

Universidade de São Paulo - Instituto de Química
Exame de Ingresso no Programa de Pós-Graduação em Bioquímica
Primeiro semestre de 2011

Nome: _____

Coloque seu nome em **TODAS** as páginas.

A correta interpretação das questões faz parte da avaliação, portanto, perguntas não serão respondidas durante a prova pelas professoras.

Não responda mais de uma questão por folha, pois as páginas serão separadas para a correção.

Responda utilizando as próprias folhas das questões, utilizando o verso se necessário.

Não serão fornecidas folhas adicionais.

Esta folha e a última podem ser utilizadas como rascunho e entregues juntamente com as questões.

Use caneta.

Responda às questões considerando mecanismos moleculares sempre que possível. Seja claro e específico.

Esquemas, desenhos e tabelas poderão ser usados nas respostas, mas lembre-se de indicar o que está sendo representado (esquemas e desenhos podem ser feitos à lápis).

O exame tem **quatro horas** de duração.

O resultado deve sair até 11/02/2011 na Secretaria de Pós-Graduação do IQ.

Nome _____

1. O glucagon é um hormônio peptídico de 29 aminoácidos, cuja sequência é mostrada a seguir:

NH₃⁺-His- Ser- Gln- Gly - Thr -Phe -Thr - Ser - Asp - Tyr - Ser - Lys -Tyr - Leu - Asp -
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

Ser - Arg - Arg - Ala -Gln - Asp - Phe - Val - Gln - Trp - Leu - Met - Asn - Thr-COO⁻
16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29

Estudos mostram que nos diabéticos do tipo I, a falta de insulina é acompanhada de hipersecreção de glucagon. Os diabéticos são tratados atualmente com insulina exógena, mas alguns pesquisadores sugeriram que o tratamento deveria incluir uma estratégia para redução do efeito do glucagon, através da administração de antagonistas do glucagon. Para esta finalidade foram sintetizados vários análogos do glucagon (Tabela abaixo) e estes foram testados quanto a suas capacidades de se ligarem aos receptores e de iniciarem a transmissão do sinal.

Análogo do Glucagon	Afinidade de Ligação (%)	% Atividade
Glucagon	100	100
<i>des</i> Asp 9	45	8
Asp9 →Lys	54	0
Lys12 → Ala	17	60
Lys12 → Glu	1	80
Arg17 → Ala	38	29
Arg17 → Glu	21	95
Arg18 → Ala	13	94
Arg18 → Glu	6	100
<i>des</i> His1	63	44
<i>des</i> His1- <i>des</i> Asp9	7	0
<i>des</i> His1-Lis9	70	0

O prefixo *des* indica que o aminoácido específico foi eliminado. As setas indicam substituição do aminoácido. A afinidade de ligação refere-se à capacidade do análogo ligar-se a receptores de membrana hepática. A atividade representa a capacidade de estimular a produção de AMP cíclico (cAMP).

- 1a. Por que a hipersecreção do glucagon agravaria o quadro de diabetes? Esquematize o mecanismo de ação do glucagon no hepatócito.
- 1b. Calcule o ponto isoelétrico (pI) aproximado do glucagon.
- 1c. Que conclusão você tiraria em relação às modificações dos aminoácidos nas posições 12, 17 e 18?
- 1d. Dos análogos testados qual é o melhor antagonista do glucagon? Justifique.

Nome _____

2. Você quer purificar as proteínas de uma mistura utilizando uma combinação de cromatografia de filtração em gel (também conhecida como cromatografia de exclusão por tamanho) e uma cromatografia de troca iônica. Descreva o protocolo que você utilizaria para separar essas proteínas, descrevendo o pH do tampão a ser utilizado e a ordem de eluição das proteínas.

As proteínas na mistura têm as seguintes características:

Proteína A: pI= 4,2; massa molar 40 kDa

Proteína B: pI= 4,4; massa molar 70 kDa

Proteína C: pI= 8,0; massa molar 42 kDa.

