

# SIMULANDO A TÉCNICA DE SEQUENCIAMENTO DO DNA

**Autores:** José Mariano Amabis e Solange Soares de Camargo

**Versão inicial:** José Mariano Amabis

**Ilustrações:** Pablo Candiani

**Editoração:** Gledsley Muller

## **Ficha Técnica:**

**Tema central:** Compreender a técnica utilizada para o seqüenciamento do DNA

**Área de interesse:** Biologia Molecular/Genética

**Público Alvo:** Alunos do Ensino Médio ou da Graduação

**Número de participantes:** 40 alunos em grupos de três a cinco. É necessário que se forme pelo menos 10 grupos, para que todos os nucleotídeos da fita molde possam ser “seqüenciados”.

**Tempo da atividade:** Cerca de 30 min (sem a discussão posterior)

## **PROJETO MICRO&GENE**

Apoio Financeiro – Pró-reitoria de Graduação da Universidade de São Paulo –  
Projeto Promat

**RESUMO**

Esta atividade tem por objetivo ilustrar como se faz o seqüenciamento de DNA. Para tanto, cada grupo de alunos recebe um bastão de madeira contendo algumas contas com letras que representa a cadeia de DNA a ser seqüenciada. A partir dessa cadeia molde, cada grupo “sintetiza” dez cadeias complementares. A “síntese” das novas cadeias é feita pelo sorteio, em seqüência, do nucleotídeo complementar a cada um dos nucleotídeos da cadeia molde. O sorteio de uma conta branca indica que a síntese deve continuar com o sorteio do nucleotídeo seguinte. O sorteio de uma conta colorida indica a interrupção da síntese. A seguir, as cadeias obtidas por todos os grupos são reunidas e ordenadas por tamanho, simulando a separação das mesmas pela eletroforese. A tradução da cor da última conta incorporada em cada uma das cadeias ordenadas por tamanho, leva à seqüência complementar da cadeia molde.

**OBJETIVO**

Compreender a técnica utilizada para o seqüenciamento do DNA.

**JUSTIFICATIVA**

A Biologia Molecular é o ramo da Biologia que mais tem se desenvolvido nos últimos anos. O conhecimento sobre os genes e seu funcionamento deixou os laboratórios e passou a ter interesses econômicos e éticos. Ao abordar os conhecimentos relacionados às técnicas empregadas em Biologia Molecular, estamos contribuindo para que a escola cumpra seu papel de transmitir o conhecimento socialmente produzido, e, a partir da motivação que tais conhecimentos proporcionam, explorar aquilo que estudiosos de pedagogia consideram conteúdos sempre presentes: fatos, conceitos, princípios, procedimentos, atitudes, normas e valores.

**FUNÇÃO  
PEDAGÓGICA**

Esta atividade tem como função pedagógica principal aproximar o conhecimento científico do conhecimento escolar, tornando a técnica de seqüenciamento de DNA compreensível, tanto para os alunos do ensino médio como os da graduação. Uma maior proximidade com o conhecimento científico pode despertar no aluno o interesse por outras questões relacionadas ao DNA e amplamente divulgadas pela mídia: projetos genomas, testes de DNA, transgênicos, entre outros. À despeito da ampla divulgação, essas questões são muito mal compreendidas pelos alunos, como atestam vários estudos. Para a graduação, os objetivos poderiam ser ainda ampliados de acordo com o contexto em que a atividade fosse empregada. No início de um curso de Biologia Molecular, por exemplo, esta atividade poderia ser utilizada para introduzir o conceito de replicação do DNA, ou até mesmo para aprofundar o conhecimento já adquirido sobre a estrutura desta molécula. Outras funções pedagógicas, intrínsecas do trabalho em grupo podem ser ainda mencionadas: a troca de informações, o estabelecimento coletivo de uma estratégia de ação, a análise conjunta de dados, a transposição de linguagem, entre outras.

## **PREPARANDO A ATIVIDADE**

### **1. Conceitos prévios requisitados**

Para que os alunos do ensino médio possam compreender o significado da atividade, é necessário que eles tenham noções sobre a estrutura do DNA e entendam a relação existente entre DNA cromossomo, gene, núcleo e célula. Para os alunos da graduação, além das relações citadas, é ideal que o aluno possua também algum conhecimento sobre a natureza e função das enzimas, o processo de desnaturação do DNA e a formação das ligações covalentes, pois, com a atividade, esses conceitos poderão ser compreendidos de forma mais significativa. Como seqüência da atividade, o professor da graduação poderá explorar o processo de replicação do DNA.

### **2. Verificação dos conhecimentos sobre o sequenciamento de DNA**

Antes do início da atividade é interessante que o professor verifique quais são os conhecimentos dos alunos sobre o que é “seqüenciar o DNA”. Isto pode ser feito por meio de uma pergunta simples do tipo: “qual é a primeira palavra que ocorre quando você ouve a expressão “seqüenciar o DNA”?”. O professor deverá registrar todas as palavras mencionadas e construir, a partir desse conjunto, o conhecimento prévio dos alunos e sua rede conceitual. Pode ser que os alunos fiquem intimidados e digam que nada sabem. Cabe ao professor estimular a “tempestade cerebral” e deixar que os alunos se manifestem livremente. Algumas expressões como: “Programa do Ratinho” podem soar estranhas, mas guardam estreita relação com o tema, uma vez que o apresentador de TV é um dos maiores divulgadores do teste de paternidade que também emprega moléculas de DNA. O registro das manifestações dos alunos pode facilitar as ações do professor na preparação adequada da atividade

#### **Material / grupo:**

4 saquinhos de cores diferentes (verde, vermelho, amarelo e azul) contendo contas brancas e coloridas;  
1 placa de madeira com 2 fileiras de 10 furos;  
1 bastão de madeira contendo contas com letras;  
10 bastões de madeira contendo contas transparentes

#### **Material / classe:**

1 placa grande de madeira

## PROCEDIMENTO -

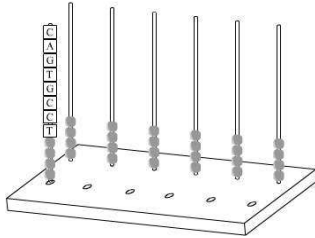


Fig. 1 –Posicionamento inicial dos bastões na placa de madeira: contas com letras (a), contas transparentes (b), placa de madeira (c).

