

UN.2 -PATRIMÓNIO GENÉTICO E ALTERAÇÕES AO MATERIAL GENÉTICO

Cap.2.1. Alterações do Material Genético Engenharia genética



Biologia 12º ano

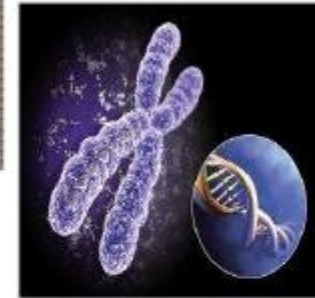
UN.2 - PATRIMÓNIO GENÉTICO E ALTERAÇÕES AO MATERIAL GENÉTICO

Situação Problemática

Que desafios se colocam à genética no melhoramento da qualidade de vida?



Cap. 1.1.
Transmissão das características hereditárias



Cap. 1.2.
Organização e regulação dos genes

Como são transmitidas as características dos progenitores à descendência?

Como se encontra organizado o material genético, e que mecanismos de regulação actuaam?



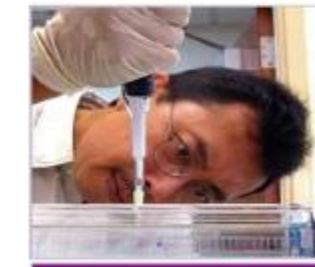
Cap. 2.1.
Mutações

Essencial para compreender

Que tipo de modificações podem ocorrer nos genes que herdamos?

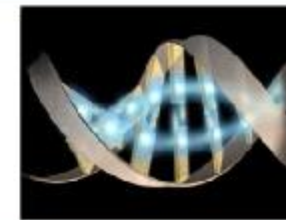
Os genes que herdamos podem sofrer alterações?

Como modificar os genes que herdamos?



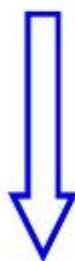
Cap. 2.2.
Fundamentos de Engenharia Genética

MUTAÇÕES



INDUZIDAS

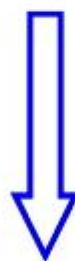
Provocadas por agentes mutagênicos externos



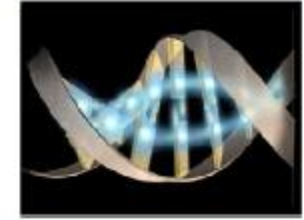
Substâncias capazes de causar danos no DNA

ESPONTÂNEAS

Erros nos processos celulares sem nenhuma influência externa



Biotechnology capaz de intervir no DNA

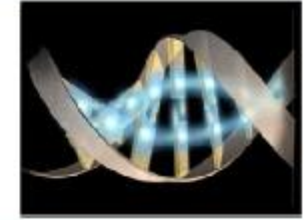


- ◆ Até ao início da década de 70, o DNA era o componente mais difícil de analisar, sabia-se :
 - da sequência nucleotídica;
 - das proteínas associadas;
 - fazia-se análise genética através de métodos indirectos.
- ◆ A partir da década de 70, o desenvolvimento e domínio de técnicas permitiu



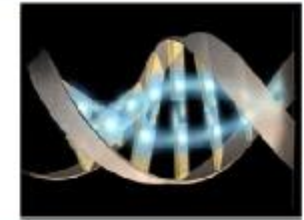
Engenharia Genética modificação do DNA de um organismo para produzir novos genes com novas características.

APLICAÇÕES

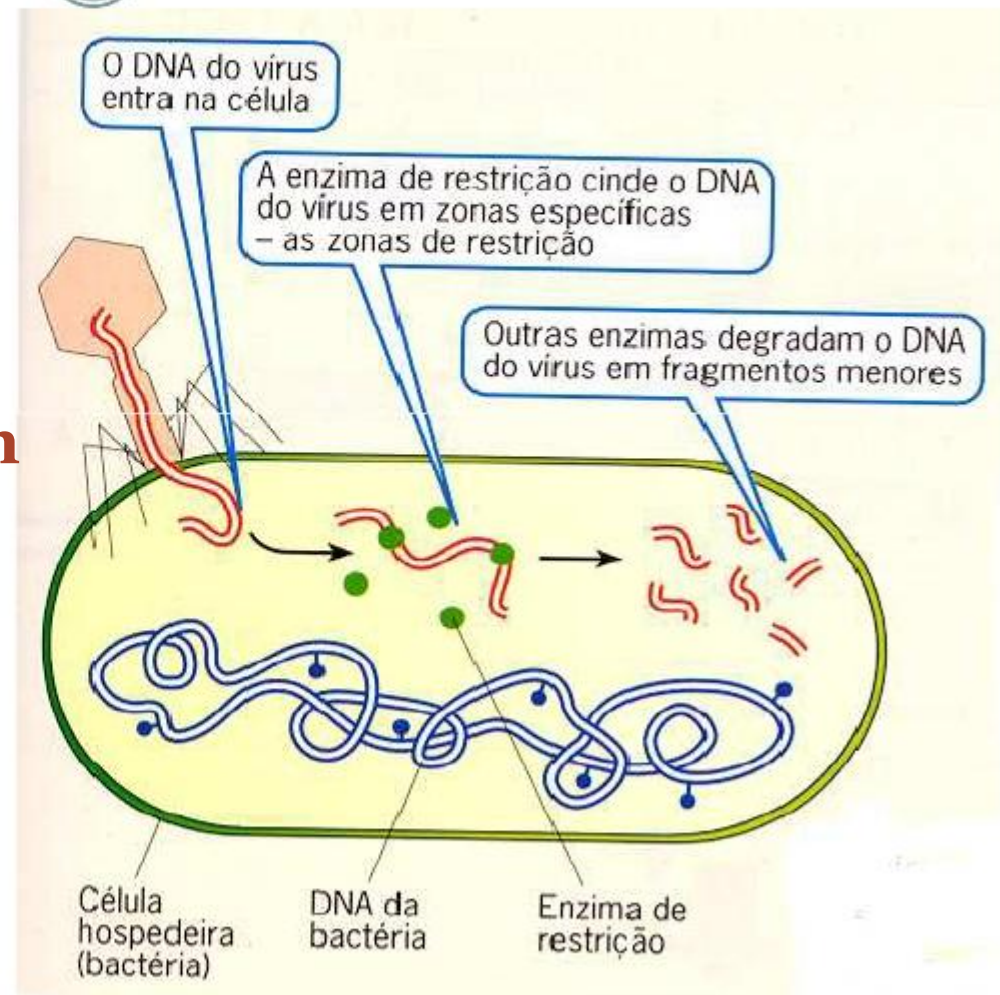


- ◆ Estudo de mecanismos de replicação e expressão génica;
- ◆ Determinação da sequência de um gene e proteína que codifica;
- ◆ Culturas microbianas capazes de produzir substâncias úteis (ex. insulina, hormonas de crescimento, vacinas...);
- ◆ Testes de paternidade;
- ◆ Diagnóstico de doenças genéticas e infecciosas;
- ◆ Aperfeiçoamento e rentabilização dos processos de produção de vinho, pão, queijo, iogurte, etc.

