

LÍNGUA PORTUGUESA

TEXTO – COMO PREVENIR DOENÇAS GENÉTICAS

Marcello Valle

Para alguns casais, gerar uma criança é uma decisão ética. Alguns são portadores de doenças genéticas e temem que seus filhos sofram do mesmo problema. São problemas como hemofilia, distrofia muscular, anemia falciforme e alterações ligadas ao fator Rh. Entretanto, há uma técnica que permite gerar bebês saudáveis. Trata-se do Diagnóstico Genético Pré-Implantação (ou PGD).

Essa técnica foi desenvolvida há uma década por pesquisadores londrinos e não foi bem recebida de imediato, pois criava impasses éticos. Via-se no PGD uma maneira de os pais controlarem o perfil genético e escolherem o sexo do futuro bebê.

Hoje, o PGD é totalmente aceito, inclusive no Brasil, e é uma forma precoce de diagnóstico pré-natal. É feito por meio de uma biópsia do embrião no seu terceiro dia de vida para detectar possíveis doenças. É um procedimento tecnicamente desafiador, que exige um bom entendimento de embriologia e biologia molecular.

O PGD associa métodos aplicados em reprodução assistida às técnicas de investigação genética. A biópsia do embrião inicial (entre seis e dez células) permite o estudo genético de uma única célula, possibilitando a transferência de embriões normais para as características testadas.

No Brasil, o Código de Ética do Conselho Federal de Medicina não permite a seleção sexual do embrião. Entretanto, especificamente no caso de haver doença genética ligada ao sexo (como hemofilia), é possível identificar os embriões masculinos e femininos, transferindo apenas o sexo que não tem possibilidade de ter a doença. O PGD é também indicado em casos de gravidez tardia, em especial nas gestantes acima de 35 anos. Quanto maior a idade, mais chance de dar à luz bebês com problema genéticos e de sofrer aborto espontâneo.

1. “Para alguns casais, gerar uma criança é uma decisão ética”; a forma de reescrever-se essa frase com alteração de seu sentido é:
 - (A) Para alguns casais, é uma decisão ética gerar uma criança;
 - (B) Gerar uma criança, para alguns casais, é uma decisão ética;
 - (C) É uma decisão ética, para alguns casais, gerar uma criança;
 - (D) É uma decisão ética gerar uma criança para alguns casais;
 - (E) Gerar uma criança é uma decisão ética, para alguns casais.
2. Se a decisão é “ética” ele interfere com valores:
 - (A) econômicos;
 - (B) políticos;
 - (C) morais;
 - (D) religiosos;
 - (E) sociais.

3. “Essa técnica foi desenvolvida há uma década por pesquisadores londrinos e não foi bem recebida de imediato, pois criava impasses éticos. Via-se no PGD uma maneira de os pais controlarem o perfil genético e escolherem o sexo do futuro bebê”; o comentário INCORRETO sobre esse segmento do texto é:
 - (A) a técnica aludida é a do PGD;
 - (B) a técnica vem sendo desenvolvida por dez anos;
 - (C) o impasse ético aludido é o do controle genético;
 - (D) escolher o sexo do futuro bebê não é visto como um fato positivo;
 - (E) a técnica do PGD demorou um pouco a ser aceita.
4. O PGD é “uma forma precoce de diagnóstico pré-natal”; isso significa que o PGD:
 - (A) ainda não está totalmente desenvolvido;
 - (B) identifica bem cedo problemas do embrião;
 - (C) é feito com a finalidade de antecipar o nascimento do bebê;
 - (D) indica problemas do bebê pouco antes do nascimento;
 - (E) alerta para o caso de o bebê nascer antes do momento previsto.
5. “É um procedimento tecnicamente desafiador”; esta afirmação se justifica porque:
 - (A) o PGD exige bom preparo dos profissionais;
 - (B) é um procedimento ainda bastante novo;
 - (C) se trata de um procedimento não totalmente conhecido;
 - (D) a técnica deve ser adquirida em tempo recorde;
 - (E) o PGD é realizado com risco de morte da paciente grávida.
6. “o Código de Ética do Conselho Federal de Medicina não permite a seleção sexual do embrião”; a forma em negrito equivale à forma “proibe”. A alternativa em que a equivalência apontada está ERRADA é:
 - (A) não trabalha aos domingos = descansa aos domingos;
 - (B) não aceita trabalho pesado = recusa trabalho pesado;
 - (C) não intervém na briga = participa da briga;
 - (D) não falou diante do juiz = emudeceu diante do juiz;
 - (E) não sabe a verdade = ignora a verdade.
7. “aborto espontâneo”, referido na última linha do texto, é aquele que:
 - (A) ocorre sem que tenha sido provocado;
 - (B) é causado por medicamentos específicos;
 - (C) é fruto da vontade da gestante;
 - (D) acontece em casos de perigo de vida para a gestante;
 - (E) é provocado exclusivamente pelo próprio embrião.

