representada a sequência dos 13 primeiros pares de nucleotídeos da região codificadora de um gene.

--- **A T G** A G T T G G C C T G ---

--- T A C T C A A C C G G A C ---

A primeira trinca de pares de bases nitrogenadas à esquerda, destacada em negrito, corresponde ao aminoácido metionina. A tabela a seguir mostra alguns códons do RNA mensageiro e os aminoácidos codificados por cada um deles.

Códon do RNAm	Aminoácido
ACC	treonina
AGU	serina
AUG	metionina
CCU	prolina
CUG	leucina
GAC	ácido aspártico
GGC	glicina
UCA	serina
UGG	triptofano

a) Escreva a sequência de bases nitrogenadas do RNA mensageiro, transcrito a partir desse segmento de DNA.

b) Utilizando a tabela de código genético fornecida, indique a sequência dos três aminoácidos seguintes à metionina, no polipeptídeo codificado por esse gene.

c) Qual seria a sequência dos três primeiros aminoácidos de um polipeptídeo codificado por um alelo mutante desse gene, originado pela perda do sexto par de nucleotídeos (ou seja, a deleção do par de bases T=A)?

28) As encefalopatias espongiformes transmissíveis humanas são doenças associadas a formas anormais da proteína príon (PrP), normalmente expressada em neurônios e codificada pelo gene *PRNP*, localizado no cromossomo 20. Nos casos familiares (herdados) (aproximadamente 15% do total de casos), foram identificadas certas mutações no gene *PRNP*. Tais mutações favorecem a ocorrência da doença ou de certos padrões patológicos. Como exemplo, podemos citar mutações relacionadas à transcrição do códon 129. Indivíduos homocigotos para a metionina (met/met) ou para a valina (val/val) nessa região são proporcionalmente mais numerosos entre os casos de Creutzfeldt-Jakob (CJD), enquanto a heterocigose metionina/valina (met/val) ao nível deste códon parece proteger da doença.

Abaixo são dadas as sequências parentais (recebidas de cada um dos pais) responsáveis pela transcrição do códon 129 de três indivíduos.

Indivíduo 1	Indivíduo 2	Indivíduo 3
TAC (sequência materna)	CAA (sequência materna)	CAG (sequência materna)
CAA (sequência paterna)	CAT (sequência paterna)	CAC (sequência paterna)

Levando em conta as informações contidas no texto e nos dados e sabendo que o códon da metionina é AUG, e que os códons da valina são GUU, GUC, GUA e GUG, responda.

replicação, como também de mecanismos que reparem os danos que ocorrem continuamente no DNA. Muitos danos sofridos pelo DNA podem ser reparados porque a informação genética é preservada em ambas as fitas da dupla-hélice, de tal forma que a informação perdida em uma fita possa ser recuperada por meio da fita complementar. Em relação ao tema, julgue os itens, marcando **V** para os verdadeiros e **F** para os falsos. **Justifique os itens falsos.**

(1) As mutações podem ocorrer tanto em células somáticas quanto em células germinativas, mas apenas as mutações somáticas são importantes na promoção da variabilidade genética e evolução das espécies.

(2) Tanto as mutações espontâneas decorrentes de erro de incorporação de bases ou tautômeros quanto as mutações induzidas por agentes alquilantes provocam distorções na molécula de DNA, sendo, portanto, corrigidas pelo sistema reparo por excisão de nucleotídeos.

(3) Entre os agentes mutagênicos de natureza física encontram-se as radiações não-ionizantes, que são capazes de provocar deleção de bases e quebras de fita simples e dupla na cadeia de DNA, estando associadas ao câncer de pele.

(4) Danos decorrentes de oxidação, alquilação, hidrólise ou desaminação são reparados pelo mecanismo de excisão de bases.

(5) Se durante a replicação do DNA humano uma forquilha de replicação encontra uma lesão (por exemplo um dímero de timina), antes da ação do reparo direto pelo sistema da fotoliase, a DNA polimerase irá parar a replicação no dímero encontrado, sendo esta região reparada por recombinação.

(6) No processo de reparo de bases mal pareadas, existe um sinal específico que direciona o sistema de excisão do erro exclusivamente para a fita recém-sintetizada: o reconhecimento de adeninas não-metiladas em sequências GATC nesta fita recém-sintetizada que estão metiladas na fita parental.

