

DNA: Obtenção, montagem de sua estrutura, duplicação e aplicações em diagnósticos

Discussão inicial

Poderá ser discutido com os alunos se eles comem DNA, se é possível extrair DNA de algum lugar... Localizando o DNA nas células..., lembrar das estruturas das células que contém DNA.

Perguntar se eles acham que é difícil extrair DNA ou como os cientistas conseguiram fazer isso...

Desafiá-los quanto a possibilidade de eles extraírem DNA de algum ser vivo. Direcionar ou propor a extração do DNA de algum tipo de célula vegetal (frutas ou legumes: os mais convenientes são o morango, banana e cebola).

Desafiar os alunos quanto aos métodos que eles poderiam utilizar para extrair DNA, ou como os cientistas fizeram isso...

Protocolo de Extração do DNA com reagentes domésticos

Introdução: Para a análise do DNA de células eucarióticas, a primeira etapa importante é o seu isolamento. O procedimento a seguir é utilizado para extrair grandes quantidades de DNA a partir do morango, banana ou cebola. Protocolos similares são usados nas extrações de DNA de outras fontes, como amostras de sangue, tecidos, etc.

A extração de DNA de células eucariontes vegetais consta fundamentalmente de três etapas:

Ruptura (física e química) das membranas celulares para liberação do material genético;

Desmembramento dos cromossomos em seus componentes básicos: DNA e proteínas;

Separação do DNA dos demais componentes celulares.

Nesta etapa o professor deve sempre desafiar os alunos quanto a função dos possíveis reagentes a serem utilizados... (solubilidade das diferentes moléculas que compõe as células, neutralização, isolamento)

Reagentes e Materiais:

Solução de lise (para romper as células) e posterior extração de DNA

Colocar ¼ de água da torneira em um copo descartável de refrigerante, misturar 12 colherzinhas (plástica de chá) de detergente incolor + meia colher de chá de sal de cozinha (cloreto de sódio).

2 morangos médios, ou 1 banana média ou ½ cebola média;

Saquinho plástico pequeno transparente ou branco (mais ou menos de 1 palmo);

1 peneirinha de chá;

Palitos de madeira (sorvete, por exemplo);

2 copos plástico descartáveis de 200-250 ml limpo (para refrigerante) ou copos de vidro;

1 colherzinha plástica (de sorvete) ou uma colherzinha de chá comum;

Álcool etílico gelado (de 90° g.l. ou maior), meio copo (pode ser colocado em um vidrinho limpo ou copo de vidro);

Um tubo de ensaio ou qualquer outro frasco transparente e limpo com formato de tubo (frasco de yakult bem limpo, por exemplo);

Isopor (pequeno) com gelo para colocar o álcool para gelar

Dividir a sala em grupos (4-5 alunos) para realizar o experimento

Procedimento Experimental:

1) Macere os morangos, banana ou cebola nos saquinhos plásticos (esmague com o punho) por cerca de 2 minutos. Adicione a solução de lise no saquinho (20 colherzinhas plástica ou cerca de 1 dedo do copo descartável, medindo pelo fundo), misture a solução chacoalhando o saquinho.

2) Coe com o auxílio da peneira e da colherzinha plástica, no copo, em seguida transfira o volume para o tubo e deixe descansar por 5 minutos, envolvendo o tubo com uma das mãos.

3) Adicione um volume igual de álcool (gelado) delicadamente pela parede e vá observando o que acontece (cerca de 3-5 minutos);

4) Decorrido este tempo, introduzir o palito de sorvete na parte de cima (sobrenadante) e retire o material de aspecto viscoso que se formou (com aspecto de cola transparente) = DNA

Nesta etapa o prof. deve perguntar como fazer para conseguir "ver" a estrutura do DNA....

Como os cientistas fizeram ou conseguiram isso? Utilizaram MO, ME, outros métodos?

Depois que concluírem: conseguiram cristais de moléculas de DNA, depois difrataram com Raios X, obtendo o mapa de difração (imagem dos átomos dos componentes químicos do DNA)

Qual a composição química do DNA? Pode também ser trabalhado conceitos históricos, etc. Após a obtenção do DNA é preciso entender quais estruturas compõem a molécula de DNA.

Será possível vocês construírem uma molécula de DNA agora, aqui na sala?

Roteiro para oficinas utilizando o kit "Construindo as moléculas da vida: DNA e RNA"

- Formação de grupos e distribuição das peças (1 conjunto para cada grupo);
- Cerca de 5 min. para todos se familiarizarem com material. Podem montar o que eles quiserem. Pede-se para que vejam o que as peças têm de igual e diferente (cor, tamanho, quantidade de orifícios, formato);
- Dizer que com 4 dicas podemos montar o modelo que representa a molécula de DNA sendo fiéis ao que ocorre na célula. Frisar que é um modelo;
- Apresentar as peças do kit: uma única peça denominada complexo fosfato-açúcar (CFA), representa o fosfato e a pentose ligados, e cinco peças simbolizam as diferentes bases nitrogenadas: pirimídicas (T, C e U) e púricas (A e G). As pontes de H são representadas duplas e triplas.

