



# Fundação Oswaldo Cruz

Concurso Público 2010

**Tecnologista em Saúde Pública**

Prova Objetiva

Código da prova

**C3117**

**Proteômica**

## Instruções:

- ▶ Você deverá receber do fiscal:
  - a) um caderno com o enunciado das 60 (sessenta) questões, sem repetição ou falha;
  - b) uma folha destinada à marcação das suas respostas.
- ▶ Ao receber a folha de respostas, você deve:
  - a) conferir se seu nome, número de identidade, cargo e perfil estão corretos.
  - b) verificar se o cargo, perfil e código da prova que constam nesta capa são os mesmos da folha de respostas. **Caso haja alguma divergência, por favor comunique ao fiscal da sala.**
  - c) ler atentamente as instruções de preenchimento da folha de respostas;
  - d) assinar a folha de respostas.
- ▶ É sua responsabilidade preencher a folha de respostas, que será o único documento válido para a correção.
- ▶ Você deverá preencher a folha de respostas utilizando caneta esferográfica de tinta azul ou preta.
- ▶ Em hipótese alguma haverá substituição da folha de respostas por erro cometido por você.
- ▶ As questões da prova são identificadas pelo número que se situa acima do enunciado.
- ▶ O tempo disponível para essa prova é de **4 (quatro) horas**, incluindo o tempo para a marcação da folha de respostas.
- ▶ Durante as primeiras duas horas você não poderá deixar a sala de prova, salvo por motivo de força maior.
- ▶ Você somente poderá levar o caderno de questões caso permaneça em sala até 30 (trinta) minutos antes do tempo previsto para o término da prova.
- ▶ Ao terminar a prova, você deverá entregar a folha de respostas ao fiscal e assinar a lista de presença.



FUNDAÇÃO  
GETULIO VARGAS  
FGV PROJETOS

## Língua Portuguesa

Texto

### A era do sustentável

Provavelmente a única chance de salvar efetivamente as florestas tropicais e aqueles que lá vivem é encontrar uma forma para que elas possam coexistir com a lógica do mundo moderno, inclusive no Brasil. Ambientalistas do mundo inteiro reconhecem, no íntimo, que nesses países de enormes desigualdades sociais, onde estão as últimas florestas tropicais intactas, a pressão sobre os recursos naturais é grande e as formas de fiscalização das eventuais leis de proteção são muito frágeis.

Esta lógica significa uma função econômica para a floresta, explorando-a sem destruí-la e sem exaurir seus recursos naturais. É nesta linha que o uso sustentado das florestas ganhou grande força na consciência dos formadores de opinião que defendem o meio ambiente.

É também neste caminho que várias experiências e inúmeras pesquisas estão ferverilhando no momento, pelo Brasil e pelo mundo afora. Aqui, vemos o trabalho nas reservas extrativistas, o fornecimento de matéria-prima para a indústria de cosméticos e farmacêutica, a exploração de madeira certificada.

O conceito de uso sustentado dos recursos naturais vai muito além das florestas, para hoje estar incorporado a todas as atividades da humanidade. O reciclar, reutilizar, substituir e otimizar deixaram de ser “moda” para se tornarem obrigação de quem deseja garantir a qualidade das futuras gerações.

(Peter Milko)

#### 01

O pensamento nuclear do texto pode ser expresso do seguinte modo:

- (A) a exploração das florestas deve ser feita de maneira sustentável, sem que haja perdas futuras com a devastação da reserva natural.
- (B) para a salvação das florestas tropicais brasileiras, é indispensável definir uma estratégia que possa preservar ecossistemas, como a Mata Atlântica.
- (C) é indispensável, para a preservação das nossas florestas, a adoção de uma política preservacionista e do aprimoramento da fiscalização.
- (D) o Brasil precisa adotar urgentemente medidas que estejam no mesmo caminho das inúmeras pesquisas modernas.
- (E) o futuro de nossas florestas está dependente da adoção de medidas urgentes de preservação ambiental, que só pode ser obtida se for permitido um extrativismo limitado.

#### 02

No título do texto ocorre o seguinte fato gramatical:

- (A) a modificação de classe gramatical do vocábulo sustentável.
- (B) o uso indevido de uma forma verbal como substantivo.
- (C) a utilização de um substantivo por outro.
- (D) o emprego inadequado de um adjetivo.
- (E) um erro de concordância nominal.

#### 03

Como epígrafe deste texto aparece um pensamento de Lester Brown: “Uma sociedade sustentável é aquela que satisfaz suas necessidades, sem diminuir as perspectivas das gerações futuras”.

O segmento do texto que se relaciona mais de perto a esse pensamento é:

- (A) “Provavelmente a única chance de salvar efetivamente as florestas tropicais e aqueles que lá vivem é encontrar uma forma para que elas possam coexistir com a lógica do mundo moderno, inclusive no Brasil”.
- (B) “Ambientalistas do mundo inteiro reconhecem, no íntimo, que nesses países de enormes desigualdades sociais, onde estão as últimas florestas tropicais intactas, a pressão sobre os recursos naturais é grande e as formas de fiscalização das eventuais leis de proteção são muito frágeis”.
- (C) “Esta lógica significa uma função econômica para a floresta, explorando-a sem destruí-la e sem exaurir seus recursos naturais”.
- (D) “É nesta linha que o uso sustentado das florestas ganhou grande força na consciência dos formadores de opinião que defendem o meio ambiente”.
- (E) “O conceito de uso sustentado dos recursos naturais vai muito além das florestas, para hoje estar incorporado a todas as atividades da humanidade”.

#### 04

O texto é um editorial de uma revista intitulada *Horizonte geográfico*.

A respeito do conteúdo desse texto é correto afirmar que:

- (A) trata-se de uma opinião pessoal sustentada por pesquisadores de todo o mundo.
- (B) refere-se a uma sugestão de atuação na área ambiental para o governo brasileiro.
- (C) mostra um caminho moderno para o desenvolvimento econômico.
- (D) apresentado no primeiro parágrafo, o assunto é analisado nos dois seguintes.
- (E) ainda que argumentativo, o texto carece de uma conclusão.

#### 05

O título do texto fala da “era do sustentável”, referindo-se:

- (A) a um tempo distante, quando o equilíbrio ambiente / economia estará presente.
- (B) a um tempo passado, quando as florestas permaneciam intactas.
- (C) ao momento presente, quando a política da sustentabilidade é dominante.
- (D) à expressão de um desejo para a preservação das florestas tropicais.
- (E) a uma época imediatamente futura em que o meio ambiente ficará intacto.

#### 06

Assinale a alternativa que apresente o adjetivo que indica uma opinião do enunciador do texto.

- (A) Recursos naturais.
- (B) Reservas extrativistas.
- (C) Inúmeras pesquisas.
- (D) Futuras gerações.
- (E) Única chance.

**07**

“Provavelmente a única chance de salvar efetivamente as florestas tropicais e aqueles que lá vivem é encontrar uma forma para que elas possam coexistir com a lógica do mundo moderno, inclusive no Brasil. Ambientalistas do mundo inteiro reconhecem, no íntimo, que nesses países de enormes desigualdades sociais, onde estão as últimas florestas tropicais intactas, a pressão sobre os recursos naturais é grande e as formas de fiscalização das eventuais leis de proteção são muito frágeis”.

Nesse primeiro parágrafo do texto, o único termo sublinhado que tem o referente anterior corretamente identificado é:

- (A) aqueles = que lá vivem.
- (B) que = aqueles.
- (C) elas = florestas tropicais e aqueles que lá vivem.
- (D) nesses países = mundo inteiro.
- (E) onde = Brasil.

**08**

Assinale a alternativa que mostra uma modificação **inadequada** de um segmento por um outro equivalente semanticamente.