(7) No processo de reparo por excisão de bases ocorre a remoção da base defeituosa por clivagem da ligação base nitrogenada-desoxirribose, seguida pelo preenchimento da região com a base correta por ação da DNA polimerase.

6) Sabe-se que a taxa de mutação espontânea na replicação do DNA é de aproximadamente 10^{-7} , mas, em *Escherichia coli*, esta taxa é de 10^{-10} devido ao monitoramento pelo sistema de reparo, principalmente através da correção dos pareamentos errôneos (mal pareamentos ou *mismatch repair*) após a replicação. Em relação ao tema, responda:

a) Por que se não houvesse a marcação do DNA velho com grupos metila, não seria possível o reparo de mal pareamentos?

b) O que seria esperado de acontecer se o DNA, em um teste *in vitro*, fosse exposto a enzimas do sistema de reparo de pareamentos errôneos em um DNA que apresentasse:

b.1) ambas as fitas metiladas em uma sequência GATC?

b.2) nenhuma fita metilada?

7) Descreva os principais passos das seguintes vias de reparo do DNA:

a) reparo direto

b) reparo de pareamento errôneo (*mismatch repair*)

c) reparo por excisão de bases (BER, do inglês *base excision repair*)

d) reparo por excisão de nucleotídeos (NER, do inglês *nucleotide excision repair*)

e) reparo por recombinação homóloga

8) Quais são os principais tipos de danos no DNA reparados por cada uma das seguintes vias: (a) fotorreativação, (b) reparo por excisão de bases, (c) reparo por excisão de nucleotídeos, (d) reparo de pareamento errôneo (*mismatch repair*)?

9) A maioria dos tipos de reparo do DNA depende da presença de uma cópia separada de informação genética em cada uma das duas fitas presentes na dupla fita do DNA, onde os mecanismos capazes de corrigir uma lesão acidental em uma das fitas têm como referência a informação contida na fita não-danificada. Entretanto, danos perigosos ao DNA, tais como aqueles causados por radiação ionizante e agentes oxidantes, resultam na quebra das duas fitas de DNA, inviabilizando os mecanismos de reparo mencionados acima. Quais são os mecanismos celulares de reparo utilizados para resolver este problema? Diferencie-os.

10) Descreva brevemente as etapas envolvidas no reparo do DNA de mamíferos, lesado por luz UV, e as enzimas nelas envolvidas.

11) Qual a diferença entre os mecanismos de reparo por excisão de base e por excisão de nucleotídeos?

12) No momento da replicação de um gene, houve um pareamento de bases errado. Como o sistema de reparo de pareamentos errôneos (*mismatch repair*) reconhece a fita a ser reparada? Explique o mecanismo de reparo.

13) A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) normalizou, recentemente, a utilização de câmaras de bronzamento artificial, visando diminuir os riscos dessa prática, tais como lesões na retina, queimaduras, envelhecimento precoce e câncer de pele. Uma mulher que se submeteu a dez sessões intercaladas de

bronzamento, com duração de 15 a 30 minutos cada uma, apresentou, quatro meses depois, indícios de câncer de pele, uma vez que as radiações UV danificaram seu DNA.

a) Em relação ao tema e conhecimentos correlatos, marque **V** para os itens verdadeiros e **F** para os falsos. **Justifique os itens falsos.**

- 1) As radiações UV são radiações não-ionizantes que são capazes de provocar deleção de bases e quebras de fita simples e dupla na cadeia de DNA, estando por isto associadas ao câncer de pele.
- (2) Os dímeros de pirimidina são as lesões mais frequentes associadas ao contexto do texto.
- (3) O reparo das lesões relacionadas à radiação UV pode ser feito por dois tipos de mecanismos diferentes: durante a replicação do DNA, por recombinação com a fita parental não-danificada da mesma molécula de DNA; após a replicação do DNA, por excisão de nucleotídeos.
- (4) Por não corrigir a lesão, o reparo pelo sistema de tolerância implicará em parada do ciclo celular no ponto de checagem G₂/M.
- (5) No processo de reparo de lesões causadas por UV, existe um sinal específico que direciona o sistema de excisão do erro exclusivamente para a fita recém-sintetizada: o reconhecimento de adeninas não-metiladas em sequências GATC nesta fita recém-sintetizada que estão metiladas na fita parental.