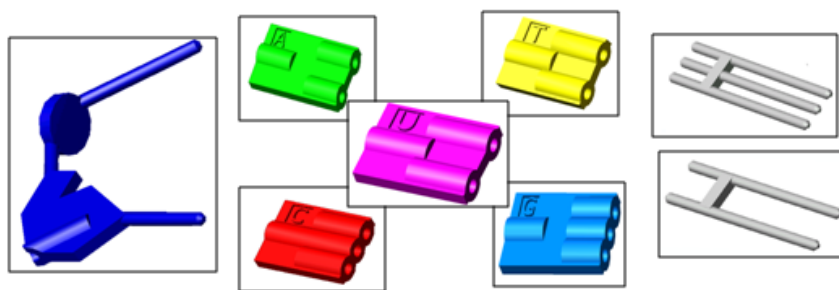


Figura 1: Peças do Kit "Construindo as moléculas da vida: DNA e RNA"

O primeiro passo é construir os nucleotídeos, estrutura básica dos ácidos nucléicos.

Dica 1: Montar vários nucleotídeos, a menor subunidade do DNA. Desenha-se um nucleotídeo didático na lousa, sinalizando onde está o fosfato, açúcar e a base.

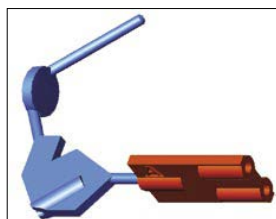


Figura 2: Modelo de nucleotídeo

Os ácidos nucléicos, DNA (ácido desoxirribonucléico) e RNA (ácido ribonucléico), são formados por subunidades denominadas nucleotídeos. Estes, por sua vez, são compostos por três grupamentos químicos: fosfato, pentose (açúcar com 5 carbonos) e base nitrogenada.

Nas moléculas de DNA, cada nucleotídeo (chamado de desoxirribonucléotídeo) contém um fosfato, uma pentose, do tipo desoxirribose, e uma das seguintes bases nitrogenadas: adenina, timina, guanina e citosina, abreviadas, respectivamente por A, T, G e C. No caso do RNA, a constituição dos nucleotídeos (denominados ribonucléotídeos) é basicamente a mesma, com exceção de que a base T é substituída pela uracila (abreviada por U) e a pentose é uma ribose.

No material "Construindo as Moléculas da Vida: DNA e RNA", uma única peça, a qual denominamos complexo fosfato-açúcar (CFA), representa o fosfato e a pentose ligados, e cinco peças com letras indicativas em auto-relevo simbolizam as diferentes bases nitrogenadas.

As peças das bases possuem tamanhos diferentes: A e G são maiores que T, C e U (alusão à estrutura molecular constituída de dois anéis aromáticos nas bases púricas, A e G, e um anel nas bases pirimídicas, T, C e U)

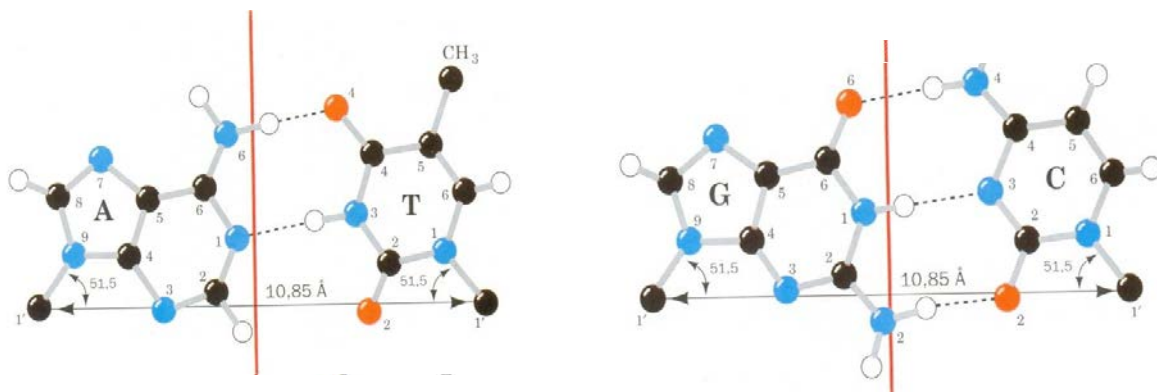


Figura 3: Complementaridade das bases nitrogenadas

De acordo com a numeração usualmente aplicada aos carbonos da pentose, o fosfato está a ela associado na posição do carbono 5' e as bases, na posição 1'. Assim, para se formar um nucleotídeo com as peças fornecidas, deve-se encaixar uma das bases nitrogenadas ao pino da posição 1' da pentose.