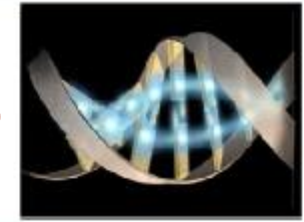
TÉCNICA DO DNA RECOMBINANTE (rDNA)



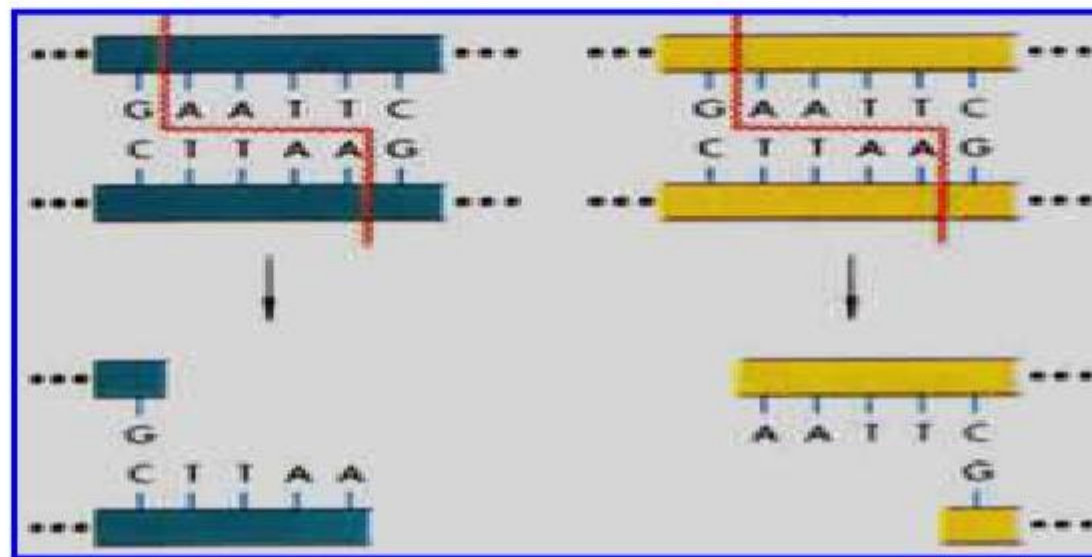
◆ Surge em 1973, após estudos com bactérias em que foi descoberto que estas são capazes de sintetizarem **enzimas que cortam o DNA de outros organismos** que as parasitam, como vírus (bacteriófagos), actuando como mecanismo de defesa.



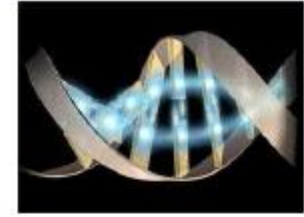
ENZIMAS DE RESTRIÇÃO



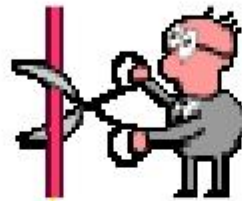
- ◆ As enzimas – **endonucleases de restrição** – cortam o DNA viral assim que este penetra no citoplasma, impedindo assim o ataque viral.
- ◆ Têm a capacidade de reconhecer sequências nucleotídicas específicas de DNA, ligarem-se a essas zonas e clivarem a molécula nesse local – **enzimas de restrição**.



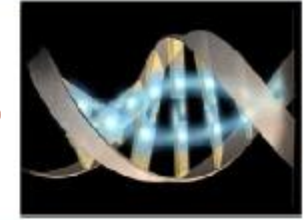
ENZIMAS DE RESTRIÇÃO



A **EcoRI** reconhece e corta o DNA no mesmo local nas duas cadeias.



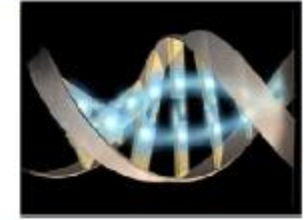
ENZIMAS DE RESTRIÇÃO



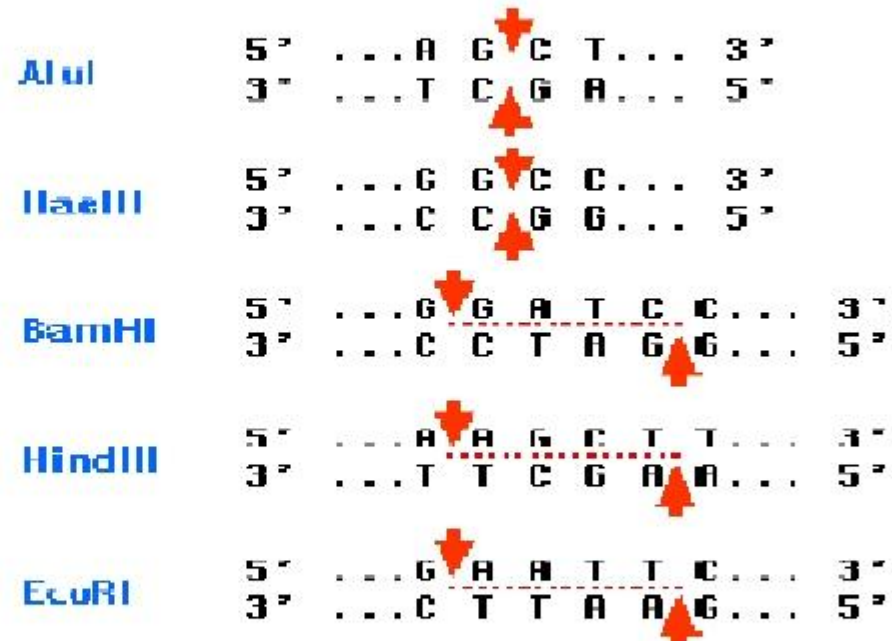
Assim, quando se separa o DNA cortado pela **EcoRI** obteremos extremidades chamadas **coesivas** ou **adesivas** (corte assimétrico) porque se podem sobrepor novamente.



