

I

Mutações

"Todos os seres vivos têm genes, sob a forma de DNA. Sem mutações no DNA a vida na Terra não poderia ter evoluído. As mutações podem afectar a funcionalidade de um gene, o que pode consequentemente provocar alterações na aparência de um organismo ou mesmo, no seu comportamento. Por vezes, uma nova variante de um gene pode significar que um organismo está mais adaptado ao seu ambiente, aumentando as suas hipóteses de sobrevivência (...)"

<http://www.sciencemuseum.org.uk/on-line/genes/179.asp>

1. Um gene corresponde a... (0,25 valores)
 - a. toda a informação genética de um organismo.
 - b. uma molécula de DNA.
 - c. **um segmento de DNA.**
 - d. uma localização física num cromossoma.
 - e. um cromossoma.

2. As mutações génicas... (0,25 valores)
 - a. envolvem todos os genes de um indivíduo.
 - b. envolvem a estrutura de um cromossoma.
 - c. envolvem mudanças no número de cromossomas de um indivíduo.
 - d. **correspondem sempre a mudanças de um único nucleótido da sequência genética que compõe um gene.**

3. Se houver uma alteração do DNA por inserção ou delecção de um nucleótido numa das cadeias, vai ocorrer um deslizamento de nucleótidos comparativamente à sequência original. Identifica o tipo de mutação génica está associada a este tipo de alterações. (0,25 valores)

R. Mutação por alteração da grelha ou modo de leitura.

4. A figura 1 corresponde ao processo da tradução na síntese proteica. A imagem de cima representa a tradução numa célula normal e a imagem de baixo a tradução numa célula cujo ADN sofreu uma mutação génica. Observa atentamente a figura e responde às seguintes questões:

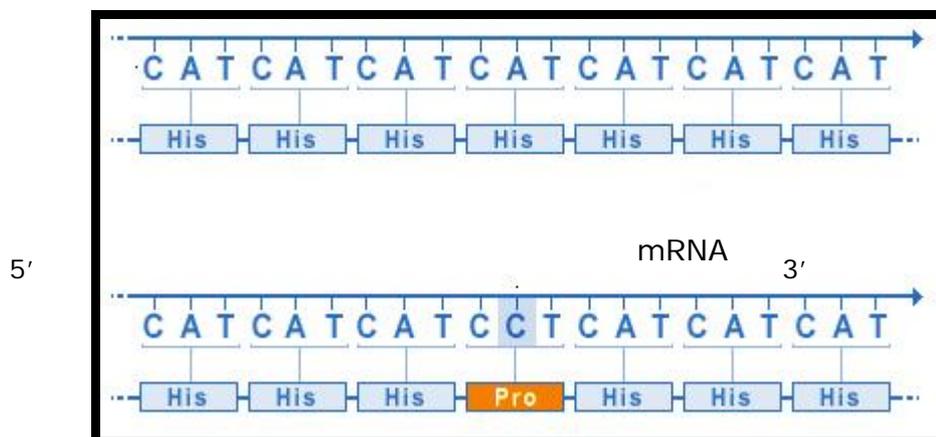


Figura 1 - Tradução

- 4.1 Identifica o tipo de alteração que deverá ter ocorrido no DNA para que se produza a proteína alterada, representada na figura 1.

(0,25 valores)

R: Ocorreu uma substituição de uma Timina por uma Guanina.

- 4.2 Como classificas este tipo de mutação génica?

(0,25 valores)

R: Mutação por perda de sentido.

- 4.2.1 Justifica a tua resposta à questão anterior.

(0,25 valores)

R: Houve apenas alteração de um aminoácido comparativamente à proteína original.

- 4.3 Se esta alteração no DNA desse origem a um códon STOP, como classificarias a mutação?

(0,25 valores)

R: Mutação sem sentido.