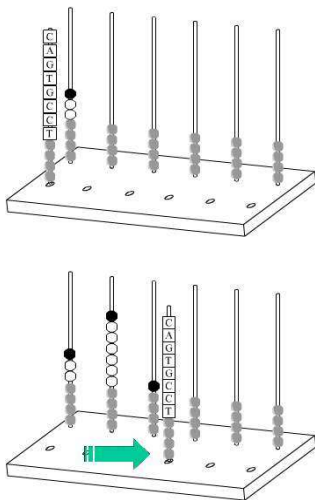


Fig. 2 – Movimento inicial da cadeia molde.

1 – Organizar o material como indica a figura

2 – Iniciar uma simulação de “síntese” da cadeia complementar à cadeia molde através do sorteio da conta complementar à primeira letra da conta encontrada após as contas transparentes (na Fig. 1, a letra é T). O saquinho escolhido para o sorteio deverá ser, portanto, o verde, pois ele contém os nucleotídeos complementares a T, ou seja, A. A relação entre a cor do saquinho e a conta dentro dele é:

Verde – Adenina (A)  
Amarelo – Guanina (G)  
Azul – Citosina (C)  
Vermelho – Timina (T)

Lembrar que as relações de complementaridade são: A-T e C-G.

3 – Colocar a conta sorteada no bastão em frente à cadeia molde (Fig. 2 - superior). Caso a conta sorteada seja de cor branca, repetir o procedimento com um novo sorteio, agora relacionado com a letra da 2ª conta (no caso da Fig. 2, C). **Caso seja sorteada uma conta colorida, o processo deve ser interrompido e a cadeia molde é deslocada para o furo seguinte.** Reiniciar o mesmo procedimento (1 e 2) para a formação de uma nova cadeia complementar (Fig. 2 - inferior)

4 – Repetir os mesmos passos até que todas as cadeias sintetizadas terminem com uma conta colorida ou sejam totalmente completadas com contas brancas (Fig. 3).

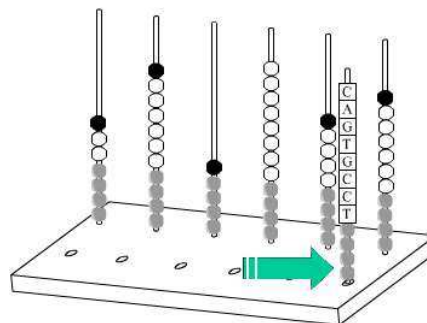


Fig. 3 – Movimento da cadeia-modelo após interrupção da síntese pelo sorteio de uma conta colorida.

5 – Por fim, as cadeias sintetizadas pelos grupos devem ser ordenadas na placa grande de madeira de acordo com seus tamanhos, ao longo do eixo maior da placa. Os bastões com maior número de contas devem ser colocados nos primeiros furos, seguidos pelos de menor número, e assim sucessivamente, até que o último contenha apenas uma conta colorida .

## COMPREENDENDO A ATIVIDADE

### Texto

- 1) As palavras em negrito do texto ao lado podem ser substituídas pelo nome dos materiais empregados na atividade. Como você faria esta substituição? Coloque o número correspondente à palavra do texto no parêntese que segue ao nome do material empregado. Algumas palavras podem ser empregadas mais de uma vez
- a) Contas brancas ( )
  - b) Contas coloridas ( )
  - c) Você ou seus colegas de grupo ( )
  - d) Cadeia sintetizada ( )
  - e) Cadeia molde ( )
  - f) Placa grande de madeira com furos ( )
  - g) Contas transparentes ( )

A avaliação da compreensão da atividade, por parte dos alunos, poderá ser feita com a utilização de um texto que explica o princípio da técnica empregada. A tarefa dos alunos consiste na substituição das palavras em negrito pelos nomes de cada material utilizado durante a atividade.

O seqüenciamento do DNA baseia-se na interrupção da síntese da cadeia complementar pela incorporação de um nucleotídeo quimicamente modificado, um didesoxinucleotídeo. Na reação de seqüenciamento, da qual esta atividade é uma simulação, são misturados num mesmo tubo: **o segmento de DNA a ser seqüenciado (1), cadeias curtas de DNA denominadas de iniciadores ou "primers" (2), a enzima DNA polimerase (3), os desoxinucleotídeos das quatro bases nitrogenadas: A, T, C e G (4) e os seus respectivos didesoxinucleotídeos (5).** Inicialmente, as duas cadeias de cada molécula de DNA são separadas, aquecendo-se a amostra a temperaturas superiores a 90°C. Em seguida, a temperatura é reduzida, permitindo que os **iniciadores ou "primers" (2)**, se associem, por complementaridade, **ao segmento a ser seqüenciado (1).** A **DNA polimerase (3)** sintetiza, então, a cadeia nova: onde houver um nucleotídeo de Adenina na cadeia-modelo, será acrescentado um nucleotídeo de Timina e vice-versa, onde houver um de Guanina, será acrescentado um de Citosina e vice-versa. Como não há, por parte da DNA polimerase, nenhuma preferência entre os **desoxinucleotídeos (4)** ou **didesoxinucleotídeos (5)**, esses últimos podem ser incorporados em lugar de um nucleotídeo normal. No entanto, quando a **cadeia nova (6)** recebe um didesoxinucleotídeo, a seqüência é interrompida, uma vez que não há nesta molécula um radical hidroxila (OH) disponível para a formação da ligação covalente com o nucleotídeo seguinte. Cada didesoxinucleotídeo empregado na reação está associado a um cromóforo, uma substância que apresenta uma determinada cor quando é estimulada por um feixe de laser. Desta forma, para conhecer a seqüência da **cadeia-molde (1)**, um aparelho chamado seqüenciador automático de DNA, separa os fragmentos sintetizados de diferentes tamanhos por meio da **eletroforese (7)**, na qual fragmentos menores migram mais rápido que fragmentos maiores. Finalmente, o aparelho identifica o último nucleotídeo do conjunto de fragmentos de mesmo tamanho pelo seu cromóforo correspondente, obtendo-se, assim, a seqüência da cadeia de DNA desconhecida (Fig.4).

