

Universidade de São Paulo - Instituto de Química
Exame de Ingresso no Programa de Pós-Graduação em Bioquímica
Fevereiro de 2013

Nome: _____

Responda nas próprias folhas das questões, utilizando o verso se necessário. Não responda mais de uma questão por folha, pois elas serão separadas para a correção. Esta folha pode ser utilizada como rascunho e entregue juntamente com as respostas. Coloque seu nome em todas as páginas. Justifique resumida e objetivamente as suas respostas.

Nome: _____

1. No laboratório você precisa realizar o cultivo de vegetais hidropônicos. Para esta finalidade você precisa preparar um meio de cultivo que, além dos diversos nutrientes, precisa de um rigoroso controle de pH.

Um dos vegetais a serem cultivados cresce apenas em valores de pH entre 5 e 6. Você, como único bioquímico do grupo, precisa fazer 1 L de uma solução tampão 0,1 M a ser usada no cultivo desse vegetal. Infelizmente o pHmetro do laboratório está com defeitos. No armário, as soluções disponíveis são:

- 2 M Ácido acético, $pK_a = 4,5$
- 2 M Ácido fosfórico, $pK_{a1} = 2,13$ $pK_{a2} = 7,21$ $pK_{a3} = 12,32$
- 2 M HCl
- 2 M NaOH
- H₂O destilada

Dado: Equação de Henderson-Hasselbalch

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

- a) Descreva como você procederia para a preparação do tampão indicando as soluções utilizadas e as respectivas quantidades.
- b) De que depende a eficiência de um tampão? Justifique.
- c) Esquematize um gráfico de pH em função de equivalentes de OH⁻, mostrando a(s) curva(s) de tamponamento para o tampão que você confeccionou.
- d) Sua solução poderia ser usada para tamponar o cultivo de outro vegetal cuja faixa de pH ótimo esteja entre 6 e 7? Justifique.

Nome: _____

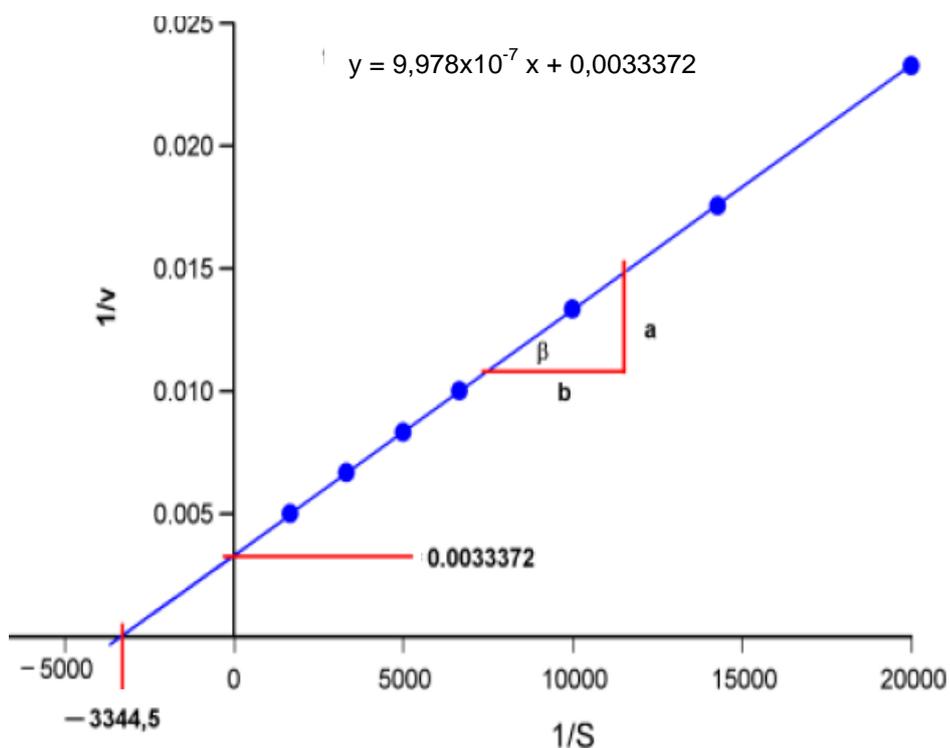
2. Hemoglobina e a mioglobina são metalo-proteínas globulares com grupos prostéticos (heme e ferro), capazes de interagir com o oxigênio. A mioglobina é uma proteína de cadeia única (monomérica) enquanto a hemoglobina é multimérica, composta de duas cadeias alfas e duas cadeias betas. No organismo, a mioglobina é encontrada apenas no músculo, enquanto a hemoglobina está presente nos eritrócitos.

a) Defina: 1) proteínas globulares e fibrilares; 2) grupo prostético; 3) metaloproteína.

b) Qual a importância da presença de múltiplas cadeias polipeptídicas na hemoglobina? Por que a diferença estrutural (número de cadeias) entre a mioglobina e a hemoglobina afeta suas funções no organismo?