- 4.4 Devido à redundância do código genético, algumas mutações pontuais não provocam alterações nos aminoácidos sintetizados aquando da tradução do mRNA. Como se denominam essas mutações?

(0,25 valores)

R: Mutações silenciosas.

5. Os doentes com leucemia mielóide crónica apresentam uma anomalia cromossómica específica denominada cromossoma Filadélfia (Ph), que geralmente resulta de uma translocação entre os cromossomas 9 e 22. Esta translocação envolve um movimento de um proto-oncogene que está normalmente situado no cromossoma 9.

(1,75 valores)

- 5.1. Classifica o tipo de mutação ocorrida nestes doentes.

(0,25 valores)

R: Mutação cromossómica estrutural.

5.2. Como pode esse tipo de alteração dar origem a um oncogene?

(0,5 valores)

R: A translocação pode ocorrer em zonas onde existem promotores e produzir proteínas em excesso e descontroladamente.

5.3. De que outras formas um proto-oncogene pode ser activado dando origem a um oncogene?

(1 valor)

R:
0,5v → Através de uma mutação pontual no proto-oncogene que produz proteínas mais resistentes à degradação ou mais activas, e

0,5v → através da amplificação do proto-oncogene, que produz proteínas a duplicar ou a triplicar.

6. Identifica, para cada descrição, o tipo de mutação cromossómica estrutural a que corresponde:

(1 valor)

6.1 Perda de um segmento cromossómico, ou seja, parte do material genético é removido;

(0,25 valores)

R: Delecção

6.2 Existência de duas cópias de uma dada região cromossómica;

(0,25 valores)

R: Duplicação

6.3 Remoção de um segmento de DNA e inserção invertida num outro local do cromossoma;

(0,25 valores)

R: Inversão

6.4 Troca de segmento de DNA entre cromossomas não homólogos.

(0,25 valores)

R: Translocação

7. Faz corresponder as síndromes enunciadas na coluna I, com o tipo de anomalias a elas associadas na coluna II e se achares necessário, identifica os cromossomas afectados por essa anomalia na coluna III (1,25 valores)

Coluna I		Coluna II		Coluna III
Síndrome de Klinefelter	0,08v	<u>Anomalia cromossómica numérica:</u> Trissomia	0,08v	Anomalia heterossómica: 47, XXY
Síndrome de Down	0,08v	<u>Anomalia cromossómica numérica:</u> Trissomia	0,08v	Anomalia autossómica 47, XX +21 47, XY +21
Leucemia Mielóide Crónica	0,16v	<u>Anomalia cromossómica estrutural:</u> Translocação		
Síndrome de Turner	0,08v	<u>Anomalia cromossómica numérica:</u> Monossomia	0,08v	Anomalia heterossómica: 45, XO
Síndrome de Edwards	0,08v	<u>Anomalia cromossómica numérica:</u> Trissomia	0,08v	Anomalia autossómica 47, XX +18 47, XY + 18
Síndrome de Patau	0,08v	<u>Anomalia cromossómica numérica:</u> Trissomia	0,08v	Anomalia autossómica 47, XX +13 47, XY + 13
Síndrome Crie-du-chat	0,16v	<u>Anomalia cromossómica estrutural:</u> Delecção		
Síndrome de Wolf-Hirschhorn	0,16v	<u>Anomalia cromossómica estrutural:</u> Delecção		

8. A não disjunção de certos cromatídeos durante a segunda divisão da meiose origina indivíduos... (0,25 valores)

- aneuplóides
- diplóides.
- triplóides.
- euplóides
- aneuplóides e diplóides.
- aneuplóides e triplóides.