8. "espontâneo" é palavra grafada com S; a alternativa abaixo que mostra uma palavra erradamente grafada é:
- (A) misto;
 - (B) sesta;
 - (C) estender;
 - (D) esplêndido;
 - (E) estinguir.
9. O principal objetivo deste texto deve ser:
- (A) causar interesse nos leitores pela seleção do sexo dos bebês;
 - (B) criticar certas posições retrógradas de nossas autoridades médicas;
 - (C) informar os leitores sobre questões médicas;
 - (D) analisar questões sobre o ponto de vista social;
 - (E) provocar suspense por meio de ocultamento de dados.
10. "Hoje o PGD é totalmente aceito, inclusive no Brasil"; esta frase significa que o PGD é aceito:
- (A) em todos os países, até mesmo no Brasil;
 - (B) sem restrições, mesmo no Brasil;
 - (C) em todos os lugares, exceto no Brasil;
 - (D) de forma ampla e em todos os países, até no Brasil;
 - (E) no Brasil, mesmo que não totalmente.

BIOLOGIA MOLECULAR

11. Observe as afirmativas a seguir, em relação à estrutura do DNA:

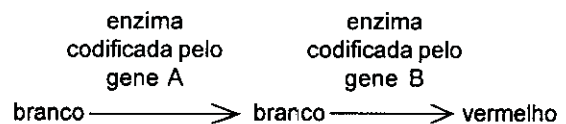
- I. Segundo modelo proposto por Watson e Crick, a molécula de DNA é constituída por duas cadeias polinucleotídicas dispostas em hélice ao redor de um eixo imaginário, girando para a direita.
- II. Em contraste com a forma B do DNA, existe uma variante em que a hélice gira para a esquerda, é o chamado DNA-Z.
- III. As ligações não-covalentes do tipo ligações ou pontes de hidrogênio, que mantêm a estrutura da dupla-hélice, podem ser desfeitas pelo calor, por pH muito ácido ou muito básico, ou por exposição a baixas concentrações de sais.

Assinale a alternativa correta:

- (A) apenas a afirmativa I está correta;
 - (B) apenas a afirmativa II e III estão corretas;
 - (C) apenas as afirmativas I e II estão corretas;
 - (D) apenas as afirmativas I e III estão corretas;
 - (E) todas as afirmativas estão corretas.
12. *Drosophila melanogaster* é uma espécie diplóide, $2n = 8$ cromossomos. Quanto ao número de moléculas de DNA nuclear dupla-hélice nessa espécie, NÃO é correto afirmar que uma célula em:
- (A) fase G1 da interfase possui 8 moléculas;
 - (B) fase G2 da interfase possui 16 moléculas;
 - (C) metáfase I da meiose possui 16 moléculas;
 - (D) metáfase II da meiose possui 16 moléculas;
 - (E) metáfase da mitose possui 16 moléculas.
13. Em uma forquilha de replicação da dupla hélice de DNA:
- (A) a cadeia leading cresce continuamente, enquanto que a lagging cresce descontinuamente;
 - (B) ambas cadeias crescem descontinuamente;
 - (C) ambas cadeias crescem continuamente;
 - (D) a cadeia leading cresce na direção $5' \Rightarrow 3'$, enquanto que a lagging cresce na direção $3' \Rightarrow 5'$;
 - (E) ambas cadeias crescem na direção $3' \Rightarrow 5'$.
14. Assinale a alternativa que completa corretamente a afirmativa abaixo:
- "Na reação de iniciação da tradução em bactéria a subunidade (1) do ribossomo se liga a uma curta seqüência de bases no RNAm, denominada (2), formando o chamado complexo de iniciação."
- (A) 1 = menor; 2 = TATA box;
 - (B) 1 = menor; 2 = Shine-Dalgarno;
 - (C) 1 = maior; 2 = sítio A;
 - (D) 1 = maior; 2 = Shine-Dalgarno;
 - (E) 1 = maior; 2 = TATA box.