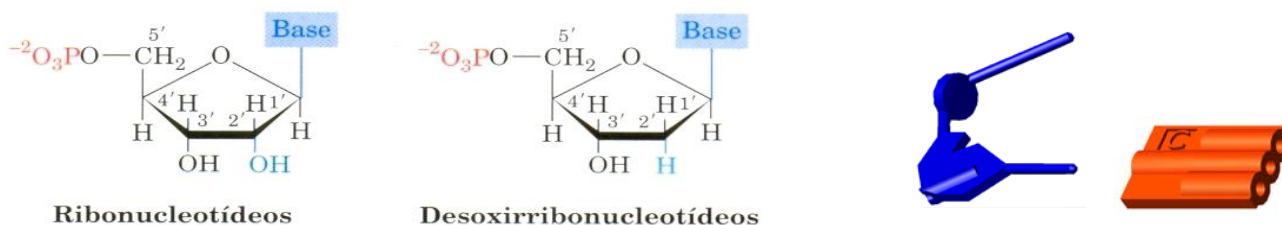


Figura 4: Ribonucleotídeos e desoxirribonucleotídeos dos ácidos nucléicos e modelo do grupo fosfato/açúcar e base nitrogenada.

- Dica 2: Montar uma cadeia de nucleotídeos com as seqüência descritas na tabela 1.

Explicar como um nucleotídeo une-se ao outro, no modelo, simulando a ligação fosfodiéster. Pedir que os alunos unam os nucleotídeos montados e assim forme uma "fita".

As representações dos nucleotídeos de DNA, montadas como proposto na figura 2, possuem um orifício na posição 3' da pentose e um pino ligado ao fosfato. Os pinos representam ligações covalentes do tipo fosfodiéster, que se formam quando estes se encaixam nos orifícios da posição 3' de outro nucleotídeo. Desta forma, através de subseqüentes ligações fosfodiéster, os grupos fosfatos unem-se às pentoses de outros nucleotídeos, gerando longas fitas chamadas de polinucleotídeos (figura 5).



Figura 5: Sequência de nucleotídeos

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7
A	A	A	A	A	T	T
T	T	A	T	A	T	T
T	G	T	T	G	T	G
T	G	T	T	C	A	C
A	A	C	T	T	A	T
A	T	G	T	T	A	T
A	C	A	T	T	T	T
T	C	A	G	T	A	T
G	A	T	G	C	A	C
T	G	T	G	G	A	G
A	A	A	G	A	A	A
A	A	C	A	A	T	A
T	C	A	A	C	C	T
T	T	T	T	G	G	G
C	T	T	T	A	A	G
G	C	T	C	T	T	A
A	G	A	G	A	A	A
A	G	A	G	A	A	T
T	G	A	T	A	A	T
T	T	T	T	T	T	C

Tabela 1: Sugestão de sequência para construção da molécula de DNA

Falar que o DNA é constituído de duas fitas e que elas se unem através das bases. Aí é o momento de falar do pareamento das bases: adenina com timina e citosina com guanina (Regra de Chargaff: A-T; C-G). Pedir que os participantes da oficina, completem primeiramente a sequência complementar do seu grupo, descrita na tabela 1, e posteriormente montem a fita complementar no modelo, respeitando a ordem da fita já montada e obedecendo o antiparalelismo. Destacar as peças que correspondem as pontes de Hidrogênio, recordando ligações químicas, e pedir

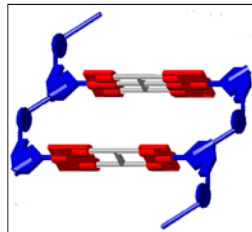


Figura 6: União das bases complementares através das pontes de H

que conectem as bases, com as ligações de hidrogênio (pontes de hidrogênio).

Os orifícios laterais encontrados nas peças representativas das bases nitrogenadas fazem alusão ao número de pontes de hidrogênio que cada nucleotídeo forma. Assim, A e T formam duas pontes de hidrogênio, enquanto G e C formam três. Estes orifícios representam o vínculo necessário para a ligação entre nucleotídeos complementares.

- Dica 4: Plano da base perpendicular ao plano do açúcar e giro do modelo (regra da mão direita ou sentido anti-horário);



Figura 7
O giro e formação da hélice.
(giro de mão direita).
Compactar, apertar por alguns segundos e soltar.

Duplicando o DNA

Uma das propriedades da molécula de DNA consiste no seu potencial de duplicação ou replicação, o qual ocorre antes do início do processo de divisão celular. A dupla hélice se separa através do rompimento das pontes de hidrogênio e novos nucleotídeos são adicionados ao longo de cada uma das fitas. Como a seqüência de uma cadeia é determinada pela seqüência da outra, conforme a regra de complementaridade das bases, os nucleotídeos incorporados às fitas recém formadas são complementares aos das "fitas-mãe". Este processo é chamado de duplicação semiconservativa, uma vez que são formadas duas moléculas de DNA idênticas à inicial, sendo cada uma constituída por uma das "fitas-mãe" e uma fita nova (figura 8).

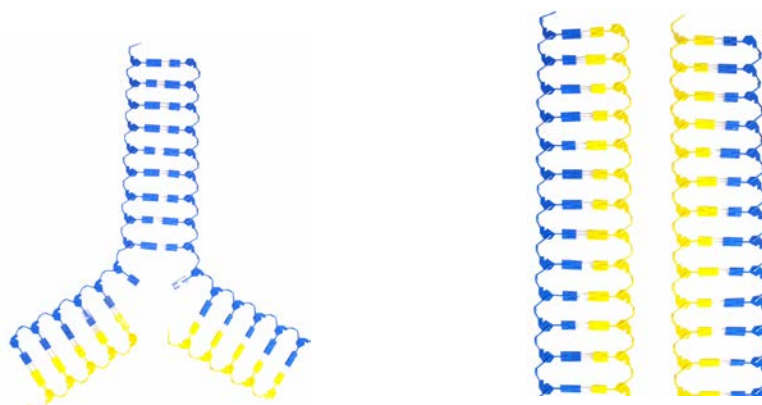


Figura 8: Início e fim da duplicação semi conservativa.