9. A figura 2 representa uma alteração na meiose que levou à formação de um indivíduo poliplóide.

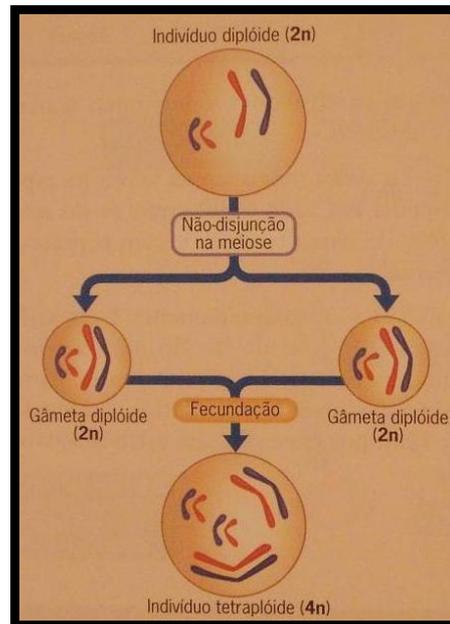


Figura 2 – Formação de um indivíduo poliplóide

9.1 Identifica o tipo de alteração que ocorreu durante a meiose.

(0,5 valores)

R:

Não disjunção de cromossomas homólogos na meiose

ou

Não disjunção dos cromossomas na divisão I.

9.2 Refere duas outras formas de se originarem indivíduos poliplóides.

(1 valor)

R:

→0,5v - Não ocorrência de citocinese (na meiose ou na mitose) e

→0,5 v - cruzamento entre espécies diferentes.

- 9.3** Tanto a mula como o *T.turgidum* (uma das espécies do Trigo) são indivíduos estéreis, resultantes do cruzamento entre indivíduos de espécies diferentes. No entanto, a certa altura o *T.turgidum*, tal como outras plantas, adquire a capacidade de se reproduzir, enquanto que a mula não. Qual a vantagem biológica existente nas plantas que lhes permite continuar a dispersar a sua semente? **(1 valor)**

R:

→ **0,5v** - As plantas têm a capacidade de se reproduzir assexuadamente ou

→ **0,5v** - por auto-fecundação, multiplicando o seu genoma de modo a produzir cromossomas homólogos que lhes permitem realizar a meiose, produzindo assim os seus gâmetas.

Conteúdo e Organização	Nível 3	Nível 2	Nível 1
Contempla dois elementos	1	0,9	0,8
Contempla um elemento	0,5	0,4	0,3

Nível 3 – Redacção coerente no plano lógico-temático (encadeamento lógico do discurso, de acordo com o solicitado no item). Utilização de terminologia científica adequada e correcta.

Nível 2 – Redacção coerente no plano lógico-temático (encadeamento lógico do discurso, de acordo com o solicitado no item). Utilização, ocasional, de terminologia científica não adequada e/ou com incorrecções.

Nível 1 – Redacção com falhas no plano lógico-temático, mesmo que com correcta utilização de terminologia científica.

- 10.** As mutações espontâneas podem ser causadas por... **(0,5 valores)**

- Radiações UV
- Radiações ionizantes
- Ácido Nítrico
- Gás mostarda
- Todas as opções anteriores são falsas**

- 10.1** Justifica a opção que escolheste. **(1 valor)**

R:

0,7 valores

Todas as opções representam agentes mutagénicos, que causam mutações induzidas e não mutações espontâneas.

0,3 valores

As mutações espontâneas podem ser causadas por:

0,15→ erros na replicação do ADN devido a erros de polimerização da DNA polimerase,

0,15→ erros na meiose e alteração da estrutura química (depurações, alquilações, etc) ou molecular dos nucleótidos (tautomerizações).

II

Fundamentos de Engenharia Genética

“Durante 25 anos, desde 1950 a 1957, a molécula de ADN foi considerada “intocável”. A partir da década de 70 do séc. XX, porém ocorreu uma verdadeira revolução biotecnológica (...). Abriam a molécula de ADN, extraíram genes, transplantaram-nos para outras células, multiplicaram alguns desses genes milhões e milhões de vezes e “criaram em tubo de ensaio” seres que não surgiram como resultado de milhões de anos de evolução”

Terra, Universo de Vida, Biologia de 12ºano (Porto Editora)

1. O primeiro passo na tecnologia do DNA recombinado ou recombinante corresponde ao isolamento de DNA. A fig. 4 representa o isolamento de DNA de uma célula eucariota.