- (A) Lógica do mundo moderno = lógica mundial moderna.
- (B) Ambientalistas do mundo inteiro = ambientalistas de todo o mundo.
- (C) Leis de proteção = leis protecionistas.
- (D) Uso dos recursos naturais = uso natural dos recursos.
- (E) Para a indústria de cosméticos e farmacêutica = para a indústria farmacêutica e de cosméticos.

**09**

O segmento do texto que mostra um **erro** ortográfico é:

- (A) “Provavelmente a única chance de salvar efetivamente as florestas tropicais e aqueles que lá vivem é encontrar uma forma para que elas possam coexistir com a lógica do mundo moderno, inclusive no Brasil”.
- (B) “É também neste caminho que várias experiências e inúmeras pesquisas estão fervilhando no momento, pelo Brasil e pelo mundo afora”.
- (C) “Aqui, vemos o trabalho nas reservas extrativistas, o fornecimento de matéria-prima para a indústria de cosméticos e farmacêutica, a exploração de madeira certificada”.
- (D) “O conceito de uso sustentado dos recursos naturais vai muito além das florestas, para hoje estar incorporado a todas as atividades da humanidade”.
- (E) “O reciclar, reutilizar, substituir e otimizar deixaram de ser “moda” para se tornarem obrigação de quem deseja garantir a qualidade das futuras gerações”.

**10**

Assinale a alternativa que **não** mostra ideia ou forma aumentativa / superlativa.

- (A) “Provavelmente a única chance de salvar efetivamente as florestas tropicais...”.
- (B) “...nesses países de enormes desigualdades sociais...”.
- (C) “a pressão sobre os recursos naturais é grande”.
- (D) “as formas de fiscalização das eventuais leis de proteção são muito frágeis”.
- (E) “o uso sustentado das florestas ganhou grande força na consciência...”.

**Conhecimentos Específicos da Área****11**

Em última análise, as interações estebelecidas entre os aminoácidos componentes de uma dada cadeia polipeptídica irão, em conjunto com outros fatores, definir a estrutura tridimensional que a cadeia irá assumir em solução. A determinação desta estrutura pode, em muitas das vezes, auxiliar a compreensão do mecanismo de ação desta cadeia polipeptídica, e permitir o esclarecimento de suas funções em um determinado organismo que a produz. Assinale abaixo a afirmativa que **não** expressa uma estratégia experimental aplicável para a caracterização da estrutura tridimensional das cadeias polipeptídicas.

- (A) Modelagem comparativa por homologia.
- (B) Dicroísmo circular.
- (C) Método *Ad initio*.
- (D) Citometria de fluxo.
- (E) Ressonância magnética nuclear.

**12**

Assinale abaixo a alternativa que apresenta apenas exemplos de proteínas com estrutura quaternária.

- (A) Colágeno e RNA polimerase II humana.
- (B) Anticorpo anti-IgG humana e Ribonuclease A.
- (C) Urease e Pepsina.
- (D) Lisozima e Mioglobina.
- (E) Tripsina e Hemoglobina.

**13**

Os avanços das técnicas de biologia molecular, aplicados ao sequenciamento de genomas, vem disponibilizando nos bancos de dados, quase que dia a dia, milhares de novas sequências protéicas. Um dos desafios da genômica funcional tem sido, portanto, o estudo e a caracterização da função destas novas seqüências. O esclarecimento das redes de interação proteína-proteína que operam em determinadas situações é um dos grandes desafios impostos aos pesquisadores para melhor compreender os mecanismos que levam ao correto funcionamento dos organismos. Um dos métodos existentes para o estudo das interações proteína-proteína disponíveis atualmente é o sistema duplo-híbrido de leveduras. Como toda metodologia, esta apresenta uma série de vantagens e limitações. Com relação ao sistema duplo-híbrido, analise as afirmativas abaixo.

- I. O Sistema duplo híbrido funciona apenas com proteínas solúveis.
- II. Quando aplicada a um organismo eucarionte, a disponibilidade de uma boa biblioteca de cDNA do organismo em estudo é um fator crítico para o bom desempenho desta metodologia.
- III. Interações que dependem de modificações pós-traducionais podem não ser detectadas nesta metodologia.
- IV. Interações fracas, ou muito efêmeras, entre proteínas tendem a não serem detectadas com a utilização desta metodologia.

Assinale:

- (A) se todas as afirmativas estiverem corretas.
- (B) se apenas as afirmativa I e III estiverem corretas.
- (C) se apenas as afirmativas I, II, e III estiverem corretas.
- (D) se apenas as afirmativas II, III e IV estiverem corretas.
- (E) se apenas as afirmativas I, III e IV estiverem corretas.

**14**

Com relação às técnicas de NMR e Cristalografia de raios X, assinale a alternativa correta.

- (A) Na cristalografia de Raio X, não há limite para o tamanho das proteínas em estudo, desde que elas sejam cristalizadas.
- (B) Para NMR, é necessário que a proteína em estudo esteja em solução e que esta não apresente um tamanho molecular muito superior a 30kDa.
- (C) Apenas a técnica de NMR permite a análise de interações proteínas:proteínas ou proteínas:ligantes.
- (D) Na NMR, a solubilidade da proteína é um parâmetro crítico.
- (E) Durante a análise de Cristalografia de raio X, as amostras (cristais) podem sofrer danos em função da radiação aplicada, enquanto nas análises de NMR, as amostras não são danificadas durante o experimento.

**15**

É sabido que certos tipos de aminoácidos são facilitadores de certas estruturas secundárias, ao passo que outros, tendem a interromper ou desestabilizar outras estruturas. Assinale a alternativa abaixo onde são listados apenas aminoácidos quebradores de  $\alpha$ -hélices.

- (A) Prolina, Leucina e Metionina.
- (B) Metionina, Leucina e Glutamato.
- (C) Valina, Prolina e Metionina.
- (D) Prolina, Glutamato e Leucina.
- (E) Valina, Serina e Asparagina.

**16**

Assinale abaixo a alternativa que contém apenas estratégias experimentais que permitem o isolamento e a purificação de grandes complexos protéicos.

- (A) Gel de eletroforese SDS-Poli-acrilamida e cromatografia líquida de alta pressão.
- (B) Gradiente de ficoll e Cromatografia de tamanho de exclusão por gel filtração.
- (C) Citometria de fluxo e eletroforese bi-dimensional.
- (D) Cromatografia de afinidade e cromatografia de troca iônica.
- (E) Coluna de gel filtração e Eletroforese de campo pulsado.

**17**

Interessado no estudo da proteína P954, identificada em um complexo de alto peso molecular existente em uma bactéria termófila recentemente isolada, você foi encarregado de desenvolver uma metodologia capaz de purificar a proteína em questão. Também era importante que sua metodologia pudesse identificar outras proteínas que façam parte do mesmo complexo da P954. Com base nos seus conhecimentos sobre química de proteínas e sobre métodos de purificação, assinale a alternativa que descreve a sequência mais parcimoniosa de etapas que possa levar a identificação dos componentes deste complexo protéico.

- I. Eletroforese bidimensional.
- II. Análise de massa em aparelho Q-TOF.
- III. Cromatografia de tamanho de exclusão.
- IV. Purificação em gradiente de sacarose.
- V. Co-immunoprecipitação entre proteínas.
- (A) IV, I, III, II e V.
- (B) IV, III, I, II e V.
- (C) I, IV, III, II e V.
- (D) IV, I, II, V e III.
- (E) III, I, II, IV e V.

**18**

São exemplos de reagentes rotineiramente empregados na purificação e análise de proteínas e que resultam, de forma independente, na separação de complexos protéicos:

- (A) ditioneitol e sacarose.
- (B) duodecil sulfato de sódio e amido.
- (C) uréia e sulfato de amônio.
- (D)  $\beta$ -mercaptoetanol e Ficoll.
- (E) poli(acrilamida) e sacarose.

