

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

FEVEREIRO-2020

Todas as questões têm o mesmo valor (10), o valor de cada subitem se encontra entre parênteses. Coloque seu nome em todas as folhas. Cada pergunta deve ser respondida utilizando o espaço abaixo e o verso da folha. Escreva suas respostas à tinta.

Deixe os telefones celulares junto com o responsável pela aplicação da prova. O uso de telefones celulares é proibido e sua posse ocasionará a eliminação do candidato.

NOME _____

1. Estão apresentadas na Tabela 1 as velocidades de uma reação catalisada por uma enzima em função da concentração inicial de substrato. Foram estudados dois substratos, A e B. Essa enzima tem uma cinética que segue o modelo de Michaelis-Menten.
 - a) Calcular os valores de K_M e V_{max} da enzima para os substratos A e B. **(3 pontos)**
 - b) Analisar a afinidade dos substratos A e B pela enzima. Qual o substrato pelo qual a enzima tem maior afinidade? Explique como você chegou a essa conclusão, que parâmetro usou. **(3 pontos)**
 - c) Analisar a eficiência catalítica da enzima para com os dois substratos (k_3/K_M). Qual substrato é degradado com maior eficiência? Explique. **(4 pontos)**

Tabela 1. Velocidade de reação catalisada por uma enzima em função da concentração do substrato A e B. A concentração da enzima (E_t) é igual para todos os experimentos.

Concentração Substrato A (mM)	Velocidade ($\mu\text{mols/min}$)	Concentração Substrato B (mM)	Velocidade ($\mu\text{mols/min}$)
10	18,2	0,01	2,3
16	23,5	0,02	3,3
30	30,6	0,04	4,4
50	35,6	0,07	5,1
120	42,0	0,12	5,7
500	46,5	0,48	6,5
1000	47,0	1,00	6,6



NOME _____

2. O tripeptídeo *glutathiona* (GSH), encontrado em células de mamíferos, tem a estrutura representada abaixo.

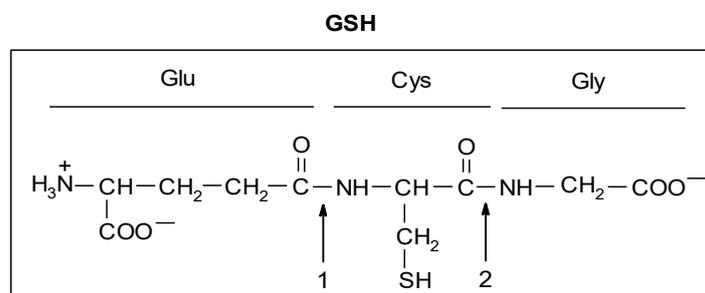
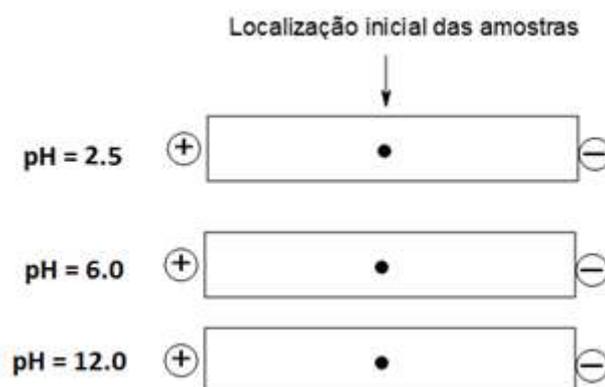


Tabela 2- pKas dos aminoácidos presentes na glutathiona

	pK ₁	pK ₂	pK _R
Glutamato (Glu)	2,1	10,4	4,0
Cisteína (Cys)	1,9	10,7	8,3
Glicina (Gly)	2,9	9,7	-

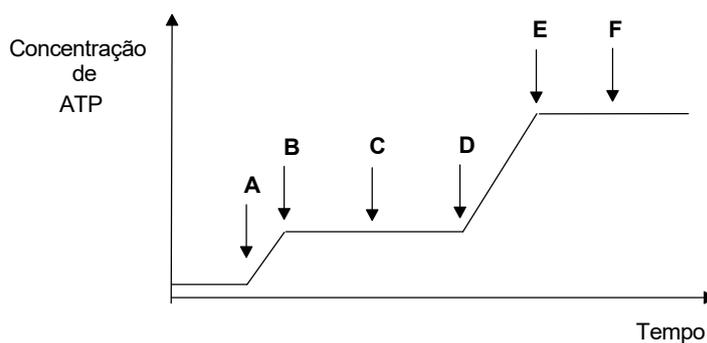
- a) As ligações 1 e 2 entre os aminoácidos componentes da glutathiona são idênticas às que ocorrem entre os aminoácidos de uma proteína? Explique. **(2 pontos)**
- b) Calcular o ponto isoelétrico (pI) da GSH (os pK_s dos grupos dissociáveis estão na Tabela 1). Quais grupos ionizáveis você usou para o cálculo e como este foi feito? **(2 pontos)**
- c) Mostrar a localização da GSH nas fitas de eletroforeses (abaixo) feitas nos pHs indicados abaixo. **(6 pontos)**



