

## GABARITO

**Química Geral 01:** O ácido oxálico (PM= 90 g/mol) é um excelente agente redutor que é usado para remover manchas de ferrugem e para reduzir diversos produtos químicos. 25,00 mL de uma solução de ácido oxálico foi titulada com 0,100 mol L<sup>-1</sup> de NaOH e o ponto estequiométrico foi de 38,00 mL. Qual a concentração do ácido?

Qualquer titulação parte do princípio do conhecimento prévio da reação que está ocorrendo e sua respectiva estequiometria:

Assim:



1 mol ácido    2 mol base

Para encontrar a concentração do ácido oxálico é necessário primeiro encontrar o número de mols de NaOH utilizados na neutralização.

A concentração de NaOH ([NaOH]) é de 0,100 mol.l<sup>-1</sup> e foi utilizado 38,00mL dessa solução,

$$0,038 * 0,1 = \text{mol/L NaOH}$$

ou calculando número de mols de NaOH utilizado =  $3,8 \cdot 10^{-3}$  mols.

ácido oxálico possui dois grupos ácido carboxílico na sua estrutura e dessa forma pode liberar dois H<sup>+</sup> durante sua neutralização, e como foi dito no corpo do texto a titulação foi até atingir o ponto estequiométrico aonde todo o ácido é consumido, assim a estequiometria dessa reação de neutralização é de:

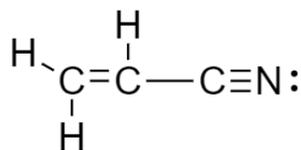
1 de ácido oxálico para 2 de NaOH.

n° de mols de ácido oxálico presente na solução é de  $1,9 \cdot 10^{-3}$  mols.

Para uma alíquota de ácido de 25 mL temos

concentração do ácido oxálico é de 0,076 mols.L<sup>-1</sup> ou 6,84 g/L

**Química Geral 02:** A molécula CH<sub>2</sub>CHCN é empregada na síntese de fibras acrílicas (poliacrilamidas), como o Orlon. Observe abaixo a sua estrutura de Lewis. Descreva os orbitais híbridos de cada átomo de carbono. Qual é o valor aproximado de cada ângulo de ligação?



Os átomos de carbono de -CH<sub>2</sub> e -CH apresentam hibridização sp<sup>2</sup> com ângulos de ligação de 120 °C. Já o carbono ligado ao nitrogênio é um híbrido sp com ângulo de ligação para C – C – N de 180°.

**Química Geral 03:**

- a) Considerando os vários tipos de ligações químicas e interações intermoleculares conhecidos, explique a diferença nos pontos de ebulição dos seguintes pares de

compostos químicos H<sub>2</sub>O (PE= 100°C); BaO (PE = 2000°C) e HCl (PE = -85°C); HBr (PE = -67°C).

A água é um composto covalente polar que se envolve em ligações de hidrogênio na fase líquida. Portanto, para a molécula de água entrar em ebulição, é necessário fornecer energia suficiente para vencer as interações intermoleculares do tipo ligação de hidrogênio. O óxido de bário é um óxido nos quais os íons Ba<sup>2+</sup> e O<sup>2-</sup> fazem ligações iônicas. Portanto, para entrar em ebulição, uma amostra de óxido de bário deve receber energia suficiente para vencer a energia de rede do retículo cristalino, rompendo ligações iônicas fortes. Como as ligações de hidrogênio são muito mais fracas que as ligações iônicas, é necessário menos energia para promover a mudança de fase na água em relação à energia necessária para o óxido de bário.

No caso dos dois ácidos, ambos são moléculas covalentes polares, ambos se envolvendo em interações do tipo dipolo permanente-dipolo permanente na fase líquida. Sendo o HCl uma molécula mais polar do que o HBr, sugere-se num primeiro momento que o PE do HCl deveria ser maior do que o PE do HBr. No entanto, o HBr é uma molécula com um número de elétrons maior e mais polarizável do que o HCl, de modo que às interações dipolo permanente/dipolo permanente somam-se interações fracas de dispersão, o que responde pelo PE do HBr ser maior que o PE do HCl.

- b) Considerando os vários tipos de ligações químicas e interações intermoleculares conhecidos, explique a diferença no estado físico do CO<sub>2</sub> (gasoso) e do SiO<sub>2</sub> (sólido) em condições ambiente.