Nome _____

3. Uma enzima michaeliana, cuja conformação espacial é estável entre pH 3 e pH 9, somente é ativa quando um determinado resíduo de histidina de sua estrutura encontra-se protonado. Faça, no mesmo gráfico, as curvas aproximadas da velocidade inicial da reação (v_0) que esta enzima catalisa em função da concentração de seu substrato nos três casos seguintes:

3a. reação em pH 3

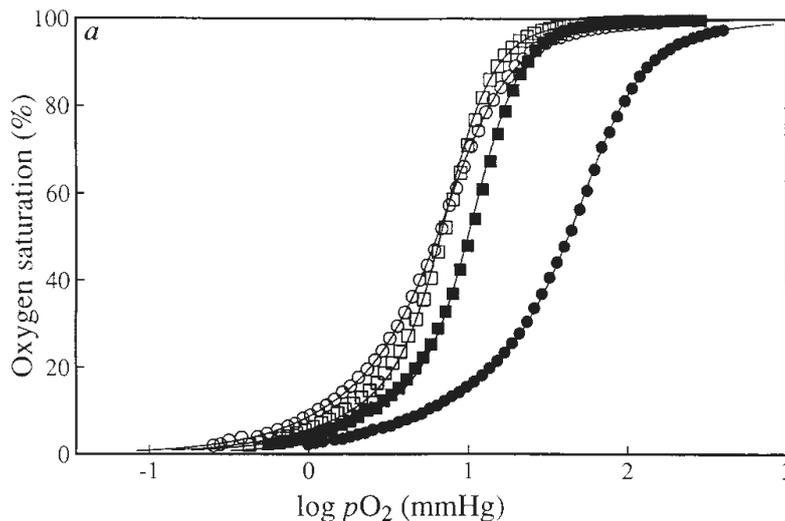
3b. reação em pH 6

3c. reação em pH 3, em presença de concentração de inibidor não competitivo (I) tal que 25% das enzimas encontram-se na forma de complexo enzima-inibidor (EI).

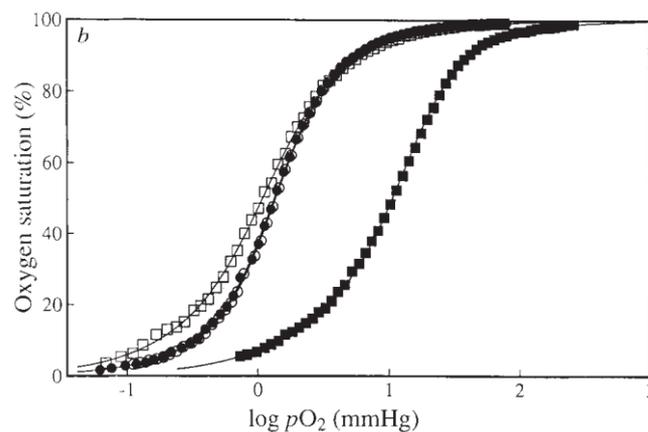
Use valores arbitrários em ordenadas e abcissas e especifique as unidades utilizadas para medir a velocidade e a concentração.

4. Os crocodilos podem permanecer mais de uma hora submersos, apesar de terem uma concentração de mioglobina cerca de 100 vezes menor do que a de mamíferos que mergulham, como as baleias. A hemoglobina de crocodilos apresenta várias diferenças na estrutura primária quando comparada à humana. O gráfico abaixo foi obtido com experimentos *in vitro* usando hemoglobina de crocodilos (círculos) e do homem (quadrados) em duas situações: na ausência (símbolos vazios) e presença (símbolos cheios) de CO₂.

4a. Proponha uma hipótese para explicar a resistência dos crocodilos à falta de oxigenação.



Experimentos semelhantes aos do item 4a foram feitos usando uma hemoglobina híbrida [cadeias α de crocodilos + cadeias β humanas] (círculos) e uma hemoglobina híbrida modificada [cadeias α de crocodilos + cadeias β humanas portando várias substituições de aminoácidos] (quadrados) em duas situações: na ausência (símbolos vazios) e presença (símbolos cheios) de CO₂.



4b. O que pode ser deduzido, comparativamente, sobre as estruturas das cadeias α e β das hemoglobinas humana e de crocodilo?

4c. Faça uma hipótese para explicar o comportamento da hemoglobina híbrida modificada.

Nome _____

5. Muitos animais dependem das reservas de gordura para produção de energia durante períodos de hibernação, migração e outras situações que envolvem mudanças radicais no metabolismo. Uma das mudanças mais importantes no metabolismo de gorduras é a que ocorre no urso-cinza. Esses animais permanecem num contínuo estado de dormência por períodos de até sete meses.

Diferentes de outros animais, eles mantêm a temperatura corporal entre 32 e 35 °C, muito próxima da temperatura normal (não hibernativa). Mesmo gastando 6.000 kcal por dia, os ursos não comem, bebem, urinam ou defecam por meses.