**19**

Interessado em caracterizar as modificações pós-traducionais que controlam a atividade de uma proteína de interesse farmacológico, um pesquisador foi encarregado de realizar uma série de testes, cujos resultados se encontram listados abaixo. Com base nos seus conhecimentos sobre modificações pós-traducionais, selecione a alternativa que contém as modificações presentes na proteína em questão.

Ensaio	Presença proteína na fração final da purificação	Atividade farmacológica
Controle	+++	Positiva
Tratamento com Brefeldina A	+	Negativa
Tratamento com MG132	++++	Negativa
Tratamento com fosfatase alcalina	+++	Positiva
Passagem em coluna de concanavalina A	-	-

- (A) Fosforilação e Glicosilação.
- (B) SUMOilação e Fosforilação.
- (C) Glicosilação e Miristoilação.
- (D) Glicosilação e Ubiquitinação.
- (E) Ubiquitinação e Fosforilação.

**20**

Interessado na produção de uma proteína com atividade anti-HIV, você foi encarregado de produzir esta proteína em grande quantidade em um sistema acoplado a uma unidade de produção industrial. Visando selecionar um sistema que rendesse o melhor aproveitamento comercial possível, você realizou uma série de testes bioquímicos na proteína em questão e determinou as características e os parâmetros de interesse descritos a seguir.

- I. Massa molecular da proteína 45kDa.
- II. Ponto isoelétrico 6,8.
- III. Proteína solúvel em metanol.
- IV. Proteína com 35% de resíduos de carboidratos.
- V. Proteína ativa apenas na forma fosforilada.

Com base nos resultados, selecione, dentre as alternativas abaixo, a que contém o sistema de expressão mais indicado para a produção de sua proteína, em escala industrial, e com baixo risco de biossegurança, para seu posterior uso no tratamento anti-HIV.

- (A) Fermentador bacteriano crescido a 37 °C.
- (B) Bioreator contendo células de camundongos em cultura, crescidas a 37 °C.
- (C) Fermentador de leveduras crescido a 28 °C.
- (D) Bioreator contendo células humanas em cultura, crescidas a 37 °C.
- (E) Fermentador bacteriano crescido a 28 °C.

**21**

Interessado no estudo funcional de uma proteína quinase receptora, você foi encarregado de preparar uma série de mutações pontuais que pudessem interferir com a atividade desta quinase e com isso contribuir para o esclarecimento de aspectos importantes de sua participação nos processos de transdução de sinal. Sabendo-se que a quinase em questão é do tipo treonina quinase, e que o sítio ativo dessa enzima contém um resíduo de Treonina (Thr418) que ativa a quinase quando sofre auto-fosforilação, assinale abaixo a sequência de mutantes que poderão produzir, respectivamente, uma quinase inativa e uma quinase constitutivamente ativa:

- (A) mutação Thr418Gly e mutação Thr418Asp.
- (B) mutação Thr418Asp e mutação Thr418Ala.
- (C) mutação Thr418Ala e mutação Thr418His.
- (D) mutação Thr418Lys e mutação Thr418Arg.
- (E) mutação Thr418Gly e mutação Thr418Tyr.

**22**

Durante o ciclo de vida de uma célula eucarionte, seu material genético nuclear se estrutura na forma de cromossomas, que podem apresentar diferentes graus de condensação. Analisando o grau geral de compactação desta molécula ao longo do ciclo celular, podemos dizer que nas fases G1, S e Metáfase, respectivamente, o DNA se apresentará um grau de compactação:

- (A) baixo, elevado e médio.
- (B) alto, baixo e elevado.
- (C) médio, baixo e elevado.
- (D) baixo, elevado e médio.
- (E) médio, elevado e elevado.

**23**

Os RNAs mensageiros eucariontes apresentam diferentes regiões, cada uma deles com funções específicas durante o tempo de vida desta molécula. Assinale a alternativa que contém as principais funções das regiões 5' e 3' de um RNA mensageiro:

- (A) retirar dos íntrons e controlar o tempo de vida do RNA mensageiro na célula.
- (B) mediar a afinidade do mRNA com a sub-unidade menor do ribossoma e controlar o tempo de vida do RNA mensageiro na célula.
- (C) interagir com o RNA transportador e remover os íntrons.
- (D) ligar a fatores de transcrição e controlar o movimento do RNA mensageiro do núcleo para o citoplasma.
- (E) controlar o tempo de vida do RNA mensageiro na célula e interagir com a RNA Polimerase.

**24**

Assinale a alternativa que explica corretamente o que deve acontecer com uma região de cromatina condensada que tem suas moléculas de Histona H1 fosforiladas:

- (A) aumentar seu grau de compactação, resultando em uma molécula de DNA mais exposta.
- (B) aumentar o grau de compactação e ser reconhecida pelas enzimas que degradam o DNA.
- (C) diminuir o grau de compactação, resultando numa maior exposição da molécula de DNA.
- (D) marcar o DNA para que seja iniciado o processo de degradação.
- (E) diminuir o grau de compactação, estando dessa forma a molécula de DNA menos exposta.

**25**

Trabalhando com o isolamento de um gene de humanos, um pesquisador desenvolveu duas estratégias de clonagem, utilizando como sonda um gene homólogo isolado de camundongos. Na primeira delas, ele utilizou como material inicial o DNA extraído de culturas de células de fibroblastos, resultando na obtenção do clone A. Na segunda abordagem, ele utilizou uma preparação de RNA mensageiro de células renais, resultando na obtenção do clone B. Considere ambas as estratégias bem sucedidas que possibilitaram a clonagem do mesmo gene.

Experimento 1 – caracterização dos elementos que regulam a expressão tecidual do gene.

Experimento 2 – expressão do gene em bactérias para purificação da proteína codificada pelo gene isolado.

Experimento 3 – isolamento de genes de proteínas que interagem com a proteína codificada pelo gene isolado através do sistema Duplo Híbrido em leveduras.

Selecione o clone que deverá ser utilizado, respectivamente, para cada um dos experimentos listados acima.

- (A) clone A, clone B e clone B.
- (B) clone A, clone B e clone A.
- (C) clone B, clone B e clone A.
- (D) clone B, clone A, clone B.
- (E) clone A, clone A e clone B.

**26**

Um pesquisador interessado no estudo da regulação da expressão tecidual de um gene preparou fusões de diferentes segmentos da região promotora regulatória deste gene, fusionada a um gene repórter marcador. Cinco construções diferentes foram obtidas e introduzidas no cromossoma do organismo, por meio de transformação genética estável. Após a análise do padrão de expressão do gene marcador nos animais transgênicos transformados com estas construções, os seguintes resultados foram obtidos:

Construção (posição do extremo 5' do gene marcador da região promotora)	Padrão de Expressão
-5000	Fígado, coração e neurônios
-3000	Fígado, coração e neurônios
-2000	Fígado e neurônios
-1000	Neurônios
-500	expressão não detectada

Analisando os resultados apresentados podemos concluir que os elementos reguladores responsáveis pela expressão do gene em Fígado, Coração e Neurônios estão localizados, respectivamente, entre as posições:

- (A) -3000 e -2000, -2000 e -1000, -1000 e -500.
- (B) -5000 e -3000, -3000 e -2000, -2000 e -1000.
- (C) -2000 e -1000, -1000 e -500, -500 e -1.
- (D) -5000 e -3000, -5000 e -2000, -5000 e -1000.
- (E) -5000 e -2000, -5000 e -2000, -5000 e -500.