ENZIMAS DE RESTRIÇÃO

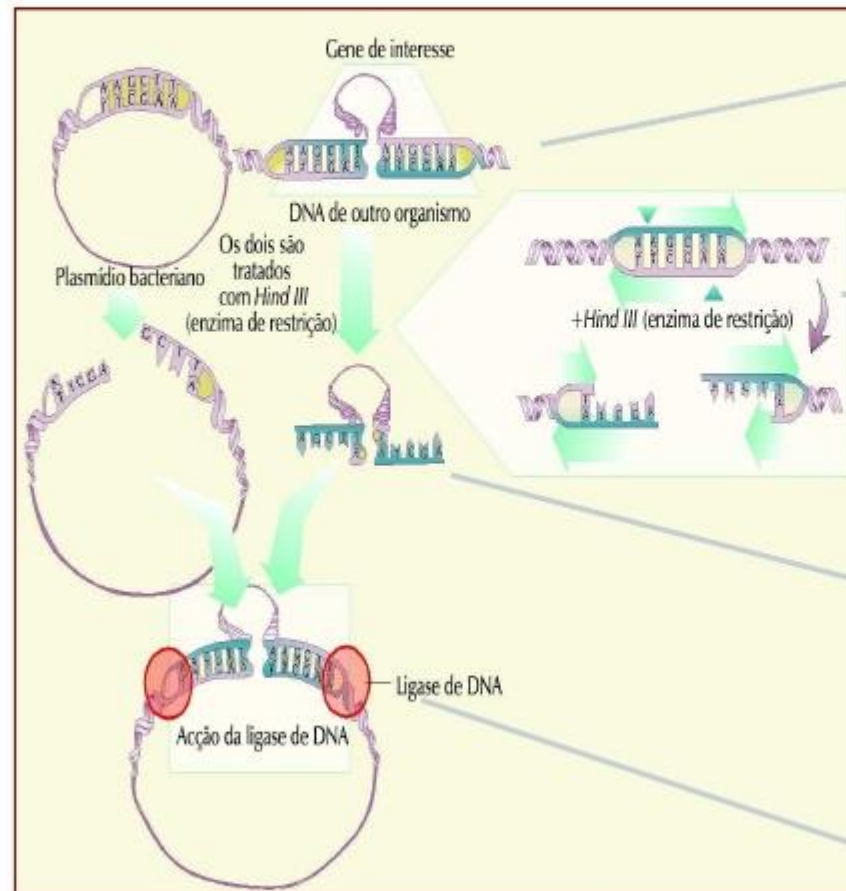
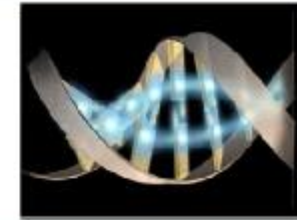


- Outros exemplos de endonucleases de restrição:



- Quais as enzimas que produzem:
 - a) Extremidades abruptas?
 - b) Extremidades coesivas?

IMPORTÂNCIA DAS ENZIMAS DE RESTRIÇÃO



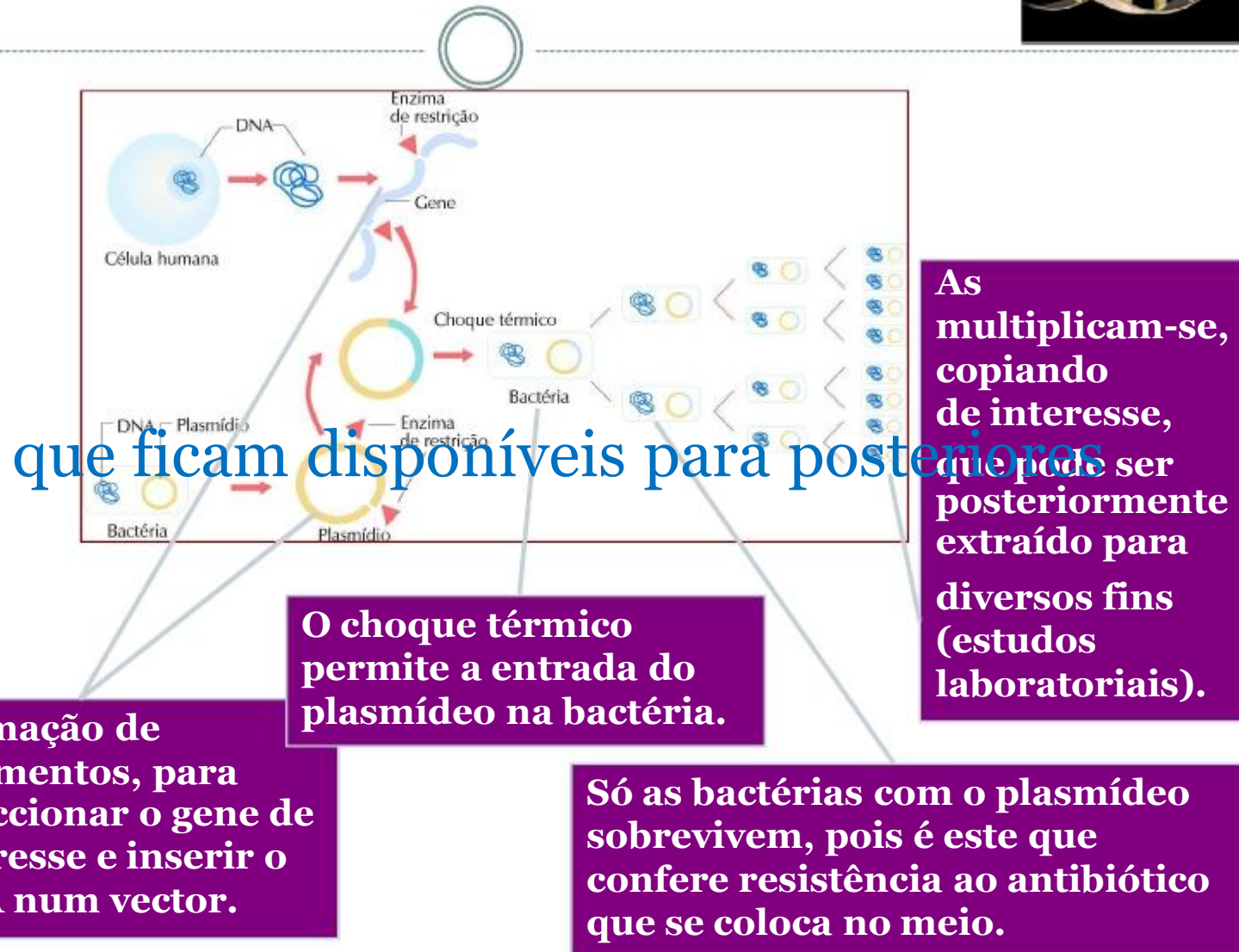
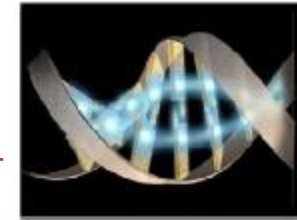
Seleção do gene de interesse.

Corte do gene de interesse e do vector com a mesma enzima de restrição.

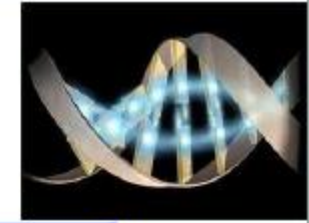
Formação de extremidades que se podem emparelhar por complementaridade, formando pontes de H.

Adição da ligase para ligar covalentemente as duas moléculas, formando um rDNA.