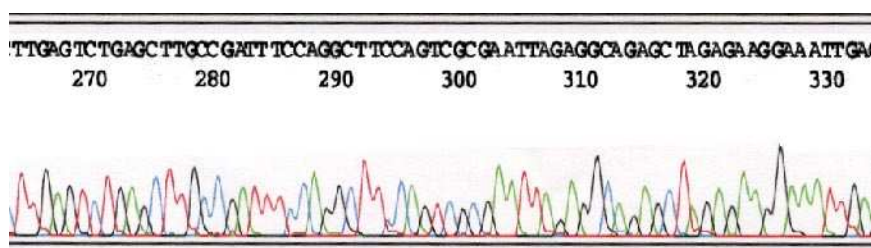


Fig. 4 - Imagem obtida após o seqüenciamento de DNA. Cada pico colorido representa um nucleotídeo na seqüência do DNA. Neste caso, uma seqüência pode ser lida entre a posição 264 e 333 a partir do início da seqüência.

**Variações para a sala de aula**

Cada grupo pode utilizar somente um dos dideoxinucleotídeos marcados (ou coloridos). No final, cada grupo organiza o material obtido (as fitas novas) em uma canaleta específica da placa grande de madeira. O professor pode explicar que esta era a maneira como o seqüenciamento de DNA era feito na década de 80-90, antes que o seqüenciador automático de DNA fosse desenvolvido. Alguns laboratórios, com menos recursos, ainda utilizam esta metodologia. Complementando a aula, os alunos poderiam pesquisar sobre esse tipo de seqüenciamento manual e analisar figuras de auto-radiografias de géis de seqüenciamento, tentando “descobrir” a seqüência de DNA da cadeia molde. Complementando a aula, os alunos poderiam pesquisar sobre o seqüenciamento manual e analisar figuras de autorradiografias de géis de seqüenciamento, tentando “descobrir” a seqüência de DNA da fita molde.

**Sugestões de atividades posteriores**

As seguintes questões têm por objetivo avaliar o que o aluno já sabe ou o que ele aprendeu com as aulas sobre o DNA e com a atividade de seqüenciamento. Algumas são questões de resposta direta, com o intuito principal de verificar a leitura e compreensão da nomenclatura. Outras são questões mais investigativas, que requerem maior elaboração mental. Há também algumas questões de vestibular que podem ser respondidas pelos alunos do ensino médio como forma de treinamento. Algumas destas questões podem ser utilizadas na fase final da atividade ou no início, para avaliar o conhecimento prévio do aluno. Alguns textos complementares sobre o tema se encontram no anexo 1 e podem auxiliar o aluno a responder as questões.

**Reverendo Conceitos Fundamentais (Amabis e Martho, 2001- Conceitos de Biologia, vol. 3, cap. 3)**

- 1) Gene é
  - a) o mesmo que cromossomo.
  - b) o mesmo que cromossomo
  - c) qualquer segmento da molécula do DNA.
  - d) conjunto de moléculas de DNA de uma espécie.
  - e) conjunto de moléculas de DNA de uma espécie.
  - f) um segmento de molécula de DNA que transcreve um RNA.
  
- 2) O material hereditário dos seres vivos é
  - a) a desoxirribose.
  - b) o ácido desoxirribonucléico (DNA).
  - c) o ácido ribonucléico (RNA).
  - d) a base nitrogenada.

Complete as frases de 3 a 5 preenchendo cada espaço com um dos termos a seguir:

- (a) base nitrogenada
- (b) desoxirribose
- (c) nucleotídeo

3) Cada uma das subunidades que constituem o polímero conhecido pela sigla de DNA é um (a) ( ).

4) ( ) é um composto químico presente no DNA, constituído por um ou dois anéis de carbono e nitrogênio, capaz de formar ligações de hidrogênio.

5) O glicídio com 5 átomos de carbono (pentose) que entra na composição do DNA é chamado ( ).

6) Uma associação fraca de natureza elétrica entre átomos de hidrogênio de uma molécula e átomos eletronegativos de outra molécula é chamada ligação

- a) de hidrogênio.
- b) covalente.
- c) iônica
- d) peptídica.

7) O modo pelo qual uma molécula de DNA se reproduz é chamado de

- a) duplicação conservativa.
- b) duplicação semiconservativa.
- c) reprodução assexuada.
- d) reprodução sexuada.

8) A polimerase do DNA é uma enzima que

- a) separa as duas cadeias de um RNA.
- b) atua na fabricação de nucleotídios.
- c) sintetiza RNA a partir de um modelo de DNA.
- d) promove a união de desorribonucleotídios.

Ligando Conceitos e Fatos – (Amabis e Martho, 2001- Conceitos de Biologia, vol. 3, cap. 3)  
pág. 103

1. Se as ligações de hidrogênio de uma molécula de DNA forem quebradas obtêm-se

- a) bases nitrogenadas livres.
- b) cadeias polinucleotídicas isoladas.
- c) desoxirriboses livres.
- d) nucleotídios livres.

2. Uma substância constituída por um fosfato, uma pentose e uma base nitrogenada entre si é um

- a) ácido nucléico.
- b) aminoácido.
- c) nucleotídio.
- d) polipeptídio.

3. Dizer que as duas cadeias de uma molécula de DNA são complementares significa que

- a) elas têm os mesmos tipos de bases nitrogenadas.
- b) uma delas é formada apenas pelas bases A e T, e a outra, por C e G.
- c) uma delas é formada apenas pelas letras A e G, e a outra, por T e C.
- d) onde houver uma base A em uma delas, haverá um T na

outra, e onde houver um C em uma cadeia, haverá um G na outra.

4. Um pesquisador determinou que a seqüência de bases de um segmento de molécula de DNA é ATTACGAGGTACATTCTG. A seqüência de bases do segmento correspondente da cadeia complementar

- a) será ATTACGAGGTACATTCTG.
- b) será GCCGTAGAACGTGCCTA.
- c) será TAATGCTCCATGTAAGC.
- d) não pode ser determinada.

5. Um cromossomo possui

- a) inúmeras moléculas de DNA intercaladas com moléculas de proteínas.
- b) inúmeras moléculas de DNA intercaladas com moléculas de RNA.
- c) inúmeras moléculas de DNA intercaladas com complexos de RNA e proteínas.
- d) uma única molécula de DNA que percorre de ponta a ponta.

