



JT6372

Purificação e
Caracterização de Proteínas

Tecnologista em Saúde Pública

Prova Objetiva e Discursiva

Conhecimentos Específicos na Área de Atuação

01. As proteínas são sintetizadas como cadeias lineares de aminoácidos. As principais forças responsáveis pelos dobramentos que resultam na formação de sua conformação nativa são:

- (A) interações hidrofóbicas.
- (B) interações eletrostáticas.
- (C) ligações de hidrogênio.
- (D) ligações de van der Waals.
- (E) compostas de combinações de interações hidrofóbicas e eletrostáticas.

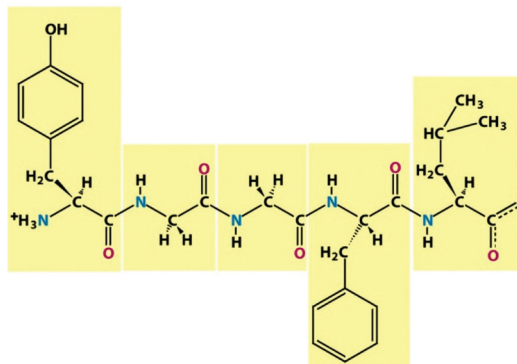
02. Os grupos químicos que formam ligações de hidrogênio entre aminoácidos em uma estrutura secundária de uma cadeia polipeptídica são:

- (A) Grupos C=O e C-H.
- (B) Grupos C=O e C-R.
- (C) Grupos C=O.
- (D) Grupos C=O e N-H.
- (E) Grupos S-H e S-H.

03. Considerando as propriedades das cadeias laterais dos aminoácidos é correto afirmar que:

- (A) Lisina e arginina são os aminoácidos que têm cadeia lateral com maior pKa; portanto, dependendo do pH, podem conferir maior carga às proteínas em relação a outros grupos ionizáveis.
- (B) Ácido aspártico e ácido glutâmico são os aminoácidos com cadeia lateral com menor pKa; portanto, quando ionizados, conferem a menor carga às proteínas em relação a outros grupos ionizáveis.
- (C) Lisina, arginina, ácido aspártico e ácido glutâmico são aminoácidos que têm cadeia lateral ionizável que, dependendo do pH, pode conferir carga às proteínas.
- (D) Tirosina, triptofano, fenilalanina e histidina são aminoácidos com anéis aromáticos em suas cadeias laterais que não são ionizáveis, independente do pH.
- (E) Serina, treonina e tirosina são aminoácidos que contêm hidroxila na cadeia lateral que, dependendo do pH, podem conferir carga às proteínas.

04. Observe a estrutura apresentada no esquema abaixo:



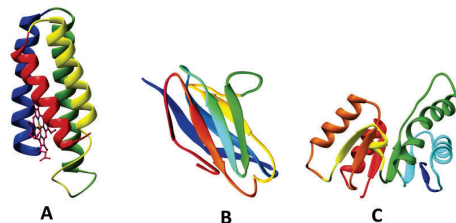
A sequência peptídica a que ela corresponde é:

- (A) Amino-terminal- fenilalanina- glicina- serina- tirosina- leucina- carboxi-terminal.
- (B) Amino-terminal- triptofano- glicina- serina- tirosina- leucina- carboxi-terminal.
- (C) Amino-terminal- triptofano- serina- serina- fenilalanina- leucina- carboxi-terminal.
- (D) Amino-terminal- tirosina- serina- serina- fenilalanina- leucina- carboxi-terminal.
- (E) Amino-terminal- tirosina- glicina- glicina- fenilalanina- leucina- carboxi-terminal.

05. A sequência de aminoácidos de uma proteína pode ser obtida através de várias formas. Das técnicas a seguir listadas, a que melhor permite o sequenciamento direto de proteínas é:

- (A) Clonagem do gene e sequenciamento pela técnica de terminação de cadeia de DNA.
- (B) Degradação de Edman, seguida de análise por cromatografia de alta performance ou por digestão proteolítica e espectrometria de massas.
- (C) Clonagem do gene análise funcional da proteína.
- (D) Hidrólise ácida seguida de espectrometria de massas.
- (E) Hidrólise ácida seguida por cromatografia de alta performance.

06. Indique o que melhor representam as ilustrações das figuras A, B e C.



- (A) Estruturas secundárias de proteínas do tipo alfa-hélice (A), folha beta (B) e alças randômicas (C).
- (B) Domínios de proteínas contendo alfa-hélice (A), folha beta (B) e alfa-hélice-folha beta (C).
- (C) Estruturas terciárias de proteínas com função estrutural (A, B e C).
- (D) Estruturas terciárias de proteínas com função catalítica (A, B e C).
- (E) A e B representam proteínas com função estrutural e C proteínas com função catalítica.

07. Evidências experimentais mostram que toda a informação necessária para o dobramento correto de uma proteína está contida na sua sequência primária. Uma evidência de que a sequência de aminoácidos de uma cadeia polipeptídica contém toda a informação necessária para o dobramento da cadeia em sua estrutura tridimensional nativa é o fato de que:

- (A) quando tratada com 8 M de ureia, a ribonuclease perde sua atividade catalítica.
- (B) quando tratada com 8 M de ureia e β -mercaptoetanol a ribonuclease perde sua atividade catalítica.
- (C) quando a ribonuclease renaturada é novamente desnaturada, ela recobra sua atividade catalítica.
- (D) a adição de β -mercaptoetanol faz com que a ribonuclease recobre sua atividade catalítica.
- (E) quando a ribonuclease desnaturada em 8 M de ureia é renaturada em tampão fisiológico, ela recobra sua atividade catalítica.

