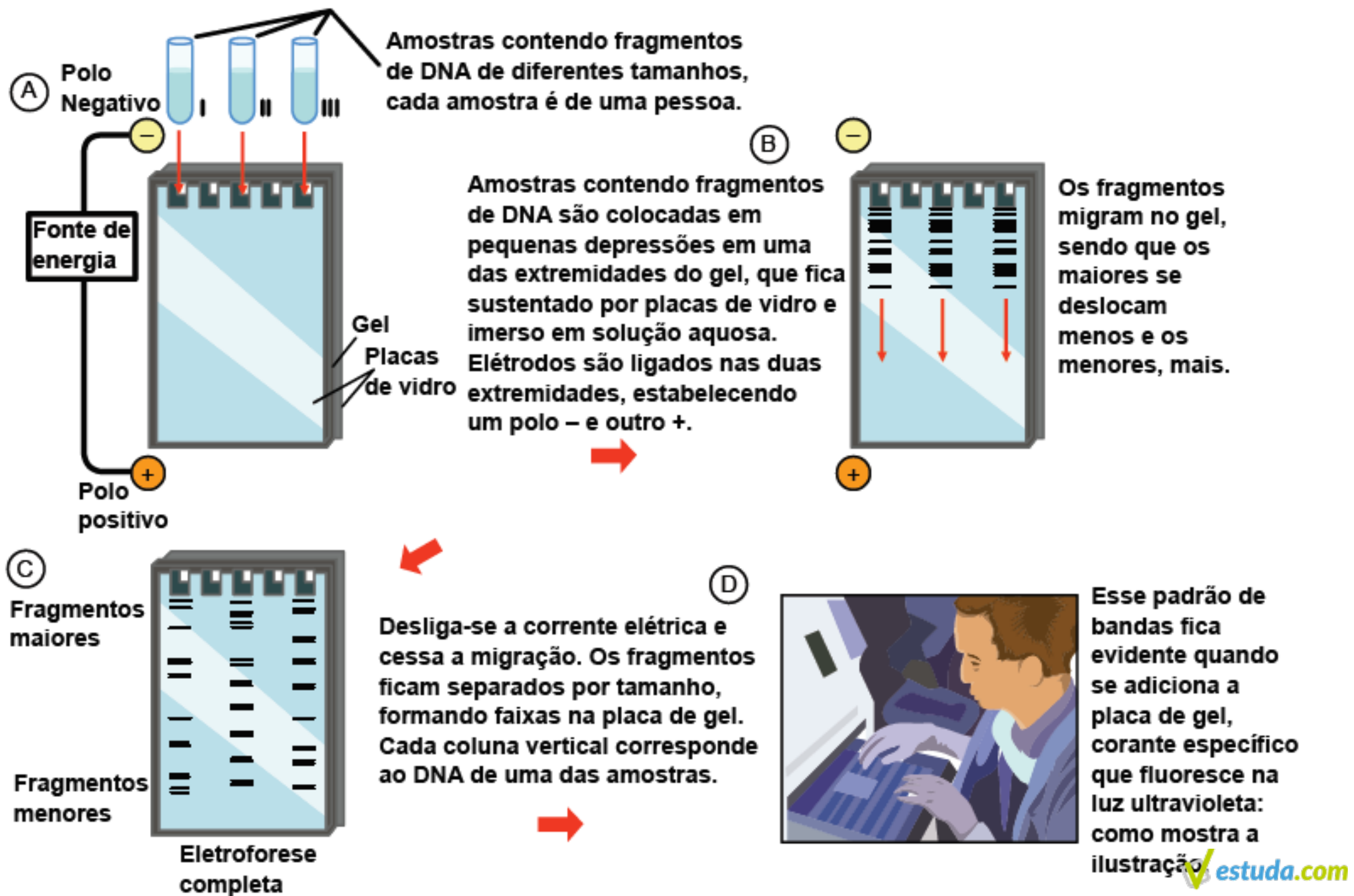


Testagem e PCR

Prof. Alison
Biologia

Teste de DNA

O processo de identificação de uma pessoa pode ser feito de muitas formas, porém, em algumas situações, a identificação deve ser realizada utilizando-se algum método científico, como o teste de DNA, por uma técnica denominada DNA-fingerprint ou impressão digital de DNA.