6. Uma célula humana que possui 46 cromossomos, terá em seu núcleo, após a duplicação de seu material genético

- a) 46 moléculas de DNA.
- b) 46 moléculas de DNA e 46 moléculas de RNA.
- c) 92 moléculas de DNA.
- d) 92 moléculas de RNA.

7. As diversas células de um organismo multicelular são diferentes entre si porque

- a) possuem genes diferentes.
- b) apesar de produzirem os mesmos tipos de RNAm, estes são traduzidos por ribossomos diferentes com produção de proteínas diversas.
- c) apesar de produzirem os mesmos tipos de RNAm, estes são traduzidos por RNA transportadores diferentes com produção de proteínas diversas.
- d) em cada uma delas está em funcionamento um conjunto diferente de genes.

**Questões de  
verificação de leitura:**

1. O significado da sigla DNA é

- a) ácido desoxirribose.
- b) ácido desoxiribonucleico.
- c) desoxirribose nucleotídio ácido.
- d) ácido nucléico de desoxirribose

2. São exemplos de macromoléculas:

- I. DNA e RNA.
- II. Aminoácidos.
- III. Proteínas.
- IV. Açúcares.
- V. Polissacarídeos.



- a) Apenas I
- b) I, III e IV
- c) I, III e V
- d) I, II, III, IV e V

3. O número de bases nitrogenadas encontradas em um trecho de DNA de 2kb é

- a) 2.000.
- b) 20.000.
- c) 200.
- d) não é possível determinar.

4. Rompendo-se as ligações (ou pontes) de hidrogênio de uma molécula de DNA, obtém-se

- a) nucleotídios livres.
- b) bases nitrogenadas livres.
- c) desoxirriboses livres.
- d) cadeias polinucleotídicas isoladas.

5. Duas cadeias complementares de DNA são

- a) duas hélices paralelas.
- b) duas fitas com a mesma seqüência de nucleotídios.
- c) duas cadeias de nucleotídios, nas quais A se pareia com T e C com G.
- d) duas cadeias de nucleotídeos antiparalelas.

6. Na natureza, várias macromoléculas são formadas por subunidades menores que se repetem: o amido é formado por resíduos de glicose, as proteínas, por aminoácidos, etc. A subunidade que forma o DNA é

- a) a desoxirribose.
- b) a ribose.
- c) o nucleotídeo.
- d) a base nitrogenada.

7. As bases nitrogenadas que compõem o DNA são de quatro tipos, cujos nomes são

- a) Adenina, Timina, Citosina e Guanina.
- b) Adenina, Timidina, Citosina e Guanina.
- c) Adenosina, Timina, Citosina e Guanina.
- d) Adenina, Timina, citosina e Guanidina.

8. A enzima que participa ativamente da síntese de uma nova cadeia de DNA a partir de um molde é chamada de

- a) DNA polimerase.
- b) DNAase.
- c) DNA sintetase.

d) DNA ligase.

9. Se um certo fragmento de DNA tem a seguinte seqüência de nucleotídios ATTGGCTCT, a seqüência esperada na fita complementar será

- a) TTAGGAAGA.
- b) TAAGGCAGA.
- c) UAACCGAGA.
- d) TAACCGAGA.

10. Sobre a molécula de DNA, responda V (verdadeiro) ou F (falso).

- a) A + C é sempre igual a G + T. (\_\_\_)
- b) A + G é sempre igual a C + T. (\_\_\_)
- c) A é sempre igual a T, e G a C. (\_\_\_)
- d) A relação de conteúdo de bases depende da espécie que está sendo considerada. (\_\_\_)

**Questões de vestibular:**

1. (Unitau 95) Não é característica do DNA:

- a) o açúcar com cinco átomos de carbono.
- b) a presença das bases nitrogenadas uracila, guanina, citosina e adenina.
- c) a presença de ácido fosfórico.
- d) é polinucleotídeo.
- e) ocorre nos cromossomos.

2. (Fuvest 2003) Qual das alternativas se refere a um cromossomo?

- a) Um conjunto de moléculas de DNA com todas as informações genéticas da espécie.
- b) Uma única molécula de DNA com informação genética para algumas proteínas.
- c) Um segmento de molécula de DNA com informação para uma cadeia polipeptídica.
- d) Uma única molécula de RNA com informação para uma cadeia polipeptídica.
- e) Uma seqüência de três bases nitrogenadas do RNA mensageiro correspondente a um aminoácido na cadeia polipeptídica.

3. (Puc-rio 99) Os cromossomos são constituídos principalmente por:

- a. fosfolipídeos.
- b. proteínas.
- c. ácido ribonucléico.
- d. enzimas.
- e. ácido desoxirribonucléico.

4. (Ufal 99) Para desempenhar sua função como material hereditário, o DNA possui duas propriedades. Identifique-as e descreva resumidamente cada uma delas.

5. (Ufrj 97) O ADN é um polímero constituído por vários nucleotídeos e as proteínas são polímeros constituídos por vários aminoácidos. Um gene é constituído por um número N de nucleotídeos que codifica uma proteína constituída por P aminoácidos.

Por que sempre encontramos  $N > P$  ?

6. (Unesp 94) No filme "Parque dos Dinossauros", um cientista cria em laboratório novas gerações de dinossauros, extintos há 65 milhões de anos, por meio do sangue conservado em mosquitos que os teriam picado e que permaneceram fossilizados no âmbar. Com o sangue, foi possível determinar o DNA dos dinossauros, chegando-se assim à fórmula para recuperar a espécie. Considere a possibilidade de que o DNA obtido pertença a um único dinossauro e que deste DNA foram recuperados vários exemplares.

a) O que se poderia dizer dos exemplares recuperados, caso um dos animais seja sensível a uma bactéria que cause pneumonia?

b) Justifique sua resposta.

7. (Ufrj 2000) No início do projeto do genoma humano, havia duas estratégias a considerar:

- I) seqüenciar o ADN total dos cromossomos diretamente;
- II) extrair todos os ARNs mensageiros, produzir ADN a partir desses ARNs mensageiros e seqüenciar apenas esse ADN.