O CO<sub>2</sub> é um composto covalente apolar, formado por unidades discretas mantidas em fase condensada por interações intermoleculares fracas do tipo dispersão. Enquanto o SiO<sub>2</sub> é um sólido covalente reticular. Portanto, para o CO<sub>2</sub> entrar em ebulição, pouca energia é necessária para romper as interações intermoleculares fracas de dispersão, e isso confere um baixo PE para essa molécula, de modo que ela se encontra em fase gasosa em condições ambientes. Já para o dióxido de silício, é necessário que ocorra o rompimento de ligações covalentes presentes no retículo infinito do sólido covalente reticular, caracterizando a necessidade de mais energia e, portanto, altíssimos PE. Isso justifica a ocorrência desse óxido no estado sólido em condições ambientes.

#### Química Geral 04:

Questão 4

$$K_1 = \frac{[Cl]^2}{[Cl_2]} \quad K_2 = \frac{[COCl]}{[Cl][CO]}$$

$$[Cl] = (K_1 [Cl_2])^{1/2}$$

$$[COCl] = K_2 [Cl][CO] = K_1^{1/2} K_2 [Cl_2]^{1/2} [CO]$$

$$P = K [COCl][Cl_2] = K K_1^{1/2} K_2 [Cl_2]^{3/2} [CO]$$

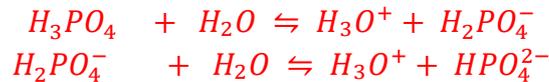
#### Questões de Analítica Q5 e Q6

(5) No cálculo da concentração do íon hidrônio em uma solução de ácido fosfórico a segunda dissociação do ácido normalmente é desconsiderada. Esta afirmação é correta para uma solução de ácido fosfórico 1,00 mol.L<sup>-1</sup> e dihidrogênio fosfato 0,50 mol.L<sup>-1</sup>.

Para resolver esta questão calcule a concentração final de íons hidrônio e compare com a concentração de hidrogênio fosfato.

$$(k_{a1} = 7,11 \times 10^{-3}) \quad (k_{a2} = 6,24 \times 10^{-8})$$

O equilíbrio principal nesta solução é a dissociação do  $H_3PO_4$



$$\frac{[H_3O^+][H_2PO_4^-]}{[H_3PO_4]} = K_{a,1} = 7,11 \cdot 10^{-3}$$

Assumindo, inicialmente, que a dissociação de  $H_2PO_4^{2-}$  e  $PO_4^{3-} \ll H_2PO_4^-$  e  $H_3PO_4$  podemos simplificar as equações para:

$$[H_3PO_4] = 1,00 \text{ mol/L}$$

$$[H_2PO_4^-] = 0,50 \text{ mol/L}$$

Substituindo em  $K_{a,1}$

$$\frac{[H_3O^+][0,50]}{[1,0]} = K_{a,1} = 7,11 \cdot 10^{-3}$$

$$[H_3O^+] = \frac{7,11 \cdot 10^{-3}}{0,50}$$

$$[H_3O^+] = 0,1422 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

Agora usamos segunda expressão de equilíbrio  $K_{a,2}$  para mostrar que a  $[HPO_4^{2-}]$  pode ser desprezada.

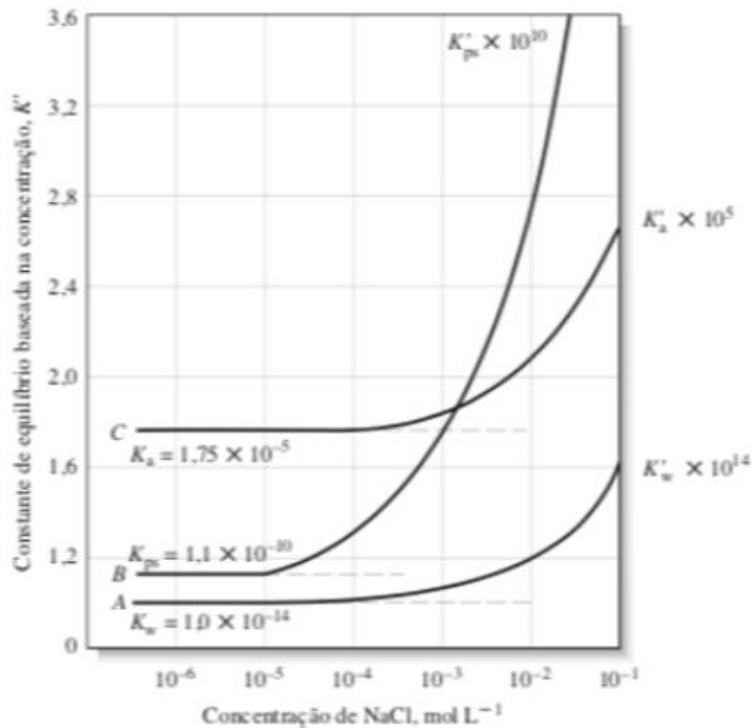
$$\frac{[H_3O^+][HPO_4^-]}{[H_2PO_4^{2-}]} = K_{a,2} = 6,34 \cdot 10^{-8}$$