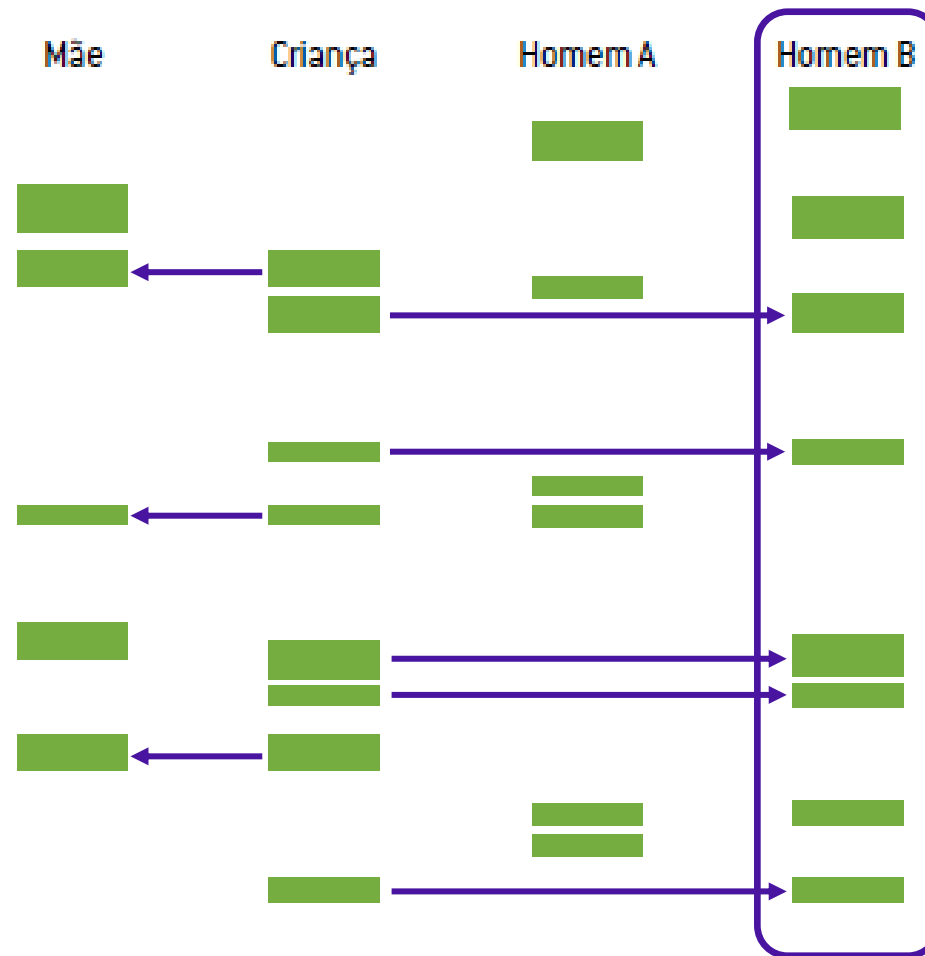
Teste de DNA

No caso de um estupro, segmentos do DNA da vítima, do esperma e dos suspeitos são preparados e separados por eletroforese, tendo-se obtido as bandas, como mostrado a seguir.