08. As proteínas são sintetizadas nos ribossomos através de adição subsequente de aminoácidos que são transportados por RNA transportadores e adicionados de acordo com os códons presentes no RNA mensageiro que está sendo traduzido. Após a síntese, a proteína deve assumir sua conformação nativa para ser ativa. Assim, a melhor forma de definir quando uma proteína está em sua conformação nativa é quando ela:

- (A) está termodinamicamente menos estável.
- (B) tem a mais alta energia livre de Gibbs.
- (C) está estruturada em quaisquer de suas formas funcionais.
- (D) está desestruturada.
- (E) não tem atividade catalítica.

09. Ponto isoelétrico de uma proteína é o pH no qual a proteína:

- (A) não tem carga;
- (B) tem balanço de cargas positivo;
- (C) tem balanço de cargas negativo;
- (D) tem balanço de cargas igual a zero;
- (E) tem balanço de cargas igual à carga inicial.

10. Usando os valores de pKa fornecidos abaixo, indique a direção de migração dos seguintes peptídeos em pH 3 e pH 10: Phe-Ile, Lys-Lys-Lys, Arg-Asp.

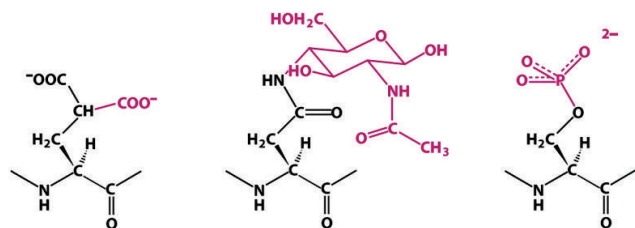
Aminoácido	Abreviatura	pKa1	pKa2	pKa3
Fenilalanina	Phe	1,8	9,1	
Isoleucina	Ile	2,4	9,7	
Lisina	Lys	2,2	9,0	10,5
Arginina	Arg	2,2	9,0	12,5
Aspartato	Asp	2,1	9,8	3,9

- (A) pH 3: Phe-Ile – catodo; Lys-Lys-Lys – catodo; Arg-Asp – catodo
pH 10: Phe-Ile – anodo; Lys-Lys-Lys – catodo; Arg-Asp – anodo.
- (B) pH 3: Phe-Ile – catodo; Lys-Lys-Lys – catodo; Arg-Asp – catodo
pH 10: Phe-Ile – anodo; Lys-Lys-Lys – anodo; Arg-Asp – anodo.
- (C) pH 3: Phe-Ile – catodo; Lys-Lys-Lys – anodo; Arg-Asp – catodo
pH 10: Phe-Ile – anodo; Lys-Lys-Lys – catodo; Arg-Asp – anodo.
- (D) pH 3: Phe-Ile – anodo; Lys-Lys-Lys – anodo; Arg-Asp – anodo
pH 10: Phe-Ile – catodo; Lys-Lys-Lys – catodo; Arg-Asp – catodo.
- (E) pH 3: Phe-Ile – catodo; Lys-Lys-Lys – catodo; Arg-Asp – anodo
pH 10: Phe-Ile – catodo; Lys-Lys-Lys – catodo; Arg-Asp – anodo.

11. A respeito de modificações pós-traducionais de proteínas é correto afirmar que:

- (A) Nitração é uma modificação que pode ocorrer em todos os amino-ácidos de cadeia lateral contendo anéis aromáticos.
- (B) Proteínas são glicosiladas apenas em amino-ácidos de cadeias laterais contendo grupos hidroxila.
- (C) Adição de ácidos graxos ocorrem apenas em amino-ácidos de cadeias laterais contendo grupos hidroxila.
- (D) Metilação, acetilação, ubiquitilação e SUMOilação são modificações que podem ocorrer em todos os amino-ácidos de cadeias laterais contendo grupos amina.
- (E) Proteínas são fosforiladas em aminoácidos de cadeias laterais contendo grupos hidroxila.

12. As modificações pós-traducionais resultam na modificação das cadeias laterais de certos aminoácidos não só alterando suas propriedades químicas, mas também conferindo funções específicas. Abaixo estão as estruturas de carboxiglutamato, asparagina ligada a açúcar e serina fosforilada.



carboxiglutamato

asparagina
glicosilada

fosfoserina

As seguintes funções podem ser atribuídas a esses aminoácidos modificados:

- (A) Carboxilação de glutamato permite forte interação com metais divalentes, glicosilação de asparagina está relacionada ao aumento da estabilidade e interação com moléculas-alvo, e fosforilação de serinas está relacionada com mecanismos de regulação da atividade de proteínas.
- (B) Carboxilação de glutamato permite forte interação com metais divalentes, glicosilação de asparagina está relacionada ao seu funcionamento como ancoras de membranas, e fosforilação de serinas está relacionada com mecanismos de regulação da atividade de proteínas.
- (C) Carboxilação de glutamato causa degradação rápida das proteínas, glicosilação de asparagina está relacionada a inserção das proteínas em membranas, e fosforilação de serinas está relacionada com mecanismos de regulação da atividade de proteínas.
- (D) Carboxilação de glutamato permite forte interação com metais divalentes, glicosilação de asparagina está relacionada a inserção das proteínas em membranas, e fosforilação de serinas está relacionada com mecanismos de regulação da estabilidade proteínas.
- (E) Carboxilação de glutamato causa degradação rápida das proteínas, glicosilação de asparagina está relacionado ao aumento da estabilidade e interação com moléculas-alvo, e fosforilação de serinas está relacionada com mecanismos de regulação da estabilidade proteínas.