Passo 1: Distribua as peças de outra cor para os grupos (bases, grupamento fosfato-açúcar);

Passo 2: Peça para que os grupos abram a molécula montada anteriormente e, insiram os nucleotídeos de outra cor, seguindo as regras de Chargaff, utilizando as novas peças

Passo 3: Fazer com que os grupos comparem as moléculas de DNA resultantes; Mostrar utilizando os modelos de DNA, a propriedade semi conservativa das moléculas de DNA.

Assim como na molécula inicial, as duas moléculas resultantes possuem suas fitas dispostas em sentido antiparalelo. Além disso, os novos nucleotídeos incorporados somente podem ser ligados na posição do carbono 3'. Por estas razões a duplicação se dá de forma contínua para uma das fitas e descontínua para a outra, produzindo, neste último caso, fragmentos de fita que são ligados entre si ao final do processo (figura 9).

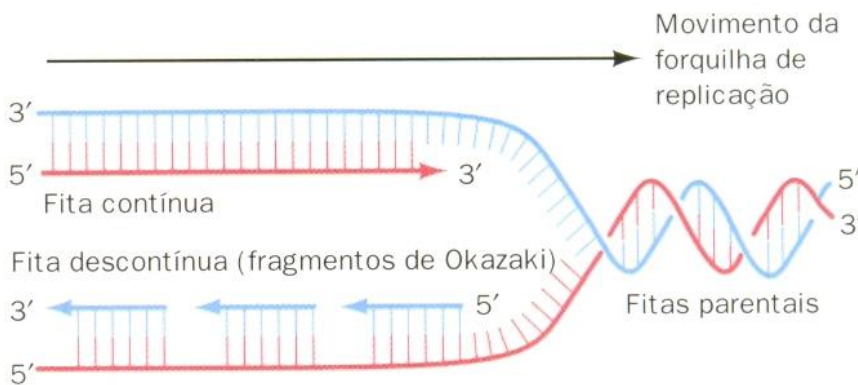


Figura 9: Duplicação, crescimento contínuo e descontínuo.

Todos os passos da duplicação do DNA, desde a abertura das fitas até a ligação dos fragmentos produzidos na fita descontínua, são conduzidos por diferentes enzimas especializadas, sendo a principal delas a DNA polimerase, a enzima responsável pela síntese do DNA, pelo fato de incorporar os novos nucleotídeos à fita molde. Como sugestão de dinâmica de estudo, cada estudante pode assumir o papel de uma determina enzima e assim exercer somente sua a função específica (a helicase, para desfazer a hélice, as polimerases).

Enzimas de restrição: tesouras de DNA

Um dos grandes desafios vivenciados pelos professores em geral é como elaborar uma "aula científica" que corresponda às diretrizes dos PCN's, mas que tenha uma linguagem acessível fazendo com que o aluno entenda o

tema tratado. Neste texto, pretende-se fornecer um instrumento para que o professor possa entender a técnica desenvolvida durante o curso e suas implicações na ciência e na sociedade da forma pela qual é empregada hoje.

DNA e organismos transgênicos, são assuntos que estão em pauta atualmente por sua importância. Mas o que é o DNA? Por que o DNA é importante? O que são organismos transgênicos? Como são “criados” organismos transgênicos? Como manipular o DNA? Para que manipular o DNA? O que isso tudo tem a ver com a vida dos meus alunos? Para responder a essas perguntas precisamos entender alguns conceitos e suas aplicações.

As enzimas... de restrição: o que são e o que fazem?

Os organismos muitas vezes são confrontados com o problema de terem que lidar com DNA estranho, normalmente provenientes de vírus ou bactérias (DNA exógeno) que podem perturbar o metabolismo normal da célula e desencadear processos que levam à morte celular. A bactéria *Escherichia coli*, um organismo procaríoto, resolveu este problema através de um mecanismo que destrói o DNA invasor, produzindo enzimas específicas para esta finalidade. Estas enzimas são chamadas de endonucleases de restrição, que dizemos enzimas de restrição. Essas enzimas atuam como tesouras, cortando o DNA invasor em diversos fragmentos. Estes locais, onde o DNA é cortado, contém uma sequência de bases específica e são chamados de palíndromes ou sequências palindrômicas isto é – sequências em que a leitura de ambas as fitas é a mesma na direção 5' para 3' possuindo uma dupla simetria rotacional. Essas sequências são normalmente curtas contendo 4, 6 ou 8 pares de bases. As enzimas de restrição são de grande importância no estudo do DNA, pois permitem ao cientista cortar grandes moléculas de DNA em fragmentos menores. Antes da descoberta das enzimas de restrição não sabíamos como poderíamos cortar com precisão um gene de um trecho da cadeia de DNA, enfim, não podíamos manipular o objeto de estudo.