15. Em relação ao código genético NÃO é correto afirmar que:

- (A) um mesmo códon pode significar vários aminoácidos;
 - (B) mais de um códon pode significar um mesmo aminoácido;
 - (C) mutações do tipo deleção ou inserção podem causar mudança do quadro de leitura;
 - (D) existem códons sem sentido que determinam o final da tradução;
 - (E) códon é o termo usado para designar a trinca de bases no RNAm que codifica para um aminoácido na cadeia polipeptídica.
16. Em uma espécie de planta, a cor da flor é determinada por dois genes, cujos alelos dominantes A e B, respectivamente, codificam enzimas funcionais. Os alelos recessivos de cada um desses genes (a e b) produzem enzimas anormais que não podem catalisar a reação na via biossintética para o pigmento da flor. Essa via é representada do seguinte modo:



Dois plantas com flores brancas, homocigóticas para ambos os genes, foram cruzadas e produziram toda descendência com flores vermelhas. Os genótipos das plantas parentais devem ser:

- (A) AABB e aabb;
 - (B) AABB e AaBb;
 - (C) aaBB e AAbb;
 - (D) aabb e aabb;
 - (E) AABB e AABB.
17. Durante a extração de DNA, a utilização da mistura fenol/clorofórmio tem como finalidade:
- (A) romper as membranas celulares;
 - (B) degradar moléculas de RNA;
 - (C) desnaturar proteínas;
 - (D) precipitar o DNA;
 - (E) desnaturar o DNA.
18. Observe as afirmativas a seguir, em relação à clivagem do DNA:
- I. o DNA pode ser clivado, em sítios específicos, por endonucleases denominadas enzimas de restrição.
 - II. o resultado do corte de uma molécula de DNA por uma enzima de restrição gera sempre fragmentos com extremidades coesivas.
 - III. durante a eletroforese, os fragmentos de DNA migram em direção ao pólo negativo, havendo a separação dos fragmentos de tamanhos diferentes.
- Assinale:
- (A) apenas a afirmativa I está correta;
 - (B) apenas as afirmativas II e III estão corretas;
 - (C) apenas as afirmativas I e II estão corretas;
 - (D) apenas as afirmativas I e III estão corretas;
 - (E) todas as afirmativas estão corretas.

