

**EXAME DE CAPACIDADE PARA INGRESSO NA PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOQUÍMICA (IQ-USP)**

FEVEREIRO-2023

1. A semaglutida é um medicamento utilizado para o tratamento de diabetes que foi aprovado em 2023 pela ANVISA para o tratamento da obesidade. Ela é uma molécula análoga a um hormônio peptídico produzido pelo organismo humano, chamado GLP1. O GLP1 é degradado rapidamente (em minutos) pela enzima dipeptidil-peptidase-4 (DPP4). Modificações em 2 resíduos de aminoácidos levaram a uma degradação muito mais lenta da semaglutida pela enzima DPP4 (medida em dias), de forma que os pacientes que utilizam semaglutida precisam apenas de uma dose semanal.

- a) Você espera que a constante de Michaelis-Menten (K_m) da DPP4 para a semaglutida seja maior, igual ou menor ao K_m para o GLP1? Por quê?
- b) Como você faria para confirmar experimentalmente sua conclusão obtida na letra a? Considere que você tenha a DPP4 purificada e um método preciso da medição dos produtos da hidrólise do GLP1 e da semaglutida.

2. Utilizando-se um gel bidimensional, determinou-se que uma amostra com quatro proteínas possui as características resumidas na tabela abaixo:

	pI	M (kDa)
Proteína A	4.0	300
Proteína B	4.0	120
Proteína C	7.0	120
Proteína D	9.0	200

- a) O que é o pI de uma proteína? Como este parâmetro pode ajudar no planejamento da separação de proteínas?
- b) Em uma cromatografia de exclusão de tamanho (também conhecida como cromatografia de filtração por gel), qual das proteínas sairia primeiro? Justifique.
- c) Em uma cromatografia de troca iônica utilizando uma resina de carga negativa e tampão com pH = 6, qual das proteínas sairia primeiro? Justifique.

3. As afirmações abaixo (de **a** até **j**) referem-se a uma suspensão de células hepáticas, alimentadas com glicose e ácidos graxos. Indicar qual(uais) das afirmações seria(m) verdadeira(s) para as condições 1 e 2. **Atenção** – Não é necessário justificar.

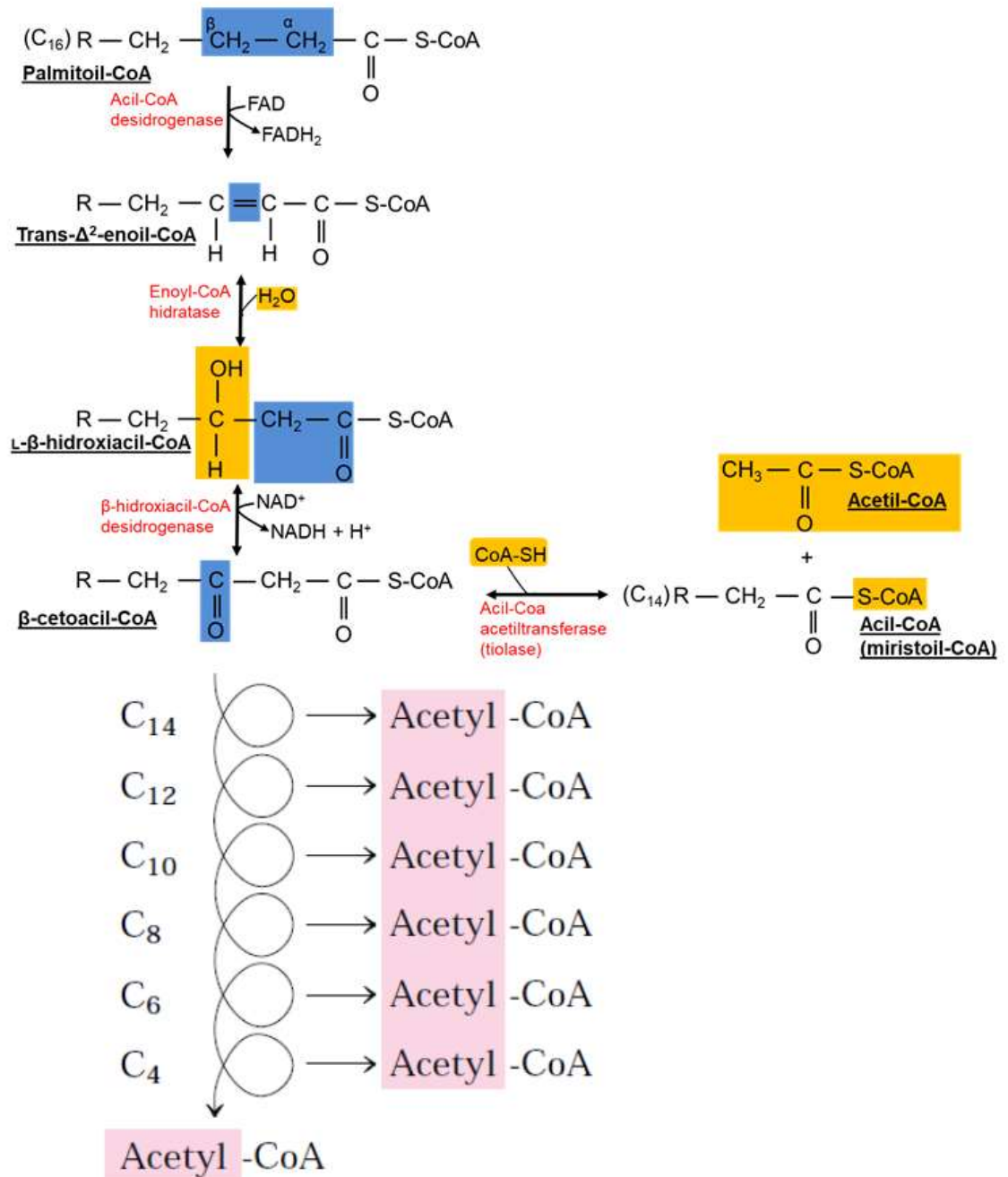
1 - após a adição de 2,4-dinitrofenol (DNP) (desacoplador).