b) O Xeroderma pigmentosum está entre os fatores de risco para o câncer de pele. Por quê?

c) Em pessoas que não apresentam XP, o câncer de pele corresponde a cerca de 25% de todos os tumores malignos humanos registrados no Brasil, estando relacionado não só à exposição à radiação UV, mas também a outros fatores de risco, como exposição à radiação ionizante e a determinados agentes químicos. Entre os tipos de lesões no DNA que podem ser induzidas pelas radiações ionizantes podemos citar: (1) deleção de todo o nucleotídeo, levando à quebra de fita simples; (2) quebra de fita simples; (3) quebra de fita dupla; (4) dano em bases nitrogenadas, levando à quebra ou deleção da base. Qual delas é a mais grave e por quê? Inclua na sua resposta o(s) mecanismo(s) de reparo possível(is) e sua(s) consequência(s).

14) O câncer de pele corresponde a cerca de 25% de todos os tumores malignos humanos registrados no Brasil, estando relacionado a alguns fatores ambientais de risco como exposição a químicos (arsênico), radiação ionizante e principalmente aos raios ultravioletas (UV) do sol. Em relação ao abordado tema, responda:

- a) Que tipos de lesões no DNA podem ser induzidas pelas radiações ionizantes? Qual delas é a mais grave e por que? (Inclua na sua resposta o mecanismo de reparo possível e qual a sua consequência).
- b) Que tipo de lesão mais frequente no DNA está relacionada ao trecho grifado? Por que esta lesão é facilmente percebida pelo sistema de reparo?
- c) Considerando a lesão do item **b**, o reparo pode ser feito por dois tipos de mecanismos diferentes, dependendo se ele ocorre depois ou durante a replicação do DNA. Cite os dois tipos de mecanismos e compare-os quanto à correção da lesão?
- d) Qual dos mecanismos de reparo do item **c** implicaria em parada do ciclo celular no ponto de checagem? Tal ponto de checagem estaria localizado na transição entre quais fases do ciclo celular?

REGULAÇÃO GÊNICA: PROCARIOTOS

1) Em *Escherichia coli* o operon da lactose compreende 3 genes estruturais: *lac Z*, *lac Y* e *lac A*, cujos produtos estão envolvidos no metabolismo da lactose. O gene *lac I* codifica um repressor e a lactose funciona como um indutor do sistema. Descreva a sequência de processos:

- a) Na ausência de lactose.
- b) Na presença de lactose.
- c) Na presença de glicose no meio celular.

2) Diferencie repressores, correpressores e indutores.

3) Pesquise sobre o operon *trp* (triptofano) e, considerando os operons *lac* e *trp* como modelos de indução e repressão, respectivamente, responda:

- a) Por que o controle da regulação de ambos os operons é dito negativo?
- b) Por que o mecanismo da lactose é indutor e o do triptofano é repressor?
- c) Descreva a condição desses operons na ausência das moléculas efetoras.
- d) Descreva as alterações ocorridas quando moléculas efetoras estão presentes.

4) A quantidade de uma enzima específica na célula pode ser controlada pelo aumento (indução) ou diminuição (repressão) da quantidade de mRNA que a codifica. Esta regulação transcricional é realizada por proteínas alostéricas regulatórias que se ligam ao DNA e exercem regulação por controle negativo ou positivo.

- Por que os controles negativo e positivo são assim denominados?
- Como um indutor ativa a síntese de um mRNA específico no controle positivo?

5) Uma mutação é a alteração na sequência de nucleotídeos de um gene, de um promotor ou de um operador. Explique os efeitos de cada uma das mutações abaixo no operon *lac* da *E. coli*:

- Mutação no operador, impedindo a ligação do repressor.
- Mutação em *lac I* (gene regulador ou repressor), impedindo a sua transcrição.
- Mutação no promotor impedindo o acoplamento da RNA polimerase.
- Mutação em *lac I*, inibindo o acoplamento do repressor à lactose.
- Mutação sem sentido em *lac Y*.
- Mutação de localização desconhecida, que impede a degradação de RNAm *lac*.