**27**

A interação de ligantes extracelulares com receptores presentes na membrana plasmática das células em geral levam a uma cascata de transdução de sinal que sinaliza, para o meio intracelular, as mudanças do meio extracelular, percebidas ao nível da membrana. Comumente, essa ligação leva a um aumento ou a um decréscimo temporário de moléculas intracelulares, denominadas mensageiros secundários. Assinale a alternativa abaixo que contém moléculas que podem ser considerados exemplos de mensageiros secundários.

- (A) ATP e  $Ca^{+2}$ .
- (B) cAMP e  $Ca^{+2}$ .
- (C) cGMP e colesterol.
- (D) Diacilglicerol e insulina.
- (E) Inositol 1,4,5-trifosfato e hormônio esteróide.



**28**

Visando a caracterização de uma via de transdução de sinal, mediada por um novo hormônio, um pesquisador foi encarregado de isolar mutantes defectivos na percepção deste hormônio, e que desta forma pudessem ser úteis na caracterização desta via de sinalização. Uma vez que este hormônio induzia o alongamento das células, o pesquisador desenvolveu um método de seleção de mutantes baseado na identificação de células que apresentassem alterações no processo de alongação celular. Após a realização deste experimento, foram isolados dez mutantes com características de alongação alterada. Buscando selecionar dentre estes dez mutantes os que melhor serviriam para caracterizar a via de transdução de sinal, o pesquisador realizou um segundo experimento, no qual o hormônio em questão foi aplicado nas culturas celulares mutantes. A tabela abaixo representa os resultados obtidos nestes dois experimentos.

Tipo Celular	Taxa de alongamento celular	
	sem adição hormônio	após aplicação hormônio
Célula Controle	16,1µm/h	150,9µm/h
Mutante 1	2,7µm/h	2,9µm/h
Mutante 2	4,3µm/h	125,4µm/h
Mutante 3	1,8µm/h	2,1µm/h
Mutante 4	5,1µm/h	145,9µm/h
Mutante 5	4,7µm/h	134,2µm/h
Mutante 6	7,2µm/h	115,7µm/h
Mutante 7	0,5µm/h	1,3µm/h
Mutante 8	83,2µm/h	145,8µm/h
Mutante 9	45,8µm/h	156,3µm/h
Mutante 10	84,9µm/h	141,3µm/h

Com base nestes resultados, foram formuladas as seguintes afirmativas.

- I. Os mutantes 1, 3 e 7 correspondem aos mutantes na via de transdução de sinal do hormônio.
- II. Os mutantes 2, 4, 5 e 6 correspondem aos mutantes na via de biossíntese do hormônio.
- III. Os mutantes 1, 3 e 7 correspondem aos mutantes na via de biossíntese do hormônio.
- IV. Os mutantes 2, 4, 5 e 6 correspondem aos mutantes na via de transdução de sinal do hormônio.
- V. Os mutantes 8, 9 e 10 correspondem a mutantes que produzem níveis elevados do hormônio, mas que não apresentam alteração da sinalização.

Assinale:

- (A) se apenas as afirmativas III e IV estiverem corretas.
- (B) se apenas as afirmativas III, IV e V estiverem corretas.
- (C) se apenas as afirmativas I, II e V estiverem corretas.
- (D) se apenas as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (E) se apenas as afirmativas III e IV estiverem corretas.

**29**

A descoberta do processo de adição de resíduos de ubiquitina às proteínas representou um grande avanço no processo de reconhecimento de modificações pós-traducionais. Com relação a este processo, analise as afirmativas a seguir.

- I. A adição de ubiquitina acontece sempre de forma específica, em determinados resíduos da cadeia polipeptídica.
- II. A adição de ubiquitina acontece sempre de forma sequencial e rápida, de forma que são gerados sempre intermediários protéicos poli-ubiquitinados.
- III. A adição de ubiquitina marca a proteína especificamente para a degradação via proteossoma.
- IV. A adição de poli-ubiquitina corresponde a uma das formas de controle do tempo de vida das proteínas celulares.

Assinale:

- (A) se todas as afirmativas estiverem corretas.
- (B) se apenas as afirmativas II, III e IV estiverem corretas.
- (C) se apenas as afirmativas II e III estiverem corretas.
- (D) se apenas as afirmativas I, III e IV estiverem corretas.
- (E) se apenas as afirmativas I e IV estiverem corretas.

**30**

A síntese de proteínas é um conjunto complexo de reações bioquímicas que garantem a produção de proteínas pela célula, a partir de um molde de RNA produzido a partir do genoma. Com relação à síntese de proteína, assinale a única afirmativa **incorreta**.

- (A) É um processo energeticamente dispendioso para a célula, consumindo grandes quantidades de moléculas de ATP e GTP.
- (B) É um processo que ocorre no citoplasma da célula, ou associado a membranas do retículo endoplasmático ou do núcleo.
- (C) Uma vez que existam mRNAs, t-RNAs ligados aos diferentes tipos de aminoácidos e RNAs ribossomais associados a proteínas, a síntese protéica é um processo de reações enzimáticas desempenhadas apenas por enzimas ou proteínas regulatórias.
- (D) É um processo que depende da estrutura tridimensional dos ribossomas e dos t-RNAs envolvidos no processo.
- (E) É um processo que depende intrinsecamente da sequência molde definida no nível de DNA e que é repassada para a molécula de mRNA.

## Conhecimentos Específicos do Perfil

### 31

Encarregado de realizar a purificação de uma proteína de interesse farmacológico, você chegou a um protocolo de purificação que resulta em uma mistura de quatro proteínas, com as seguintes características:

Proteína 1:	proteína com 25kDa e ponto isoelétrico de 6,3
Proteína 2:	proteína com 27kDa e ponto isoelétrico de 4,2
Proteína 3:	proteína com 105kDa e ponto isoelétrico de 7,7
Proteína 4:	proteína com 70kDa e ponto isoelétrico de 9,8

Visando purificar a proteína de interesse farmacológico (Proteína 2), você realizou uma cromatografia de gel filtração. Após acompanhar o perfil de eluição desta cromatografia, você identificou uma sequência de picos, que foram coletados e analisados. Com base nos seus conhecimentos sobre separação de proteínas, assinale a alternativa que melhor corresponde ao i.) número de picos indetificados na análise do cromatograma desta cromatografia; ii.) qual seria o pico que conteria a proteína de interesse; iii) e, no caso de existir a necessidade de passos adicionais em seu protocolo de purificação. Assinale a alternativa que indica uma opção viável de método subsequente a ser utilizado para o isolamento da proteína 2.

- (A) Cromatograma com dois picos; segundo pico na ordem de eluição conteria a proteína de interesse; uma cromatografia de focalização isoelétrica poderia ser utilizada para isolar a proteína de interesse.
- (B) Cromatograma com três picos; terceiro pico na ordem de eluição conteria a proteína de interesse; uma cromatografia de focalização isoelétrica poderia ser utilizada para isolar a proteína de interesse.
- (C) Cromatograma com quatro picos; terceiro pico na ordem de eluição conteria a proteína de interesse; não seria necessária purificação adicional pois a proteína estaria isolada nesta fração.
- (D) Cromatograma com quatro picos; terceiro pico na ordem de eluição conteria a proteína de interesse; seria necessária uma etapa de purificação adicional por meio de uma coluna de troca iônica.
- (E) Cromatograma com três picos; o segundo pico na ordem de eluição conteria a proteína de interesse; uma cromatografia de focalização isoelétrica poderia ser utilizada para isolar a proteína de interesse.

### 32

Dentre os diferentes métodos de purificação de proteínas existentes, é correto afirmar que os métodos que se baseiam no peso molecular da proteína em questão para seu isolamento são:

- (A) cromatografia de gel filtração e cromatografia de troca-iônica.
- (B) cromatografia líquida de alta pressão e cromatografia de afinidade.
- (C) cromatografia em papel e eletroforese não desnaturante em papel.
- (D) eletroforese em gel de SDS-poliacrilamida e eletrofocalização.
- (E) cromatografia de gel filtração e eletroforese bi-dimensional.