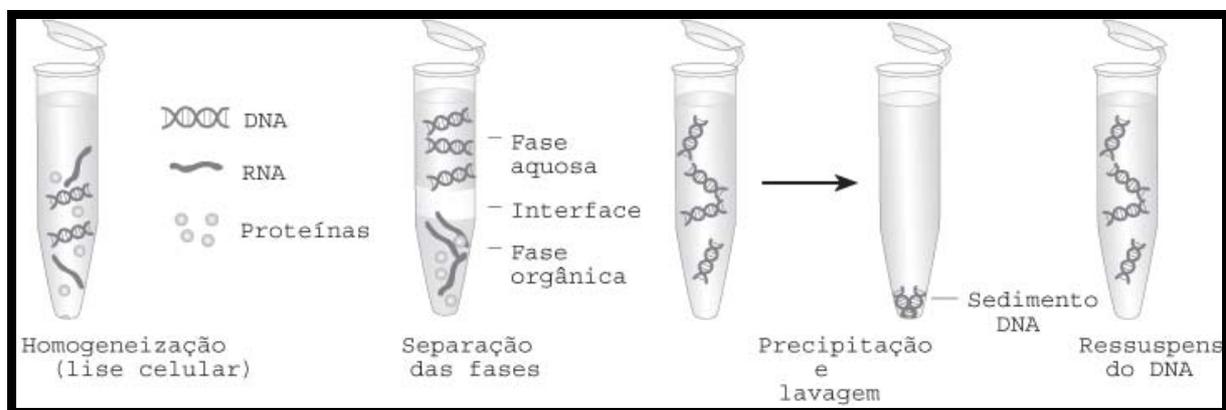


Figura 3 – Isolamento de ADN de uma célula eucariota

- 1.1. Explica, sucintamente, a técnica utilizada, para o caso das células procaríotas e células eucariotas. **(1,5 valores)**

0,75 valores - Para extrair e isolar o DNA de uma célula eucariota é necessário promover a lise celular, pois esta permite degradar a membrana plasmática, libertando o material genético e facilitando a sua extracção. Este processo deve ser feito a baixas temperaturas para inibir a acção das enzimas existentes no citoplasma uma vez que estas células não apresentam mecanismos de defesa à degradação enzimática. Através da centrifugação consegue-se separar os componentes, de acordo com a sua dimensão, densidade e afinidade, para as fases que se formam (aquosa e orgânica, esta derivada do uso de fenol e clorofórmio). O DNA permanece na fase aquosa (mais à superfície da solução), pois tem mais afinidade que os restantes compostos.

0,75 valores - No caso das células procaríotas o processo é idêntico, no entanto não necessita de ser realizado a baixas temperaturas uma vez que o DNA bacteriano apresenta protecção contra as enzimas de restrição (grupos metilo, colocados pela enzima Metilase). Tal como nas células eucariotas o DNA bacteriano do cromossoma principal vai ter maior afinidade com a fase aquosa, e o DNA plasmídico com a fase orgânica, mais densa.

Conteúdo e Organização	Nível 3	Nível 2	Nível 1
Contempla dois elementos	1,5	1,4	1,3
Contempla um elemento	0,75	0,65	0,55

Nível 3 – Redacção coerente no plano lógico-temático (encadeamento lógico do discurso, de acordo com o solicitado no item). Utilização de terminologia científica adequada e correcta.

Nível 2 – Redacção coerente no plano lógico-temático (encadeamento lógico do discurso, de acordo com o solicitado no item). Utilização, ocasional, de terminologia científica não adequada e/ou com incorrecções.

Nível 1 – Redacção com falhas no plano lógico-temático, mesmo que com correcta utilização de terminologia científica.