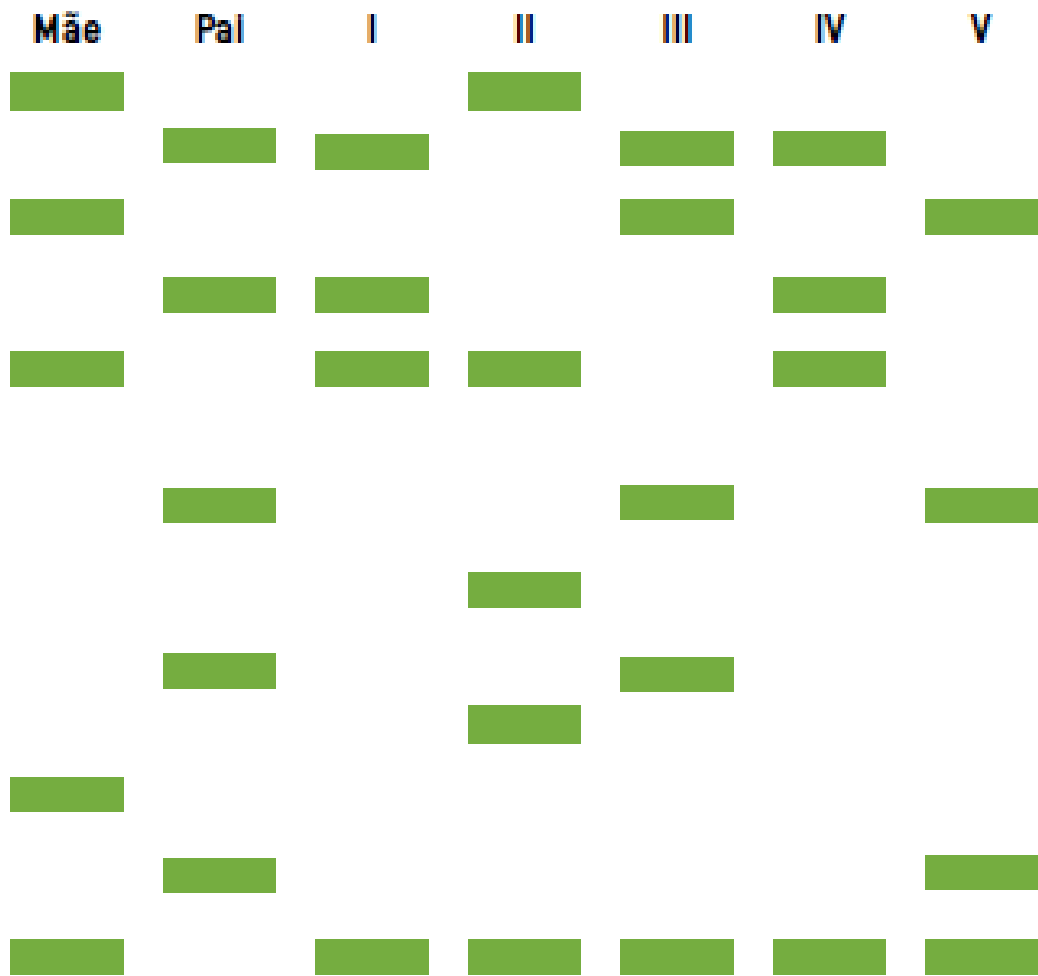
Tecnologia do DNA recombinante

No caso de paternidade, a análise deve ser feita admitindo-se que a criança possui metade do DNA nuclear do seu pai e outra metade da sua mãe.



Exemplo

A figura representa o resultado de um teste de paternidade. Este teste baseia-se na identificação de marcadores genéticos compartilhados ou não por pai, mãe e filhos.



Considerando a figura, marque V ou F:

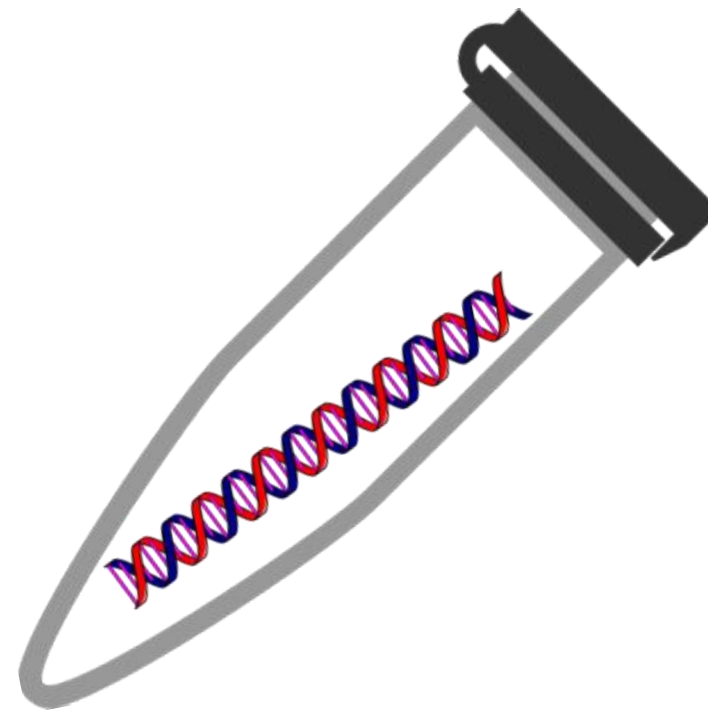
- é filho biológico do casal.
- V não pode ser filho biológico deste casal.
- I não é filho deste pai.
- II é irmão biológico de I.
- V e I são irmãos gêmeos monozigóticos.

