

1. O exercício físico é recomendado por médicos para o bem da saúde, desde que realizado com a orientação de profissionais competentes. Dependendo da intensidade do exercício, muitas modificações metabólicas podem ocorrer no organismo. Com base nas informações 1, 2 e 3 nas figuras em anexo, diga:

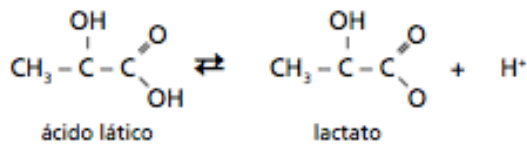
1

Em atividade muscular intensa, ocorre aumento na taxa respiratória do indivíduo, bem como alta produção de ácido láctico. Essa substância pode sofrer a seguinte reação de dissociação, e os produtos são secretados na corrente sanguínea.

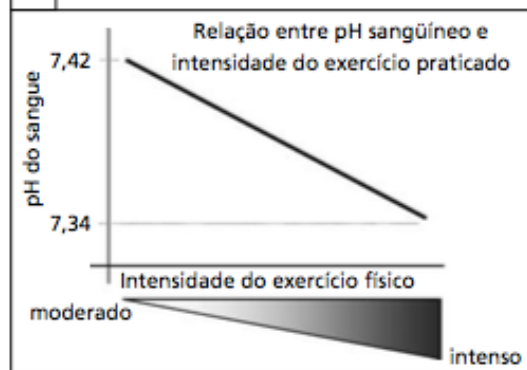


Foto: Michal Zacharzewski

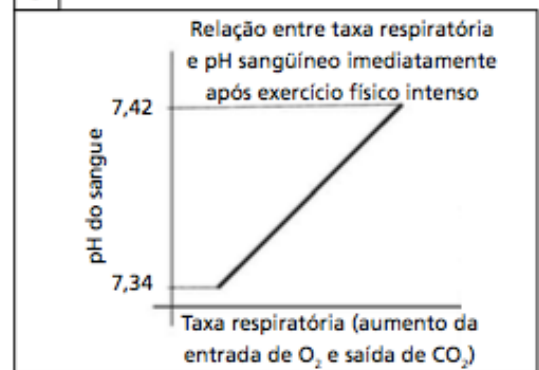
Fonte: www.sxc.hu cód. 425341



2



3

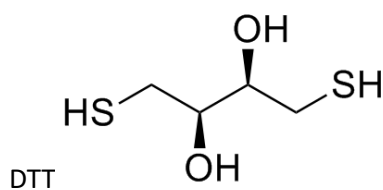
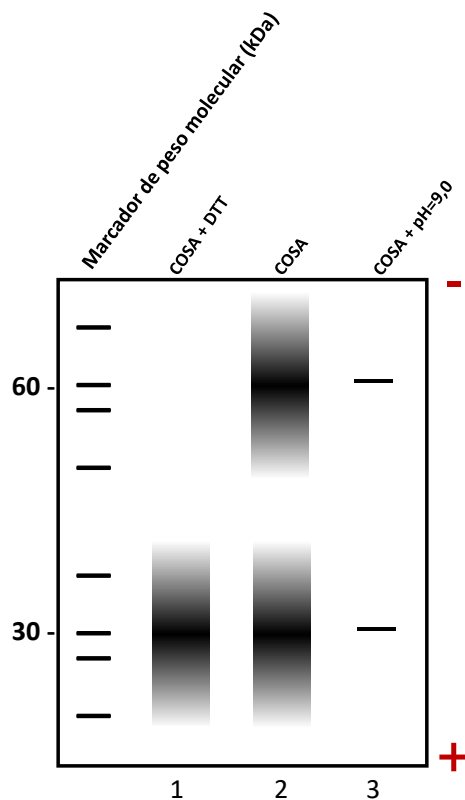


- a) Qual é a relação existente entre exercício físico, alteração do pH do sangue e taxa respiratória?
- b) Qual a relação existente entre a concentração de CO<sub>2</sub> no sangue e o pH deste líquido?