19. Os plasmídeos vetores utilizados para clonagem de fragmentos de DNA possuem como característica, EXCETO:
- um sítio de origem de replicação;
 - uma ou mais marcas genéticas que permitem selecioná-lo;
 - capacidade de incorporar segmentos de DNA superiores a 20Kb;
 - DNA circular;
 - um ou mais sítios de corte para enzimas de restrição.
20. O método de seqüenciamento enzimático do DNA baseia-se em:
- uma síntese de DNA, *in vitro*, realizada na presença de nucleotídeos trifosfatados em que falta o grupo 3'-OH;
 - uma transcrição do DNA, *in vitro*, realizada na presença de endonucleases;
 - uma síntese de DNA, *in vitro*, realizada na presença de endonucleases;
 - uma síntese de DNA, *in vitro*, onde todos os nucleotídeos são do tipo didesoxirribonucleotídeos;
 - uma síntese de DNA, *in vitro*, realizada na presença de proteinase K.
21. Quando você reconstrói uma árvore filogenética, a partir de um alinhamento, você assume os pressupostos abaixo, EXCETO:
- as seqüências são homólogas;
 - os nomes indicadores de cada uma das seqüências sempre representam grupos naturais;
 - todos os sítios na mesma posição do alinhamento são homólogos;
 - os grupamentos filogenéticos representam grupos naturais;
 - os sítios da seqüência evoluem independentemente.
22. Um alinhamento múltiplo de seqüências de DNA tem como objetivo principal:
- verificar se as seqüências são homólogas;
 - estabelecer grupamentos filogenéticos entre as seqüências;
 - remover posições de inserções e deleções entre duas seqüências;
 - verificar o suporte estatístico dos domínios protéicos que serão analisados;
 - estabelecer as posições homólogas entre as seqüências.
23. A afirmativa abaixo verdadeira para todos os operons é:
- apresentam controle de transcrição negativo;
 - apresentam controle de transcrição positivo;
 - codificam RNAs mensageiros policistrônicos;
 - são induzidos por açúcares;
 - possuem mais de dois promotores sobrepostos.
24. Avalie as afirmativas a seguir, em relação à regulação gênica em eucariotos e procariotos:
- O processamento do pré-RNAm, através da seleção de sítios alternativos (*splicing* alternativo), é uma das formas de regulação da expressão gênica em procariotos.
 - Um óperon é uma única unidade transcricional que inclui uma série de genes estruturais, um promotor e um operador. Genes eucarióticos não estão organizados em operons.
 - Eucariotos possuem seqüências localizadas antes ou após a região promotora que permitem o aumento dos níveis da expressão gênica.
- Assinale a alternativa correta:
- apenas a afirmativa I está correta;
 - apenas a afirmativa II e III estão corretas;
 - apenas as afirmativas I e II estão corretas;
 - apenas as afirmativas I e III estão corretas;
 - todas as afirmativas estão corretas.
25. O modelo operon *lac* em *Escherichia coli* inclui um gene regulador (I), uma região do operador (O), um gene estrutural (Z) codificador da enzima β -galactosidase e outro gene estrutural (Y) codificador da β -galactosídeo permease. As mutações no operon *lac* têm os seguintes efeitos: linhagens mutantes Z⁻ e Y⁻ são incapazes de produzir, respectivamente, as enzimas β -galactosidase e β -galactosídeo permease, enquanto linhagens mutantes I⁻ e O^c geram os produtos do operon constitutivamente.
- A síntese constitutiva de β -galactosidase e a síntese indutível de β -galactosídeo permease ocorre em uma bactéria parcialmente diplóide com o seguinte genótipo:
- I⁻O^cZ⁺Y⁺ / I⁺O⁺Z⁻Y⁻
 - I⁺O^cZ⁺Y⁻ / I⁺O⁺Z⁻Y⁺
 - I⁻O^cZ⁺Y⁺
 - I⁺O⁺Z⁺Y⁻ / I⁻O^cZ⁻Y⁺
 - I⁻O^cZ⁺Y⁻ / I⁺O⁺Z⁻Y⁺
26. Depois do seqüenciamento de um determinado gene Z, você faz a previsão da sua seqüência de proteína e descobre um códon de parada no meio de uma proteína fundamental para o funcionamento celular. Assinale a única alternativa verdadeira:
- erro na edição das seqüências é a explicação mais parcimoniosa para o ocorrido;
 - este códon de parada iria fazer o organismo morrer em pouco tempo de qualquer jeito;
 - o *gap penalty* do algoritmo errado é a melhor explicação para o fato;
 - problemas no algoritmo do alinhamento múltiplo podem ter causado tal problema;
 - erro na amplificação do fragmento de DNA pode ter sido responsável pelo problema.

27. Digamos que você tenha duas seqüências X e Y (1000 pares de bases cada uma) de DNA. X codifica uma enzima da cadeia transportadora de elétrons e Y é um segmento intergênico. Assinale a única alternativa verdadeira:
- (A) em comparações interespecíficas, a variabilidade de X é menor do que a variabilidade de Y;
 - (B) em comparações intraespecíficas, a variabilidade esperada de Y é menor do que a variabilidade de X;
 - (C) o alinhamento de seqüências intraespecíficas de X vai ser mais fácil do que as de Y;
 - (D) o alinhamento de seqüências interespecíficas de X e Y vai ser igualmente complicado;
 - (E) o alinhamento de seqüências intraespecíficas de X e Y vai ser igualmente simples.
28. São elementos necessários na técnica de amplificação do DNA através da reação da polimerase em cadeia (PCR):
- (A) DNA molde, DNA polimerase, *primers*, dNTPs, termociclador;
 - (B) DNA molde, Taq polimerase, *primers*, dNTPs, transcriptase reversa;
 - (C) DNA molde, Taq polimerase, *primers*, dNTPs, endonucleases, termociclador;
 - (D) DNA molde, DNA polimerase, *primers*, dNTPs, endonucleases, termociclador;
 - (E) DNA molde, Taq polimerase, *primers*, dNTPs, etanol, termociclador.
29. A enzima Taq polimerase, obtida da bactéria *Thermus aquaticus*, facilitou tremendamente a utilização da técnica de reação de polimerase em cadeia porque:
- (A) desnatura a cada ciclo de temperatura, como o DNA molde;
 - (B) permanece ativa mesmo após vários ciclos de amplificação a altas temperaturas;
 - (C) reconhece DNA fita simples *in vitro*;
 - (D) permite a hibridação dos *primers* ao DNA molde mesmo quando a reação é submetida a altas temperaturas;
 - (E) dispensa a adição do cofator Mg ++ à reação.
30. A técnica da reação de polimerase em cadeia pode ser usada como uma ferramenta nas seguintes situações, EXCETO:
- (A) como uma alternativa para a clonagem gênica;
 - (B) para o diagnóstico de doenças hereditárias em estágios iniciais do desenvolvimento;
 - (C) para a identificação de pessoas a partir de pequenas amostras de DNA;
 - (D) para recuperar seqüências de DNA com mais de 50 milhões de anos;
 - (E) para o diagnóstico de infecções.

CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DE PROTEÍNAS

31. Como estratégia para purificação de uma proteína de atividade desconhecida é correto realizar uma construção gênica que:
- adicione um aminoácido de lisina na extremidade $-NH_2$ ou $-COOH$ para purificação em coluna de níquel;
 - adicione um domínio de afinidade como uma cauda de seis a oito histidinas para purificação em coluna de níquel;
 - adicione uma cauda poli-A à proteína recombinante para purificação com poli-T;
 - adicione imidazol à proteína recombinante para purificação em coluna de níquel;
 - adicione níquel à proteína recombinante para purificação em coluna de imidazol com histidina.
32. Para superexpressão de uma proteína em *Escherichia coli* é correto empregar:
- uma construção com o promotor do gene de interesse fusionado ao da RNA polimerase do bacteriófago T7;
 - uma construção com o promotor reconhecido pela DNA polimerase do bacteriófago T7 controlando a expressão do gene de interesse;
 - uma construção fusionando a RNA polimerase de *E. coli* com a do bacteriófago T7 para controlar a expressão do gene de interesse;
 - uma construção com o promotor reconhecido pela RNA polimerase do bacteriófago T7 controlando a expressão do gene de interesse;
 - uma construção fusionando o gene da RNA polimerase do bacteriófago T7 com o gene de interesse.
33. Num sistema de superexpressão utilizando um promotor forte e induzível por IPTG, é correto afirmar que:
- o IPTG causa a saída do repressor LacI da região operadora controlando este promotor;
 - é necessário não haver o gene *lacI* na célula;
 - é necessário não haver a proteína LacI na célula;
 - é necessário não ter região operadora neste promotor;
 - é necessário ter lactose no meio de cultura além de IPTG.
34. Na superexpressão de uma proteína que é tóxica para a célula bacteriana e utilizando expressão controlada pelo sistema de transcrição do fago T7 em *E. coli*, NÃO é correto afirmar que:
- pode-se ter no cromossomo desta *E. coli* o gene da RNA polimerase do fago T7 com expressão induzível por IPTG;
 - pode-se ter uma região operadora *lacO* entre o promotor reconhecível pela RNA polimerase de T7 e o gene desta proteína;
 - deve-se ter no cromossomo desta *E. coli* o gene da RNA polimerase do fago T7;
 - não é recomendado o uso de um sistema induzível por IPTG uma vez que já existe o sistema do fago T7 controlando a expressão do gene desta proteína;
 - os genes naturais desta *E. coli* estão sob controle da RNA polimerase bacteriana.
35. Observe as afirmativas sobre algumas estratégias de purificação de uma proteína:
- a proteína alvo pode ser purificada por imunoprecipitação com anticorpo específico em coluna com proteína A ou G.
 - epítopos específicos podem ser fusionados à proteína alvo para auxílio em imunoprecipitação.
 - construções genéticas podem fusionar a proteína alvo com peptídeo para biotilação *in vivo* para posterior purificação por afinidade com agarose ligada à estreptoavidina a partir de lisado celular ou sobrenadante.
 - pode-se aplicar a imunoprecipitação da proteína alvo após tratamento com anticorpo biotilado e posterior purificação com agarose ligada à estreptoavidina.
- Assinale a alternativa correta:
- apenas a afirmativa I está correta;
 - apenas a afirmativa II está correta;
 - apenas as afirmativas I e II estão corretas;
 - apenas as afirmativas I e III estão incorretas;
 - todas as afirmativas estão corretas.
36. Para a expressão de um gene eucariótico em *E. coli* é correto afirmar que:
- o cDNA deste gene deve ser clonado em um vetor de expressão em *E. coli*;
 - o cDNA deste gene deve ser clonado em um vetor de expressão de eucarioto;
 - o gene eucariótico deve ser clonado diretamente em um vetor de expressão em *E. coli*;
 - o gene eucariótico deve ser clonado diretamente em um vetor de expressão de eucarioto;
 - o RNA deste eucarioto não é relevante para nenhuma etapa de clonagem.
37. Para entendimento da função da proteína CelA optou-se por obter em laboratório uma proteína híbrida CelA com a porção C-terminal fusionada à proteína verde fluorescente Gfp. Um dos cuidados para se obter esta construção é:
- purificar de forma eficiente a proteína CelA para ligação com a proteína Gfp;
 - em plasmídeo apropriado, colocar o gene *celA* posicionado à 3' do gene *gfp* e certificar-se da retirada do códon de início de *gfp* e que está ligado no mesmo quadro de leitura do gene *celA* posteriormente posicionado;
 - em plasmídeo apropriado, colocar o promotor do gene *celA* posicionado à 5' do gene *gfp* e certificar-se da retirada da região codificante de *celA* e que *gfp* está ligado no mesmo quadro de leitura do promotor do gene *celA*;
 - em plasmídeo apropriado, colocar o promotor do gene *gfp* posicionado à 5' do gene *celA*;
 - em plasmídeo apropriado, colocar o gene *celA* posicionado à 5' do gene *gfp* e certificar-se da retirada do códon de parada de *celA* e que *gfp* está ligado no mesmo quadro de leitura do gene *celA* anteriormente posicionado.
38. Numa reação de amplificação de DNA por PCR deve-se incluir, EXCETO:
- DNA molde;
 - tampão com Mg^{+2} e um par de iniciadores específicos;
 - Taq DNA polimerase;
 - uma mistura contendo ATP, UTP, CTP e GTP;
 - uma mistura contendo dATP, dTTP, dCTP e dGTP.