Nos dois casos, a técnica de seqüenciamento era a mesma.

Por que a segunda estratégia é mais rápida e, portanto, mais econômica?

8. (Ufrj 2001) Uma técnica usada como uma ferramenta da taxonomia emprega a seguinte abordagem: extrai-se o ADN de um organismo e este é, então, marcado com fósforo radioativo. O ADN radioativo é então desnaturado (suas cadeias são separadas por calor) e posto em contato com o ADN de um outro organismo, igualmente desnaturado, porém não radioativo. Após a hibridação (reassociação formando moléculas híbridas), é possível medir quanto ADN radioativo existe num ADN de cadeia dupla.

Foi feito um experimento em que o ADN do organismo 1 (ADN radioativo) foi "hibridado" com o ADN não radioativo de três outros organismos, obtendo-se os seguintes resultados:

ADN do organismo 1 + ADN do organismo 1 = 100% de radioatividade no ADN híbrido

ADN do organismo 1 + ADN do organismo 2 = 10% de radioatividade no ADN híbrido

ADN do organismo 1 + ADN do organismo 3 = 40% de radioatividade no ADN híbrido

ADN do organismo 1 + ADN do organismo 4 = 85% de radioatividade no ADN híbrido

Qual o organismo que pertence à mesma espécie do organismo 1? Justifique sua resposta.

9. (Ufrj 2002) Em Junho de 2001, foi publicada a seqüência quase completa do genoma humano. Esse projeto contou com a participação de diversos laboratórios, que individualmente determinaram a seqüência de vários trechos diferentes do ADN de todos os cromossomos, a partir da amostra de somente um indivíduo, que permaneceu anônimo. Sabe-se, no entanto, que o ADN era de um indivíduo do sexo masculino. Por que foi importante determinar a seqüência do ADN de um homem e não de uma mulher?

10. (Cesgranrio 99) "EXAME DE PATERNIDADE, NO BRASIL, JÁ PODE SER FEITO COM SALIVA"

"Novo teste pode, pela análise do DNA das células, identificar a paternidade de uma pessoa sem a necessidade de coleta de sangue. Esse tipo de teste é particularmente indicado para bebês e crianças pequenas."

(O GLOBO, 20/08/98)

Nesse tipo de teste, a semelhança estrutural existente entre as moléculas de DNA é tomada por base para a identificação da paternidade. Essa diferença consiste na(o):

- a) seqüência de bases nitrogenadas.
- b) aspecto da dupla hélice presente.
- c) número de fosfatos contidos.
- d) tipo de pentose existente.
- e) tipo de desoxirriboses presentes.

11. (Fuvest 2001) O anúncio do seqüenciamento do genoma humano, em 21 de junho de 2000, significa que os cientistas determinaram

- a) a seqüência de nucleotídeos dos cromossomos humanos.
- b) todos os tipos de proteína codificados pelos genes humanos.
- c) a seqüência de aminoácidos do DNA humano.
- d) a seqüência de aminoácidos de todas as proteínas humanas.
- e) o número correto de cromossomos da espécie humana.

**Questões para  
pesquisar:**

1. Por que o DNA é também chamado de molécula da hereditariedade?

2. De que forma você ordenaria as seguintes estruturas:

Cromossomo, DNA, Gene, Núcleo? Qual o critério você utilizou em sua ordenação?

3. O que acontece se durante o processo de replicação, ocorrer a inserção de um nucleotídeo não complementar à fita molde?

4. Qual é a importância da DNA polimerase para a célula? Por que a sua taxa de erro deve ser baixa?

5. Quantas moléculas de DNA existem no núcleo de uma célula somática humana (da mucosa da boca, por exemplo)?

- a) Na fase G1 da interfase.
- b) Na fase G2 da interfase.
- c) Na metáfase

6. Como você imagina que deveria ser a definição de gene nas diferentes épocas:

- a) Quando Charles Darwin propõe a teoria da Evolução.
- b) Quando Mendel publica os resultados de sua pesquisa com ervilhas (1865).
- c) Quando é publicada a Teoria Cromossômica da Herança (1902).
- d) Quando Avery, MacLeod e McCarty concluem que o DNA é o material genético (1944).
- e) Quando é descrito o código genético (1966).
- f) Quando concluíram o seqüenciamento do Genoma Humano (2003).

7. Quais são as forças que mantêm a dupla hélice do DNA juntas como uma unidade estável? Na sua opinião, o que aconteceria a esta unidade se o DNA fosse submetido a uma temperatura de 96°C por 10 min? Justifique a sua resposta:

8. Pesquise em revistas e jornais textos nos quais as expressões: “código genético”; “mapa preliminar” e “rascunho do genoma” tenham sido usadas de forma ambígua e reescreva-o substituindo as expressões por explicações mais claras.

9. Depois de ler o texto a seguir, qual a sua opinião sobre o que o autor escreve? Considera uma humilhação, ter apenas 300 genes diferentes dos camundongos? Elabore um texto discordando ou concordando do autor, justificando a sua opinião pessoal.

*Ratos Humanos (Drauzio Varella. Folha de São Paulo, 24/02/2001)*

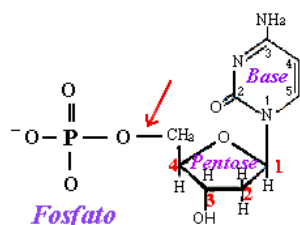
*Mulheres e homens têm apenas 30 mil genes! A divulgação deste dado pelo Projeto Genoma foi um balde de água fria no orgulho humano: imaginávamos que fossem pelo menos 100 mil. Se as moscas têm 13 mil genes, qualquer verme, 20 mil, um abacateiro, 25 mil, e os camundongos que caçamos nas ratoeiras, 30 mil, para nós, 100 mil parecia estimativa razoável (...). Admitir, no entanto, que nosso genoma é formado pelo mesmo número de genes camundongos e que somente 300 genes são responsáveis pelas diferenças entre nós e eles, constitui humilhação inaceitável.*

**Respostas das  
questões propostas:**

	<b>Reverendo conceitos fundamen- tais</b>	<b>Ligando conceitos e fatos</b>	<b>Verificação de leitura</b>	<b>Questões de vestibular</b>
<b>1</b>	D	B	B	B
<b>2</b>	B	C	C	B
<b>3</b>	C	D	A	E
<b>4</b>	A	C	D	
<b>5</b>	B	D	C	
<b>6</b>	A	C	C	
<b>7</b>	B	D	A	
<b>8</b>	D		A	
<b>9</b>			D	
<b>10</b>			V-F-V-F	A
<b>11</b>				A

## ANEXOS

### Notas para o professor



### Nucleotídio

Fig. 5 – Exemplo de um nucleotídio que compõe o DNA.