13. As proteínas localizam-se em todos os ambientes subcelulares. Para cada tipo de ambiente são necessárias propriedades estruturais específicas. No caso da membrana celular, a principal característica de uma proteína madura, localizada na membrana celular é conter:

- (A) peptídeo sinal.
- (B) domínio hidrofílico.
- (C) domínio hidrofóbico.
- (D) peptídeo sinal e domínio hidrofóbico.
- (E) barril beta.

14. Avalie se uma enzima pode ser definida como:

- I - Uma molécula que catalisa uma reação.
- II - Uma molécula que torna uma reação possível.
- III - Uma molécula que aumenta a velocidade de uma reação.

Assinale a alternativa correta:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas II está correta.
- (C) apenas III está correta.
- (D) I e II estão corretas.
- (E) I e III estão corretas.

15. Em relação a cofatores é correto afirmar que:

- (A) Não são essenciais para a atividade enzimática.
- (B) Uma holoenzima é a parte de uma enzima que não é cataliticamente ativa até um cofator se ligar a ela.
- (C) Íons de metais inorgânicos são exemplos de coenzimas.
- (D) Cofatores que estão covalentemente ligados a uma enzima são chamados de grupos prostéticos.
- (E) São ativos cataliticamente na ausência de enzimas.

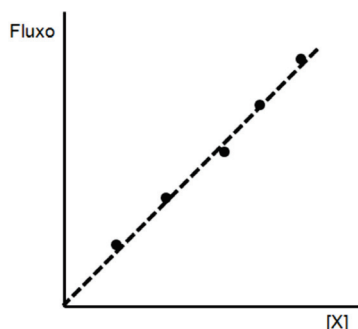
16. Em relação ao efeito do aumento da concentração de um inibidor competitivo na cinética da reação é correto afirmar que:

- (A) K_m irá diminuir.
- (B) V_{max} não será alterado.
- (C) A reação irá parar porque o inibidor se liga irreversivelmente.
- (D) K_m/V_{max} não será alterado.
- (E) não terá efeito.

17. A afirmação “as interações enzima-substrato e receptor-sinal podem ser comparadas”:

- (A) é falsa porque somente uma enzima liga um substrato de maneira específica.
- (B) é correta porque ambas as proteínas são de membrana.
- (C) é correta porque a formação de ambos complexos pode atingir a saturação.
- (D) é falsa porque ambos complexos são solúveis.
- (E) é correta porque substrato e sinal são sempre proteínas.

18. A velocidade de movimento (fluxo) de um composto X em células foi medida em diferentes concentrações de X, resultando no gráfico abaixo.



Essa informação sugere que:

- (A) o movimento de X seja mediado por uma proteína transportadora.
- (B) o movimento de X seja independente de uma proteína transportadora.
- (C) o transporte de X seja ativo.
- (D) o transporte de X seja mediado por um simporter.
- (E) o transporte de X seja mediado por um antiporter.

19. Considerando-se um fator de crescimento que tenha como receptor uma tirosina quinase, é correto afirmar que:

- (A) esse receptor será ativado quando desfosforilado.
- (B) o hormônio de crescimento é fosforilado pela tirosina quinase.
- (C) o hormônio de crescimento é transportado pela tirosina quinase.
- (D) o hormônio de crescimento é co-transportado com ATP pelo receptor.
- (E) ao ser ativada pelo hormônio de crescimento, a tirosina quinase fosforila outras proteínas.

20. Um grande grupo de proteínas desempenha suas funções com parte de complexos estáveis ou transientes. Dentre as formas de determinar a função de novas proteínas com função desconhecida, uma delas envolve identificar suas interações visando estabelecer conexões com proteínas de funções conhecidas. Em relação aos métodos que podem ser utilizados para determinar interações entre proteínas é correto afirmar que:

- (A) o método mais eficiente para identificar interações entre proteínas envolve construir proteínas de fusão entre as proteínas de interesse e proteínas fluorescentes as quais podem ser visualizadas diretamente por microscopia.
- (B) pode-se utilizar métodos genéticos como o sistema duplo-híbrido de levedura que têm a vantagem de só identificar interações de alta afinidade.
- (C) pode-se usar imuno-histoquímica e métodos genéticos como o sistema duplo-híbrido de levedura, ambos com a vantagem de serem feitos em células.

- (D) pode-se usar co-imunoprecipitação, purificação por cromatografia de afinidade seguido de identificação por western blot ou espectrometria de massas bem como métodos genéticos como o sistema duplo-híbrido de levedura.
- (E) pode-se usar método de retardo de mobilidade eletroforética que tem a vantagem de ser um método in vivo de identificação de interações de alta afinidade.

Conhecimentos Específicos no Perfil

21. São características de sistemas tamponados, EXCETO:

- (A) são formados por ácidos fortes.
- (B) mantem o pH aproximadamente constante frente a adição de uma dada quantidade de ácido ou base qualquer.
- (C) a capacidade tamponante de uma solução tampão depende da concentração do agente tamponante.
- (D) a região de tamponamento de uma dada molécula depende de seu pKa.
- (E) é um fenômeno decorrente do equilíbrio ácido-base.

22. Dentre os métodos a seguir, aquele que deve ser utilizado como etapa inicial para fracionar um extrato celular mitocondrial num protocolo de purificação de uma proteína mitocondrial é:

- (A) cromatografia de interação hidrofóbica.
- (B) precipitação em sulfato de amônio.
- (C) ultracentrifugação.
- (D) gravimetria.
- (E) titulação potenciométrica.