$$\frac{[0,1422][HPO_4^-]}{[0,50]} = K_{a,2} = 6,34 \cdot 10^{-8}$$

$$HPO_4^- = 2,22 \cdot 10^{-7}$$

A suposição é válida a concentração de  $HPO_4^- \ll \ll \ll H_3O$

(6) A figura abaixo mostra um gráfico de diversas constantes de equilíbrio baseada nas concentrações (K) em função da concentração da adição sucessiva de NaCl nestas soluções. Esta figura pode ser explicada por um fenômeno chamado de efeito salino. Explique o comportamento da curva B que descreve o comportamento de sulfato de bário.



O gráfico mostra que o aumento da concentração de NaCl aumenta a solubilidade de BaSO<sub>4</sub>. O efeito salino nada mais é que o aumento da solubilidade de sais poucos solúveis com a adição de um sal inerte (sal inerte = sal que não possuem íons comuns). Com a adição de NaCl na solução contendo sulfato de bário a solubilidade deste composto aumenta visto que os íons Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> irão contribuir para a solvatação dos íons sulfato e bário. O efeito salino faz com que cada íon dissociado seja rodeado por íons de carga opostas (forças de atração e repulsão) do eletrólito, diminuindo a atração dos íons sulfato e bário e portanto, aumenta a solubilidade do composto.

### Questões de Bioquímica Q7 e Q8

7. As enzimas são proteínas globulares que atuam nas mais variadas reações do corpo. Alguns fatores podem afetar a atividade dessas substâncias, alterando a velocidade de uma reação. A respeito desses fatores: a) O pH apresenta um papel importante na atividade enzimática, entretanto sua variação causa poucos problemas no funcionamento das enzimas. b) A temperatura influencia sempre ativamente na atividade das enzimas, causando a aceleração da reação enzimática. Você concorda com estas afirmações? Justifique sua resposta.

a) Falso. Mudanças de pH afetam tanto a distribuição de cargas da enzima, mudando sua estrutura (processo de desnaturação) e conseqüentemente afetando a interação com o substrato. Por conseqüência, estas mudanças afetam significativamente a atividade catalítica da enzima. Via de regra existe um pH-ótimo de atuação para cada enzima resultado da otimização da interação específica entre o substrato e o centro ativo (sítio catalítico da enzima). b) Parcialmente correto. Pois a temperatura pode acelerar o processo catalítico até um determinado ponto, acima do qual, pode ocorrer a desnaturação da enzima (perda a estrutura terciária ou quaternária da proteína) responsável pela sua função catalítica. Para cada enzima existe uma temperatura ótima

de atuação como catalizador que depende de sua composição em aminoácidos e estrutura.

8. Duas proteínas polimórficas, apesar de terem diferenças quanto a alguns de seus aminoácidos, são capazes de desempenhar a mesma função. Explique como isto é possível.

Primeiramente temos que lembrar que existe uma relação importante entre estrutura e função de uma proteína. Proteínas polimórficas são proteínas que apresentam substituição de aminoácidos em sua sequência primária, porém com mesma característica físico-química. Isto é, por exemplo, a troca de um aminoácido polar por outro polar ou um aminoácido hidrofóbico por outro hidrofóbico. Esta troca não afeta a estrutura da proteína e desta forma garante a manutenção da função da proteína.