## O sequenciamento de DNA e o projeto Genoma Humano

No dia 28 de junho de 2000, vários jornais anunciaram o "Mapeamento do Genoma Humano". A notícia trouxe para a humanidade uma grande interrogação: "E agora? O que isto significa?"

As notícias na época continham expressões como: "*decifrado o código da vida*", "*seqüenciados os 3,1 bilhões de letras do código genético*", "*concluído o rascunho do trabalho, com cerca de 97% do genoma*", "*conhecida a linguagem na qual Deus criou a vida*".

A busca de um significado para essas informações requer, por parte dos professores, a construção prévia de conhecimentos sobre a estrutura e função do DNA.

O DNA é uma *macromolécula* formada por unidades que se repetem, chamadas de nucleotídios. Cada nucleotídio é formado por um grupamento fosfato, uma pentose (a desoxirribose) e uma base nitrogenada (A=Adenina, T=Timina, G=Guanina ou C=Citosina) (Fig. 5).

Os nucleotídios se associam formando duas fitas complementares que se mantêm unidas por pontes de hidrogênio (Fig. 6).

Em virtude das ligações existentes entre as fitas complementares do DNA, esta molécula assume uma estrutura em forma de escada em caracol, na qual as bases nitrogenadas representam os degraus (Fig. 7 - a) e o "esqueleto" açúcar-fosfato representa o corrimão (Fig. 7 - b).

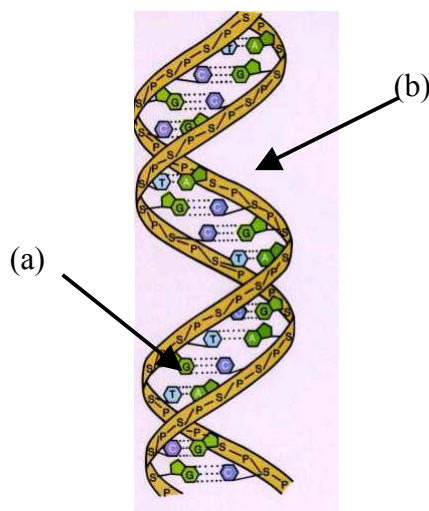
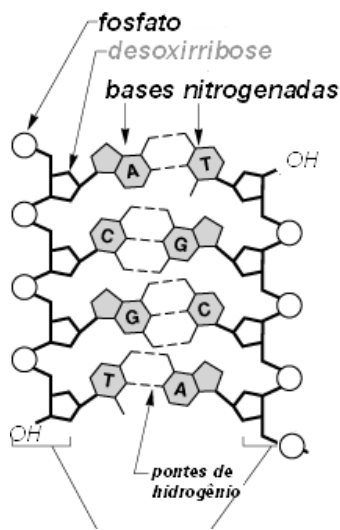


Fig. 7 – Estrutura em dupla-hélice do DNA que lembra uma escada em caracol: (a) degraus e (b) corrimão.



Fitas complementares do DNA

Fig. 6 – Associação dos nucleotídeos formando as fitas complementares do DNA.

## Do DNA às proteínas

Vários nucleotídeos juntos formam um gene, ou parte de um gene, como o do hormônio de crescimento humano, apresentado a seguir:

*Seqüência de parte do gene do Hormônio de Crescimento Humano*

Fonte: NCBI

```
gatcttaacattttcccctatcattttcccgctctcatttgcattttccagaaaaatcgtcattcgactcatgtcta
caacacgtctctcctggcttatcccctgacaccgcccgcgacagcccgcattggacgaatctatcaattcaga
ggagtctagttttatattgcagaatcgagattgctggtttattataacaatataagttttcattatttcaaaaagg
ttattgtgggttaggtaagaaattgtctagtgctgtagccgcttctttatgagtttaaccatcagctgccgggtg
ggccgctgagaatcctcagctaaagaaaacctgacgaatttgtaccgaagcattcttggtgcaagggatc
gtcccaaccattccctatccaggcttttgacaacgctagctccgcgccatcgtctgcaccagctggccttt
cctaccaggagttagaagaagcctatatcccaaggaacagaagtattcattcctgcagaacccccagacc
ctgtttctcagagtctattccgacaccctcaacagggaggaaacacaacagaaatccaacctagagctgc
gcatctcctctgctcatccagctgtggctggagcccgtgcagttcctcaggagtgtcttcgccaacagcctg
acggcgctctgacagcaacgtctatgacctcctaaaggacctagaggaaggcatccaaacgctgatggg
gctggaagatggcagccccggactgggcagatctcaagcagacctacagcaagttcgacacaaactca
aacgatgacgcactagtaagaactacgggctgctctactgcttcaggaaggacatggacaaggctcgaga
cctgctcctcgtgcagtgccgctctgtggagggcagctgtggcttctag
```

Esses nucleotídeos, representados apenas pelas letras correspondentes às bases nitrogenadas que o compõem, estão ordenados em uma seqüência específica, e é esta seqüência que caracteriza o gene do hormônio de crescimento. O gene da insulina, por exemplo, que é um outro hormônio, tem outra seqüência.

Genes são definidos, portanto, como “trechos do DNA” que contêm informação para gerar, como produto final, um RNA que pode gerar uma proteína. Localizam-se no interior da célula em estruturas chamadas *cromossomos*. Cada ser vivo tem em suas células um número determinado de cromossomos: 8 como a mosca das frutas, 16 como a cebola ou 46 como nós, humanos.

O Projeto Genoma Humano tinha por objetivo descobrir quais são as seqüências que temos em nosso *genoma*. Mas, quantas “letras” há em uma única célula para serem seqüenciadas? Estima-se que haja cerca de 3,1 bilhões de letras em uma única célula humana haplóide que formariam cerca de 30.000 a 40.000 genes e milhares de outras seqüências sem função conhecida.