As enzimas de restrição podem ser classificadas segundo:

Composição de sequência nucleotídica:

- Posição de clivagem
- Sequência de reconhecimento
- Co-fatores envolvidos
- Estrutura da enzima em causa.

As enzimas de restrição são classificadas de acordo com suas estruturas e especificidade

Tipo I, Tipo II, Tipo III. A do tipo II é a mais empregada na tecnologia do DNA recombinante.

Como as enzimas de restrição são nomeadas?

Os nomes dados às enzimas de restrição indicam o organismo do qual ela foi purificada. Exemplos:

Nome da enzima	Bactéria de origem	Sítio de restrição
Aha III	<i>Aphanothece holophytica</i>	5' - TTTAAA - 3' 3' - AAATTT - 5'
Bam HI	<i>Bacillus amyloquefaciens</i> H	5' - GGATCC - 3' 3' - CCTAGG - 5'
Eco RI	<i>Escherichia coli</i> RY 13	5' - GAATTC - 3' 3' - CTTAAG - 5'
Hind III	<i>Haemophilus influenzae</i> Rd	5' - AAGCTT - 3' 3' - TTCGAA - 5'
Taq I	<i>Thermus aquaticus</i> YTI	5' - TCGA - 3' 3' - AGCT - 5'

Tabela 2: Enzimas de restrição e seus respectivos sítios de clivagem

Algumas enzimas clivam (cortam) a molécula de DNA em sítios que não estão perfeitamente alinhados, deixando “caudas” de fitas simples nos novos terminais. Esse tipo de terminação é chamado de “extremidades coesivas”, pois se liga facilmente a sua coesiva complementar. Nem todas as enzimas de restrição possuem finais coesivos, pois algumas enzimas cortam a fita de DNA sobre o mesmo eixo, de forma alinhada, produzindo uma extremidade “cega”.

Um bom exemplo é a Eco RI que corta cada fita de DNA entre as bases G e A. Depois que as clivagens são feitas o DNA permanece unido por pontes de hidrogênio entre as quatro bases do meio. Como as pontes de hidrogênio são ligações fracas, o DNA se separa.

Quando os cientistas estudam a molécula de DNA, uma das primeiras etapas é determinar os vários sítios de restrição deste DNA que, em bactérias, localizam-se no plasmídeo – fitas de DNA circular extracromossômico - que dentre outros, contém genes que confere às bactérias resistência a um dado antibiótico. Eles então constroem um mapa de restrição mostrando a localização dos sítios de clivagem para as diferentes enzimas. Esses mapas são utilizados como um mapa da molécula de DNA.

Atualmente é possível construir mapas de restrição com DNAs da maioria das espécies vivas. Conhecendo a localização dos sítios de clivagem, por exemplo nos plasmídeos da *E. coli*, pode ser inseridos genes de outra espécie de ser vivo, os chamados genes de interesse ou exógenos. Assim, podemos utilizar a bactéria *E. coli*, para expressar genes de determinada proteína, por exemplo hormônio de crescimento, insulina, que são utilizados como medicamentos. Esses hormônios ou outra proteína qualquer, produzida por um microorganismo no qual foi inserido um gene de interesse, é chamado de proteína ou hormônio recombinante. Com esta tecnologia, é possível produzir plantas resistentes a pragas, adaptar plantas para cultivo em terras inóspitas, adaptá-las a condições climáticas adversas, enriquecer plantas alimentícias com nutrientes especiais, usar as plantas como produtoras de substâncias para fins terapêuticos, utilização industrial.

Separação dos fragmentos obtidos após degradação com enzimas de restrição

Os fragmentos gerados pela digestão por enzimas de restrição podem ser analisados por meio da técnica de eletroforese em gel de agarose. Esta técnica separa diferentes tamanhos de fragmentos de DNA, com base em sua carga líquida e tamanho, obtendo-se assim o mapa de restrição do DNA em estudo. O DNA digerido é colocado em um poço do gel (que tem aspecto de gelatina) e este é submetido a um campo elétrico em uma cuba específica. Ao gel de agarose, antes do início da eletroforese, é introduzido um corante chamado brometo de etídio, um composto fluorescente (que se liga às bases), que embora seja carcinógeno e mutagênico é utilizado para esta finalidade e precisa ser manipulado com muito cuidado. Os fragmentos de DNA irão se mover na direção do pólo positivo, uma vez que a molécula de DNA é negativa devido à presença de grupamentos fosfato. A separação em diferentes bandas ocorre de acordo com as propriedades de cada fragmento (carga líquida/tamanho). Quanto maior o fragmento, mais lenta será a migração e, deste modo, fragmentos menores chegam ao final da placa do gel em menos tempo. Esta técnica é utilizada para averiguar se realmente o DNA digerido foi clivado, e saber qual o tamanho de cada fragmento do DNA digerido. Os fragmentos, ligados com brometo de etídio, quando estimulado com uma luz adequada, emitem luz na região do ultravioleta, permitindo a visualização dos diferentes fragmentos a revelação do mapa de restrição do DNA em estudo.

Podemos saber o tamanho dos fragmentos em pb, (pares de bases), por meio de marcadores ou padrões que aplicamos no gel. A cada mil pares de base teremos 1 Kpb.