23. A diálise é um método experimental muito utilizado nas dependências de um laboratório de bioquímica, pois durante o preparo de uma amostra ela permite:

- (A) concentrar a amostra.
- (B) trocar a amostra de solução tampão.
- (C) quantificar a amostra proteica.
- (D) determinar a estrutura primária da proteína em estudo.
- (E) purificar a proteína com base na interação hidrofóbica.

24. A purificação de proteínas pode ser feita por uma série de etapas e técnicas cromatográficas que devem seguir uma sequência lógica. Baseado no exposto, pode-se dizer que a alternativa INCORRETA é:

- (A) informações sobre os contaminantes devem ser sempre consideradas para a elaboração do protocolo de purificação.
- (B) o objetivo inicial de um processo de purificação é capturar e estabilizar a proteína alvo em detrimento aos principais contaminantes.
- (C) o conhecimento da atividade biológica guia os testes funcionais de acompanhamento do processo de isolamento e purificação.
- (D) a mesma técnica cromatográfica pode ser utilizada várias vezes no mesmo protocolo de purificação para aumentar o rendimento do processo de purificação.
- (E) o rendimento da purificação será comprometido por múltiplas etapas experimentais.

25. No protocolo da técnica cromatográfica de interação hidrofóbica ocorre:

- (A) o aumento da concentração de um solvente orgânico para deslocar a proteína da resina hidrofóbica.
- (B) a separação das proteínas pela redução da concentração de sal da solução tampão.
- (C) a desnaturação da proteína alvo.
- (D) a diluição da amostra.
- (E) a agregação da proteína em fibras amiloides.

26. São características atribuídas à eletroforese de proteínas na presença de dodecil sulfato de sódio, EXCETO:

- (A) permite separar proteínas com alta resolução.
- (B) permite avaliar o estado oligomérico de proteínas unidas por ligações dissulfeto.
- (C) baseia-se no deslocamento da proteína submetida a uma diferença de potencial.
- (D) permite purificar proteínas nativas em escala preparativa.
- (E) é independente da carga formal da proteína na solução.

27. São características dos métodos de quantificação de proteínas por espectrofotometria, EXCETO:

- (A) segue a Lei de Beer-Lambert.
- (B) necessita da presença de um cromóforo intrínseco a proteína para o método de absorbância no ultravioleta.
- (C) necessita de um cromóforo extrínseco para os métodos colorimétricos.
- (D) o uso do método de absorbância no ultravioleta necessita de uma curva padrão.
- (E) o método de absorbância no ultravioleta fornece dados com maior exatidão, porém depende da aplicação a amostras com pureza superior a 95%.

28. Observe as afirmativas a seguir, em relação à cromatografia de troca iônica:

- I – baseia-se na interação eletrostática reversível entre a proteína e a resina cromatográfica.
- II – depende do pH da solução tampão e do ponto isoelétrico (pI) da proteína. Se o pH da solução é maior do que o pI, a proteína está carregada positivamente e irá interagir com uma resina negativa. Se o pH da solução for menor do que o pI, a proteína se apresenta carregada negativamente e irá ligar a uma resina positiva.
- III – pode ser do tipo trocadora catiônica ou aniônica, onde a resina cromatográfica possui cargas negativas ou positivas, respectivamente.

Sobre as afirmativas acima, pode-se dizer que apenas:

- (A) I está correta.
- (B) II está correta.
- (C) I e II estão corretas.
- (D) I e III estão corretas.
- (E) II e III estão corretas.

29. Sobre a cromatografia por exclusão por tamanho é possível afirmar, EXCETO, que:

- (A) é realizada numa eluição isocrática.
- (B) sofre influências do formato das macromoléculas.
- (C) as proteínas maiores eluem com maior volume de eluição, pois ficam mais tempo adsorvidas na resina cromatográfica.
- (D) a resina deve ser porosa, inerte, esférica e estável.
- (E) permite avaliar o raio hidrodinâmico de uma proteína nativa pela comparação direta com o perfil cromatográfico de uma mistura de proteínas conhecidas.

30. Sobre a técnica de cromatografia de afinidade, a alternativa CORRETA é:

- (A) necessita de uma molécula específica, o competidor, para deslocar a proteína da resina.
- (B) requer concentrar a amostra antes da aplicação na coluna cromatográfica.
- (C) depende da interação não específica entre proteína e resina.
- (D) baseia-se na interação irreversível entre a resina e a proteína.
- (E) resulta numa amostra diluída após a eluição da resina cromatográfica.

31. A técnica de dicroísmo circular é usada para explorar as seguintes propriedades de proteínas, EXCETO:

- (A) conteúdo de estrutura secundária.
- (B) estabilidade térmica e química.
- (C) presença de estrutura terciária.
- (D) mudanças conformacionais induzidas por ligantes.
- (E) estrutura quaternária.

32. A espectropolarimetria de dicroísmo circular é uma técnica fundamentada no uso de:

- (A) um feixe de luz circularmente não polarizado à esquerda.
- (B) dois feixes de luz linearmente polarizados, vertical e horizontalmente, porém com defasagem de $+90^\circ$ ou -90° entre si para produzir um feixe de luz circularmente polarizado à esquerda ou à direita.
- (C) dois feixes de luz circularmente polarizados à esquerda com defasagem de 180° entre si.
- (D) um feixe incidente de luz circularmente polarizado que atinge o porta amostra e é detectado após atravessar outro plano de polarização em 90° em relação ao primeiro plano de polarização.
- (E) dois feixes de luz monocromática no campo elétrico polarizado.