Nome: _____

3. Durante danos consideráveis no fígado, uma enzima (E_{1A}) é liberada na corrente sanguínea. Após exercícios intensos, uma isoenzima do músculo (E_{1B}) é liberada na corrente sanguínea. E_{1A} e E_{1B} podem ser diferenciadas porque possuem valores de K_M diferentes. A enzima presente no músculo tem maior afinidade pelo substrato e apresenta um valor de K_M igual a 2×10^{-5} M. A análise de cinética enzimática obtida a partir de uma amostra de soro de um paciente gerou os resultados apresentados no gráfico abaixo. Os dados estão apresentados em concentração molar (M). A partir destes dados identifique se o paciente está sofrendo de uma doença hepática ou simplesmente tem se exercitado violentamente. Justifique sua resposta.



Nome: _____

4. Uma hipótese central na pesquisa de membranas é que os lipídeos da membrana devem ser fluídos (em oposição a "rígidos") a fim de que a membrana possa desempenhar suas funções. O apoio para esta hipótese é fornecido pela observação de que a composição de ácido graxo das membranas pode ser alterada pelas condições nas quais uma bactéria cresce. Por exemplo, se a bactéria está crescendo em temperatura menor que a normal, as quantidades observadas de ácidos graxos insaturados (relativas ao conteúdo de ácido graxo saturado) estão acima do normal. Contrariamente, se a bactéria está crescendo em temperatura acima da normal, as quantidades observadas de ácidos graxos insaturados nos lipídeos da membrana (relativas aos ácidos graxos saturados) estão abaixo do normal.

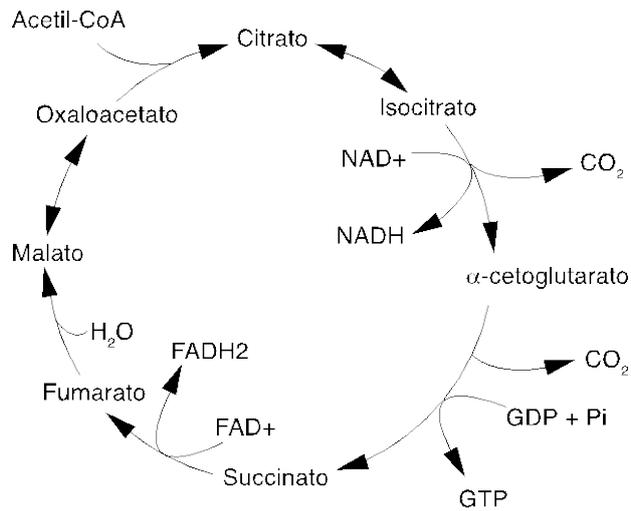
a) Explique por que o conteúdo lipídico na membrana bacteriana deve ser fluido para que a membrana opere apropriadamente.

b) Explique como a alteração observada nos níveis dos ácidos graxos insaturados relativa aos níveis dos ácidos graxos saturados, em diferentes temperaturas de crescimento, apoia a hipótese da fluidez da membrana.

c) Desenhe a estrutura de um ácido graxo saturado com 18 carbonos (C18:0, ácido esteárico) e outro com 18 carbonos e uma insaturação (C18:1 Δ^9 , ácido linoleico). Por que a presença da insaturação faz com que a membrana seja mais fluida?