### Questões de Físico-Química Q9 e Q10

Questão 9

$$P_T = P_A + P_B = 1,0 \text{ atm}$$

$$y_A = 0,4 \quad x_A = 0,2$$

$$y_B = 0,6 \quad x_B = 0,8$$

$$P_A = x_A P_A^*$$

$$y_A P_T = x_A P_A^*$$

$$P_A^* = \frac{y_A P_T}{x_A} = \frac{0,4 \cdot 1}{0,2} = 2 \text{ atm}$$

$$P_B = x_B P_B^*$$

$$P_B^* = \frac{y_B \cdot P_T}{x_B} = \frac{0,6 \cdot 1}{0,8} = 0,75 \text{ atm}$$

Questão 10

$$\Delta S = m \bar{C}_v \ln\left(\frac{T_f}{T_i}\right) + mR \ln\left(\frac{V_f}{V_i}\right)$$

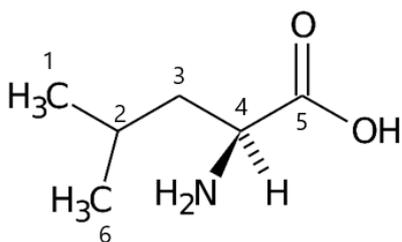
$$m = \frac{PV}{RT} = \frac{1,01 \times 10^5 \text{ Pa} \cdot 500 \times 10^{-6} \text{ m}^3}{8,31 \text{ J} \cdot \text{K} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 298 \text{ K}} = 0,02 \text{ mol}$$

$$\Delta S = 0,02 \cdot \frac{3}{2} \cdot 8,31 \cdot \ln\left(\frac{373}{298}\right) + 0,02 \cdot 8,31 \cdot \ln\left(\frac{1000}{500}\right)$$

$$\Delta S = 0,056 + 0,115 = 0,171 \text{ J K}^{-1}$$

### Questões de Orgânica Q11 e Q12

11. A Leucina (Leu) é um aminoácido essencial que participa da manutenção muscular, cuja estrutura está apresentada a seguir. Queijos, carnes e grãos são as principais fontes de leucina na nossa dieta alimentar.



a) Quantos centros estéricos tem a leucina? Indique quais são a partir da numeração dos carbonos.

A leucina apresenta 1 centro quiral, que corresponde ao carbono C4.

b) Quantos enantiômeros a leucina tem?

Considerando que a quantidade de enantiômeros é dada por:  $2^n$  ( $n$  = número de centros quirais), a leucina possui 2 enantiômeros ( $2^1 = 2$ ).

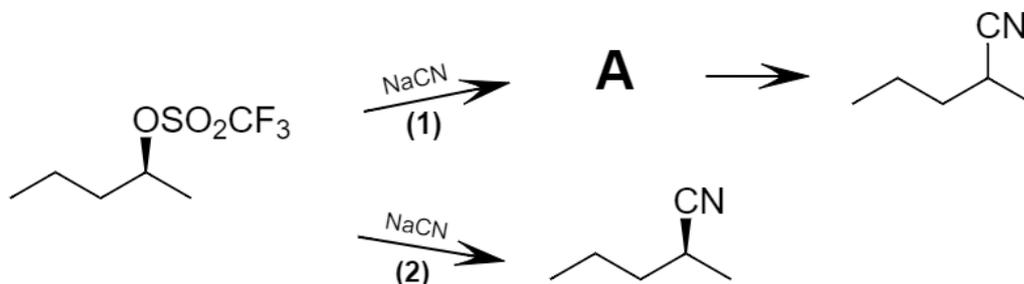
c) Qual o nome de uma mistura formada por quantidades iguais dos enantiômeros da leucina? Qual a propriedade óptica dessa mistura? Explique.

A mistura de quantidades iguais dos dois enantiômeros da Leucina é denominada mistura racêmica (ou racemato), a qual possui a propriedade de ser opticamente inativa. Isto significa que uma mistura racêmica não desvia o plano de luz polarizada uma vez que o desvio de luz polarizada de cada enantiômero anula o do outro.

d) Qual a configuração, R ou S, para o(s) carbono(s) quiral(is) na estrutura da leucina apresentada anteriormente? Qual o grupo de maior prioridade?

A estrutura representada da leucina é a de configuração S e o grupo de maior prioridade para determinação da estrutura é o grupamento amina ( $\text{NH}_2$ ) ligado ao carbono 4.

12. Considere as reações abaixo indicadas pelos caminhos (1) e (2) e responda os itens propostos a seguir.



a) O que é uma reação concertada? Em qual das reações (1) ou (2) ocorre esse tipo de reação?

Uma reação concertada é aquela que acontece em apenas uma etapa. Neste caso, a reação concertada é a (2) e o produto final é obtido sem a formação de um intermediário de reação.

b) Qual o tipo de reação ocorre em (1)? O que é formado em A? Descreva brevemente o processo de formação do produto obtido.

