

**UC: Fundamentos de Biologia Molecular**  
**Componente teórico-prática**

**Aula TP2 – exercícios**

**Grupo 1. PCR**

**1.1. Classifique como verdadeiras ou falsas as seguintes afirmações:**

- a) Na técnica de PCR, a etapa de emparelhamento é essencialmente uma hibridação. V
- b) Em geral, as experiências de PCR, requerem um único *primer*. F
- c) A técnica de PCR é constituída por diversas etapas que se repetem por 3 ciclos. F
- d) Na reação de PCR, durante o processo de polimerização, o DNA neo-sintetizado pode sofrer mutações. V
- e) Existem diferentes tipos de DNAs polimerases termoestáveis, que podem ser utilizadas indiscriminadamente nas reações de PCR. F

**1.2. Escolha a(s) resposta(s) correta(s):**

a) Quantos **genótipos** se podem encontrar na análise de um dimorfismo utilizando a técnica de PCR?

- i. 1;
- ii. 2;
- iii. 3;
- iv. vários;
- v. depende das condições de PCR.

iii

b) Qual o número máximo de bandas diferentes pode encontrar numa população de indivíduos quando analisa um determinado **dimorfismo** utilizando a técnica de PCR?

- i. 1;
- ii. 2;
- iii. 3;
- iv. vários;
- v. depende das condições de PCR.

ii

**c)** Quantos **genótipos** se podem encontrar na análise do **polimorfismo** do tipo VNTR (*variable number of tandem repeats*)?

- i. 1;
- ii. 2;
- iii. 3; iv
- iv. vários;
- v. depende das condições de PCR.

**d)** Qual das seguintes alíneas é falsa relativamente aos requisitos da reação de PCR?

- i. o PCR é uma reação de polimerização em cadeia;
- ii. o PCR utiliza curtos *primers* sintéticos;
- iii. o PCR usa uma DNA polimerase para sintetizar o DNA;
- iv. o PCR pode ser utilizado para obter grandes quantidades de uma sequência particular de DNA; v
- v. o PCR não requer conhecimento das sequências de DNA nas regiões que ladeiam a sequência a ser amplificada.

**e)** As DNAs polimerases utilizadas no PCR:

- i. apresentam todas a mesma processividade;
- ii. funcionam todas a temperaturas elevadas;
- iii. têm todas atividade de revisão de provas; ii
- iv. têm todas atividade polimerásica 3'-5'; v
- v. podem apresentar ou não atividade de transferase terminal.

**f)** O PCR permite:

- i. amplificar fragmentos de DNA específicos; i
- ii. detectar a presença e localizar um fragmento génico num perfil de restrição de DNA genómico; ii
- iii. detectar a presença de DNA de um agente patogénico numa amostra clínica aquosa (ex. fluido cérebro-espinhal); iii
- iv. iv
- v. v

- iv) detectar a presença e localizar DNA de um agente patogénico dentro de uma célula;
- v) detectar mutações específicas.

**1.3. Questões básicas (responda de forma objectiva e curta)**

- a) Pretende amplificar por PCR a região reguladora de um gene de *B. subtilis*, contida na sequência abaixo indicada:

5' ACTGATGCTAGTGACACCCAG ... (150 pb) ... ACTTACATTAGGAAATTCAAA 3'

Que *primers* permitem amplificar a referida região?

i. 5' ACTGATGCTAGTGAC 3' e 5' ATTAGGAAATTCAAA 3'

ii. 5' TGA CTACGATCACTG 3' e 5' TAATCCTTTAAGTTT 3'

iii. 5' ACTGATGCTAGTGAC 3' e 5' TTTGAATTCCTAAT 3'

iii

iv. 5' GTC ACTAGCATCAGT 3' e 5' TAATCCTTTAAGTTT 3'

v. 5' GTC ACTAGCATCAGT 3' e 5' ATTAGGAAATTCAAA 3'

- b) Que dimensão teria o produto de PCR?

i. 150 pb;

ii. 180 pb;

iii

iii. 192 pb;

iv. 150 pb e 30 pb;

v. 15 pb e 150 pb.

- c) Descreva as etapas principais da amplificação génica por PCR. Em que medida é que as bactérias termófilas simplificaram a técnica de PCR?

---



---



---



---

Respostas às alíneas:

d) Primers 2 e 3; Os primers 1 e 4 não funcionariam para amplificar A, porque a polimerização se faz de 5' → 3'

e) Com os primers 2 e 4 não há amplificação. Com os primers 2 e 6 há amplificação da região B