33. Observe as afirmativas a seguir, em relação à técnica de fluorescência intrínseca de proteínas.

- I – É sensível ao ambiente químico ao qual os aminoácidos aromáticos triptofano e tirosina se encontram na estrutura tridimensional da proteína.
- II – Numa proteína contendo ambos os aminoácidos aromáticos triptofano e tirosina na sua estrutura primária, é possível excitar somente os triptofanos com a seleção do comprimento de onda de excitação de 295 nm.
- III – O comprimento de onda máximo de emissão de fluorescência do aminoácido triptofano sofre influência do solvente em que ele se encontra, deslocando para o azul em solvente polar e para o vermelho em ambiente apolar.

Sobre as afirmativas acima, pode-se dizer que apenas:

- (A) I está correta.
- (B) II está correta.
- (C) I e II estão corretas.
- (D) II e III estão corretas.
- (E) I e III estão corretas.

34. São fatores influentes na fluorescência do triptofano no estudo de proteínas e têm como consequência, EXCETO:

- (A) o aumento da temperatura provoca a redução da intensidade de fluorescência do triptofano, mesmo em temperaturas nas quais não se observa o desenovelamento da proteína.
- (B) a presença de ligantes pode provocar o efeito de supressão de fluorescência.
- (C) a equação de Stern-Volmer modificada permite calcular a constante de associação entre ligante e proteína.
- (D) perturbações do estado enovelado e na dinâmica da proteína ocasiona redução do rendimento quântico.
- (E) a intensidade de sinal de fluorescência obedece a lei de Beer-Lambert.

35. Sobre a técnica de espalhamento dinâmico de luz, avalie se são verdadeiras (V) ou falsas (F) as afirmativas a seguir:

- I – Moléculas em movimento browniano causam flutuações na luz espalhada devido a interferências construtivas e destrutivas em escalas de tempo relacionadas com a velocidade de movimento das moléculas.
- II – A coleta de dados de espalhamento dinâmico de luz permite obter informações diretas sobre o coeficiente de difusão da partícula espalhadora.
- III – A principal aplicação da técnica de espalhamento dinâmico de luz é para avaliar a polidispersidade da solução e a massa molecular da partícula espalhadora.

De cima para baixo, a sequência correta é:

- (A) V, F e F.
- (B) F, V e F.
- (C) F, V e V.
- (D) F, F e V.
- (E) V, V e F.

36. Testes iniciais sugerem que uma proteína sofre o processo de dimerização dependente da concentração. Este tipo de evento pode ser estudado, objetivando avaliar a constante de associação do processo de dimerização, pelas seguintes técnicas:

- (A) espectropolarimetria de dicroísmo circular e fluorescência intrínseca de proteínas.
- (B) cromatografia de exclusão por tamanho e espalhamento dinâmico de luz.
- (C) espalhamento dinâmico de luz e espectropolarimetria de dicroísmo circular.
- (D) fluorescência intrínseca e cromatografia de exclusão por tamanho.
- (E) cromatografia de exclusão por tamanho e espectropolarimetria de dicroísmo circular.

37. A estabilidade térmica e/ou química da estrutura nativa de proteínas pode ser estudada pelas seguintes abordagens experimentais, EXCETO:

- (A) eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de dodecil sulfato de sódio.
- (B) dicroísmo circular em função da temperatura.
- (C) fluorescência intrínseca do triptofano na presença de concentrações crescentes de agentes químicos desnaturantes.
- (D) dicroísmo circular em função do pH da solução tampão.
- (E) fluorescência extrínseca em função da temperatura.

38. Explorar a estabilidade térmica e/ou química de proteínas pode gerar as seguintes informações sobre a estrutura e função de proteínas, EXCETO:

- (A) organização de domínios estruturais.
- (B) interação com ligantes, inclusive a constante de associação.
- (C) controle de qualidade da fração funcional da amostra.
- (D) interdependência de domínios funcionais.
- (E) degradação da cadeia polipeptídica.

39. Para estudos estruturais de proteínas é necessário avaliar a solubilidade/agregação da proteína em função do pH e concentração salina da solução tampão. Esta avaliação pode ser alcançada aplicando a técnica de:

- (A) espalhamento dinâmico de luz.
(B) cromatografia de troca iônica.
(C) dicroísmo circular.
(D) fluorescência intrínseca.
(E) cromatografia de interação hidrofóbica.

40. Testes realizados com a proteína Xtr em solução tampão, não necessariamente nas configurações experimentais mais adequadas, produziram os seguintes resultados:

- I- O espectro de dicroísmo circular entre 190 e 260 nm mostrou um mínimo em 214 nm e um máximo em 195 nm.
- II- O espectro de emissão de fluorescência da proteína Xtr, que possui 2 triptofanos e 6 tirosinas, após excitação em 295 nm resultou em um comprimento de onda máximo de emissão de fluorescência em 341 nm.
- III- Experimentos de desnovelamento químico da Xtr acompanhados por dicroísmo circular em 222 nm não produziram transições definidas na análise de sinal de dicroísmo circular na faixa de concentração de 0–6 mol/L de agente desnaturante químico.
- IV- A curva de desnaturação química da Xtr seguida pelo comprimento de onda máximo de emissão fluorescência na faixa de concentração de 0–6 mol/L do agente desnaturante mostrou duas transições sigmóides bem definidas.
- V- Experimentos de espalhamento dinâmico de luz na faixa de concentração de 0,5-5 mg/mL da proteína Xtr resultou em uma polidispersidade de aproximadamente 20% e coeficiente de difusão constante.