A eletroforese em gel pode ser usada para se fazer mapas de restrição. O mapa pode ser feito clivando o DNA com duas ou mais enzimas de restrição, individualmente ou em mistura. Após a separação dos fragmentos os mapas são construídos.

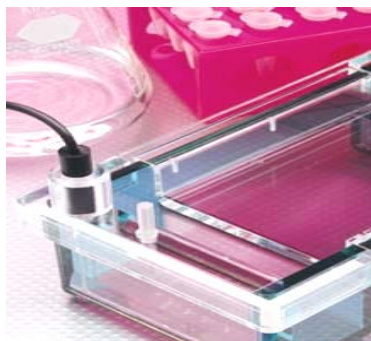


Figura 10: Gel em cuba de eletroforese

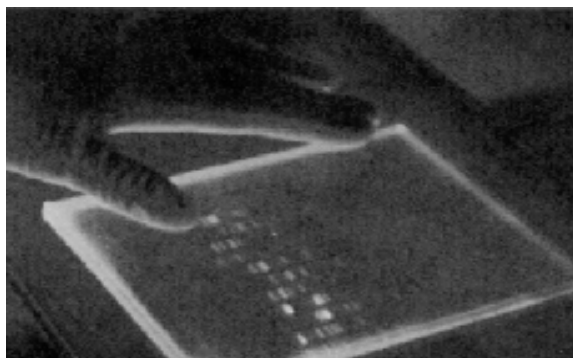


Figura 11: Gel de eletroforese iluminado com luz ultravioleta.

Uma outra aplicação bastante conhecida das enzimas de restrição é na identificação de pessoas: em teste de paternidade, identificação de criminosos etc. O DNA sob investigação, depois de tratado (por clivagem), pode ser separado em eletroforese e comparado com outros DNAs, também clivados, como o do suposto filho ou pai, ou DNA recolhido na cena do crime etc. Como a informação genética contida em cada molécula de DNA é única para qualquer indivíduo, o DNA de cada indivíduo apresenta um padrão eletroforético. Comparando-se os três padrões, o suposto pai pode ser identificado, lembrando que a criança tem 50% da carga genética da mãe e 50% do pai. Assim, o mapa de restrição de cada indivíduo é único e corresponde à sua "impressão digital" genética.

Teste de identificação de pessoas

As técnicas da Engenharia Genética permitem identificar pessoas pela análise de suas moléculas de DNA (ácido desoxirribonucléico), a substância que constitui os genes. Com exceção dos gêmeos univitelinos, cada pessoa possui um conjunto de genes e, portanto, de moléculas de DNA, único e particular.

O processo mais simples para caracterizar o DNA consiste em cortar estas moléculas com o auxílio das chamadas "tesouras moleculares", as enzimas de restrição, analisando em seguida o tamanho dos fragmentos que se formaram. Como cada pessoa tem seqüências típicas de bases nitrogenadas, o número e o tamanho dos fragmentos obtidos pelo corte enzimático acabam por caracterizar seu DNA.

O tamanho dos "fragmentos de restrição", como são chamados os fragmentos obtidos após o corte enzimático, é determinado através da técnica de eletroforese. Sob a luz ultravioleta, o DNA previamente tratado fluoresce, revelando um padrão de faixas típico do DNA analisado.

Problematização1: Quem é o criminoso?

"Em uma pacata cidadezinha do interior de São Paulo ocorreu um assalto ao único banco da cidade. Um homem alto encapuzado conseguiu render o vigia e levou todo o dinheiro das pessoas que estavam no banco. Mas antes de sair ileso o vigia lhe deu um soco e um pouco de sangue do ladrão ficou respingado no chão. Coincidentemente outros roubos como esse já tinham acontecido nesse mesmo banco anteriormente e os policiais já estavam atentos.

A polícia suspeitava de cinco pessoas, mas com esse novo caso, já se somavam seis suspeitos. Porém com a amostra de sangue do ladrão, agora já podiam ser realizados testes de DNA. Você pode ajudar a polícia?"

O grupo 1 representa o material genético encontrado na cena do crime. E os demais grupos os seis suspeitos de terem assaltado o banco.

Nesta atividade você aplicará os princípios da identificação de pessoas pelo DNA simulando uma eletroforese em gel de agarose. Para este exercício, retome a seqüência da dupla fita de DNA, preenchida na tabela 1.

O primeiro passo para a análise do DNA é cortá-lo utilizando enzimas de restrição. Todos os grupos deverão utilizar as mesmas enzimas de restrição: *Aha* III, *Bam* HI, *Eco* RI, *Hind* III e *Taq* I, para produzir os fragmentos na molécula de DNA.

Para facilitar, essas "seqüências de corte" estão destacadas na tabela 2, página 6. Localize, nos dois segmentos de DNA de cada pessoa, todas as seqüências de corte. Marque-as a lápis com um traço horizontal, de modo a separar os sítios de restrição.