- 1.2. Refere a importância de se proceder ao isolamento de DNA na técnica do DNA recombinante. **(0,25 v)**

R: É necessário separar o DNA dos restantes constituintes celulares, uma vez que é só o DNA que nos interessa manipular na realização da técnica do DNA recombinado/recombinante.

2. Explica qual a função das seguintes ferramentas de engenharia genética na técnica do DNA recombinante. **(1 valor)**

Ferramenta	Função
Enzima de Restrição	Corta sequências específicas de DNA – zonas de restrição
Ligase do DNA	Faz a reparação das ligações covalentes numa cadeia de DNA.
Vector	Faz o transporte de DNA estranho para o interior de uma célula hospedeira.
Célula hospedeira	Célula receptora de DNA estranho que o replica juntamente com o seu próprio DNA e pode igualmente fazer a síntese das suas proteínas.

3. Para a construção de uma planta geneticamente modificada, resistente aos herbicidas, recorre-se frequentemente a uma bactéria infectante, responsável pela formação de tumores, a *Agrobacterium tumefaciens*. Por isto, é necessário remover parte da informação do vector que promove a formação de tumores na planta. Observa atentamente a figura 4.

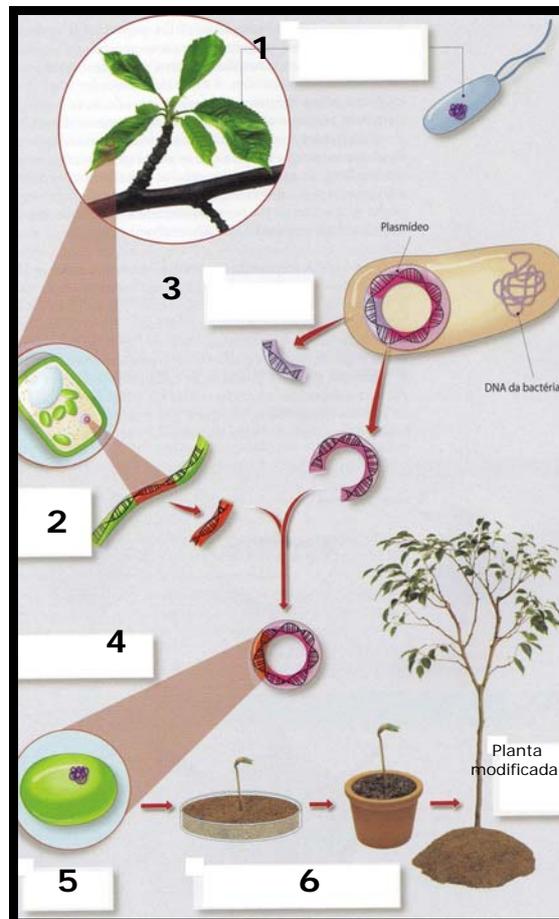


Figura 4 – Procedimento base para a construção de uma planta geneticamente modificada

- 3.1 Faz a legenda da figura, fazendo corresponder os números do esquema às chaves do procedimento e das ferramentas de engenharia genética utilizadas em cada passo. (Nota - podem existir chaves repetidas e números sem chave) **(1 valor)**

Número		Procedimento		Ferramentas
1	0,084v	Lise celular e centrifugação	0,084v	Fenol e Clorofórmio
2	0,084v	Seleção do fragmento a clonar	0,084v	Enzima de restrição A
3	0,084v	Remoção do gene causador de tumores e abertura do plasmídeo	0,084v	Enzima de restrição A
4	0,084v	Inserção do fragmento a clonar no plasmídeo	0,084v	Ligase do DNA
5	0,084v	Inserção do plasmídeo recombinado no núcleo da célula vegetal	0,084v	Célula da planta receptora em cultura <i>in vitro</i>
6	0,167v	Desenvolvimento da planta transgénica		

- 3.2** Identifica o processo de construção de uma planta geneticamente modificada , evidenciado na figura 4? **(0,25 valores)**

R: Técnica do rDNA - Inserção de DNA recombinante num organismo.