Baseado nos resultados relatados é possível concluir EXCETO que:

- (A) a proteína Xtr possui folha-beta pregueada como principal elemento de estrutura secundária.
- (B) ambos os triptofanos da proteína Xtr se encontram em ambiente parcialmente exposto ao solvente.
- (C) a estrutura secundária da proteína Xtr não sofre desnaturação química na faixa de concentração monitorada.
- (D) o desenovelamento químico seguido por emissão de fluorescência sugere que a proteína Xtr é formada por domínios com estabilidades diferentes.
- (E) a amostra da proteína Xtr é majoritariamente monodispersa e não sofre oligomerização dependente da concentração na faixa de concentração monitorada.

41. Para viabilizar uma proposta de análise dos níveis expressão de um gene que codifica a proteína A de um microorganismo em resposta ao estresse hiper-térmico, a estratégia mais indicada seria:

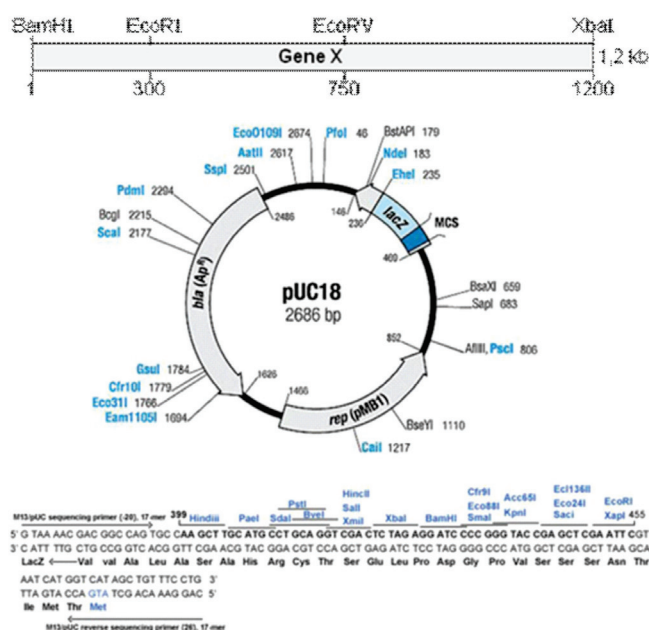
- (A) extrair RNA do microorganismo depois de tê-lo submetido a estresse térmico e fazer análise por microarranjos de DNA.
- (B) extrair DNA do microorganismo depois de tê-lo submetido a estresse térmico e fazer análise por microarranjos de DNA.

- (C) extrair proteínas do microorganismo e depois submetê-las a choque térmico e análise por gel bi-dimensional.
- (D) comparar DNA e RNA de amostras coletadas depois de estresse térmico.
- (E) comparar DNA e proteínas de amostras coletadas depois de estresse térmico.

42. As três principais características dos plasmídeos que fazem com que eles sejam amplamente utilizados em experimentos de clonagem molecular que podem ser descritas são:

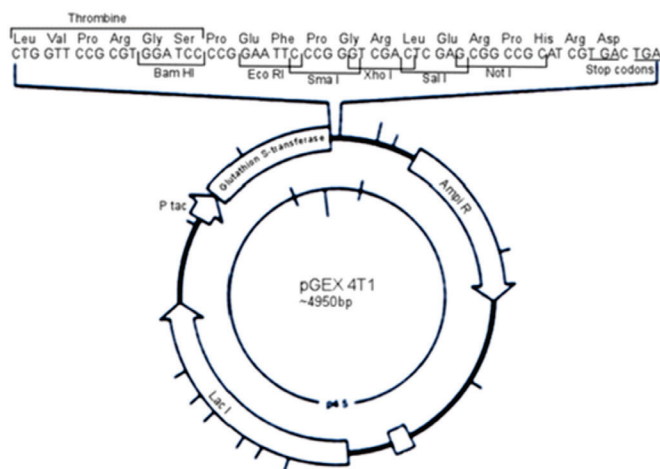
- (A) DNAs circulares e em dupla fita, e têm marca de resistência a antibióticos.
- (B) DNAs com origem de replicação autônoma, têm marca de resistência a antibióticos e múltiplas cópias nas células.
- (C) DNAs circulares, com marca de resistência a antibióticos, com replicação simultânea ao DNA cromossomal.
- (D) DNAs circulares, com marca de resistência a antibióticos e são segregados juntamente com o DNA cromossomal.
- (E) DNAs com origem de replicação autônoma, replicação simultânea ao DNA cromossomal e segregação conjunta ao DNA cromossomal.

43. Para caracterizar a função do gene X, ele será clonado em etapas, a primeira delas, no vetor pUC18. A estratégia viável de clonagem é:



- (A) clivar o vetor e o gene com BamHI e EcoRI antes de fazer uma reação de ligação de DNA.
- (B) clivar o vetor com XbaI e EcoRI e gene com BamHI e XbaI antes de fazer uma reação de ligação de DNA.
- (C) clivar o vetor e o gene com BamHI e XbaI antes de fazer uma reação de ligação de DNA.
- (D) clivar apenas vetor com HindIII e EcoRI antes de fazer uma reação de ligação de DNA.
- (E) clivar apenas gene com BamHI e XbaI antes de fazer uma reação de ligação de DNA.

44. Depois de clonado no vetor pUC18, para a expressão da proteína recombinante em sistema heterólogo (E. coli), o gene X será subclonado no vetor pGEX-4T1. A justificativa para a proposta desta subclonagem neste vetor é:



- (A) o vetor pGEX-4T1 tem aproximadamente 4,9 kb (pUC18 que tem 2,6 kb) e sendo maior, é mais estável quando transformado em E. coli.
- (B) os dois vetores têm a marca de resistência à ampicilina, portanto a subclonagem é desnecessária.
- (C) o gene X pode ser subclonado usando-se os sítios de restrição de BamHI e XbaI no pGEX-4T1, que tem um promotor regulando a expressão do gene clonado.
- (D) o gene X pode ser subclonado usando-se os sítios de restrição de BamHI e SalI no pGEX-4T1, que tem um promotor regulando a expressão do gene clonado.
- (E) o gene X não pode ser subclonado no vetor pGEX-4T1 porque este não tem sítio de restrição de XbaI.