6) O modelo do operon, formulado por Jacob e Monod, serve para explicar a regulação gênica das enzimas que degradam a lactose em *E. coli*. Explique o que ocorreria se houvesse:

- Uma mutação do tipo substituição de bases silenciosa do gene operador (O).
- Uma mutação do tipo deleção de base nos genes estruturais (*lac Z*, *lac Y* e *lac A*).
- Uma mutação de sentido trocado no primeiro gene estrutural.

2. REGULAÇÃO GÊNICA: EUCARIOTOS

1) Os operon, que regulam eficientemente a expressão de conjuntos de genes estruturais relacionados entre si são comuns em bactérias, mas ausentes em eucariotos. Isto implica que estes não controlam a expressão de seus genes? Justifique.

2) Que mudanças ocorrem na estrutura da cromatina e que papel essas mudanças têm na regulação gênica eucariótica?

3) Explique 2 funções biológicas do empacotamento da cromatina.

4) A cromatina que é ativa transcricionalmente (eucromatina) tem estrutura dispersa, enquanto a cromatina que é inativa (heterocromatina) é compacta. Quando núcleos de células de galinha produzindo globina foram tratados brevemente com Dnase pancreática, os genes de globina de adultos foram seletivamente destruídos, mas os genes para globina embrionária e ovalbumina permaneceram intactos. Quando os núcleos de células de oviduto foram tratados com Dnase, os genes de ovalbumina foram destruídos. Explique estes resultados.

5) Embora as células do nosso corpo possuam essencialmente os mesmos genes, explique como é que alguns só são expressos num órgão e não em todo o corpo.

6) A estrutura da cromatina é um importante ponto de regulação da expressão gênica em eucariotos. Como a estrutura da cromatina pode ser alterada? Qual o papel de modificações pós-traducionais das histonas no controle da expressão gênica de certos genes?

7) O livro “*O Experimento*”, de John Darnton, explora os mistérios microscópicos do código genético em um excelente thriller envolvendo uma misteriosa e macabra experiência científica. Em um resumo breve e sem o suspense e a emoção passados pelo livro (e já contando parte da trama), por 30 anos, uma colônia sobreviveu isolada do mundo, em uma ilha na costa americana, onde clones humanos chamados de jeminos eram abastecidos com a mais recente tecnologia genética e afastados de qualquer contato com a civilização. Os jeminos estavam sendo criados inicialmente para doação de órgãos para as matrizes, mas depois, alguns começaram a receber telomerase injetável e outros, o gene da telomerase por terapia gênica – eram as cobaias para experimentos de vida eterna (ou prolongada). Os primeiros ainda puderam se salvar com atendimento médico adequado, mas os últimos, coitados, tiveram envelhecimento precoce irreversível e morte prematura. Em relação ao tema e assuntos correlatos, julgue os itens, marcando **V** para os verdadeiros e **F** para os falsos. **Justifique os itens falsos.**

(1) Os telômeros têm como função manter a integridade estrutural do cromossomo, garantindo a replicação completa das extremidades codificadoras.

2) Uma vez que a enzima DNA polimerase só acrescenta nucleotídeos no sentido 5' → 3' porque precisa de uma extremidade 3'OH livre da pentose para acrescentar nucleotídeos, apenas a fita de replicação contínua do DNA será completamente replicada.

(3) O sistema biológico coordenado pela telomerase gera a extremidade 3'-OH para a adição de novos nucleotídeos na fita de replicação descontínua, recuperando completamente a região telomérica.

(4) A expressão da enzima telomerase tem papel crucial na senescência celular, uma vez que é normalmente reprimida nas células somáticas após o período pós-natal, resultando no encurtamento progressivo dos telômeros.

(5) Sequências não codificadoras de DNA com repetições em tandem (agrupadas) são encontradas tanto nos telômeros quanto em outras regiões do genoma, como as sequências LINES e SINES encontradas no genoma de eucariotos.

(6) A regulação da expressão da telomerase em células somáticas pode resultar em câncer.

8) Explique resumidamente como as proteínas ativadoras transcricionais e os repressores afetam o nível de transcrição de genes eucarióticos.

9) A seguir, a coluna da esquerda apresenta o nome de elementos reguladores do genoma eucariótico; a da direita, descrições sobre alguns desses elementos.