- 4** “A extracção dos RNAm permite estudar os genes expressos numa célula”.

- 4.1** Comenta a afirmação anterior. **(1 valor)**

Opção de resposta

R: A partir do RNAm é possível fazer uma cópia do DNA original purificado (apenas com as zonas codificantes ou exões).

A enzima transcriptase reversa é a ferramenta utilizada para fazer o inverso da transcrição sintetizando a primeira cadeia de DNA complementar ao RNA. Seguidamente a enzima DNA polimerase faz a síntese da segunda cadeia de DNA, e assim temos um DNA complementar.

Conteúdo e Organização	Nível 3	Nível 2	Nível 1
Contempla dois elementos	1	0,9	0,8
Contempla um elemento	0,5	0,4	0,3

Nível 3 – Redacção coerente no plano lógico-temático (encadeamento lógico do discurso, de acordo com o solicitado no item). Utilização de terminologia científica adequada e correcta.

Nível 2 – Redacção coerente no plano lógico-temático (encadeamento lógico do discurso, de acordo com o solicitado no item). Utilização, ocasional, de terminologia científica não adequada e/ou com incorrecções.

Nível 1 – Redacção com falhas no plano lógico-temático, mesmo que com correcta utilização de terminologia científica.

- 4.2** A partir da lista apresentada, Identifica as ferramentas necessárias para a síntese de cDNA. **(1,5 valores)**

Gel de Agarósio e campo eléctrico (Electroforese)	
Célula eucariota (mRNA)	■
Bactérias (plasmídeo)	
bactérias sem plasmídeos	
Célula eucariota (DNA)	
Gelo (temperatura baixa)	■
Lamparina (temperatura elevada)	
Fenol e clorofórmio (com centrifugação)	■
Enzimas de Restrição	
DNA ligases	
CaCl ₂ (com choque térmico)	
Transcriptase reversa	■
Iniciador/primer poli T (complementar à extremidade 3' do mRNA)	■
Iniciador/primer (complementar à sequência existente na extremidade 3' da cadeia de DNA que serve de molde)	■
Nucleótidos	■
DNA polimerase	■
DNA polimerase (Taq)	
Antibiótico Ampicilina	

5. As bibliotecas de DNA são colecções de material genético, cujos fragmentos de DNA ou genes são armazenados e multiplicados um a um nas células bacterianas, dando origem a milhares de clones.
(2valores)

5.1. Refere duas diferenças entre as bibliotecas genómicas e as bibliotecas de cDNA.
(1,5 valores)

R:
As bibliotecas genómicas:
→ são feitas com fragmentos de todo o DNA (com intrões e exões);
→ o DNA utilizado é o DNA de origem natural;
→ o DNA armazenado não pode ser utilizado para sintetizar proteínas, visto haver a possibilidade destas serem defeituosas uma vez que as bactérias não têm mecanismos de maturação do DNA.

As bibliotecas de cDNA:
→ são feitas com fragmentos de cDNA (só com zonas codificantes – exões/genes);
→ o cDNA é sintetizado artificialmente a partir do mRNA;
→ o DNA armazenado está pronto a produzir proteínas.

Conteúdo e Organização	Nível 3	Nível 2	Nível 1
Contempla dois elementos	1,5	1,4	1,3
Contempla um elemento	0,75	0,65	0,55

Nível 3 – Redacção coerente no plano lógico-temático (encadeamento lógico do discurso, de acordo com o solicitado no item). Utilização de terminologia científica adequada e correcta.

Nível 2 – Redacção coerente no plano lógico-temático (encadeamento lógico do discurso, de acordo com o solicitado no item). Utilização, ocasional, de terminologia científica não adequada e/ou com incorrecções.