INSERÇÃO DO DNA RECOMBINANTE NUM VECTOR

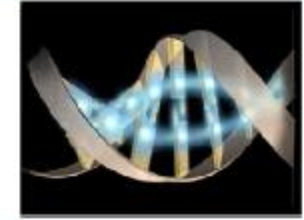


TÉCNICA DO DNA RECOMBINANTE (rDNA)

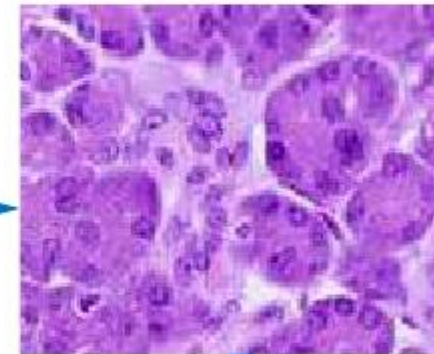
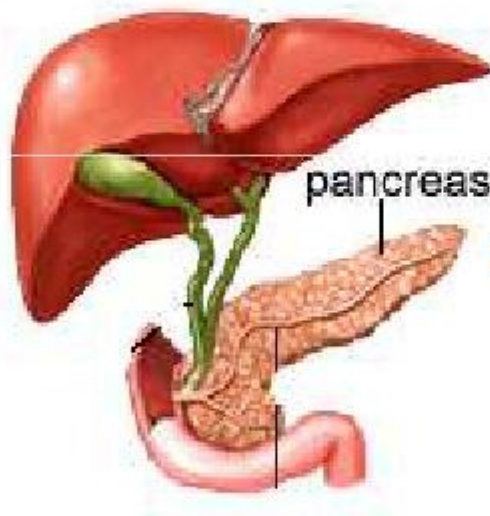


Substância obtida pela tecnologia do rDNA	Aplicação
Hormona do crescimento	Disfunção Hipofisária
Factor de crescimento da epiderme	Processos de cicatrização de feridas
♦ As bibliotecas de genes podem também ser conseguidas	
Factores VIII e IX	Hemofilia
Vacina para a hepatite	Hepatite B
Teste da SIDA	Despiste da SIDA
Superóxido dismutase	Evita a extensão de danos após enfarte do miocárdio
Eritropoetina	Anemia

TÉCNICA DO DNA COMPLEMENTAR (cDNA)

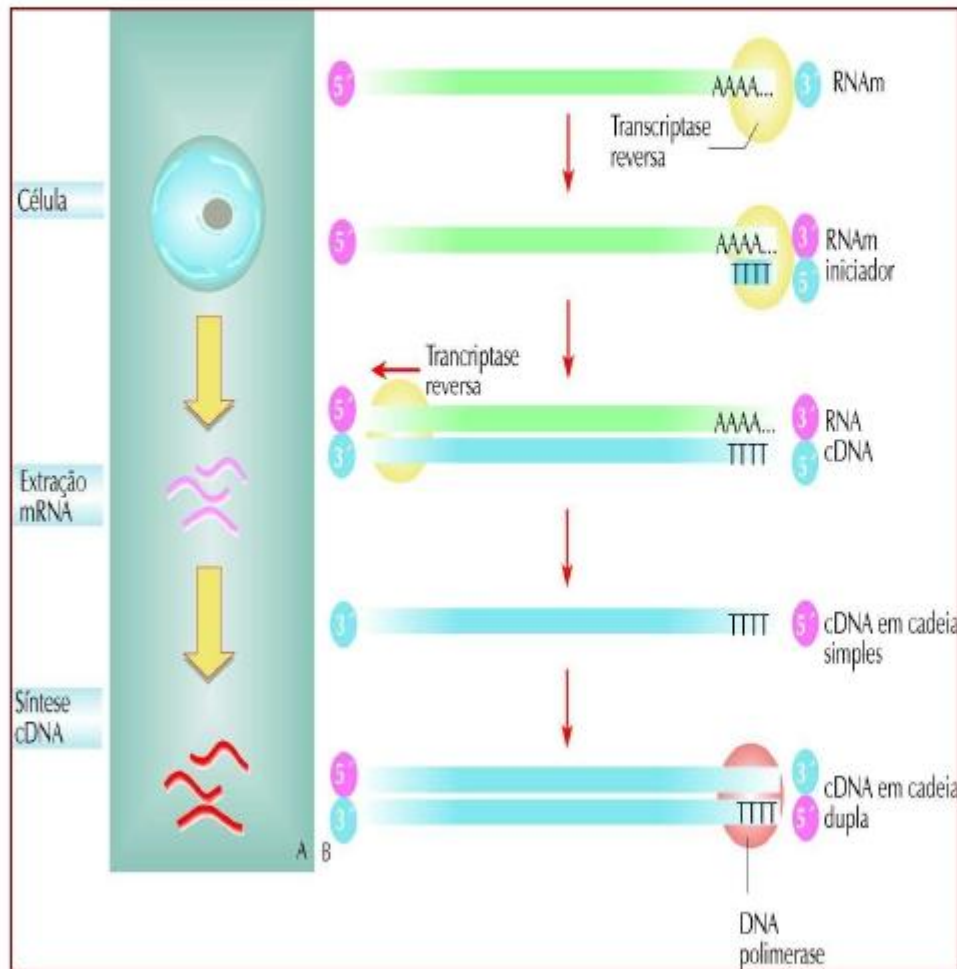
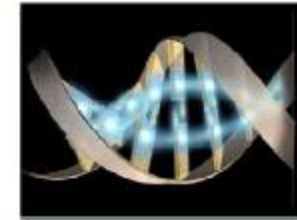


Como se isolou o gene responsável pela produção da insulina humana?



Moléculas de mRNA

PRODUÇÃO DE DNA COMPLEMENTAR (cDNA)