NOME _____

3. Uma **suspensão de mitocôndrias** foi incubada em um meio apropriado e com excesso de ADP e Pi. Ao longo do tempo, foram feitas sucessivas adições à suspensão. Os compostos, também adicionados em excesso, estão representados pelas letras A, B, C, D, E e F. Medindo-se a concentração de ATP nas mitocôndrias, obtiveram-se os resultados apresentados no gráfico abaixo. Os compostos adicionados foram:

isocitrato – dinitrofenol – cianeto – malonato – glicose – succinato



dinitrofenol – ionóforo de próton

cianeto – inibidor da citocromo c oxidase (complexo IV da cadeia de transporte de elétrons)

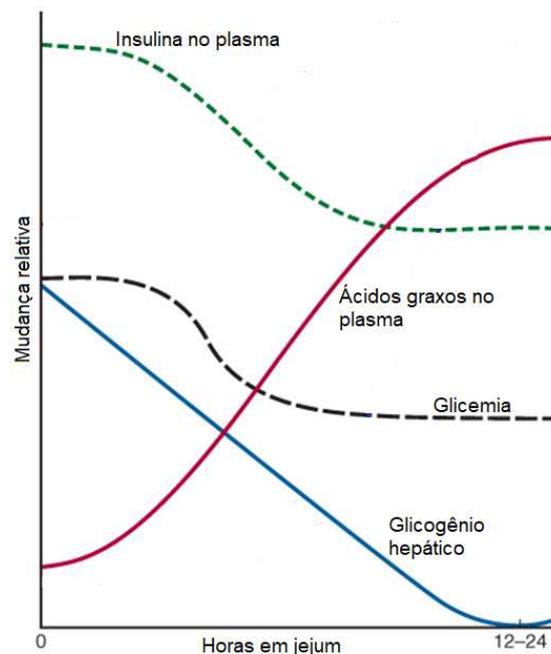
malonato – inibidor competitivo da succinato desidrogenase

Indicar que compostos correspondem a A, B, C, D, E e F. Explique suas escolhas. (**seta A vale 2,5 pontos e as demais 1,5 cada**)

NOME _____

4. Considerando o gráfico ao lado:

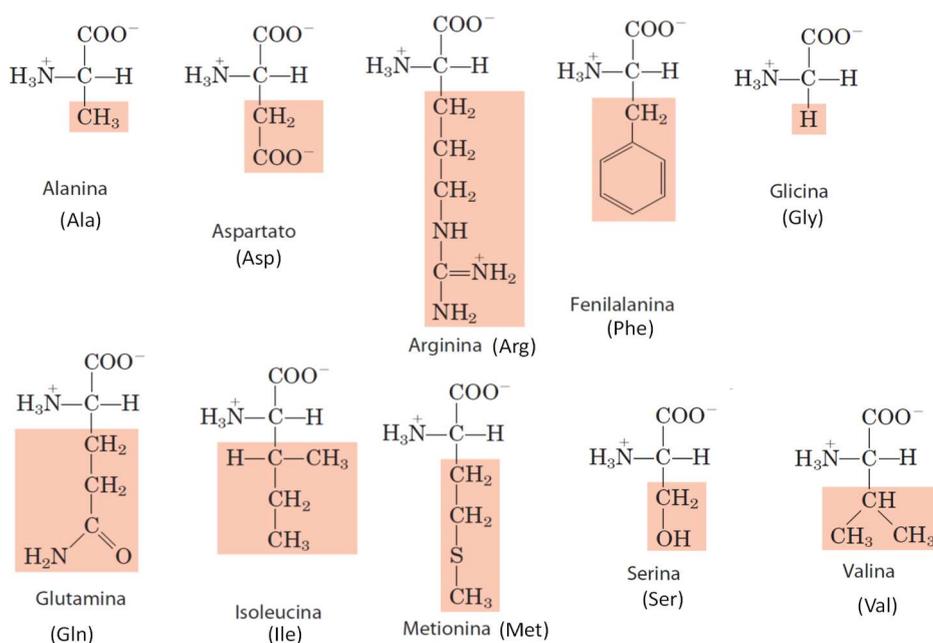
- Esquematize no gráfico abaixo os níveis de glucagon no plasma. **(2 pontos)**
- Descreva com detalhes como o glucagon age nas células-alvo e como o seu sinal é propagado no interior das células hepáticas. **(3 pontos)**
- Qual o destino do glicogênio hepático? E o dos ácidos graxos no plasma? Justifique. **(1 + 1 ponto)**
- Na situação de lipólise aumentada, como está a regulação alostérica e covalente no ponto central de controle da via glicolítica no fígado? Justifique. **(3 pontos)**