2 - após a adição de oligomicina (inibidora da ATP sintase).

- a) Aumento do consumo de oxigênio.
- b) Componentes da cadeia de transporte de elétrons no estado reduzido.
- c) Formação de lactato a partir de glicose.
- d) Estímulo da beta-oxidação.
- e) Formação de GTP, a partir de GDP e Pi.
- f) Aumento da concentração mitocondrial de ADP.
- g) Aumento da concentração de NADH.
- h) Estímulo da conversão de isocitrato a alfa-cetoglutarato.
- i) Inibição da atividade da fosfofrutoquinase 1.
- j) Estímulo da oxidação de glicose a CO₂ e H₂O.

4. O ácido palmítico, que possui 16 carbonos, ($\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$), foi degradado a Acetil-CoA em experimentos com células de fígado. Responder às questões abaixo usando os Esquemas 1 e 2:
- a) Em qual compartimento(s) celular(es) ocorre a degradação do ácido graxo?
 - b) Quantos ATP são utilizados na degradação do ácido palmítico?
 - c) Quais compostos são usados para carregar o grupo Acila para dentro da mitocôndria?
 - d) Quantas Acetil-CoAs são formadas por molécula de ácido palmítico?
 - e) Quantas moléculas de NADH e FADH_2 são formadas ao final da transformação de todo o ácido palmítico em acetil-CoA?
 - f) Supondo que a Acetil-CoA é oxidada no ciclo de Krebs e as coenzimas reduzidas são reoxidadas na cadeia respiratória, quantos ATP são formados na oxidação completa do ácido palmítico a CO_2 e H_2O ? Considere que cada NADH gera 3 ATP e cada FADH_2 gera 2 ATP.
 - g) Qual hormônio tem sua concentração aumentada quando o fígado está degradando ácidos graxos? Justifique.