A reação (1) é uma reação de substituição nucleofílica do tipo SN1. A sua formação ocorre em duas etapas: a primeira, denominada de etapa lenta da reação, se refere ao rompimento da ligação do grupo de saída (nesse caso -Cl), na presença do solvente. Assim, o carbono ficará com uma deficiência em elétrons e por isso apresentará carga positiva, formando um carbocátion, representado por (A). Na segunda etapa, que ocorre muito mais rapidamente, o

nucleófilo ( $\text{OH}^-$ ) age como uma base de Lewis e doa elétrons para o carbono positivo e facilmente o produto (por o nome) é formado.

- c) Explique o que acontece com a configuração estereoquímica em cada uma dessas reações.

Na reação (1) /  $\text{SN}_1$ , produtos de estereoquímica retida ou mantida poderão ser formados e uma mistura racêmica quase completa será sempre obtida. A racemização obtida na reação do tipo  $\text{SN}_1$  ocorre porque o carbocátion formado é um intermediário planar com hibridização  $\text{sp}^2$  que permite o ataque do nucleófilo pelos dois lados do plano em igualdade de condições. Já na reação (2) /  $\text{SN}_2$ , o produto final apresentará sempre uma estereoquímica invertida em relação a configuração inicial do reagente.

- d) A reação de substituição apresentada acima acontece em acetona, prediga qual dos produtos apresentados será formado: aquele obtido pela reação (1) ou aquele obtido pela reação (2).

Considerando que  $\text{NaCN}$  é um nucleófilo forte e sabendo que a acetona é um solvente polar aprótico, será favorecida a obtenção de um produto a partir da reação (2) do tipo  $\text{SN}_2$  e, então, o produto com configuração estereoquímica invertida será formado.

### Questões de Inorgânica Q13 e Q14

13. Os espinélios são uma classe de óxidos de fórmula geral  $\text{A}^{\text{II}}\text{B}_2^{\text{III}}\text{O}_4$ , que encontram aplicações como pigmentos e no desenvolvimento de dispositivos magnéticos. O primeiro óxido deste tipo estudado foi a espinélia, de fórmula  $\text{MgAl}_2\text{O}_4$ , que batiza essa classe de compostos. A estrutura denominada **normal** contem o íon  $\text{A}^{\text{II}}$  ocupando sítios tetraédricos (Td) e o íon  $\text{B}^{\text{III}}$  ocupando sítios octaédricos (Oh). Na natureza observa-se também os espinélios **invertidos**, nos quais os íons  $\text{A}^{\text{II}}$  encontram-se nos sítios Oh e os íons  $\text{B}^{\text{III}}$  ocupam sítios Td. Quando o espinélio contém cátions de metais de transição em sua estrutura, a classificação **normal** e **invertida** é racionalizada em termos da Teoria de Campo Cristalino e do parâmetro Energia de Estabilização de Campo Cristalino. Classifique os seguintes espinélios em **normal** ou **invertido** e explique sua classificação em termos da teoria mencionada acima. (DADOS:  $Z_{\text{Cu}} = 29$ ;  $Z_{\text{Fe}} = 26$ )

Para análise de todos os espinélios, devemos considerar que o íon  $\text{O}^{2-}$  é um ligante de campo fraco e, portanto, imaginamos uma distribuição de spin alto para os elétrons de valência dos íons metálicos.

$\text{CuFe}_2\text{O}_4$ : espinélio normal. O íon  $\text{Cu}^{2+}$  tem configuração eletrônica de camada de valência  $d^9$ , apresentando  $+0,6 \Delta_o$  de EECC (energia de estabilização de campo cristalino) em geometria Oh. Além disso, íons  $d^9$  sofrem estabilização por efeito de distorção da geometria Oh (efeito Jahn-Teller) tendendo, em muitos casos, a um número de coordenação 4, o que favorece sua ocorrência em sítio Td. Já os íons  $\text{Fe}^{3+}$  tem configuração eletrônica de camada de valência  $d^5$ , apresentando  $0 \Delta_o$  de EECC em geometria Oh. Desse modo, nenhuma geometria em particular é favorecida por efeito configuracional. Todos esses fatores compõem para a ocorrência de um espinélio normal.