Estudos experimentais demonstram que, durante a hibernação, os ursos sobrevivem exclusivamente da gordura estocada. Por exemplo, a ureia produzida pela degradação de proteínas é reabsorvida nos rins para que o nitrogênio possa ser reutilizado na síntese de aminoácidos. Responda, justificando seu raciocínio, como o urso durante a hibernação, utilizando as reservas de gordura pode:

5a. obter energia para manter a temperatura corpórea, sintetizar proteínas e outros metabólitos.

5b. manter a glicemia.

5c. Considerando-se que o urso perde água durante a hibernação (por exemplo, ao expirar o ar quente e úmido que sai de seus pulmões), explique como é possível, com o metabolismo da gordura, repor parte da água perdida.

5d. Por que, nessas situações, grandes animais utilizam gordura e não carboidratos (como o glicogênio) para armazenar energia?

Nome _____

6. A estabilidade da massa corpórea e do aspecto geral de um indivíduo esconde as grandes flutuações diárias do metabolismo. Por exemplo, a ingestão de alimentos submete o organismo a situações opostas, de abundância e escassez de nutrientes. O ajuste do metabolismo às diferentes condições metabólicas se dá por processos que são conhecidos com “regulação metabólica”. Diversas estratégias foram desenvolvidas pelos organismos para modular e controlar as diferentes vias metabólicas. Dê pelo menos três exemplos de mecanismos utilizados pelos organismos para regularem suas vias metabólicas. Explique, detalhadamente, como cada um desses mecanismos atua aumentando ou diminuindo a velocidade de vias específicas.

Nome _____

7. Em 2009, o prêmio Nobel de medicina foi entregue a Elizabeth Blackburn, Carol Grider e Jack Szostack pela descoberta da enzima telomerase. Essa enzima é uma transcriptase reversa que estende as pontas de cromossomos lineares (telômeros) utilizando um RNA como molde. Considerando o papel dos fragmentos de Okazaki na replicação da fita descontínua, discuta a importância da telomerase para a replicação das pontas dos cromossomos.

Nome _____

8. Em 2010 um grupo de pesquisadores liderados por Craig Venter publicou na revista Science a criação do primeiro organismo sintético (uma bactéria do gênero micoplasma), em que a única fonte de informação genética era um DNA sintético, que foi inserido dentro de uma célula recipiente depletada de DNA. Discuta como os pesquisadores puderam chegar a esse feito. Que tipos de genes seriam necessárias para a montagem de uma célula bacteriana viável?

Nome

Aminoácido	Formula Estrutural	Massa (Da)	Ocorrência em Proteínas (%)	pK ₁ α-COOH	pK ₂ α-NH ₃	pK _R Cadeia Lateral
Glycine Gly G		57.0	6.8	2.35	9.78	
Alanine Ala A		71.1	7.6	2.35	9.87	
Valine Val V		99.1	6.6	2.29	9.74	
Leucine Leu L		113.2	9.5	2.33	9.74	
Isoleucine Ile I		113.2	5.8	2.32	9.76	
Methionine Met M		131.2	2.4	2.13	9.28	
Proline Pro P		97.1	5.0	1.95	10.64	
Phenylalanine Phe F		147.2	4.1	2.20	9.31	
Tryptophan Trp W		186.2	1.2	2.46	9.41	
Serine Ser S		87.1	7.1	2.19	9.21	
Threonine Thr T		101.1	5.6	2.09	9.10	
Asparagine ^f Asn N		114.1	4.3	2.14	8.72	
Glutamine ^f Gln Q		128.1	3.9	2.17	9.13	
Tyrosine Tyr Y		163.2	3.2	2.20	9.21	10.46 (phenol)
Cysteine Cys C		103.1	1.6	1.92	10.70	8.37 (sulfhydryl)
Lysine Lys K		128.2	6.0	2.16	9.06	10.54 (-NH ₃)
Arginine Arg R		156.2	5.2	1.82	8.99	12.48 (guanidino)
Histidine ^e His H		137.1	2.2	1.80	9.33	6.04 (imidazole)
Aspartic acid ^f Asp D		115.1	5.2	1.99	9.90	3.90 (-COOH)
Glutamic acid ^f Glu E		129.1	6.5	2.10	9.47	4.07 (-COOH)