Nível 1 – Redacção com falhas no plano lógico-temático, mesmo que com correcta utilização de terminologia científica.

5.2. Qual a utilidade das bibliotecas de cDNA? Dá exemplos.
(0,5 valores)

As bibliotecas de cDNA são óptimas para:
1. produzir proteínas específicas em grandes quantidades para serem utilizadas por exemplo na medicina (ex.: Hormonas do crescimento ou insulina), uma vez que,
2. o rDNA está pronto a usar, e
3. as bactérias reproduzem-se muito rapidamente.

Conteúdo e Organização	Nível 3	Nível 2	Nível 1
Contempla três elementos	0,5	0,4	0,3
Contempla dois elementos	0,3	0,2	0,1
Contempla um elemento	0,1	0	0

Nível 3 – Redacção coerente no plano lógico-temático (encadeamento lógico do discurso, de acordo com o solicitado no item). Utilização de terminologia científica adequada e correcta.

Nível 2 – Redacção coerente no plano lógico-temático (encadeamento lógico do discurso, de acordo com o solicitado no item). Utilização, ocasional, de terminologia científica não adequada e/ou com incorrecções.

Nível 1 – Redacção com falhas no plano lógico-temático, mesmo que com correcta utilização de terminologia científica.

6. A reacção de polimerização em cadeia (PCR) permite obter múltiplas cópias de DNA a partir de uma pequena amostra. Uma reacção de PCR corresponde a um conjunto de ciclos, que só cessam após o esgotamento das ferramentas necessárias para a polimerização.

6.1 Identifica cada uma das três fases de cada ciclo que compõem o PCR.

(0,3 valores)

R:

0,1v → 1ª **Desnaturação**

0,1v → 2ª **Emparelhamento**

0,1v → 3ª **Polimerização**

6.1.1 Caracteriza cada uma dessas fases.

(0,6 valores)

R:

0,2v → 1ª **Desnaturação** – O DNA é exposto a altas temperaturas de modo a quebrar as ligações por pontes de H das bases complementares.

0,2v → 2ª **Emparelhamento** – São adicionados à solução iniciadores/ primers com sequências complementares a cada extremidade 3' das duas cadeias antiparalelas, de modo a permitir a ligação da DNA polimerase (Taq) que só se liga a uma cadeia dupla.

0,2v → 3ª **Polimerização** – São adicionadas DNA polimerases (Taq) e nucleótidos de modo a ocorrer polimerização das cadeias opostas.

Esta síntese é realizada no sentido 5'→3'.

Conteúdo e Organização	Nível 3	Nível 2	Nível 1
Contempla três elementos	0,6	0,5	0,4
Contempla dois elementos	0,4	0,3	0,2
Contempla um elemento	0,2	0,1	0,05

Nível 3 – Redacção coerente no plano lógico-temático (encadeamento lógico do discurso, de acordo com o solicitado no item). Utilização de terminologia científica adequada e correcta.

Nível 2 – Redacção coerente no plano lógico-temático (encadeamento lógico do discurso, de acordo com o solicitado no item). Utilização, ocasional, de terminologia científica não adequada e/ou com incorrecções.

Nível 1 – Redacção com falhas no plano lógico-temático, mesmo que com correcta utilização de terminologia científica.

6.2 Porque razão se utiliza na técnica do PCR, uma DNA polimerase diferente da usada no processo de obtenção da molécula de DNA complementar?

(0,35 valores)

R: Como as enzimas são muito vulneráveis às diferenças de temperatura e esta técnica requer um grande aumento de temperatura, utiliza-se esta enzima retirada de bactérias termófilas que habitam em zonas muito quentes (perto das fontes hidrotermais) que é bastante mais resistente que as polimerases normais. Assim, em vez de se colocarem constantemente DNA polimerases que não resistem após o primeiro ciclo, basta um pequeno número de polimerases Taq para todo o processo cíclico da técnica do PCR.