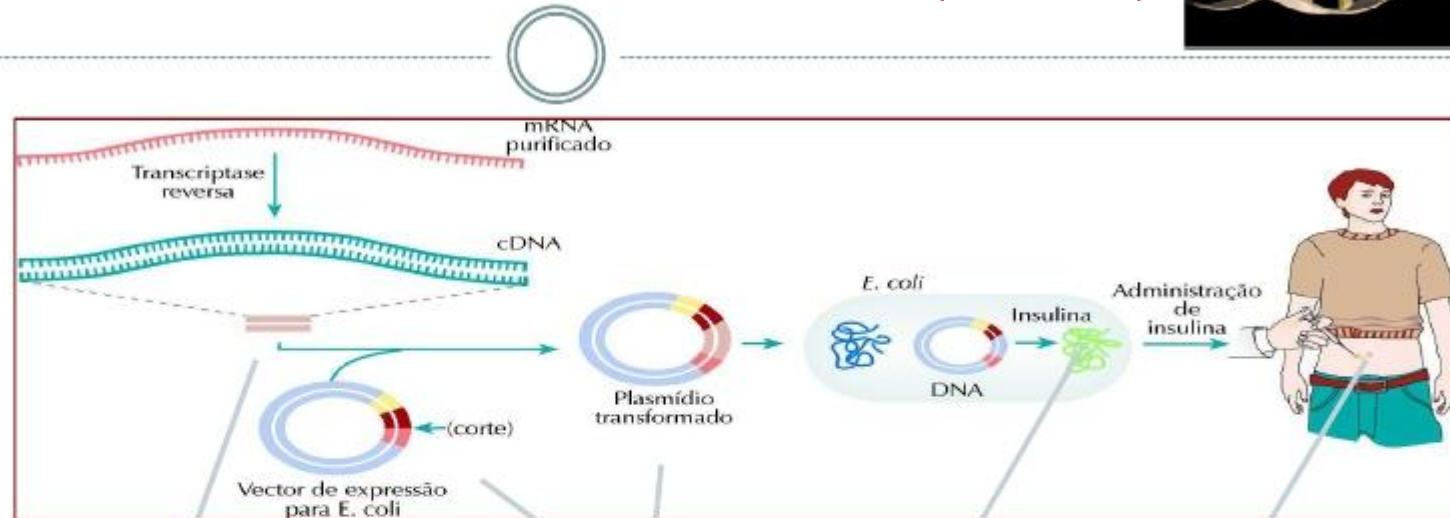
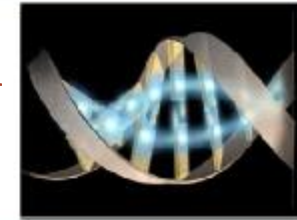
Extracção do RNAm presente numa célula, e que representa todos os genes que são expressos.

Adição de um iniciador para formar um segmento e cadeia dupla que permita a síntese de uma cadeia de DNA por complementaridade pela transcriptase reversa.

Adição de um iniciador para a DNA polimerase.

Síntese de DNA por uma polimerase, formando um DNA em cadeia dupla.

APLICAÇÕES DA TÉCNICA DE DNA COMPLEMENTAR (cDNA)



Isolamento do gene humano para a produção de insulina.

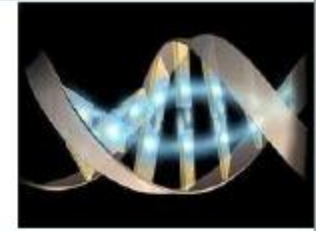
Clonagem do gene num plasmídeo e inserção numa bactéria.

As bactérias produzem elevadas quantidades de insulina pura e a custos reduzidos.

A insulina pode ser administrada, com diminuição dos riscos e complicações de saúde.

Também permite o estudo laboratorial dos genes humanos.

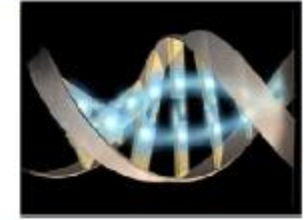
TÉCNICA DO DNA *fingerprint*



A técnica foi inventada por um cientista inglês,
Sir Alec Jeffreys, em 1984.



TÉCNICA DO DNA *fingerprint*



E como se chegou a esta técnica?

Sabendo que:

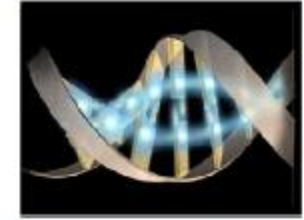
- o DNA é uma molécula que se encontra no núcleo das células do nosso corpo;

- o DNA contém toda a informação sobre o nosso corpo e...

- ...por isso, cada ser humano tem um DNA diferente...

- ...então, provavelmente, seria possível identificar cada ser vivo a partir do seu DNA.

TÉCNICA DO DNA *fingerprint*



Mas como comparar DNA proveniente de diferentes seres humanos?

É necessário recolher uma amostra de DNA. Por exemplo, uma gota de sangue

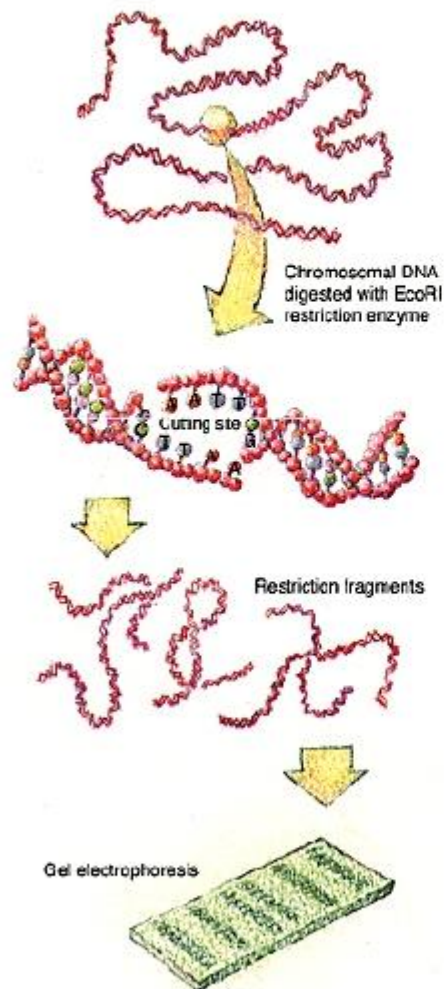
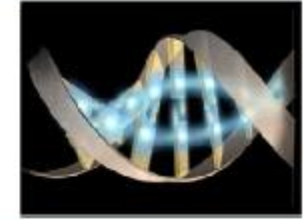
ou um cabelo.



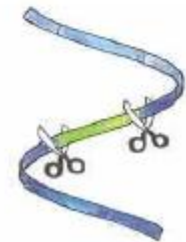
Com a amostra prepara-se uma extracção do DNA, obtendo-se no final uma solução.

Como o DNA é uma molécula muito longa tem de ser cortado em pequenos fragmentos.

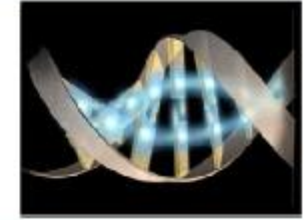
TÉCNICA DO DNA *fingerprint*



- Para **cortar o DNA** utilizam-se as enzimas de restrição.
- Cada enzima faz vários cortes em locais do DNA que ela reconhece.
- Mas como **o DNA de cada indivíduo é diferente** a enzima corta sequências de diferentes tamanhos.



TÉCNICA DO DNA *fingerprint*



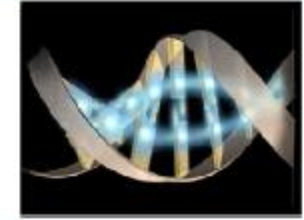
Já temos uma solução que contém vários fragmentos de DNA de diferentes tamanhos.

Mas não os vemos.

Para isso é necessário **adicionar um marcador** para os tornar visíveis.