45. Uma estratégia bastante utilizada para a purificação de proteínas a partir de sistemas heterólogos é a obtenção de proteínas recombinantes, como a que poderia ser gerada no caso da inserção de um gene no vetor pGEX-4T1. Este plasmídeo tem uma característica importante e diferencial que justifica sua escolha para a produção da proteína recombinante, pois esta seria:

- (A) expressa constitutivamente em E. coli.
- (B) produzida em fusão com glutathione-S-transferase, o que facilitaria sua purificação.
- (C) muito expressa na célula por ser codificada por um plasmídeo.
- (D) muito susceptível à clivagem por trombina.
- (E) mais curta que a original por causa dos códons de terminação.

46. Eucariotos e procariotos têm várias diferenças em seus mecanismos de expressão gênica. Para a expressão de proteínas de humanos em bactérias, por exemplo, a estratégia mais adequada seria:

- (A) amplificar gene de interesse por PCR com primers que gerem sítios de restrição nas extremidades 5' e 3' do gene para facilitar clonagem em vetor de expressão em E. coli.
- (B) amplificar gene de interesse por PCR sem necessidade de inserir sítios de clivagem, já que os vetores já têm esses sítios.
- (C) amplificar gene de interesse por PCR, mas mutar códons que possam ser diferentes em E. coli.
- (D) amplificar o cDNA do gene de interesse por PCR sem necessidade de inserir sítios de clivagem, já que os vetores já têm esses sítios.
- (E) amplificar o cDNA do gene de interesse por PCR com primers que contenham sítios de restrição nas extremidades 5' e 3' do produto de PCR para facilitar clonagem em vetor de expressão em E. coli.

47. Usando-se como um exemplo uma proteína humana que seja fosforilada por uma quinase ativada por hormônio de crescimento para ter atividade enzimática, o sistema de expressão mais indicado para produzir esta proteína recombinante em sua forma ativa seria através da clonagem do:

- (A) cDNA em vetor de expressão em E. coli.
- (B) cDNA em baculovírus.
- (C) DNA em vetor de expressão em leveduras.
- (D) DNA em vetor de expressão em fibroblastos.
- (E) DNA em vetor de expressão em tabaco.

48. A obtenção de proteínas quiméricas pode ser muito útil para o estudo funcional das mesmas. Avalie se são verdadeiras (V) ou falsas (F) as afirmativas a seguir:

- I – podem ser purificadas através de cromatografia de afinidade.
- II – são frequentemente utilizadas em ensaios de interação entre proteínas.
- III – são bastante úteis para a determinação da localização subcelular das proteínas.

De cima para baixo, a sequência correta é:

- (A) V, F e F.
- (B) F, V e F.
- (C) F, V e V.
- (D) F, F e V.
- (E) V, V e V.

49. O uso de anticorpos em ensaios para detecção de proteínas antigênicas como Western blot (proteínas desnaturadas) e ELISA (proteínas nativas) é bastante difundido em laboratórios de bioquímica. Considerando o exposto analise as afirmativas a seguir

- I – Nestes ensaios é possível usar os mesmos anticorpos para detectar proteínas nativas e desnaturadas, pois anticorpos reconhecem sequências curtas de aminoácidos, frequentemente de maneira independente da conformação da proteína.
- II – A interação anticorpo-antígeno é bastante estável e de alta afinidade, resistindo à desnaturação de proteínas e viabilizando a técnica de Western blot.
- III – Anticorpos monoclonais detectam somente epitopos estruturais e desta forma são usados somente no ELISA.

Sobre as afirmativas acima, pode-se dizer que:

- (A) I está correta.
- (B) II está correta.
- (C) I e II estão corretas.
- (D) II e III estão corretas.
- (E) I e III estão corretas.

50. Anticorpos podem ser também utilizados para ensaios de microscopia, por exemplo, para a determinação da localização subcelular de uma proteína. Avalie se são verdadeiras (V) ou falsas (F) as seguintes afirmativas:

- I – Em ensaios de microscopia, os anticorpos têm grande aplicação, pois são capazes de atravessar a membrana celular.
- II – Nos ensaios de microscopia os anticorpos precisam apresentar alta especificidade se comparado a outras aplicações como ELISA e western blot.
- III – Para uso em ensaios de microscopia, os anticorpos são frequentemente ligados a sondas fluorescentes.

De cima para baixo, a sequência correta é:

- (A) V, F e F.
- (B) F, V e F.
- (C) F, F e V.
- (D) F, V e V.
- (E) V, V e F.

Questão Discursiva

INSTRUÇÕES:

A questão discursiva deverá ter um máximo de 30 linhas.

Transcreva sua resposta para a parte pautada no verso do seu Cartão de Respostas. Não assine, rubrique ou coloque qualquer marca que o identifique, sob pena de ser anulado. Assim, a detecção de qualquer marca identificadora no espaço destinado à transcrição do texto definitivo acarretará nota ZERO na respectiva prova discursiva.

O tempo total de duração das provas será de 4 (quatro) horas, incluindo o tempo para o preenchimento do Resposta Definitiva da Questão Discursiva. Nenhum rascunho SERÁ LEVADO EM CONTA.