Associe adequadamente a coluna da direita à da esquerda.

- | | |
|-------------------------|--|
| (A) Elemento TATA | () O elemento de ação <i>cis</i> é o ponto de início da transcrição pela RNA polimerase II. |
| (B) Elemento acentuador | () Este elemento de ação <i>cis</i> é um sítio de ligação para um dos fatores gerais de transcrição. |
| (C) Elemento iniciador | () Este elemento de ação <i>cis</i> pode ser localizado a milhares de pares de bases distante do gene que regula. |

b) Justifique cada uma das associações feitas.

10) O que é um elemento de resposta? Como os elementos de resposta causam a expressão coordenada de genes eucarióticos?

11) O que é RNA anti-sentido (anti-senso)? Como ele controla a expressão gênica?

12) Defina silenciamento por RNA.

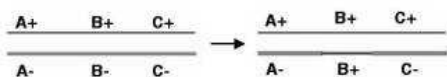
13) A caseína é a proteína mais abundante do leite. É produzida em células epiteliais do tecido mamário em resposta a hormônios, incluindo o hormônio polipeptídico prolactina. O tecido mamário em cultura incubado na ausência de prolactina contém cerca de 300 moléculas de mRNA de caseína por célula, enquanto células incubadas na presença de prolactina contém cerca de 30.000 moléculas de mRNA de caseína. No entanto o núcleo de células de tecido mamário em cultura sintetiza somente cerca de 3 vezes mais mRNA de caseína na presença de prolactina. Proponha uma explicação para estes resultados.

MECANISMOS DE RECOMBINAÇÃO GENÉTICA

1) Como a recombinação genética causa variação genética?

2) Características como resistência a antibióticos e fatores de virulência podem passar de uma bactéria para outra bactéria (da mesma ou de espécie diferente). Descreva resumidamente os 3 principais mecanismos envolvidos.

3) Considere a figura abaixo para responder ao que se pede.



Por que podemos interpretar o cromossomo A-B+C- como sendo resultante de dois *crossing-over* recíprocos, um de cada lado do gene de B?

4) Existem três tipos básicos de mecanismos de recombinação, os quais compartilham a característica de envolverem a troca física de material entre os duplex de DNA: recombinação homóloga, recombinação sítio-específica e recombinação por transposição. Quais são as diferenças básicas entre eles, em termos do reconhecimento e homologia das sequências de DNA necessárias ao processo de recombinação?

5) Elementos de inserção (IS) são os tipos mais simples de transposons. Em relação ao tema, responda:

- Descreva como os IS são estruturalmente organizados.
- Quais são as diferenças estruturais básicas entre os IS e os transposons (Tn) compostos e complexos?
- Como transposons se deslocam de um local para outro?
- Como os transposons podem provocar rearranjo de DNA?

e) Diferencie: transposição replicativa, não-replicativa e conservativa.

6) Diferentemente da recombinação homóloga, a recombinação sítio-específica é capaz de alterar a ordem com que genes aparecem num cromossomo e é responsável pela movimentação de sequências nucleotídicas especiais, os chamados elementos genéticos móveis (EGM), através de sítios não-homólogos num genoma. Descreva os tipos de EGM envolvidos na recombinação sítio-específica transposicional.

7) Elementos transponíveis podem provocar mutações, quando inseridos em um sítio próximo à sua localização original, e também quebra na sequência gênica, quando inseridos no interior de um gene, por interromperem a continuidade do gene. No último caso, poder-se-ia dizer que os íntrons também interrompem a continuidade de um gene, embora ele permaneça funcional. Em relação ao tema, responda:

- a) Como os transposons podem provocar mutações quando inseridos em um sítio próximo à sua localização original?
- b) Que tipos de mutações podem ocorrer quando um transposon se insere em um sítio próximo à sua localização original? Explique.
- c) Por que a presença de um íntron em um gene não o inativa, enquanto a inserção de um elemento de transposição pode inativá-lo?

8) Embora algumas regiões do genoma exibam incomumente frequências de recombinação altas ou baixas, todas as regiões podem e participam de recombinação homóloga. Baseado em conhecimentos sobre o mecanismo de recombinação homóloga liste duas propriedades deste processo que servem assegurar que todas as sequências de DNA podem participar de recombinação. Explique suas respostas.