### 33

Interessado na purificação de uma proteína recém identificada em uma nova bactéria isolada de corais (proteína PX315), você foi encarregado de estabelecer um protocolo inicial de purificação da mesma, a partir de culturas *in vitro* estabelecidas em laboratório. A proteína PX315 apresenta peso molecular de cerca de 20kDa, um ponto isoelétrico de 8,1, e tem capacidade de interação com RNAs. Tendo em vista seus conhecimentos sobre os métodos de purificação de proteínas e os dados disponíveis para a proteína em questão, é correto afirmar que, a ordem dos passos sequenciais mais indicados para a purificação da mesma é:

- (A) precipitação com sulfato de amônio, gel filtração, coluna de afinidade com poliribonucleotídeos.
- (B) coluna de afinidade com desoxiribonucleotídeos, cromatografia líquida de alta pressão, gel filtração.
- (C) gel filtração, cromatografia de fase reversa, cromatografia de afinidade com anticorpo anti-Proteína X.
- (D) precipitação com sulfato de amônio, cromatografia de afinidade com anticorpo anti-Proteína X, focalização isoelétrica.
- (E) eletroforese bi-dimensional preparativa, coluna de afinidade com concanavalina A, precipitação com sulfato de amônio.

### 34

Encarregado de estabelecer um protocolo de purificação de cinco proteínas diferentes, um pesquisador realizou análises visando determinar algumas características básicas de cada uma delas, que pudessem lhe indicar as melhores estratégias de purificação de cada uma delas.

Proteína	Peso molecular	Ponto Isoelétrico	% glicosilação	Interação com ácidos nucleicos
P1	20kDa	4.7	0	ND
P2	24kDa	7.1	0	ND
P3	27kDa	8.3	25	Ligação a DNA
P4	105kDa	8.2	15	Ligação a RNA
P5	110kDa	5.3	2	ND

Com base nestes dados o pesquisador optou pela realização dos seguintes passos de purificação:

Inicialmente, a mistura foi aplicada em uma coluna de sepharose G50, sendo obtidas, na sequência de eluição, a fração 1 (F1, primeira a ser eluída), e a fração F2. A Fração F2 foi então aplicada em uma coluna de concanavalina. Após a aplicação do tampão de lavagem, foi obtida a fração F3 e, após aplicação do tampão de eluição, obteve-se a fração F4. Submetendo a Fração F3 à uma precipitação em sulfato de amônio, foram então obtidas a fração solúvel (F5) e a fração insolúvel (F6). A aplicação da Fração F1 em uma coluna de Poli-U, seguido da aplicação do tampão de lavagem deu então origem à fração F7 e, após a eluição final, com tampão de eluição, à fração F8.

Com base nas características das proteínas, e nos procedimentos utilizados pelo pesquisador, assinale a alternativa que melhor identifica as frações nas quais cada uma das proteínas sera isolada de forma purificada.

	P1	P2	P3	P4	P5
(A)	F5	F6	F3	F8	F7
(B)	F6	F5	F4	F7	F8
(C)	F5	F6	F3	F7	F8
(D)	F5	F6	F4	F8	F7
(E)	F2	F3	F5	F4	F8

**35**

Em relação aos métodos de purificação de proteínas, cromatografia de afinidade e cromatografia de troca iônica, assinale a alternativa que lista parâmetros que interferem em ambos os processos.

- (A) temperatura da coluna, peso molecular das proteínas a serem separadas.
- (B) carga elétrica, tamanho da coluna utilizada.
- (C) tamanho da coluna e temperatura de eluição.
- (D) pH do tampão de eluição e tempo de eluição.
- (E) força iônica e pH do tampão de eluição.

**36**

Após realizar a purificação de uma proteína e a obtenção de uma fração pura desta, um estagiário realizou a quantificação do teor de proteínas presente nesta fração por meio de dois métodos clássicos de dosagem de macromoléculas: o método de Folin e o método de Lowry. Diferente do que o estagiário esperava, os resultados obtidos foram bastante discrepantes entre si, conforme tabela abaixo:

	Método Folin	Método Lowry
Fração Purificada	3,4 mg/mL	52 mg/mL

Com base nestes resultados e nos seus conhecimentos sobre os métodos em questão, observe as afirmativas abaixo, e assinale abaixo a alternativa correta.

- I. O método de Folin apresentou uma menor quantificação pois avalia a quantidade de proteínas em função da presença de alguns poucos tipos de aminoácidos que, por serem pouco abundantes na proteína em questão, levou a uma baixa detecção da mesma pelo método.
- II. O método de Lowry apresenta diversos tipos de interferência, o que pode ter levado a uma super-estimativa do nível de proteínas presente na fração analisada.
- III. O método de Folin, na verdade, não é um método apropriado para a detecção de proteínas, uma vez que avalia a quantidade de açúcares e não de aminoácidos.
- IV. O método de Lowry quantifica as ligações peptídicas presentes na proteína avaliada e, desta forma, apresenta uma maior sensibilidade do que o método de Folin que apenas avalia a presença dos aminoácidos tirosina e triptofano.
- V. O método de Folin apresenta difícil manipulação e grande variabilidade, o que resulta em uma baixa reprodutibilidade e alta taxa de erro, o que provavelmente resultou em uma sub-estimativa da quantidade de proteínas presentes na amostra.

Assinale:

- (A) se apenas as afirmativas II e V estiverem corretas.
- (B) se apenas as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (C) se apenas as afirmativas I e IV estiverem corretas.
- (D) se apenas as afirmativas IV e V estiverem corretas.
- (E) se apenas as afirmativas I e V estiverem corretas.

**37**

Métodos químicos como o tratamentos com ácido trifluorometanossulfônico, hidrazinólise, β-eliminação e oxidação por periodados são exemplos de técnicas comumente utilizadas em análises proteômicas que pretendem caracterizar proteínas que foram modificadas pós-traducionalmente por:

- (A) fosforilação.
- (B) SUMOilação.
- (C) glicosilação.
- (D) ubiquitinação.
- (E) miristoilação.

**38**

Com relação ao teste de ELISA, é correto afirmar que:

- (A) É um método de detecção de vírus não sendo, portanto, aplicável na detecção de proteínas em geral.
- (B) É um método de detecção fluorescente, sendo necessária a existência de um leitor de fluorescência de alta sensibilidade, sem o qual não é possível avaliar o nível de proteínas presentes na amostra.
- (C) É um método que necessita obrigatoriamente da presença de um anticorpo de alta especificidade e alta afinidade pelo antígeno que está sendo detectado e que, desta forma, exige a existência de anticorpos monoclonais para o antígeno em questão.
- (D) É um método de carácter qualitativo, sendo usado apenas para a detecção da presença ou da ausência de uma determinada proteína, mas que não pode ser aplicado em situações onde se quer detectar o nível absoluto de proteína.
- (E) É um método que depende da conformação da proteína que se deseja quantificar e, assim, é sensível à variações de pH, temperatura e força iônica na amostra que esta sendo avaliada.

**39**

Com relação aos métodos de coloração de proteínas em gel, assinale a alternativa correta.

- (A) A coloração por *Coomassie Blue* é a mais indicada para análise de eletroforese bidimensional, em função de seu alto grau de sensibilidade.
- (B) A coloração por prata é a mais indicada para análise de eletroforese bidimensional acoplada à espectrometria de massa, em função de seu alto grau de sensibilidade.
- (C) A coloração de *Coomassie Blue* é a mais indicada para análise de eletroforese bidimensional acoplada à espectrometria de massa, uma vez que as proteínas não se fixam de forma irreversível ao gel.
- (D) A coloração por prata deve ser evitada quando a intenção é submeter as proteínas separadas eletroforéticamente à detecção por espectrometria de massa em função do alto teor de *spots* falsos positivos detectados após o tratamento com nitrato de prata.
- (E) A coloração por *Coomassie Blue* é a mais indicada apenas em situações onde a detecção das proteínas será realizada por meio da purificação e do sequenciamento manual dos *spots* de interesse, uma vez que, com esta técnica de coloração, são necessárias quantidades muito grandes de proteínas, o que inviabilizaria sua aplicação com métodos de detecção mais sensíveis.