O passo seguinte é organizar os fragmentos obtidos por ordem de tamanho. Para isso, conte o número de pares de bases de cada fragmento e complete o preenchimento da tabela 3, para o seu grupo. Cada coluna da tabela simula o padrão eletroforético de uma pessoa, onde os fragmentos de DNA se distribuem em faixas por ordem de tamanho. A tabela 3 deverá ser reproduzida na lousa, onde todos os grupos anotarão os dados obtidos de modo que a tabela seja completada com todos os padrões eletroforéticos.

Tamanho do Fragmento (PB)	Grupo 1 Amostra da cena do crime	Grupo 2 Suspeito 1	Grupo 3 Suspeito 2	Grupo 4 Suspeito 3	Grupo 5 Suspeito 4	Grupo 6 Suspeito 5	Grupo 7 Suspeito 6
20							
19							
18							
17							
16							
15							
14							
13							
12							
11							
10							
9							
8							
7							
6							
5							
4							
3							
2							
1							

Tabela 3: Dados do perfil de DNA

Sua tarefa é analisar os dados e determinar se algum dos suspeitos é realmente o assaltante do banco.

Quem é o criminoso?

Problematização 2: Troca de bebês

“No dia 6 de junho, aproximadamente às 13 horas, a Senhora Silva, a Senhora Carvalho e a Senhora Almeida deram à luz bebês do sexo masculino em uma maternidade municipal. Às 13:20 h o alarme de incêndio da maternidade soou. Enfermeiros e assistentes subiram para retirar as pacientes e, por segurança, os 3 bebês foram retirados rapidamente. Depois de passado o perigo, a equipe da maternidade estava aflita com uma confusão: eles não sabiam mais que bebê era de quem! Como os bebês foram retirados do prédio antes de receberem seus braceletes de identificação, não havia nenhum modo fácil de identificá-los. O chefe dos pediatras ordenou que fossem feitas as tipagens do DNA dos bebês e dos seus pais. O laboratório de tipagem de DNA solicitou amostras de sangue dos bebês e de todos os pais”.

Sua tarefa agora é identificar os pais de cada bebê. Para afirmar que determinado bebê pertence a um dos casais, todas as bandas do perfil do bebê devem coincidir com uma banda da mãe ou do pai. Nem todas as bandas dos perfis da mãe e do pai terão uma cópia no perfil de DNA do bebê (sugestão: use uma régua para alinhar as bandas).

Quais são os pais de cada bebê? Mostre as bandas que cada bebê herdou de sua mãe e de seu pai, marcando as bandas com as letras M (mãe) e P (pai).

Por que o sangue é importante para a realização do teste?

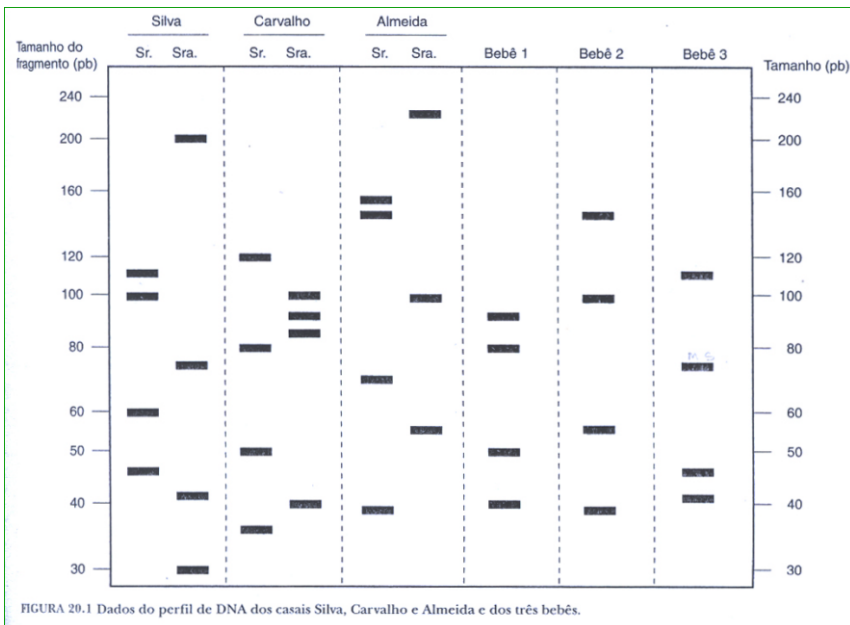


FIGURA 20.1 Dados do perfil de DNA dos casais Silva, Carvalho e Almeida e dos três bebês.

Figura 12: Dados do perfil de DNA dos casais Silva, Carvalho e Almeida (Kreuzer & Massey, 2002).