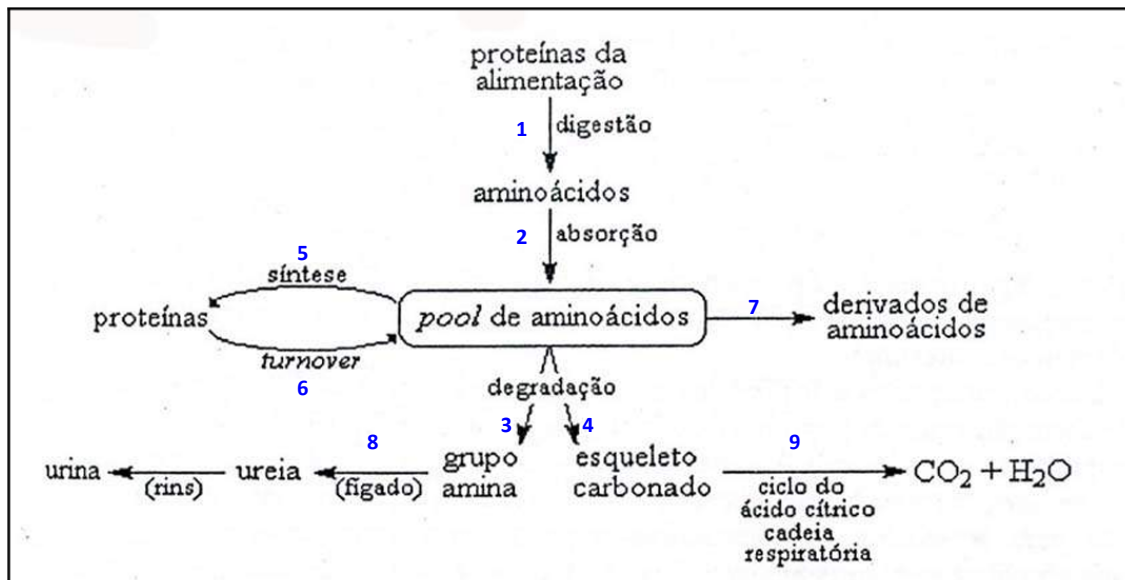
2. Uma pesquisadora investiga se sua proteína de interesse (COSA), que tem massa molecular aparente 30 kDa e  $pI = 6,5$ , pode formar dímeros fisiologicamente. Para isso, ela produz a COSA recombinante em bactérias e a purifica por cromatografia de afinidade. Em seguida, ela prepara duas amostras de COSA (de 100  $\mu$ g cada) em um tampão de amostra  $pH=6,0$ : uma contendo ditioneitol (DTT, estrutura em anexo) (amostra COSA-DTT) e outra sem (COSA), e faz uma eletroforese não desnaturante em gel de poliácridamida em tampão Tris  $pH=8,0$ . Para tentar não repetir o resultado da linha 2, já obtido anteriormente, e não compreendido, ela preparou uma terceira amostra de COSA agora em tampão de amostra  $pH=9,0$  (COSA +  $pH = 9,0$ ). Após a corrida eletroforética por 2 h a 70 V, a cuba foi desmontada e o gel corado com nitrato de prata que identifica proteínas. Os resultados podem ser observados nas linhas 1, 2 e 3 do gel (figura em anexo).

Explique:

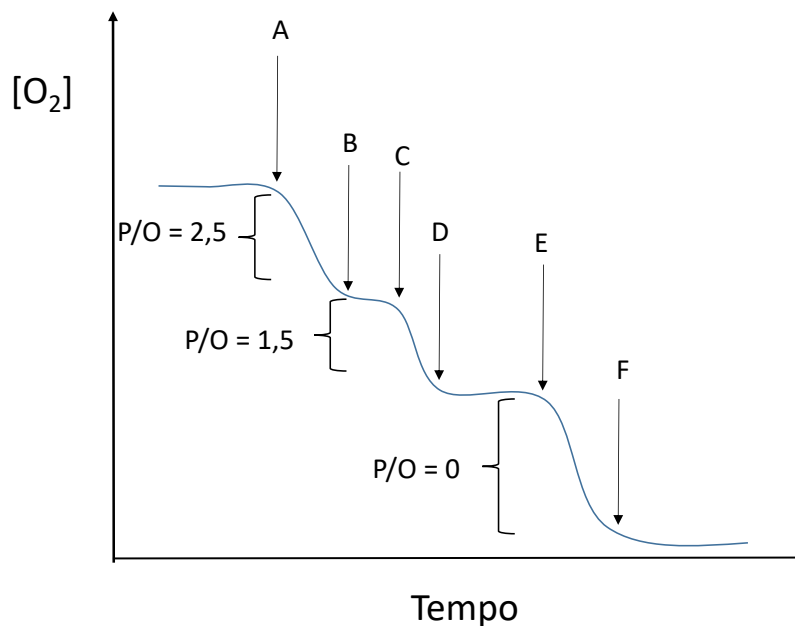
- O resultado da linha 1 (COSA + DTT) do gel contido na figura em anexo.
- O resultado da linha 2 (COSA) do gel contido na figura em anexo.
- O resultado da linha 3 (COSA +  $pH 9,0$ ) do gel contido na figura em anexo.
- Que conclusão a pesquisadora chegou desta análise?
- Se estão corretos ou trocados os pólos dos eletrodos da eletroforese.