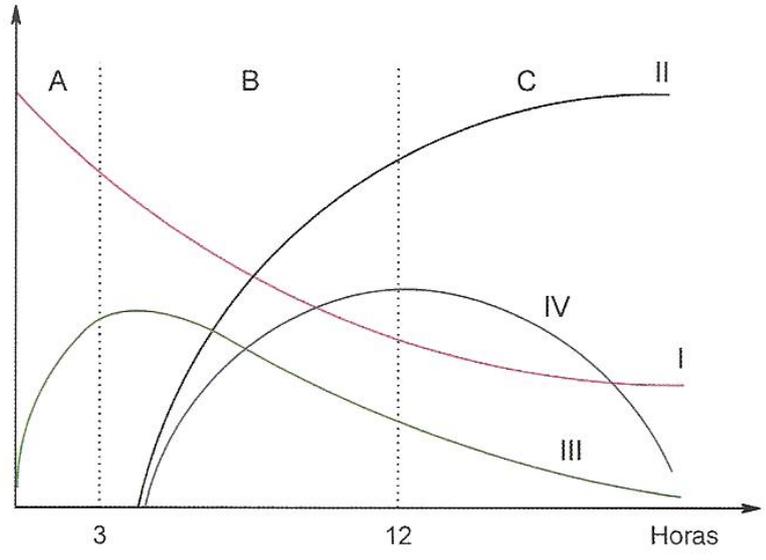
Nome: _____

5. Um suspensão de mitocôndrias foi dialisada e incubada em tampão isosmótico com 100 mmols de acetil-CoA, 2 mmols de oxaloacetato, 5 mmols de NAD^+ , 30 mmols de GDP, 20 mmols de Pi e excesso de dinitrofenol. Supondo que a mitocôndria é permeável a todos esses compostos, quais compostos estarão presentes ao final da reação e em quais quantidades? E o que aconteceria se o dinitrofenol fosse omitido neste mesmo experimento? Justifique sua resposta. As reações componentes do Ciclo dos Ácidos Tricarboxílicos estão representadas abaixo.



Nome: _____

6. Observe as curvas indicadas no gráfico abaixo. Os parâmetros referem-se ao período subsequente a uma refeição (tempo zero). Os valores das ordenadas são diferentes para cada curva. Analise as afirmativas abaixo, indique se são verdadeiras ou falsas e JUSTIFIQUE suas respostas. Serão consideradas apenas as afirmativas devidamente justificadas.



- a) A curva I representa a concentração de insulina plasmática
- b) A curva I representa a intensidade da gliconeogênese
- c) A curva II representa a atividade da glicólise no tecido adiposo
- d) A curva III representa a utilização de glicose exógena
- e) A curva III representa a intensidade da síntese de proteínas
- f) A curva IV representa a degradação do glicogênio hepático
- g) A síntese de adenosina monofosfato cíclico (AMP cíclico) é maior em C do que em B
- h) A razão glicólise/gliconeogênese é maior em B que em A
- i) A atividade máxima do Ciclo de Krebs ocorre em C

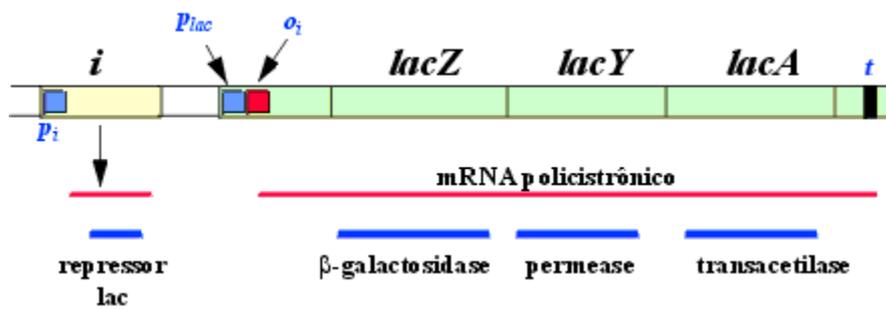
Nome: _____

7. Abaixo você encontra uma representação esquemática do operon Lac de *E. coli*. Com esse operon como exemplo:

a) defina promotor, operador e repressor

b) explique como a expressão dos genes *lacZ*, *lacY* e *lacA* é controlada em resposta a disponibilidade de carboidratos no meio.

c) a constante de dissociação para o complexo repressor:operador é de aproximadamente 0,1 pM. Explique por que essa constante tão baixa é importante no funcionamento adequado do operon.



Nome: _____

8. Estudos sobre o mecanismo de replicação do DNA avançaram muito com o uso de mutantes bacterianos deletados de uma ou mais enzimas que se acreditava estarem envolvidas no processo de replicação. No laboratório A gerou-se um mutante de DNA ligase sensível a temperatura, que é funcional a 25°C mas inativo a 37°C. Bactérias mutantes foram crescidas a 25°C e 37°C em presença de ^3H -timidina por 1 hr (tempo de duplicação de *E. coli* é de cerca de 20 min), e após a incubação o DNA foi isolado das duas condições, separado em um gel de agarose e exposto a um filme radiográfico. Que padrão de radioatividade você esperaria encontrar em cada uma das condições? Justifique sua resposta.