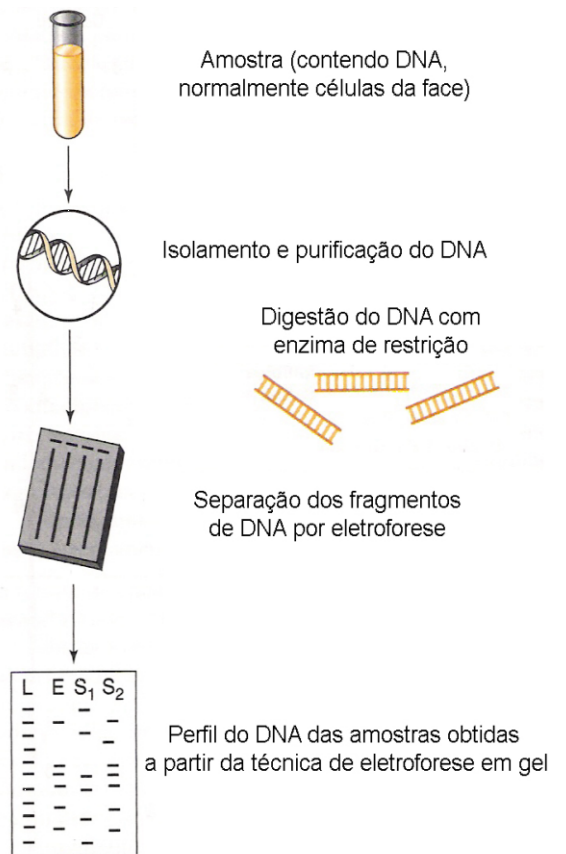


Figura 13: Determinação de um perfil de DNA.

GABARITO

Simulando a identificação de pessoas através do DNA

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7
A	T	A	A	A	T	T
T	A	A	T	A	A	T
T	A	T	T	G	T	G
T	A	A	T	C	A	C
A	T	C	T	T	A	T
A	T	G	T	T	A	T
A	T	A	T	T	A	T
T	A	A	G	T	A	T
G	C	T	G	C	A	C
T	A	T	G	G	A	G
A	T	A	G	A	A	A
A	T	C	A	T	T	A
T	A	A	A	C	C	T
T	A	T	T	G	G	G
C	G	T	T	A	A	G
G	C	T	C	T	T	A
A	T	A	G	A	A	A
A	T	A	G	A	A	T
T	A	A	T	A	A	T
T	A	T	T	T	T	C

Figura 14: Sequências de DNA completas para montagem dos grupos de professores

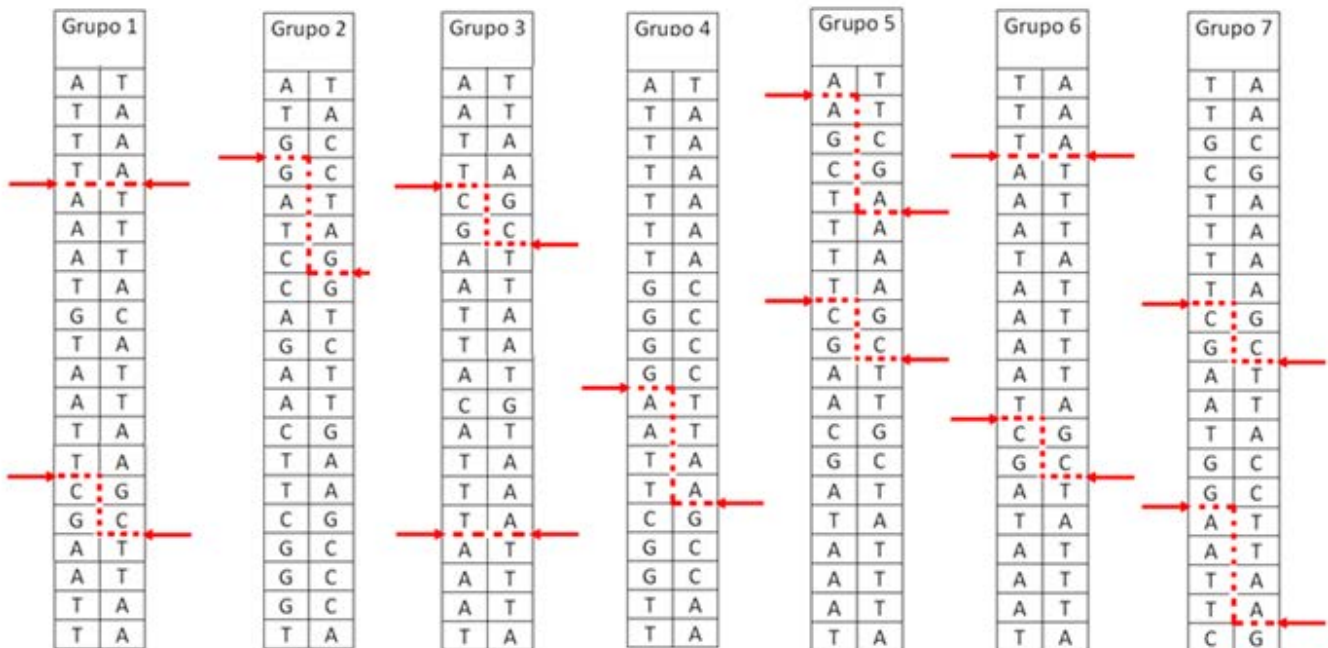


Figura 15: Sequências de DNA identificadas com os sítios de restrição

Tamanho do Fragmento (pb)	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7
20							
19							
18							
17							
16							
15		■					
14							
13				■			
12							
11	■		■		■		
10						■	
9							■
8							■
7				■		■	
6					■		
5	■	■	■				
4	■		■				
3					■	■	■
2							
1							

Figura 16: Padrão eletroforético das sequências de DNA