Técnica de PCR

A técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) permite multiplicar um trecho específico do DNA milhares de vezes sem a utilização de organismos vivos.

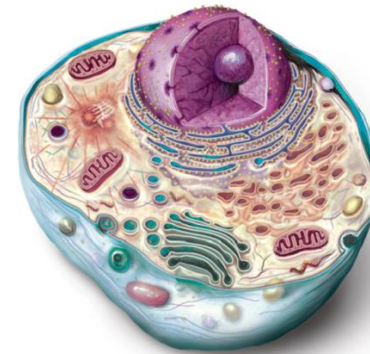
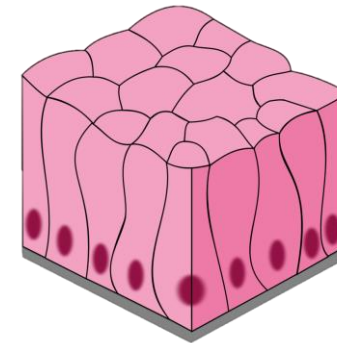
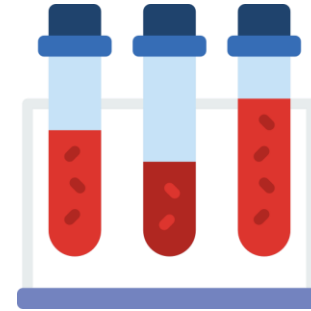


TERMOCICLADOR



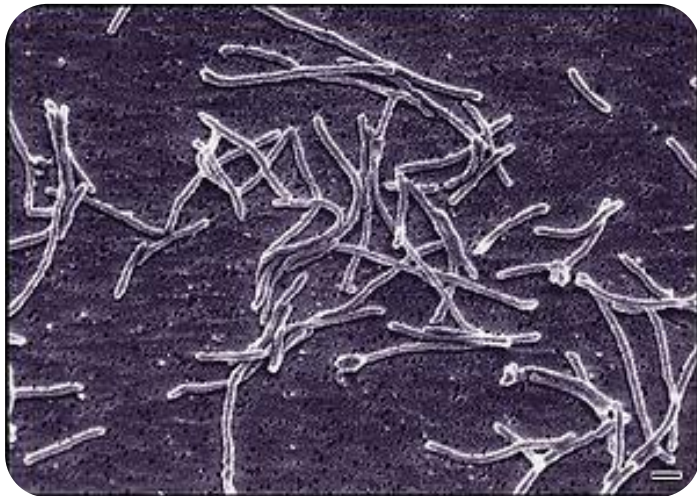
Técnica de PCR

É possível a amplificação de qualquer sequência de DNA obtida de amostras de sangue, urina, fragmentos de tecidos e também de micro-organismos, células animais ou vegetais, mesmo que com milhares de anos.



Técnica de PCR

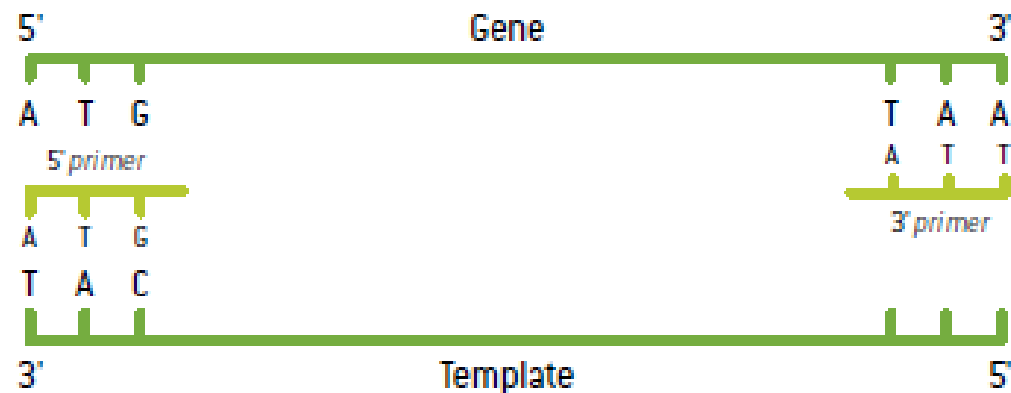
A reação baseia-se na função natural de uma enzima termoestável, chamada de taq DNA polimerase, extraída da bactéria *Thermus aquaticus*, uma extremófila encontrada em fontes hidrotermais.