QUESTÃO:

Considere uma proteína hipotética com as seguintes propriedades previstas a partir da estrutura primária:

- massa molecular de 41 kDa;
- pI 5,9;
- solúvel em meio aquoso;
- interage com íons cálcio;
- possui 2 (dois) triptofanos próximos ao sítio ativo.

Obs: O laboratório dispõe dos seguintes equipamentos: espectrofotômetro, sistema de eletroforese, espectropolarimetria de dicroísmo circular, sistema cromatográfico e amplo repertório de colunas cromatográficas, fluorímetro e aparelho de espalhamento dinâmico de luz, entre outros.

- a) Proponha um protocolo de purificação, considerando a extração da proteína nativa a partir do microrganismo fonte, que permita o alcance de grau de pureza superior a 95%.
- b) Proponha uma abordagem experimental de rotina para monitorar o processo de purificação e atestar o grau de pureza proposto. Disserte sobre o mesmo.
- c) Baseado nas propriedades listadas sugira abordagens experimentais que permitam atestar a funcionalidade da proteína purificada.

Utilize de 15 a 30 linhas para o desenvolvimento do proposto na questão.

RASCUNHO

INSTRUÇÕES

1. Por motivo de segurança a Fundação Dom Cintra solicita que o candidato transcreva em letra cursiva, em espaço próprio no Cartão de Respostas, a frase abaixo apresentada:

“As melhores coisas da vida, não podem ser vistas nem tocadas, mas sim sentidas pelo coração.” (Dalai Lama)

2. Para cada uma das questões da prova objetiva são apresentadas 5 (cinco) alternativas classificadas com as letras (A), (B), (C), (D) e (E), e só uma responde da melhor forma possível ao quesito proposto. Você só deve assinalar UMA RESPOSTA. A marcação de nenhuma ou de mais de uma alternativa anula a questão, MESMO QUE UMA DAS RESPOSTAS SEJA A CORRETA.

3. A duração da prova é de 4 (quatro) horas, considerando, inclusive, a marcação do Cartão de Respostas. Faça-a com tranquilidade, mas controle o seu tempo.

4. Verifique se a prova é para o **PERFIL** para o qual concorre.

5. Somente após autorizado o início da prova, verifique se este Caderno de Questões está completo e em ordem. Folhear o Caderno de Questões antes do início da prova implica na eliminação do candidato.

6. Verifique, no **Cartão de Respostas**, se seu nome, número de inscrição, identidade e data de nascimento estão corretos. Caso contrário, comunique ao fiscal de sala.

7. O **Caderno de Questões** poderá ser utilizado para anotações, mas somente as respostas assinaladas no **Cartão de Respostas** serão objeto de correção.

8. Observe as seguintes recomendações relativas ao **Cartão de Respostas**:

- . não haverá substituição por erro do candidato;
- . não deixar de assinar no campo próprio;
- . não pode ser dobrado, amassado, rasurado, manchado ou conter qualquer registro fora dos locais destinados às respostas;
- . a maneira correta de marcação das respostas é cobrir, fortemente, com esferográfica de tinta azul ou preta, o espaço correspondente à letra a ser assinalada;
- . outras formas de marcação diferentes da que foi determinada acima implicarão a rejeição do **Cartão de Respostas**;

9. O fiscal não está autorizado a alterar quaisquer dessas instruções.

10. Você só poderá retirar-se da sala após 60 minutos do início da prova.

11. Quaisquer anotações só serão permitidas se feitas no caderno de questões.

12. Você poderá anotar suas respostas em área específica do Caderno de Questões, destacá-la e levar consigo.

13. Os três últimos candidatos deverão permanecer na sala até que o último candidato entregue o **Cartão de Respostas**.

14. Ao terminar a prova, entregue ao fiscal de sala, obrigatoriamente, o **Caderno de Questões** e o **Cartão de Respostas**.

Boa Prova!



Ao término de sua prova, anote aqui seu gabarito e destaque na linha pontilhada.

01	<input type="checkbox"/>	11	<input type="checkbox"/>	21	<input type="checkbox"/>	31	<input type="checkbox"/>	41	<input type="checkbox"/>
02	<input type="checkbox"/>	12	<input type="checkbox"/>	22	<input type="checkbox"/>	32	<input type="checkbox"/>	42	<input type="checkbox"/>
03	<input type="checkbox"/>	13	<input type="checkbox"/>	23	<input type="checkbox"/>	33	<input type="checkbox"/>	43	<input type="checkbox"/>
04	<input type="checkbox"/>	14	<input type="checkbox"/>	24	<input type="checkbox"/>	34	<input type="checkbox"/>	44	<input type="checkbox"/>
05	<input type="checkbox"/>	15	<input type="checkbox"/>	25	<input type="checkbox"/>	35	<input type="checkbox"/>	45	<input type="checkbox"/>
06	<input type="checkbox"/>	16	<input type="checkbox"/>	26	<input type="checkbox"/>	36	<input type="checkbox"/>	46	<input type="checkbox"/>
07	<input type="checkbox"/>	17	<input type="checkbox"/>	27	<input type="checkbox"/>	37	<input type="checkbox"/>	47	<input type="checkbox"/>
08	<input type="checkbox"/>	18	<input type="checkbox"/>	28	<input type="checkbox"/>	38	<input type="checkbox"/>	48	<input type="checkbox"/>
09	<input type="checkbox"/>	19	<input type="checkbox"/>	29	<input type="checkbox"/>	39	<input type="checkbox"/>	49	<input type="checkbox"/>
10	<input type="checkbox"/>	20	<input type="checkbox"/>	30	<input type="checkbox"/>	40	<input type="checkbox"/>	50	<input type="checkbox"/>