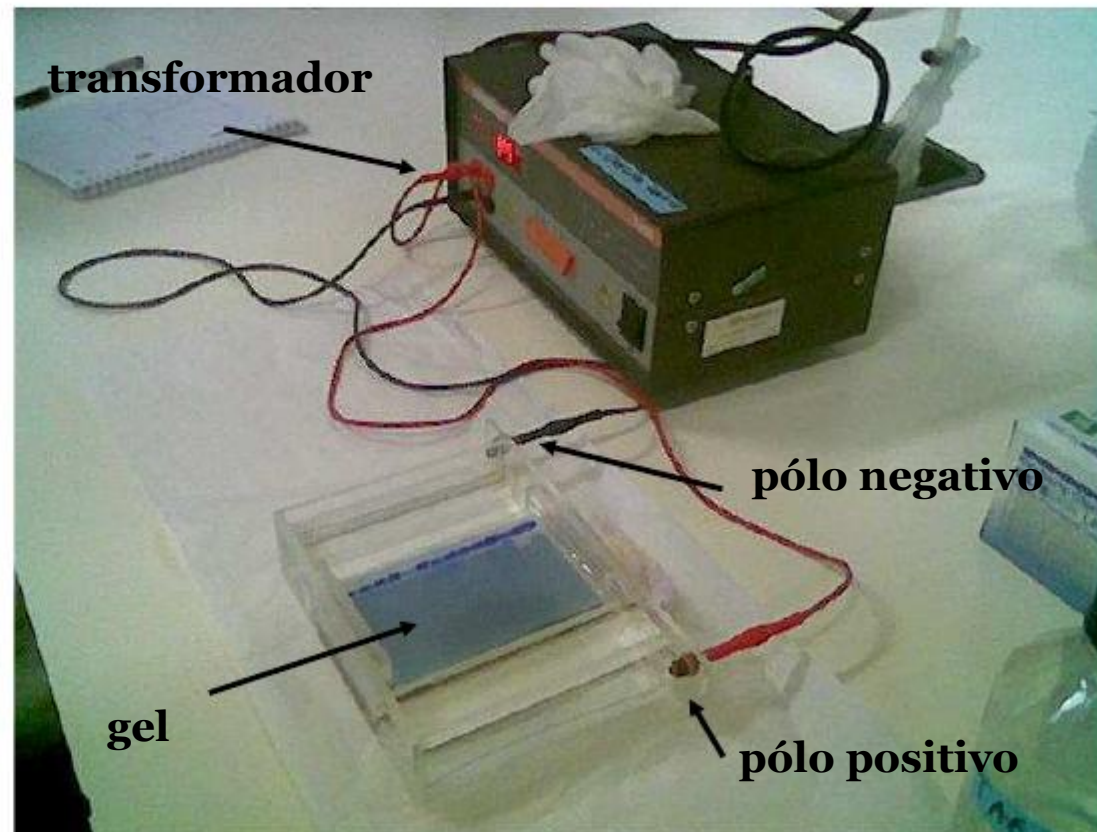
Então podemos adicionar uma substância **fluorescente ou radioactiva**.

TÉCNICA DO DNA *fingerprint*

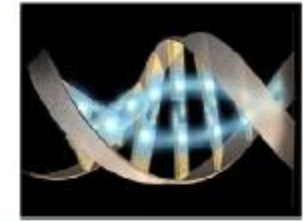


Para separar os fragmentos por tamanho...
... é necessário corrente eléctrica, um gel e tempo.

Esta técnica
chama-se
electroforese
e é anterior ao
DNA
fingerprinting.



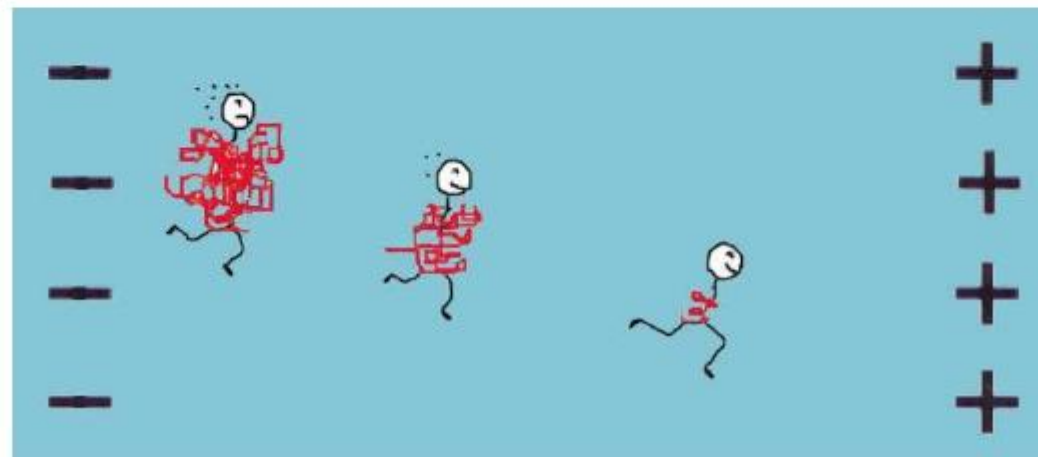
TÉCNICA DO DNA *fingerprint*



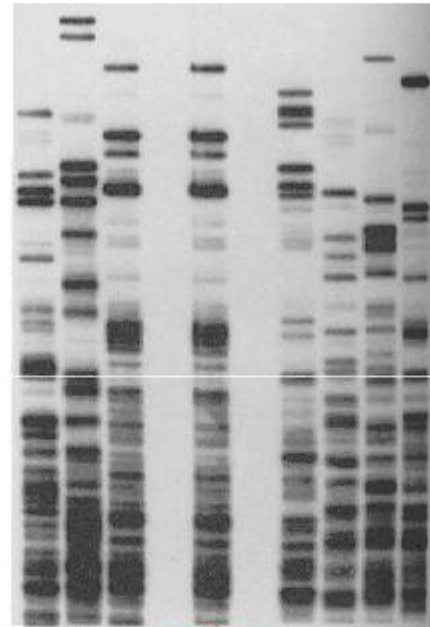
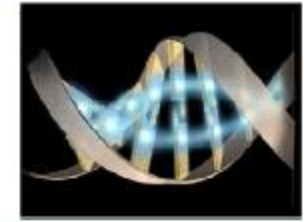
O DNA é colocado sobre o **gel**, na zona do pólo negativo.