39. Ao se desenhar um par de iniciadores para aplicação em PCR é necessário:

- (A) conhecer toda a seqüência a ser amplificada;
- (B) verificar a possibilidade de formação de dímeros de timina;
- (C) verificar as possibilidades de formação de dímeros entre os iniciadores ou entre moléculas de um mesmo iniciador e avaliar a existência de regiões de pareamento interno em cada iniciador;
- (D) usar o máximo de nucleotídeos com "G" e "C" nos iniciadores;
- (E) usar o máximo de nucleotídeos com "A" e "T" nos iniciadores.

40. Uma das fitas de uma molécula de DNA está apresentada:

5'GGCGAGTGAGTCAGAGAGGATCTCTGAA

Considere que iniciadores de 10 nucleotídeos funcionem para esta reação de PCR hipotética. Para amplificação por PCR da região sublinhada é correto:

- (A) utilizar os iniciadores 5'GGCGAGTGAG 3' e 5'GATCTCTGAA 3';
- (B) utilizar os iniciadores 5'CTCACTCGCC 3' e 5'GATCTCTGAA 3';
- (C) utilizar os iniciadores 5'CCGCTCACTC 3' e 5'CTAGAGACTT 3';
- (D) utilizar os iniciadores 5'GGCGAGTGAG 3' e 5'TTCAGAGATC 3';
- (E) utilizar os iniciadores 5'GGCGAGTGAG 3' e 5'CTAGAGACTT 3'.

41. Sobre a interferência por RNA (RNAi), é INCORRETO afirmar que:

- (A) RNAi é uma técnica que permite reduzir a quantidade de uma determinada proteína dentro da célula;
- (B) RNAi é uma técnica que permite reduzir a quantidade de um determinado transcrito dentro da célula;
- (C) RNAi é uma resposta celular à presença de RNA dupla-fita (dsRNA) dentro da célula;
- (D) a resposta de RNAi envolve um silenciamento pós-transcricional;
- (E) o silenciamento por RNAi sempre oferece resposta gene-específica.

42. Sobre os siRNAs, é INCORRETO afirmar que:

- (A) eles são produzidos a partir da degradação de dsRNA intracelular pela enzima DICER;
- (B) na forma de fita-simples eles orientam a degradação de mRNAs homólogos;
- (C) eles estão envolvidos na resposta de RNAi;
- (D) siRNA específicos se introduzidos na célula podem iniciar um silenciamento pós-transcricional;
- (E) ao contrário dos dsRNAs, os siRNAs não se associam ao complexo RISC.