**40**

Com relação ao sequenciamento de peptídeos acoplado à análise proteômica, assinale a alternativa **incorreta**,

- (A) Os melhores resultados de sequenciamento são obtidos com peptídeos de 2.5kDa ou menos.
- (B) Para a realização do sequenciamento, as proteínas são retiradas do gel e submetidas à proteólise.
- (C) Na espectrometria de massa em *tandem*, os peptídeos são fragmentados nas ligações peptídicas.
- (D) Alguns peptídeos geram informações para uma sequência completa, enquanto a maioria gera sequências parciais de 4 ou 5 aminoácidos.
- (E) As pequenas sequências obtidas nas análises de sequenciamento são pouco informativas e apenas podem ser utilizadas se estiverem presentes de forma abundante na amostra, independente do fato de estarem ou não presentes no banco de dados utilizado.



**41**

O desenvolvimento das técnicas aplicadas à análise proteômica vem ampliando a resolução e o poder de detecção destas metodologias. Dentre estes avanços, o desenvolvimento de técnicas de coloração de proteínas por novas metodologias vem despertando grande interesse. Nesse sentido, analise as afirmativas a seguir.

- I. A utilização de detecção por fluorescência aumenta o poder de resolução de proteínas em gel, mas é um método laborioso e que introduz a manipulação de reagentes perigosos, que aumentam o risco de exposição e biossegurança nos laboratórios e que detectam apenas uma fração das proteínas presentes nas amostras.
- II. A utilização de marcação radioativa é relevante apenas quando estão sendo realizadas análises proteômicas baseadas em modificações pós-traducionais das proteínas.
- III. As técnicas de marcação fluorescente e radioativa aumentam o poder de resolução das análises proteômicas, entretanto requerem etapas anteriores de incubação com compostos apropriados.

Assinale:

- (A) se apenas as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (B) se apenas a afirmativa II estiver correta.
- (C) se apenas a afirmativa I estiver correta.
- (D) se apenas a afirmativa III estiver correta.
- (E) se apenas as afirmativas II e III estiverem corretas.

**42**

Com relação a aplicações e limitações da análise proteômica quantitativa, assinale a afirmativa **incorreta**.

- (A) a detecção de fosfoproteínas e a comparação de sua distribuição entre duas situações experimentais constitui a base da análise fosfoproteômica.
- (B) Dentre as modificações pós-traducionais de grande relevância biológica, as glicosilações são atualmente uma das grandes limitações da análise proteômica, uma vez que ainda não é possível a identificação destas modificações nestas abordagens.
- (C) Experimentos que detectam a presença de proteínas modificadas por ubiquitinação ou SUMOilação podem ser acoplados à análise proteômica quantitativa de forma a gerar um painel de proteínas passíveis de sofrerem estas modificações.
- (D) O isolamento de organelas e subsequente análise das proteínas presentes por meio de estratégias proteômicas, possibilita a realização de sub-proteomas celulares que permitem a identificação do conjunto de proteínas que compõem as distintas organelas. Esta caracterização possibilita ainda, com a aplicação de análises subsequentes, a determinação de sequências de direcionamento que operam no tráfego de proteínas nas células eucarióticas.
- (E) Proteínas com baixa abundância relativa, proteínas de alto peso molecular e proteínas associadas a membranas apresentam o maior grau de dificuldade de detecção nas análises proteômicas.

**43**

A análise proteômica e a proteômica quantitativa são áreas da química de proteínas que vem se desenvolvendo com grande rapidez ao longo dos últimos anos. Sobre o tema, assinale a alternativa **incorreta**.

- (A) Uma vantagem da análise proteômica sobre a análise da expressão gênica no nível de RNA é que a proteômica identifica produtos gênicos que são de fato expressos e não apenas mRNAs que podem não ser traduzidos.
- (B) Uma das grandes limitações atuais da análise proteômica reside no número de proteínas que pode ser analisada em cada experimento, que sempre representará apenas uma fração das proteínas expressas em determinada situação.
- (C) A análise proteômica é limitada a proteínas solúveis, não sendo aplicável a proteínas mais complexas como as proteínas de membrana.
- (D) A análise proteômica permite a detecção de modificações pós-traducionais, o que amplia a relevância biológica dos dados obtidos.
- (E) Um dos pré-requisitos básicos da proteômica é que o organismo analisado já tenha seu genoma sequenciado, ou pelo menos uma boa coleção de cDNAs esteja disponível.

**44**

Sobre a realização de análises de proteômica quantitativa, assinale a alternativa correta.

- (A) Proteínas, ou seus peptídeos, derivados de uma amostra experimental são marcados com um ou mais isótopos estáveis, misturados com uma amostra controle não marcada e em seguida digeridos proteoliticamente e analisados em espectrometria de massa.
- (B) A diferença na assinatura de massas entre uma amostra marcada e não marcada servirá para identificar os polipeptídeos marcados de seus controles cognatos.
- (C) A intensidade do sinal da espectrometria de massa das amostras de peptídeos diferencialmente marcados pode ser utilizada para determinar sua abundância relativa em cada uma das condições experimentais analisadas.
- (D) São exemplos de métodos de marcação isotópica a marcação metabólica estável, a adição de massa ou de isótopos por meio de reações químicas e a introdução de isótopos estáveis por meio de reações enzimáticas.
- (E) Uma grande limitação da proteômica quantitativa reside na impossibilidade de utilização de marcação *multiplex*, limitando as análises a um tipo de isótopo ou etiqueta molecular por vez, o que, por sua vez, limita a comparação a apenas duas condições experimentais.

**45**

Com relação à espectrometria de massa, assinale a alternativa **incorreta**.

- (A) A fragmentação dos peptídeos na célula de colisão ocorre de maneira imprevisível e aleatória, gerando em geral fragmentos de aminoácidos que não são utilizados para a identificação das proteínas.
- (B) No analisador, os peptídeos são separados em função da razão massa/carga ( $m/z$ ).
- (C) Diferentes componentes do espectrômetro são mantidos a vácuo para evitar o movimento indesejado de íons.
- (D) Um espectrômetro de massa contém três unidades básicas, uma fonte de ionização, um analisador e um detector.
- (E) Na célula de colisão, os íons colidem com um gás (em geral He, Ar ou Ne), resultando na fragmentação do íon.

**46**

Nas análises rotineiras de eletroforese bidimensional, após a ruptura dos tecidos e/ou das células, as proteínas são solubilizadas e desnaturadas em soluções contendo detergentes não iônicos ou zwitteriônicos, agentes caotrópicos e pequenas quantidades de agentes redutores, para posterior análise em gel. Assinale abaixo a única alternativa que **não** descreve exemplos, respectivamente, destas três classes de substâncias.

- (A) Triton-X100, tiouréia e  $\beta$ -mercaptoetanol.
- (B) Duodecil sulfato de sódio, uréia e Ditiotreitól.
- (C) Triton X-100, hidrocloreto de guanidina e Ditiotreitól.
- (D) CHAPS (3-[(3-Cloroamidopropil)dimetilamônio]-1 propanosulfonato), uréia e iodoacetamida.
- (E) sulfobetáinas, tiouréia e  $\beta$ -mercaptoetanol.