Como o DNA é predominantemente negativo, **é atraído para o pólo positivo.**

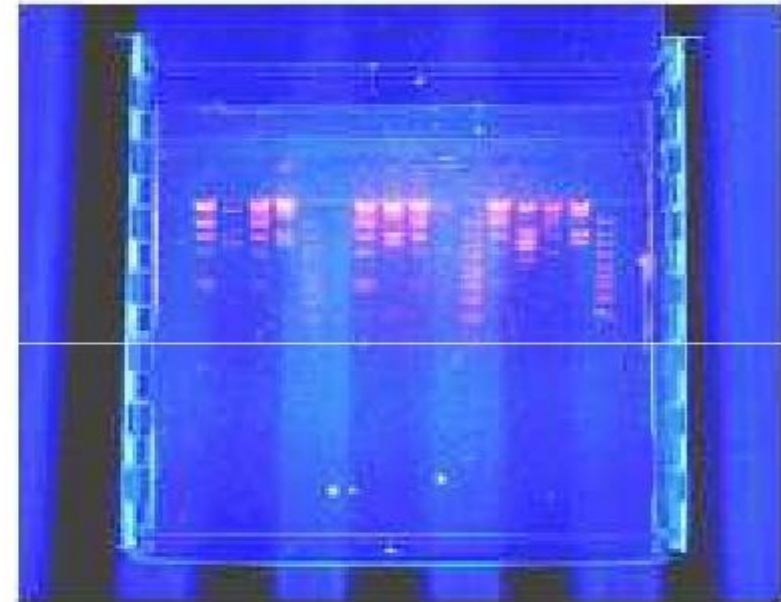
Os fragmentos do DNA vão “correr” no gel mais rapidamente quanto menor for o seu tamanho.



TÉCNICA DO DNA *fingerprint*

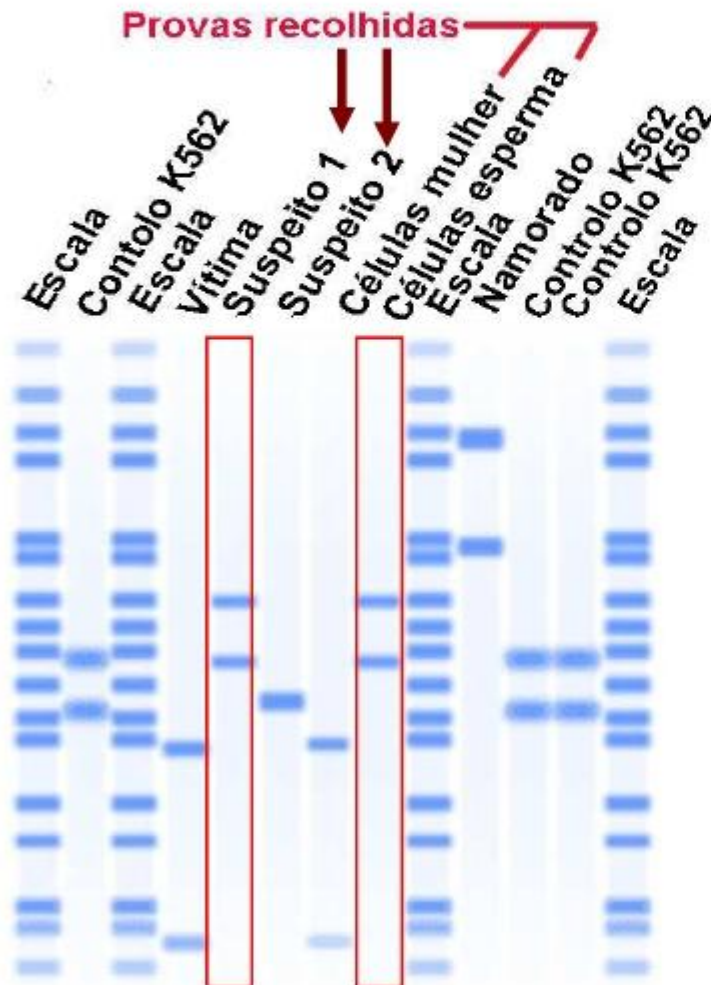
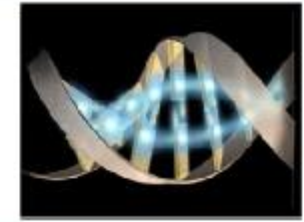


Electroforese por marcadores radioactivos



Electroforese por marcadores fluorescentes

TÉCNICA DO DNA *fingerprint*



Será que consegues descobrir o criminoso?

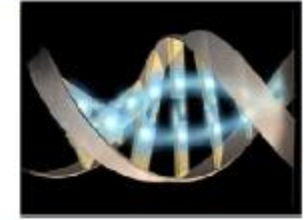
Num caso de violação a polícia identificou dois suspeitos.

Recorreu-se ao DNA fingerprinting, encontrando-se os resultados de todos os envolvidos neste esquema.

Portanto o violador é....

O suspeito 1!!!

TÉCNICA DO PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

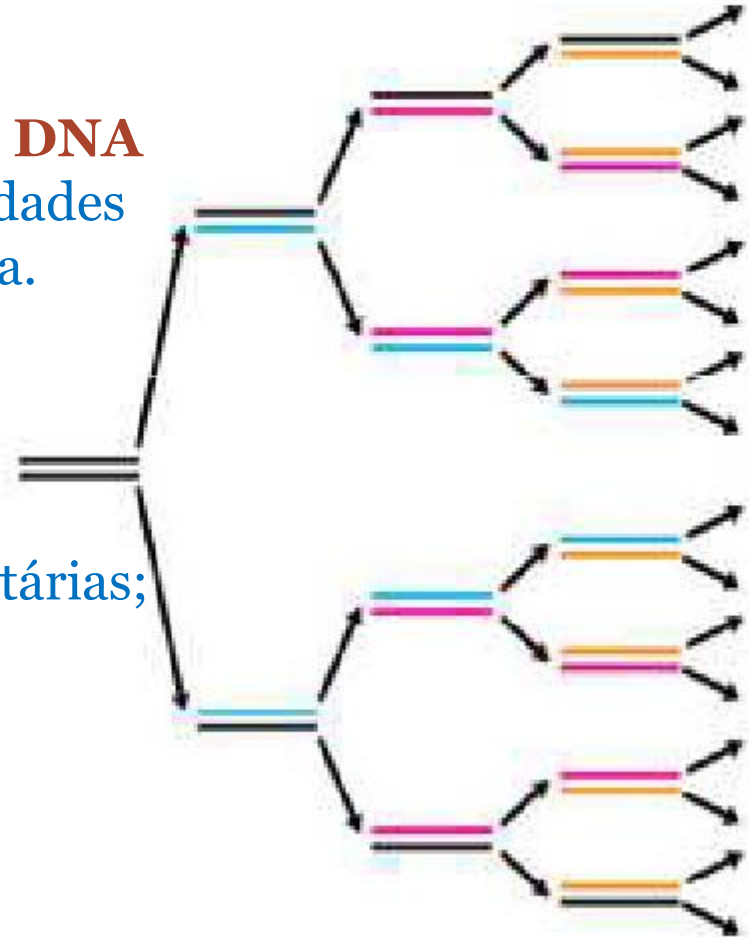


1983

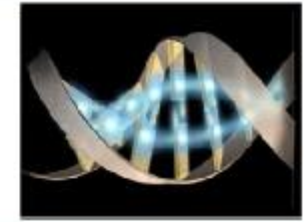
É uma das técnicas para **clonar DNA** de modo a obter grandes quantidades a partir de uma pequena amostra.