Técnica de PCR

O processo ocorre em três etapas, que em conjunto se designam como um ciclo que se repete um número específico de vezes:

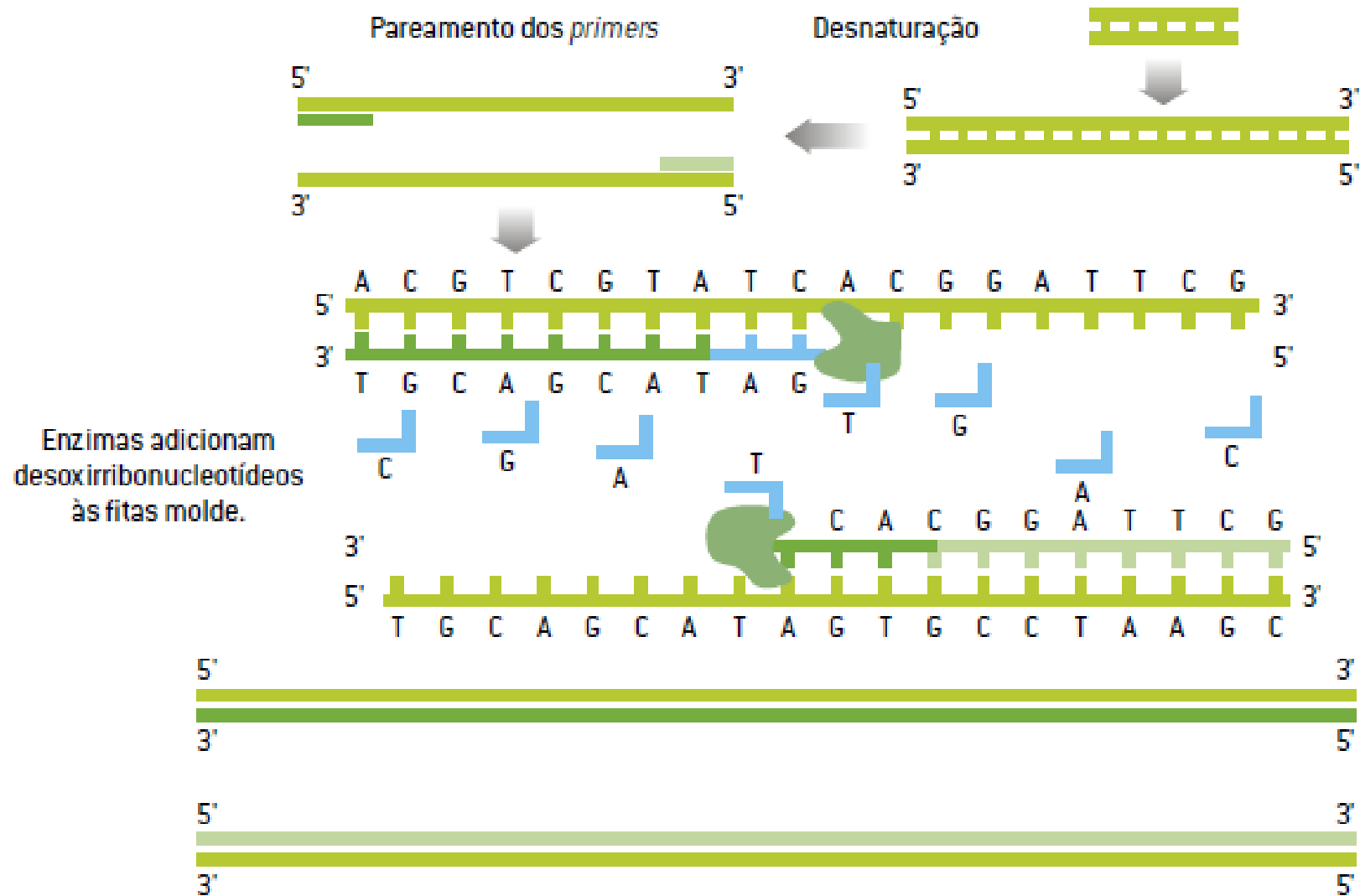
1. desnaturação das cadeias de DNA: em torno de 92 °C, as duas cadeias de DNA são separadas;



A desnaturação separa a molécula de DNA em duas fitas de nucleotídeos e, a seguir, ocorre o anelamento dos primers (iniciadores).

