

Pensando

O que significa clonagem? _____

Que tipos de benefícios podem ser obtidos com a clonagem gênica?

Que tipos de implicações éticas podem existir em relação a clonagem gênica? _____

Objetivo desta prática:

A presente atividade tenta dar uma noção de como ocorre o processo de clonagem de um fragmento gênico em plasmídeos através da simulação dos procedimentos utilizados em laboratório para clonar fragmentos gênicos.

Material:

- tesoura
- cola
- fita durex
- seqüências de DNA e plasmídeo fornecidas em anexo.

Procedimentos:

1. Pegue a seqüência do plasmídeo fornecida em anexo e monte o seu plasmídeo.
2. Identifique no plasmídeo:
 - ▮ as partes funcionais, determinando as suas importâncias para o procedimento de clonagem.
 - ▮ os possíveis sítios de ação das enzimas de restrição
3. Monte a seqüência do fragmento de DNA a ser clonado e identifique:
 - ▮ o trecho que representa um fragmento gênico,

▮ os possíveis sítios de ação das enzimas de restrição.

4. Escolha entre os sítios encontrados, a enzima que deverá utilizar no procedimento de clonagem, note que a mesma deverá ter um sítio também no plasmídeo.
5. Corte o fragmento e o plasmídeo simulando a ação da enzima escolhida.
6. Utilizando uma fita durex como se fosse a enzima ligase, junte o fragmento com o plasmídeo, simulando assim a clonagem.

No MCS do plasmídeo encontram-se vários sítios de enzimas diferentes como:

ENZIMAS	SÍTIOS
Apo I	RAATTY
Bam HI	G↓GATCC
Ban I	GGYRCC
Bgl II	A↓GATCT
Cla I	ATCGAT
Eco RI	G↓AATTC
Hae III	GG↓CC
Hinc II	GTYRAC
Hind III	A↓AGCTT
Kpn I	GGTACC
Pst I	CTGCA↓G
Rsa I	GTAC
Sal I	G↓TCGAC
Xba I	TCTAGA

Por que alguns estão em negrito?

O que dizem os cientistas

A tecnologia do DNA recombinante é uma das aplicações muito utilizadas em laboratório, antes da existência da técnica de PCR. Consiste em utilizar as enzimas de restrição para efetuar cortes em pontos específicos do DNA e plasmídeos, para depois juntá-los in vitro (em tubos de ensaio). Esta técnica permite a clonagem de fragmentos de um DNA de interesse em plasmídeos, o que facilita o estudo e a utilização deste segmento de interesse.

O que significa clonagem? –

- É o processo de reprodução assexuada, natural ou artificial, pelo qual são produzidos clones, cópias geneticamente idênticas entre si de outro ser.

O que são enzimas de restrição –

- são enzimas originalmente isoladas de procariotos que clivam a molécula de DNA através do reconhecimento de seqüências nucleotídicas específicas. Também conhecidas como **endonucleases**. As seqüências de reconhecimento são sempre palíndromos. Hoje são produzidas por empresas de biotecnologia e são uma das ferramentas básicas em Biologia Molecular e Engenharia Genética.

O que são os plasmídeos?

- São moléculas de DNA circular duplo separadas do DNA cromossômico que variam entre 1 e 250 kbp (milhares de pares de bases). Geralmente ocorrem em bactérias (mas por vezes também em eucarióticos). O número de cópias de um mesmo plasmídeo por célula varia de 1, para plasmídeos grandes, até 50 para os pequenos.

Que tipos de benefícios podem ser obtidos com a clonagem gênica?

- Produção de terapias ex: Insulina recombinante, multiplicação de um fragmento para estudo, resistência a pragas na lavoura.....

Que tipos de implicações éticas podem existir em relação a clonagem gênica?

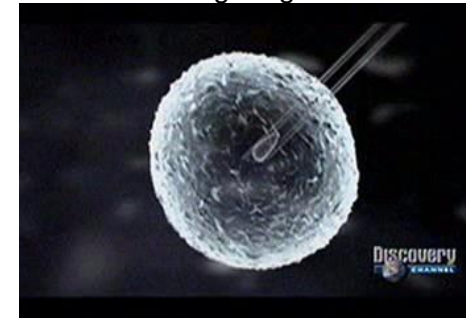
Universidade Federal Fluminense
PROEX



Experimentoteca

53

Clonagem gênica



Responsável

Mauro Luiz da Hora Faria

euffc@vm.uff.br

<http://www.uff.br/espacouffciencias>

Rua Jansen de Melo, 174, Centro Niterói

(Próximo ao 12º Batalhão da Polícia Militar)

55 21 2629-9611