### **Genoma e Proteoma: os dois lados da mesma moeda.**

**Eliana Dessen - Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.**

O DNA é o material hereditário que passa de uma geração a outra e determina as propriedades inerentes de uma espécie. No DNA a informação está codificada na seqüência de subunidades químicas denominadas nucleotídeos, cada um deles composto por um grupamento fosfato, uma molécula do açúcar desoxirribose, e uma das quatro bases nitrogenadas: adenina (A), citosina (C), timina (T) e guanina (G). Cada célula de um organismo contém um ou dois conjuntos do complemento básico de DNA, o genoma. No caso da espécie humana o genoma é



composto por 24 moléculas extremamente longas de DNA que formam os cromossomos. No DNA cromossômico encontram-se unidades funcionais denominadas genes que informam a célula como produzir proteínas. Os genes codificam proteínas de um modo indireto e composto por vários passos. No primeiro passo a informação contida no DNA é copiada (transcrita) em uma molécula de RNA mensageiro. Nos eucariotos o produto inicial da transcrição, o transcrito primário, é processado de várias maneiras, antes de ser traduzido no citoplasma. O processamento do transcrito primário inclui uma série de reações de *splicing*. Essas reações removem os íntrons, segmentos intercalados na região de código de um gene, e unem os segmentos de código, os éxons, formando um RNA mensageiro maduro. Subseqüentemente, a informação contida no RNA mensageiro é traduzida (decodificada) numa fila de aminoácidos, ou seja, em um polipeptídio. Os polipeptídios, por si próprios ou então agregados com outros polipeptídios e constituintes celulares formam as proteínas funcionais da célula. Uma vez sintetizadas nos ribossomos, as proteínas sofrem vários tipos de modificações. Elas são clivadas, eliminando assim seqüências sinal, e podem se ligar a muitos grupamentos químicos simples ou a moléculas mais complexas tais como açúcares e lipídios.

O alto nível de diversidade que o *splicing* alternativo do RNA mensageiro de um gene pode produzir faz com que muitas proteínas diferentes possam ser produzidas a partir de um único gene. Por isso, a seqüência de DNA de um genoma conta apenas uma pequena parte da história do que uma célula específica está fazendo. Os pesquisadores também devem prestar atenção à história contada pelo proteoma, ou seja, o conjunto de proteínas feitas de acordo com as instruções dos RNAs mensageiros produzidos por uma célula em um dado momento.

### **O que nos conta a seqüência do genoma humano?**

Na última década, o genoma humano foi objeto de intensa pesquisa biológica e continuará a ser o centro das atenções por muitos anos mais. A seqüência do genoma humano nos conta que nosso genoma possui cerca de 3.200.000.000 de bases (A, T, C, G). Porém, menos de 2% do genoma codifica proteínas. Estima-se que a fração do genoma que codifica proteínas contém de 30.000 a 35.000 genes, muito menos do que estimativas anteriores previram, cerca de 100.000. Considerando-se o número de genes nós somos apenas três vezes mais complexos que uma mosca de frutas e apenas duas vezes mais complexos que o verme microscópico *Caenorhabditis elegans*. Ainda não são conhecidas as funções de mais do que 50% dos genes descobertos. Quase um quarto dos genes que codificam proteína estão relacionados à expressão, replicação e manutenção do genoma e outros 20% especificam componentes das vias de transdução de sinal que regulam a expressão do genoma e outras atividades celulares em resposta a sinais recebidos do meio externo. Todos esses genes podem ser considerados como tendo funções que, de um modo ou de outro, estão relacionadas à atividade do genoma. As enzimas responsáveis pelas funções bioquímicas gerais da célula justificam outros 17,5% dos genes com função conhecida; e o restante está envolvido em atividades como transporte de composto para dentro e para fora das células, o dobramento das proteínas em suas estruturas tridimensionais

corretas, e a síntese de proteínas estruturais tais como as encontradas no citoesqueleto e nos músculos.

Uma grande porção de nosso genoma (cerca de 50%) contém seqüências repetitivas compostas principalmente por elementos de transposição não funcionais. Esses elementos são unidades genéticas que podem se inserir num cromossomo, sair e se movimentar para um outro sitio cromossômico. O excesso de DNA não codificador no genoma é descrito com DNA “lixo”, significando seqüências sem qualquer função aparente. Na realidade, essas seqüências repetitivas constituem um rico registro paleontológico, pois fornecem indícios cruciais sobre eventos e forças evolutivas. Como marcadores passivos, elas possibilitam o estudo dos processos de mutação e seleção. Como agentes ativos, as repetições deram nova forma ao genoma promovendo rearranjos, criando genes inteiramente novos, modificando e embaralhando os genes existentes.

A comparação da seqüência de nucleotídeos de diferentes indivíduos das populações humanas mostra que quase 99,9% das bases são exatamente as mesmas em todas as pessoas. As diferenças entre genomas individuais são devidas a polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs). Esses SNPs (pronuncia-se “snips”) são variações que ocorrem quando uma única letra do nosso genoma é alterada, por exemplo, existe um A ao invés de um G numa determinada posição. Os geneticistas podem usar os SNPs como marcadores em grandes trechos de cada cromossomo permitindo assim que eles acompanhem variantes gênicas numa população e verifiquem o papel que elas desempenham em doenças. Uma vez que seqüências específicas de DNA são relacionadas a doenças, o próximo passo é ir até os genes naquela região e procurar as seqüências típicas que eles contêm. Os estudos dos SNPs podem revolucionar os novos modos de previsão de risco mais elevado de determinadas doenças.

Todavia, a seqüência do genoma não nos conta quando um gene é expresso, onde seu produto está localizado, com que outro produto gênico ele interage e que fenótipo resulta se o gene sofrer mutação.

### **Comparando genomas**

O que nós temos em comum com moscas, vermes, leveduras e camundongos? A primeira vista, não muito. Por que então é tão importante para os cientistas conhecer essas similaridades? A genômica comparada é um método importante para a compreensão da seqüência do genoma. Similaridades entre genes homólogos de diferentes organismos proporcionam uma maneira de designar a função de um gene desconhecido. Esse é um exemplo de como o conhecimento sobre o genoma de um organismo pode ajudar a compreensão do genoma de um segundo organismo.