$\text{Fe}_3\text{O}_4$  (magnetita, que também pode ser escrita como  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}_2^{\text{III}}\text{O}_4$ ): **espinélio invertido**. Nesse óxido encontramos tanto íons  $\text{Fe}^{2+}$  quanto íons  $\text{Fe}^{3+}$ . Como discutido acima, os íons  $\text{Fe}^{3+}$  tem configuração eletrônica de camada de valência  $d^5$ , apresentando  $0 \Delta_o$  de EECC. Desse modo, não apresenta nenhuma estabilidade especial em geometria Oh ou Td, não apresentando preferência entre elas. Já o íon  $\text{Fe}^{2+}$  tem configuração eletrônica de camada de valência  $d^6$ , apresentando  $-0,4 \Delta_o$  de EECC para geometria Oh em comparação com  $0 \Delta_o$  de EECC observado para  $\text{Fe}^{3+}$ , o que favorece sua ocorrência nos sítios Oh. Todos esses fatores compõem para a ocorrência de um espinélio invertido.

$\text{NiFe}_2\text{O}_4$ : **espinélio invertido**. O íon  $\text{Ni}^{2+}$  apresenta configuração de camada de valência  $d^8$  que, juntamente com a configuração  $d^3$ , são as configurações eletrônicas com máxima EECC em geometria Oh para situação de campo fraco/spin alto. O íon  $\text{Fe}^{3+}$ , como já discutido acima, apresenta  $0 \Delta_o$  de EECC, não tendo preferência por sítio Oh. Portanto, a estabilidade ganha pela ocupação de sítios Oh pelo íon  $\text{Ni}^{2+}$  faz com que se observe o espinélio invertido.

**14.** Imagine que você tem em mãos o complexo  $[\text{V}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ , que será utilizado como precursor em duas sínteses, uma na qual moléculas de água serão substituídas por ligantes  $\text{Cl}^-$  e outra na qual moléculas de água serão substituídas por ligantes  $\text{CN}^-$ . Essas sínteses serão acompanhadas por espectroscopia na região do ultravioleta-visível, a partir da observação de deslocamentos batocrômico ou hipsocrômico da banda  $dd$  (ou transição de campo ligante) observada no espectro do complexo original. (DADO:  $Z_V = 23$ ).

Com base no enunciado responda: a) a substituição de  $\text{H}_2\text{O}$  por  $\text{Cl}^-$  na esfera de coordenação do  $\text{V}^{2+}$  promove deslocamento batocrômico ou hipsocrômico? b) a substituição de  $\text{H}_2\text{O}$  por  $\text{CN}^-$  na esfera de coordenação do  $\text{V}^{2+}$  promove deslocamento batocrômico ou hipsocrômico? c) Explique as respostas das letras (a) e (b) utilizando a classificação dos três ligantes na série espectroquímica. d) Reclassifique os três ligantes utilizando agora a teoria de Orbitais Moleculares aplicada a compostos de coordenação.

Em primeiro lugar vamos considerar o íon em questão:  $\text{V}^{2+}$  é um íon de configuração de camada de valência  $d^3$ . Portanto, independente da força do ligante, não precisamos nos preocupar com a distribuição eletrônica, que será sempre de spin alto.

Deslocamento batocrômico (ou “deslocamento para o vermelho”) diz respeito à deslocamentos para regiões de menor energia (maior comprimento de onda) do espectro eletromagnético.

Deslocamento hipsocrômico (ou “deslocamento para o azul”) diz respeito à deslocamentos para regiões de maior energia (menor comprimento de onda) do espectro eletromagnético.

Então:

- Deslocamento batocrômico
- Deslocamento hipsocrômico
- Dentro da Teoria do Campo Cristalino/Ligante, a água (ligante aquo) é classificada na série espectroquímica como um ligante de campo intermediário. O íon  $\text{Cl}^-$  (ligante cloro) é classificado como um ligante de campo fraco, o que significa que ele causa pequeno desdobramento nos orbitais  $d$  do centro metálico, fazendo com que uma transição  $dd$  ocorra em regiões de baixa energia do espectro ou que se desloque para região de mais baixa energia em relação ao valor observado para um ligante de campo mais forte (água no caso). O íon  $\text{CN}^-$

(ligante ciano) é classificado como um ligante de campo forte, o que significa que ele causa grande desdobramento nos orbitais  $d$  do centro metálico, fazendo com que uma transição  $dd$  ocorra em regiões de alta energia do espectro ou que se desloque para região de mais alta energia em relação ao valor observado para um ligante de campo mais fraco (água no caso).