**47**

Diferentes técnicas de detecção de proteínas através de métodos fluorescentes vem sendo desenvolvidas. Com relação a estas metodologias, analise as afirmativas a seguir.

- I. A faixa de detecção linear dinâmica dos métodos de detecção de proteínas por fluorescência em eletroforese em gel é normalmente superior aos métodos de coloração tradicional.
- II. Corantes de proteínas por fluorescência do tipo SYPRO são fáceis de serem aplicados, por meio de uma única etapa de coloração de 30 a 60 minutos, sem a necessidade de descoloração.
- III. Os corantes de fluorescência detectam em geral pequenas quantidades de proteínas (4-8ng) e existem metodologias para sua quantificação através de análises de imagens.

Com relação às afirmativas acima, assinale abaixo a alternativa correta.

Assinale:

- (A) se apenas a afirmativa I estiver correta.
- (B) se apenas a afirmativa II estiver correta.
- (C) se apenas a afirmativa III estiver correta.
- (D) se apenas as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

**48**

Dentre adaptações e desenvolvimentos de tecnologias de análise proteômica, o estabelecimento de métodos de coloração de proteínas compatíveis com a análise por espectrometria de massa são de grande interesse. Dentre estes, encontram-se os métodos de coloração reversa. Com relação às vantagens de algumas destas metodologias, assinale a alternativa **incorreta**.

- (A) Géis corados com zinco-imidazol podem ser eletrotransferidos ou eletroeluídos pela adição de um agente quelante ao tampão de transferência.
- (B) O método de zinco-imidazol é compatível com métodos de microsequenciamento baseados no método de Edman.
- (C) O método de zinco-imidazol é compatível com a digestão trípica em gel para a identificação dos peptídeos por espectrometria de massa MALDI-TOF.
- (D) O método de cloreto de potássio é mais sensível que os métodos de cloreto de cobre e zinco-imidazol.
- (E) O método de cloreto de cobre é um pouco mais sensível que o Azul de Coomassie.

**49**

Com relação às limitações da técnica de eletroforese bidimensional, assinale a alternativa **incorreta**.

- (A) É impossível se analisar todas as proteínas de uma amostra biológica em um único gel, devida a tremenda variação em abundância das proteínas.
- (B) Caso seja aumentada a quantidade de proteínas visando a detecção de proteínas menos abundantes, o gel é sobrecarregado pelas proteínas de maior abundância e a resolução é perdida.
- (C) É necessário encontrar uma estratégia de solubilização e separação que atenda a todas as proteínas de uma amostra.
- (D) Proteínas de alto peso molecular (maiores que 200kDa) podem não migrar eficientemente no gel.
- (E) Proteínas muito pequenas (menores que 10kDa) se sobrepõem, devido a sua alta mobilidade no gel da primeira dimensão, o que resulta em perda de resolução.

**50**

Com relação à fragmentação e ao sequenciamento de peptídeos utilizados nas análises de espectroscopia de massa, assinale a alternativa **incorreta**.

- (A) Os aminoácidos Glutamina e Histidina apresentam massas próximas e não são distinguíveis em equipamentos com baixa exatidão de massa, tais como os triplo quadrupolos e *ion traps*.
- (B) Para se verificar se a Serina constituinte de um determinado peptídeo apresenta uma fosforilação, deve-se verificar se há um pico com massa 98 u inferior ao íon correspondente (-b ou -y).
- (C) Modificações pós-traducionais ocorridas nas cadeias laterais de certos aminoácidos, tais como fosforilações em resíduos de Serina e Treonina, glicosilações ou oxidação em Metionina tornam tais grupos laterais lábeis, de modo que a perda neutra destes íons pode ser observada.
- (D) Arginina, Lisina, Glutamina e Asparagina são exemplos de aminoácidos que apresentam pronunciada perda neutra de  $\text{NH}_3$ .
- (E) Serina, Treonina e Ácido Glutâmico são aminoácidos que, quando presentes em peptídeos submetidos a fragmentação por dissociação induzida por colisão (CID), apresentarão perda neutra de  $\text{H}_2\text{O}$  bastante pronunciada.

**51**

O método de Edman tem sido um dos mais utilizados para o sequenciamento de peptídeos e compreende uma série de ciclos de reação. Analise as afirmativas abaixo com relação a este método.

- I. Na primeira etapa, o polipeptídeo em estudo reage com PITC, que se acopla ao grupo  $\text{NH}_2$  livre do aminoácido 1.
- II. Na segunda etapa, ocorre a hidrólise ácida da proteína conjugada com PITC, que libera a feniltiohidantoína (PTH) do aminoácido 1 e o restante do polipeptídeo, tornando o aminoácido 2 o novo resíduo N-terminal.
- III. Na terceira etapa, a análise cromatográfica do PTH-aminoácido é realizada.

Assinale:

- (A) se apenas a afirmativa I estiver correta.
- (B) se apenas as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (C) se todas afirmativas estiverem corretas.
- (D) se apenas a afirmativa II estiver correta.
- (E) se apenas as afirmativas II e III estiverem corretas.

**52**

Dentre as diferentes estratégias disponíveis para análise proteômica, uma das mais utilizadas tem sido a técnica de MALDI-TOF. Observe as afirmativas realizadas com relação a esta tecnologia e assinale a alternativa **incorreta**.

- (A) Na análise MALDI, o laser é utilizado para irradiar amostras biológicas em associação com compostos químicos (matriz), os quais permitem a absorção da energia, com consequente ionização dos peptídeos.
- (B) Uma vez ionizados, os peptídeos seguem para o analisador TOF (*time of flight*). Os íons gerados são então separados em um tubo de vácuo, em razão da relação  $m/z$  que apresentam.
- (C) Os íons de menor relação  $m/z$  são os primeiros a chegar ao detector.
- (D) No modo linear de operação de um espectrômetro MALDI-TOF, os íons gerados percorrem uma trajetória linear e os íons chegam ao detector presente no final do tubo, o que resulta em uma melhora na resolução e auxilia na análise de diferentes íons com a mesma relação  $m/z$ .
- (E) No modo de operação *reflectron* de um equipamento MALDI-TOF, a trajetória dos íons é alterada por um espelho disposto no final do tubo, sendo então enviados a outro detector.

**53**

Nos experimentos de análise proteômica, comumente são utilizados, sequencialmente, uma fonte de ionização de peptídeos seguida de um analisador de massa. Assinale a alternativa que apresenta exemplos dos dois tipos de aparelhos.

- (A) MALDI e *eletrospray*.
- (B) Q-TOF e TOF-TOF.
- (C) *IonTrap* e Q-TOF.
- (D) MALDI e TOF.
- (E) Q-TOF e TOF.

**54**

Após a descoberta de um novo tipo de bactéria, isolada em amostras de solo da região amazônica, um grupo de pesquisa iniciou dois projetos multidisciplinares estruturados em rede. No primeiro dos projetos, foi realizado o sequenciamento completo e a anotação do genoma desta nova bactéria. No segundo projeto, foi realizada a análise proteômica da mesma bactéria. Após a finalização dos projetos, os resultados obtidos foram comparados. Com relação a esta comparação, assinale a alternativa correta.

- (A) O número de polipeptídeos identificados na análise proteômica será maior que o número de genes identificados no genoma em função dos processos de modificação do transcrito primário que ocorrem antes da tradução.
- (B) O número de polipeptídeos identificados no proteoma será menor do que os do genoma uma vez que neste organismo não existem genes repetitivos.
- (C) Será observado um menor número que polipeptídeos em função da formação de complexos protéicos formados por diferentes sub-unidades.
- (D) O proteoma será variável e pode ser maior ou menor do que o genoma, em função das necessidades da célula no momento da análise.
- (E) Serão identificados mais genes do que polipeptídeos, uma vez que não existe *splicing* alternativo e existirão sempre genes para rRNAs e tRNAs.