É utilizada em :

Estudos de Medicina Forense;
Diagnóstico de doenças hereditárias;
Estudos de evolução biológica.



TÉCNICA DO PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

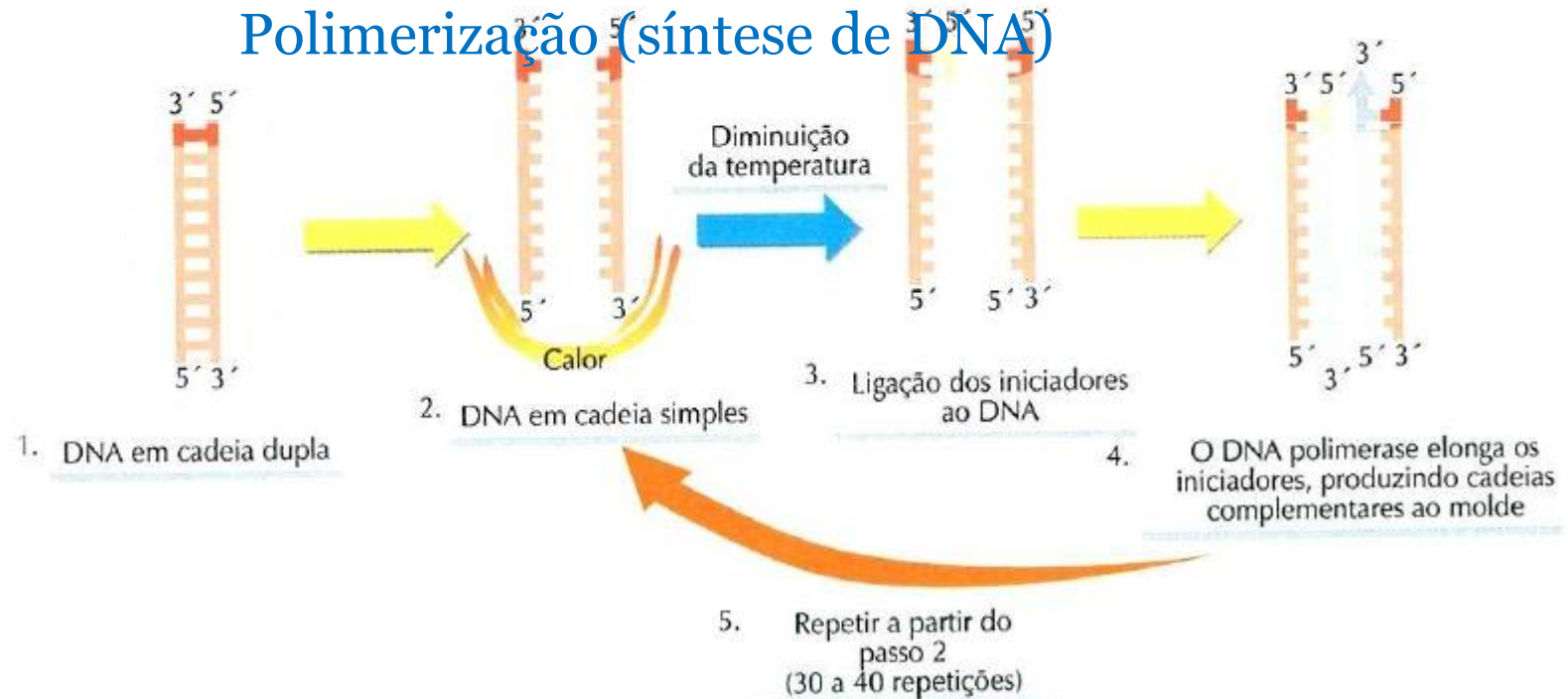


Cada ciclo de PCR envolve :

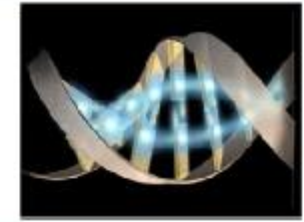
Desnaturação

Emparelhamento de iniciadores (*primers*)

Polimerização (síntese de DNA)



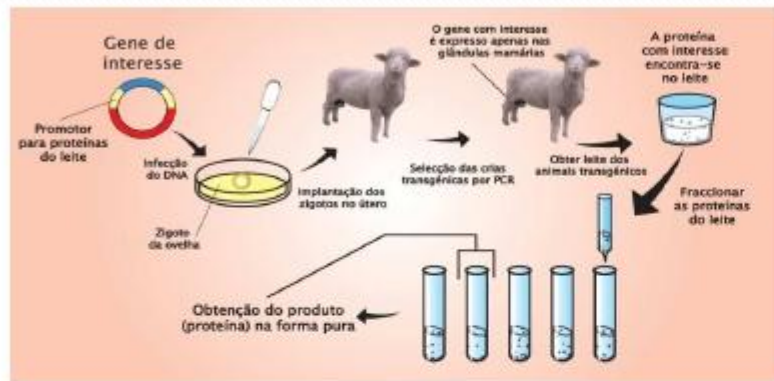
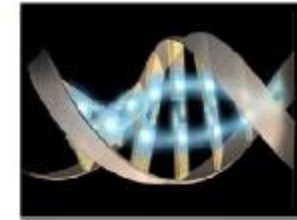
OMG (*Organismos geneticamente modificados*)



A **manipulação genética**, iniciada em microrganismos, alargou-se a outros seres vivos, vulgarmente animais e plantas.

Designam-se organismos geneticamente modificados (OGM) ou **transgênicos** aqueles cujo genoma foi manipulado, apresentando diferenças relativamente à sua constituição original.

OMG (Organismos geneticamente modificados)



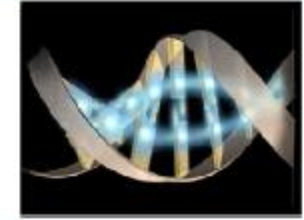
Os animais e as plantas transgênicos são utilizados na investigação científica, e possuem elevados impactos económicos.

Os animais estão a ser modificados para produzirem proteínas de interesse e com maiores rendimentos de produção na pecuária e menores impactos ambientais, pois passam a aproveitar melhor os alimentos digeridos e a eliminar menos compostos nos dejectos.

As plantas estão a ser modificadas para aumentarem a sua produção, por melhoramentos na resistência a patógenos e factores abióticos, como o sal, a seca, etc. Constituem importantes fornecedores de substâncias terapêuticas.



OMG (Organismos geneticamente modificados)



Os OGM levantam reservas não só em termos de **saúde humana** mas, sobretudo, em termos de **perturbação ambiental**.

Não é seguro que os OGM, através da reprodução, não disseminem genes manipulados alterando o equilíbrio das populações naturais.