NOME _____

5. Considere os ácidos palmítico (16:0) e linoleico (18:2($\Delta^{9,12}$)).

- a) Desenhe os ácidos graxos, ressaltando, quando necessário, a configuração das duplas ligações. Nomeie os ácidos graxos segundo o sistema omega (ω), quando aplicável. **(2 pontos + 1 ponto)**
- b) Qual seriam as diferenças entre 2 membranas hipotéticas, a primeira formada exclusivamente por fosfolipídios contendo somente ácido palmítico, e a segunda formada por fosfolipídios contendo uma mistura de ácidos palmítico e linoleico na proporção 50:50? Explique. **(2 pontos)**
- c) Desenhe **esquemáticamente** (não é necessário usar as estruturas químicas) uma membrana biológica composta de: 1) fosfolipídios contendo ácido palmítico e linoleico, e 2) uma proteína de membrana, composta de um domínio transmembranar e outro domínio citossólico indicando as possíveis estruturas secundárias. Quais dos aminoácidos abaixo poderiam fazer parte dos domínios intramembranar e citossólicos (use as abreviações dos aminoácidos)? **(5 pontos)**

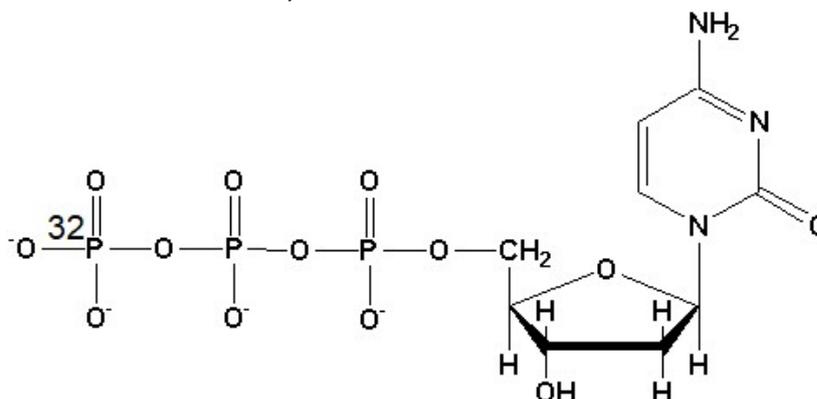


NOME _____

6. Em um experimento verificou-se que Cys-tRNA^{Cys} pode ser convertido a Ala-tRNA^{Cys} e usado num sistema *in vitro* de síntese de proteínas.
- a) Se o Ala-tRNA^{Cys} for marcado com ¹⁴C no aminoácido, a alanina marcada seria incorporada na proteína sintetizada no lugar de outros resíduos? **(3,0 pontos)**
 - b) O que o experimento indica sobre a importância da precisão da reação da aminoacil-tRNA sintetase em relação ao processo global da síntese proteica? **(3,0 pontos)**
 - c) Apesar de apresentarmos 61 códons para aminoácidos, possuímos apenas por volta de 30 tipos de tRNAs. Como isto é possível? **(4,0 pontos)**

NOME _____

7. Um pesquisador pretendia marcar um fragmento de DNA com ^{32}P . Para isto reuniu em um tubo o DNA alvo, primers específicos que reconhecem este DNA, DNA polimerase, MgCl_2 , dCTP (em menor quantidade que os outros), dTTP, dGTP, dATP, e o nucleotídeo radioativamente marcado como indicado na figura abaixo (o P marcado está sinalizado com 32).



- Que estrutura é esta? Indique seus componentes no esquema. **(2.0 pontos)**
- O experimento funcionou? Por quê? **(4.0 pontos)**
- Explique com detalhes o que acontece com um RNA simples fita e com um DNA dupla fita quando eles são submetidos a um meio com $\text{pH} > 13$. Porque? **(4.0 pontos)**