3. Em anexo temos um esquema geral simplificado do metabolismo nitrogenado humano. As setas, identificadas pelos números, indicam vias metabólicas ou processos fisiológicos que controlam a homeostase do balanço nitrogenado em diversas situações. Em termos bioquímicos de regulação e integração do metabolismo energético basal, responda:
- O que ocorre com o pool de aminoácidos logo após (1 h) uma refeição completa rica em proteínas e carboidratos? Que hormônio pancreático é produzido e liberado? Quais setas ou números são regulados por este hormônio e de que forma (ativação/inibição)?
  - Quais moléculas ou esqueletos carbônicos são produzidos pela seta 4? Algum desses pode levar ao acúmulo de lipídeos no tecido adiposo? Explique.
  - A seta 8 ocorre exclusivamente no fígado e envolve a retirada e eliminação de átomos de Nitrogênio na forma de uréia pela urina nos rins. Quais processos bioquímicos são responsáveis por isso e quais biomoléculas são as principais fontes deste Nitrogênio? Explique.



4. A razão da síntese de ATP por átomo de oxigênio reduzido pela cadeia de transporte de elétrons mitocondrial (razão P/O) pode ser determinada experimentalmente medindo-se o consumo de  $O_2$  por mitocôndrias isoladas. Estudos demonstram que a oxidação de NADH e  $FADH_2$  pelo  $O_2$  está associada com a síntese de aproximadamente 2,5 e 1,5 ATPs, respectivamente. Considere que você possui mitocôndrias isoladas em um tampão contendo como único ingrediente fosfato inorgânico (em excesso). Considerando o gráfico de consumo de oxigênio pelo tempo fornecido e os compostos abaixo elencados em anexo, responda as questões.
- Obs: Para cada letra do gráfico, podem ser adicionados um ou vários compostos ao mesmo tempo. Os compostos fornecidos podem ser repetidos em cada resposta, e não necessariamente todos os compostos fornecidos precisam ser utilizados.



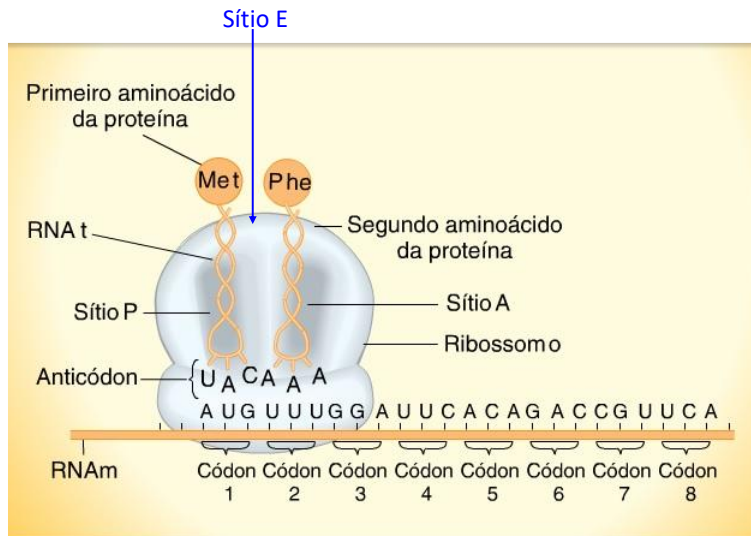
Compostos fornecidos:

ADP, Antimicina (inibidor do complexo III), Cianeto (inibidor do complexo IV), Dinitrofenol (desacoplador), isocitrato, malonato (inibidor do complexo II), oligomicina (inibidor do ATP sintase), palmitato, rotenona (inibidor do complexo I), succinato.

- Qual(is) composto(s) foi(foram) adicionado(s) em A? Explique seu raciocínio.
- Qual(is) composto(s) foi(foram) adicionado(s) em B? Explique seu raciocínio.
- Qual(is) composto(s) foi(foram) adicionado(s) em C? Explique seu raciocínio.
- Qual(is) composto(s) foi(foram) adicionado(s) em D? Explique seu raciocínio.
- Qual(is) composto(s) foi(foram) adicionado(s) em E? Explique seu raciocínio.