**55**

A abordagem proteômica tem possibilitado a caracterização de grandes quantidades de proteínas que estão presentes em condições fisiológicas definidas. Dentre as diferentes estratégias experimentais utilizadas, a proteômica de organelas foi uma das primeiras abordagens que disponibilizaram importantes conjuntos de dados, criando a expectativa de que o conjunto completo de proteínas que compõe as diferentes organelas de uma célula eucarionte pudesse ser caracterizado. Entretanto, análises realizadas com proteomas de cloroplastos e mitocôndrias têm demonstrado que, apesar dos grandes avanços alcançados, ainda não é possível a identificação de todas as proteínas que compõem estas organelas. Sobre tais iniciativas, analise as afirmativas a seguir.

- I. A análise do proteoma de uma organela é limitada em função da perda de proteínas durante o processo de preparação das amostras.
- II. O alto grau de conservação entre proteínas presentes em cloroplastos e mitocôndrias, assim como sua conservação com proteínas presentes em outros compartimentos celulares, dificulta a identificação das mesmas nos proteomas organelares.
- III. Proteínas de membrana estão sempre representadas em baixa proporção, o que limita a identificação destas na abordagem proteômica.
- IV. Proteínas destas organelas sofrem proteólise durante seu processo de importação para as organelas, o que limita sua identificação final.

Assinale:

- (A) se todas as afirmativas estiverem corretas.
- (B) se apenas as afirmativas II e III estiverem corretas.
- (C) se apenas as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (D) se apenas as afirmativas I, III e IV estiverem corretas.
- (E) se apenas as afirmativas II, III e IV estiverem corretas.

**56**

Sobre resolução espectrométrica dos aparelhos de determinação de massas, analise as afirmativas a seguir.

- I. A largura do pico detectado (avaliada na sua base), dividida pela massa do pico, define a resolução espectrométrica de um aparelho de determinação de massa.
- II. A introdução do sistema *Orbitrap* aumentou bastante a resolução espectrométrica em relação aos sistemas *IonTraps* simples, anteriormente utilizados.
- III. Quanto maior a resolução espectrométrica, maior a chance de mais de um peptídeo serem agrupados em um mesmo pico.
- IV. Uma alta resolução espectrométrica é uma pré-condição para a identificação e quantificação acurada dos peptídeos.

Assinale:

- (A) se apenas as afirmativas I e III estiverem corretas.
- (B) se apenas as afirmativas II e IV estiverem corretas.
- (C) se apenas as afirmativas I, II e IV estiverem corretas.
- (D) se apenas as afirmativas II, III e IV estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

**57**

Com o objetivo de avaliar o conjunto completo de proteínas presentes nos cloroplastos de uma célula vegetal, um laboratório de biologia molecular contratou os serviços de um laboratório especializado em análise proteômica quantitativa. Durante as negociações para a realização do projeto, foram apresentadas algumas estratégias alternativas de abordagem experimental.

- I. Análise proteômica global de cloroplastos isolados a partir de gradientes de densidade.
- II. Análise do proteoma da membrana externa cloroplastidial, utilizando frações de membrana externa isolada a partir de extratos purificados obtidos de cloroplastos purificados em gradiente de densidade.
- III. Análise proteômica da fração solúvel de cloroplastos isolados em gradiente de densidade.
- IV. Análise do proteoma da membrana interna cloroplastidial, utilizando frações de membrana externa isolada a partir de extratos purificados obtidos de cloroplastos purificados em gradiente de densidade.
- V. Análise do proteoma da membrana tilacóide, utilizando frações de membrana tilacóide isolada a partir de extratos purificados obtidos de cloroplastos purificados em gradiente de densidade.

Tendo em vista o custo das análises e o tempo necessário para sua realização, o laboratório só poderia realizar duas destas estratégias. Visando obter a maior quantidade de dados relacionados à composição dos cloroplastos desta espécie, assinale a alternativa que melhor descreve as abordagens que deveriam ser realizadas prioritariamente.

Assinale:

- (A) se apenas as afirmativas I e V estiverem corretas.
- (B) se apenas as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (C) se apenas as afirmativas II e III estiverem corretas.
- (D) se apenas as afirmativas II e V estiverem corretas.
- (E) se apenas as afirmativas II e IV estiverem corretas.

**58**

Analise as afirmativas abaixo com relação aos diferentes tipos de analisadores de massa.

- I. Em um equipamento Q-TOF, um filtro de massa quádruplo está acoplado a um analisador de tempo de voo que diferencia as moléculas presentes em função do tempo de sua chegada ao detector.
- II. Após a ionização por *elektrospray*, a relação massa/carga das moléculas é determinada por meio de sua trajetória em um campo elétrico estático ou dinâmico.
- III. No sistema *IonTrap*, os íons são capturados em um campo onde eles podem ser acumulados e manipulados em análises subsequentes.
- IV. No sistema *Orbitrap*, os íons circulam ao redor de um eletrodo central com formato fusiforme. A frequência de oscilações dos íons nesta trajetória é proporcional à raiz quadrada da razão  $m/z$ .

Assinale:

- (A) se apenas as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (B) se apenas as afirmativas II, III e IV estiverem corretas.
- (C) se apenas as afirmativas I, II e IV estiverem corretas.
- (D) se apenas as afirmativas II e IV estiverem corretas.
- (E) se todas as afirmativas estiverem corretas.

**59**

Analise as afirmativas abaixo.

- I. Na ionização por *elektrospray*, os peptídeos a serem analisados são dissolvidos em um líquido que passa por uma agulha, a um alto potencial elétrico. A voltagem aplicada dispersa o líquido em pequenas gotículas, altamente carregadas, que evaporam e transferem as moléculas para o vácuo de um espectrômetro de massas.
- II. O aparelho *Ion Trap-Orbitrap* é um espectrômetro de massa híbrido, que combina um *Ion Trap* linear com um analisador *Orbitrap*. O *Orbitrap* é um tipo de analisador de massa de *Ion Trap* que utiliza transformada de Fourier, no qual os íons oscilam ao longo e ao redor de um cilindro central.
- III. A dissociação induzida por colisão (CID) consiste na fragmentação de íons peptídicos pela energia adquirida durante a colisão com um gás quimicamente reativo.
- IV. A marcação isotópica estável por aminoácidos em culturas de células (SILAC) é um dos tipos de marcação metabólica utilizada na proteômica quantitativa. Comumente, formas dos aminoácidos lisina e arginina, marcados com  $^{33}\text{P}$  e  $^{35}\text{S}$ , são incorporados em uma cultura celular ou em organismo através da marcação metabólica. Na análise por espectrometria de massa, os aminoácidos marcados com esses isótopos pesados são distinguíveis dos seus correlatos não marcados por uma mudança de massa característica.

Assinale:

- (A) se todas as afirmativas estiverem corretas.
- (B) se apenas as afirmativas I, II, e III estiverem corretas.
- (C) se apenas as afirmativas I e II estiverem corretas.
- (D) se apenas as afirmativas II, III e IV estiverem corretas.
- (E) se apenas as afirmativas I, II e IV estiverem corretas.

**60**

Diferentes métodos de detecção de proteínas vem sendo desenvolvidos e adaptados visando o aprimoramento, a modernização e a simplificação do processo de detecção de proteínas. No desenvolvimento e na adaptação de um novo método para análise proteômica, assinale a alternativa incorreta é **incorreto** afirmar que são características desejáveis:

- (A) maior sensibilidade e capacidade de automação.
- (B) especificidade e utilização de grande número de reagentes.
- (C) detecção simultânea de mais de um tipo de macromolécula e baixo custo.
- (D) sensibilidade e especificidade.
- (E) capacidade de automação e aplicabilidade direta de análise por espectrometria de massa.