- d) na TOM aplicada a compostos de coordenação foi possível identificar ligantes empiricamente classificados na série espectroquímica como de campo fraco com espécies químicas (íons ou moléculas)  $\pi$ -doadoras; ligantes de campo intermediário com espécies químicas  $\sigma$ -doadoras e ligantes de campo forte com espécies químicas  $\pi$ -receptoras.

### Questões de Biotecnologia Q15 e Q16

15. A Pandemia Covid-19 destacou a importância de técnicas clássicas de biologia molecular que permitiram o sequenciamento do genoma do vírus SARS-CoV-2, o desenvolvimento de exames para detecção e até o desenvolvimento de vacinas. Dentre os diagnósticos empregados, o PCR em tempo Real (Real time-PCR) é o método mais sensível e mais usado para a detecção do vírus. No entanto, um método mais simples, empregando somente o PCR convencional (Reação em cadeia da polimerase) também é uma abordagem promissora, como o PCR do ICB, desenvolvido pelo Instituto de Ciências Biológicas da USP.

Nesse sentido, considerando que o material genético viral já foi extraído e está pronto para uso, explique detalhadamente a técnica de PCR convencional. Destaque todas as etapas envolvidas até a obtenção do resultado (A  $T_m$  dos primers usados na reação é de 58°C).

Resposta: Sabendo que o material genético do vírus SARS-CoV-2 é o RNA, a primeira etapa será realizar a síntese do cDNA, com o uso da enzima Transcriptase reversa. A partir de então, a reação de PCR convencional poderá ser realizada.

A técnica de PCR, denominada Reação em Cadeia da Polimerase, se baseia na amplificação de um fragmento de DNA através do emprego de um termociclador.

Para isso cada reação deve consistir de DNA, primers (oligonucleotídeos iniciadores), dNTPs,  $MgCl_2$ , DNA polimerase, tampão apropriado, todos em concentrações adequadas.

Os ciclos de reação consistem de 3 etapas:

- 1) Desnaturação: As amostras são incubadas em temperaturas de aproximadamente 94°C, por aproximadamente 1 minuto. Nesta etapa ocorre a separação das fitas de DNA.
- 2) Anelamento: Incubação em temperaturas entre 53°C e 55°C (Temperatura abaixo da  $T_m$  dos primers). Nesta etapa ocorre o anelamento dos primers nas regiões complementares nas fitas de DNA.
- 3) Extensão: Incubação em temperatura de 72°C, em que a DNA polimerase atua estendendo a fita de DNA pela adição das bases nitrogenadas complementares.

Desta forma, completa-se o primeiro ciclo da reação. Estes ciclos se repetem por 30 vezes, de tal forma a obter cerca de 1 bilhão de cópias do fragmento de DNA amplificado no final da reação.

No final da reação de PCR, os fragmentos amplificados poderão ser visualizados a partir da realização de uma Eletroforese em gel de agarose 1%. A presença dos fragmentos indica um resultado positivo.

**16.** A recente vacina SPUTIK V desenvolvida contra o vírus SARS-CoV-2 é um tipo de vacina baseada em um vetor de adenovírus, o qual contém o gene da proteína S clonada. Supondo que você esteja clonando esse gene, após análise de restrição foi verificada que a única enzima que poderia ser usada é a *NotI*. Responda:

a) A digestão do vetor com uma única enzima (nesse caso a *NotI*) apresenta uma desvantagem. Qual é essa desvantagem? Nesse caso, qual etapa experimental deve ser realizada que não é necessária quando duas enzimas são utilizadas? Explique.

Resposta: A digestão do vetor com uma única enzima de restrição (*NotI*), gera extremidades coesivas, podendo provocar a recircularização do vetor. Neste caso, recomenda-se o tratamento com a fosfatase alcalina, a qual atua removendo o grupamento fosfato da extremidade 5' (processo conhecido como desfosforilação), para impedir essa recircularização, aumentando a eficiência de clonagem.

b) Quais são as etapas para a clonagem de um gene no vetor?

Resposta: Análise de restrição do gene para escolha das enzimas de restrição;  
Digestão do vetor e do gene com as mesmas enzimas;  
Se for uma única enzima, deverá ser realizada a desfosforilação do vetor;  
Reação de ligação com a enzima T4 DNA ligase.