5. Ao analisar o transcriptoma e o genoma de uma célula tumoral, um pesquisador percebeu uma série de alterações em relação ao transcriptoma de uma célula normal do mesmo tecido. Uma das alterações foi o aumento nas isoformas de alguns genes sem que houvesse mudanças nas suas sequências.
- a) Qual o mecanismo molecular que explicaria o aparecimento de tantas isoformas novas nas células tumorais?
  - b) Uma das isoformas leva à síntese de um receptor acoplado à proteína G com uma menor afinidade ao glucagon. Qual o papel do glucagon nas células e como esta alteração beneficiaria o tumor?
  - c) Após identificar um potencial gene de interesse, você decidiu tentar clonar este gene para expressá-lo em bactérias. Explique, os passos necessários para se obter cópias deste gene para ser colocado em um vetor de expressão. Lembre-se que a sequência já é conhecida pelas análises de transcriptoma e genoma.

6. De acordo com a figura em anexo, que representa a síntese de uma proteína (fictícia, pois tem apenas 8 aminoácidos) nos ribossomos, responda, justificando:



- a) Qual a sequência completa de aminoácidos desta proteína? E a de seu DNA complementar (cDNA)?  
**Met-Phe-Gly-Phe-Thr-Asp-Arg-Ser 0,1**  
**TGA ACG GTC TGT GAA TCC AAA CAT 0,1**
- b) Proponha uma mutação sinônima para os códon 5 e 8, usando o código genético em anexo. **5 (ACA)-ACU, ACC, ACG 8 (UCA) – UCU, UCC, UCG 0,2**
- c) Por que esta proteína se inicia com o aminoácido metionina? A figura não mostra um códon 9 de terminação; proponha um e explique como a síntese termina. **N-Formylmethionine, UAA, UAG, UGA, release factors 0,3**
- d) A puromicina é um antibiótico que possui estrutura química (abaixo) semelhante ao 3' do aminoacil-tRNA. Diga em quais dos 3 sítios acima a puromicina atua, quando presente nas células, como e por que ela leva à interrupção da síntese proteica?  
**Sítio A 0,3**

|                        |   | Segunda base do códon |           |           |           |                        |   |
|------------------------|---|-----------------------|-----------|-----------|-----------|------------------------|---|
|                        |   | U                     | C         | A         | G         |                        |   |
| Primeira base do códon | U | UUU } Phe             | UCU } Ser | UAU } Tyr | UGU } Cys | Terceira base do códon | U |
|                        |   | UUC } Phe             | UCC } Ser | UAC } Tyr | UGC } Cys |                        | C |
|                        |   | UUA } Leu             | UCA } Ser | UAA stop  | UGA stop  |                        | A |
|                        |   | UUG } Leu             | UCG } Ser | UAG stop  | UGG Trp   |                        | G |
|                        | C | CUU } Leu             | CCU } Pro | CAU } His | CGU } Arg |                        | U |
|                        |   | CUC } Leu             | CCC } Pro | CAC } His | CGC } Arg |                        | C |
|                        |   | CUA } Leu             | CCA } Pro | CAA } Gln | CGA } Arg |                        | A |
|                        |   | CUG } Leu             | CCG } Pro | CAG } Gln | CGG } Arg |                        | G |
|                        | A | AUU } Ile             | ACU } Thr | AAU } Asn | AGU } Ser |                        | U |
|                        |   | AUC } Ile             | ACC } Thr | AAC } Asn | AGC } Ser |                        | C |
|                        |   | AUA } Ile             | ACA } Thr | AAA } Lys | AGA } Arg |                        | A |
|                        |   | AUG Met               | ACG } Thr | AAG } Lys | AGG } Arg |                        | G |
|                        | G | GUU } Val             | GCU } Ala | GAU } Asp | GGU } Gly |                        | U |
|                        |   | GUC } Val             | GCC } Ala | GAC } Asp | GGC } Gly |                        | C |
|                        |   | GUA } Val             | GCA } Ala | GAA } Glu | GGA } Gly |                        | A |
|                        |   | GUG } Val             | GCG } Ala | GAG } Glu | GGG } Gly |                        | G |

Arg – Arginina  
 Asn – Asparagina  
 Asp – Ácido aspártico  
 Cys – Cisteína  
 Gln – Glutamina  
 Glu – Ácido glutâmico  
 Gly – Glicina  
 His – Histidina  
 Ile – Isoleucina  
 Leu – Leucina  
 Lys – Lisina  
 Met – Metionina (códon de início)  
 Phe – Fenilalanina  
 Pro – Prolina  
 Ser – Serina  
 Stop – Códon de parada  
 Thr – Treonina  
 Tyr – Tirosina  
 Val – Valina