Técnica de PCR

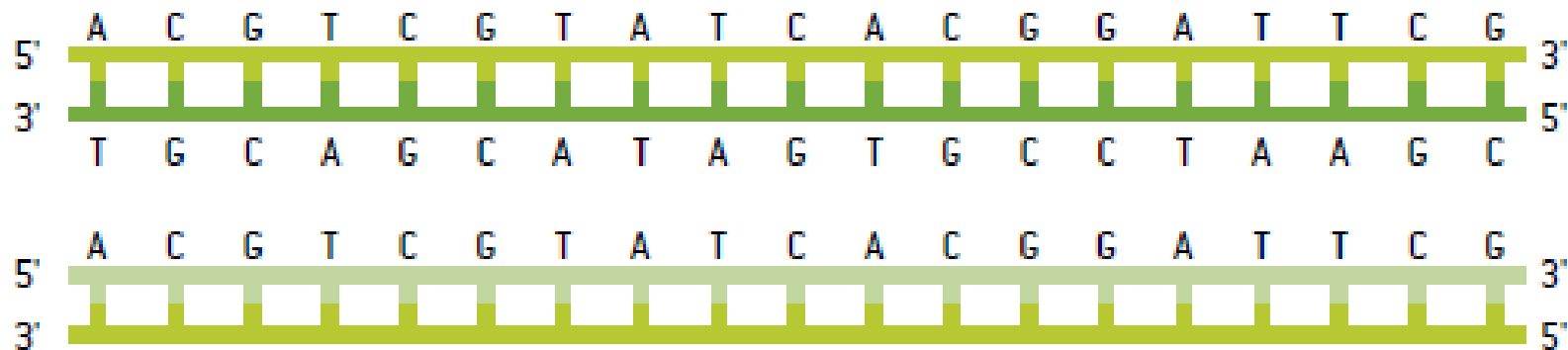
2. hibridação (hibridização) ou anelamento dos primers: em torno de 55 °C, ocorre o emparelhamento dos iniciadores a um local específico da cadeia de DNA;



Técnica de PCR

3. extensão: em torno de 72°C, a DNA polimerase sintetiza novas fitas de DNA complementar. Posteriormente, reinicia-se um novo ciclo.

Fitas molde, pareadas com as suas fitas complementares, sintetizadas por meio da adição dos desoxirribonucleotídeos pela DNA polimerase



A quantidade de DNA final segue uma função exponencial. A concentração final do DNA molde na solução é muito maior, da ordem de 2^{35} , do que a inicial, possibilitando a sua identificação.

Exemplo

Em 1993, o pesquisador e surfista Kary Mullis ganhou o prêmio Nobel de química pela descoberta e aplicação das propriedades da enzima Taq polimerase, isolada da bactéria *Thermus aquaticus*, encontrada em fontes hidrotermais. A enzima realiza a duplicação artificial do DNA por meio de uma reação em cadeia da polimerase (PCR), e tal propriedade tem sido aplicada em testes de mapeamento genético humano. Sobre os processos de replicação celular e *in vitro* do DNA, considere as proposições que se seguem.

- (✓) Devido ao tamanho relativamente menor e à mais alta taxa metabólica, organismos procariotos replicam o DNA mais rapidamente que organismos eucariotos.
- (✓) A enzima DNA polimerase pareia novos nucleotídeos a cada uma das fitas mães do DNA, à medida que a forquilha de replicação promove a separação das mesmas no núcleo celular.

Exemplo

- (✘) Na divisão celular, uma das fitas novas do DNA será produzida de forma contínua, no sentido oposto à forquilha de replicação, enquanto a outra será produzida em partes, depois unidas por enzimas.
- (✔) Na PCR, a separação da dupla fita do DNA é realizada elevando-se a temperatura até próximo de 100°C; o início da replicação depende da união de oligonucleotídeos específicos ao DNA.
- (✘) A confiabilidade dos testes de paternidade com a análise do DNA chega a 99,9 %, porque um grande número de genes de todos os cromossomos do suposto pai e do suposto filho são analisados.

OBRIGADO!

Prof. Alison
Biologia