Esquema 1- Degradação de ácidos Graxos-



Esquema 2- Ciclo de Krebs

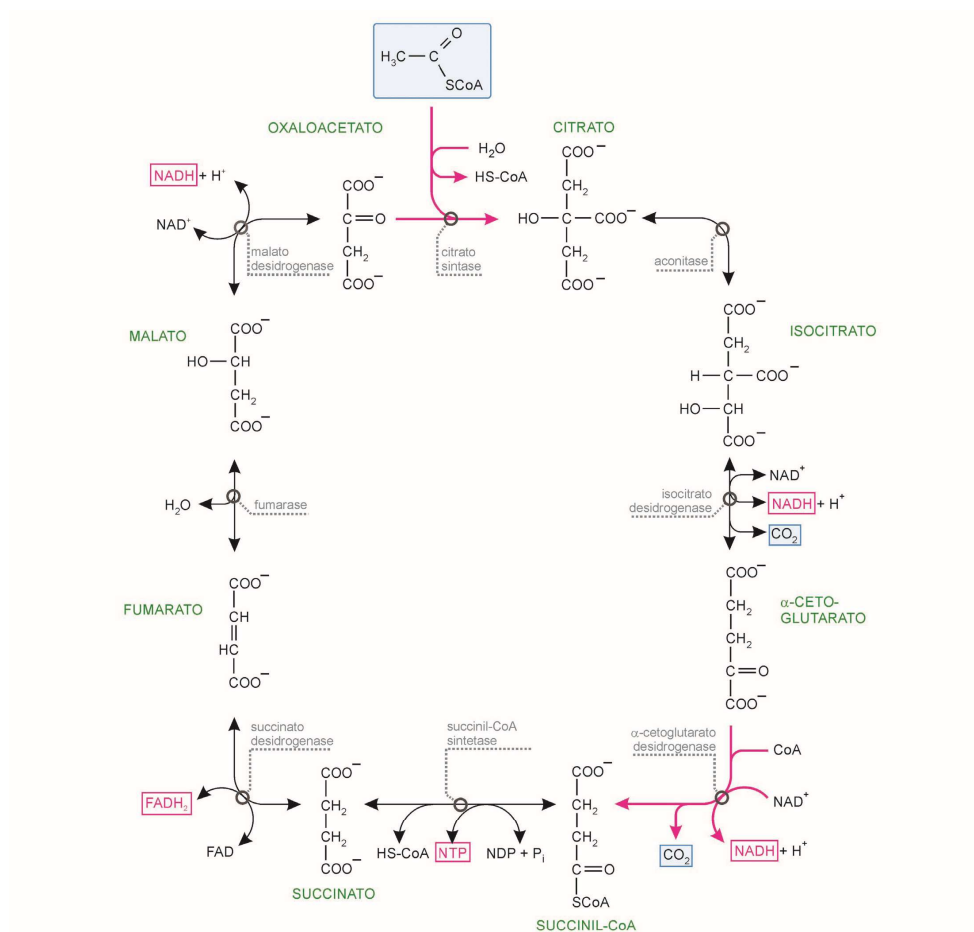
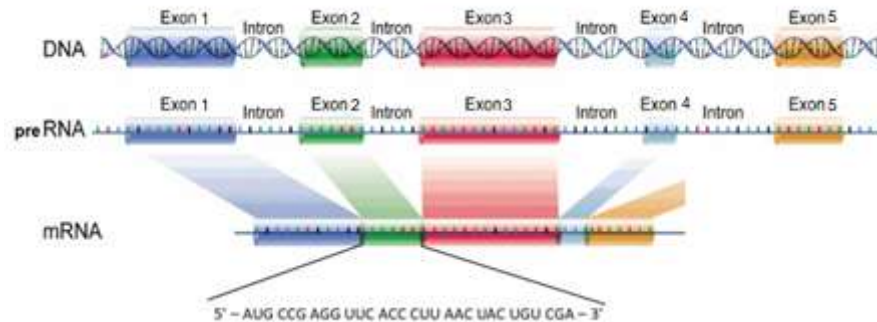


Fig. 10.1 Ciclo de Krebs. Na reação da succinil-CoA sintetase, o nucleosídeo trifosfato (NTP) pode ser ATP ou GTP e o nucleosídeo difosfato (NDP), ADP ou GDP.

5. Há milhares de anos a humanidade tem sido atacada por vírus causadores das mais diversas doenças. Entre 2019 e 2023 o mundo foi assolado, dentre muitas doenças, pela Covid-19 e a varíola dos macacos, causadas respectivamente pelo vírus SARS-Cov2 e Monkeypox. Estes vírus carregam em seu interior, respectivamente RNA e DNA, necessários para sua replicação no interior de uma célula hospedeira. Sabendo-se das diferenças químicas entre estas moléculas:
- a) explique porque a estabilidade do DNA e a instabilidade do RNA são biologicamente vantajosas para os diferentes organismos.
 - b) Ainda em relação à estrutura de ácidos nucleicos, e considerando os níveis de organização estrutural definidos para as proteínas (1º, 2º, 3º e 4º), qual o nível de organização seria apresentado pela B.1) dupla hélice do DNA, B.2) RNAt e B.3) RNAm? Justifique.

6. Um bioquímico precisa produzir parte de uma proteína em laboratório para ser utilizada na produção de anticorpos contra uma determinada doença. Ele precisará do polipetídeo codificado pelo Exon 2 (Verde) apenas. E, para isso, usará diversas técnicas básicas de biologia molecular e tecnologia de DNA recombinante, dentre elas a reação em cadeia de polimerase (PCR). Abaixo estão mostrados 3 moldes ou “templates” que ele tem em mãos: a) o DNA genômico do gene de interesse, b) seu pré-RNA e c) RNAm maduro.



- Diga qual destes reagentes moldes é o mais adequado para ser utilizado na reação de PCR e explique.
- Forneça a sequência de nucleotídeos do Exon 2 (verde) presente na fita dupla do DNA genômico.
- Sugira um par de oligonucleotídeos iniciadores (primers) de 6 pares de bases para ser usado em sua reação de PCR.
- Diga que enzima você usaria em sua reação de PCR e como ela atua bioquimicamente possibilitando esta técnica.