### **Do genoma ao proteoma**

Existem informações que com certeza a seqüência do genoma fornece. Isso inclui a seqüência de aminoácidos. Entretanto, para se obter as informações adicionais sobre a proteína incluindo as modificações pós-tradução, as associações com outros polipeptídios e, como esses processos são afetados por diferentes condições internas e externas é necessário que se estude as próprias proteínas.

O proteoma é o conjunto de proteínas expressas por um genoma ou tecido. Os projetos proteoma, que tem por objetivo a identificação e a caracterização de todas as proteínas expressas por um tecido ou organismo, são o complemento necessário para a análise em grande escala do genoma. O conceito de proteoma é fundamentalmente diferente daquele do genoma: enquanto o genoma é de fato estático e pode ser bem definido para um organismo, o proteoma muda continuamente em resposta a eventos externos e internos. Por exemplo, um hepatócito e um neurônio humano expressam proteínas diferentes embora possuam genomas idênticos. A idéia da proteômica é a obtenção de um quadro geral de centenas de milhares de proteínas diferentes presentes em cada tipo de célula e a verificação de como ele muda em resposta aos estágios do desenvolvimento, períodos de crescimento, influências ambientais ou doenças do organismo.

Como o proteoma converte as informações fisiológicas recebidas do genoma nas aptidões biológicas da célula? O primeiro aspecto a ser considerado é a ligação direta entre a seqüência de aminoácidos da proteína, determinada pelo DNA, e suas propriedades químicas. Além disso, a enorme variabilidade de proteínas diferentes permite que elas desempenhem uma vasta gama de atividades bioquímicas diferentes tais como catálise, movimento, armazenamento, estrutura celular, transporte de materiais, proteção e regulação de processos celulares.

As novas tecnologias da proteômica identificam, caracterizam e acompanham as interações de proteínas numa grande variedade de vias. Esse conhecimento permitirá progressos na pesquisa básica e fornecerá muitas ferramentas clínicas, incluindo novas abordagens de descoberta de drogas e de diagnóstico de doenças. Estudos que combinam genes e proteínas permitirão que os pesquisadores se aproximem muito mais da compreensão das causas moleculares das doenças e que planejem drogas que intervenham exatamente no ponto desejado.

**Onde obter informações complementares**

[http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human\\_Genome/education/education.shtml](http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/education/education.shtml)  
<http://www.phrma.org/issues/genomics/genomics.news.html>  
<http://www.genome.gov>  
<http://www.dnai.org/index.htm>

**GLOSSÁRIO**

**Base Nitrogenada** – molécula que faz parte do nucleotídeo

**Cromóforo** – molécula orgânica capaz de absorver a luz e emití-la em uma cor específica

**Cromossomo** – estrutura presente no núcleo, na qual estão os genes

**Didesoxinucleotídeo** – nucleotídeo cujo radical OH foi removido quimicamente

**DNA** – ácido desoxirribonucléico

**DNA polimerase** – enzima que sintetiza DNA promovendo a ligação de nucleotídeo e tendo uma cadeia de DNA como molde.

**Eletroforese** – processo no qual moléculas são separadas por tamanho num campo elétrico

**Enzima** – um tipo de proteína, cuja função é auxiliar as reações químicas para que aconteçam de modo mais rápido.

**Gene** – segmento de DNA responsável por uma informação, que poderá gerar como produto final uma molécula de RNA ou uma proteína

**Genoma** – DNA existente no núcleo haplóide das células

**Haplóide** – célula que apresenta apenas um lote de cromossomos (n).

**Macromolécula** – moléculas muito grandes, geralmente formadas por subunidades que se repetem, ex: DNA, RNA e proteínas

**Nucleotídeo** – subunidade que forma o DNA, composta por um grupo fosfato, um açúcar e uma base nitrogenada

**Primers ou iniciadores** – curtos segmentos de DNA de cadeia simples, que têm como função iniciar o processo de síntese de DNA

**Proteína** – macromolécula biológica formada por aminoácidos

**Radical hidroxila** – radical formado por um átomo de hidrogênio e outro de oxigênio e que faz parte de várias moléculas biológicas importantes - OH

**RNA** – ácido ribonucléico. Tipo de ácido nucléico de cadeia simples que difere do DNA por apresentar em sua composição a ribose, ao invés da desoxirribose e a uracila ao invés da timina.

**Seqüenciamento de DNA** – determinação da ordem exata de nucleotídeos num segmento de DNA

**Leituras  
complementares para  
alunos do ensino  
médio**

GAINOTTI, Alba; MODELLI, Alessandra, *Biologia para o Ensino Médio* : Serie Parâmetros – Vol único, pag. 334, Ed Scipione, 2002.

SILVA JUNIOR, Cezar; SASSON, Sezar; *Biologia*, Vol. 3, cap. 10, 1995.

AMABIS, José Mariano; MARTHO, Gilberto, *Conceitos de Biologia*, vol. 3, cap. 3, Ed. Moderna, 2001

CHEIDA, Luiz Eduardo, *Biologia Integrada*, Vol. 3, cap 10, Ed FTD, 2002.

**Demais referências  
bibliográficas**

ALBERTS, Bruce; BRAY, Dennis; LEWIS, Julian; RAFF, Martin; ROBERTS, Keith; WATSON, James D. *Molecular Biology of the Cell*. 3 ed. Nova York, Garland Publishing, 1994.

CAMPBELL, Neil A., REECE, Jane B., MITCHELL, Lawrence G. *Biology*. 5. ed. Menlo Park, California, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., 1999.

COOPER, Geoffrey M. *The Cell - A Molecular Approach*. 2 ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates, Inc., 2000.

LODISH, Harvey; BERK, Arnold; MATSUDAIRA, Paul; KAISER, Chris A.; KRIEGER, Monty; SCOTT, Matthew P.; Zipursky, S. Lawrence; Darnell, James *Molecular Cell Biology*. 5 ed. Nova York, W. H. Freeman & Co., 2004.

MADER, Sylvia S. *Biology*. 6.ed. Boston, McGraw-Hill, Inc., 1998.