43. Sobre a indução da resposta de RNAi, NÃO é correto afirmar que:

- (A) siRNA ou dsRNA específicos podem ser introduzidos dentro da célula para inciar uma resposta de RNAi;
- (B) a indução de RNAi só ocorre em mamíferos, insetos, nematódeos e plantas;
- (C) a injeção direta de dsRNA em mamífero pode gerar uma resposta inespecífica;
- (D) dsRNA sintetizados *in vitro* e introduzidos na célula ou dsRNA produzidos de forma endógena dentro das células podem induzir uma resposta de RNAi;
- (E) em alguns organismos a resposta de RNAi pode iniciar em um determinado grupo de células e se espalhar por todo o organismo.

44. São estratégias com potencial de induzir o silenciamento de um gene eucariótico X por RNAi, EXCETO:

- (A) incluir no genoma uma construção contendo o promotor de X controlando a expressão de uma cópia do gene X na orientação oposta ou ante-senso;
- (B) em alguns organismos, a ingestão de *E. coli* superexpressando dsRNA homólogo ao gene X ou a imersão em solução de dsRNA homólogo ao gene X;
- (C) a introdução na célula de dsRNA ou siRNA homólogo ao gene de sua proteína DICER sintetizado *in vitro*;
- (D) a introdução na célula de dsRNA ou siRNA homólogo ao gene X sintetizado *in vitro*;
- (E) incluir no genoma uma construção contendo um promotor funcional controlando a expressão de uma cópia do gene X (orientação original ou senso) ligada por um espaçador a outra cópia na orientação oposta (ante-senso).

45. Observe as afirmativas relacionadas ao silenciamento por RNAi de uma família de genes homólogos:

I- para silenciamento de um único gene de uma família gênica deve-se introduzir ou expressar nestas células dsRNA relativo a uma porção específica deste gene.

II- para silenciamento de vários genes de uma família gênica deve-se introduzir ou expressar nestas células dsRNA relativo a uma porção conservada entre estes genes.

III- não é possível o silenciamento por RNAi de vários genes simultaneamente.

Assinale a alternativa correta:

- (A) apenas a afirmativa I está correta;
- (B) apenas a afirmativa II está correta;
- (C) apenas a afirmativa III está correta;
- (D) apenas as afirmativas I e II estão corretas;
- (E) apenas as afirmativas I e III estão corretas.

46. Numa construção em vetor de expressão de eucarioto foi feita uma fusão tradicional do gene da proteína "X" com o da proteína verde fluorescente Gfp. Acredita-se que a localização subcelular de X é dependente do pH, ou seja, que, em pH ácido, X deva estar na membrana citoplasmática e em pH básico, no citoplasma. Sendo esta hipótese verdadeira e com a introdução desta construção na célula eucariótica, é INCORRETO afirmar que:
- "western-blots" utilizando um anticorpo primário anti-X e preparações de proteína de membrana de células em pH ácido, mostrará uma banda com peso molecular relativo à proteína híbrida X-Gfp;
 - "western-blots" utilizando um anticorpo primário anti-Gfp e preparações de proteína de membrana de células em pH ácido, mostrará uma banda com peso molecular relativo à proteína híbrida X-Gfp;
 - "western-blots" utilizando um anticorpo primário anti-Gfp e preparações de proteína de membrana de células em pH básico, mostrará uma banda com peso molecular relativo apenas à proteína Gfp;
 - "western-blots" com anticorpo primário anti-Gfp ou anti-X e proteínas totais de células crescidas em pH ácido ou básico, mostrarão uma banda com peso molecular da proteína híbrida X-Gfp;
 - microscopia confocal destas células crescidas em meio ácido evidenciará fluorescência na membrana citoplasmática e em pH básico fluorescência no citoplasma.
47. São técnicas de uso em análise de localização subcelular de proteínas, EXCETO:
- SDS-PAGE e western-blot;
 - microscopia eletrônica por "immuno-gold";
 - fusão tradicional com epítopos conhecidos;
 - fusão transcricional com genes indicadores como *lacZ* e *gfp*;
 - microscopia confocal e de imuno fluorescência.
48. Uma proteína X foi analisada por "western-blot" quanto a sua localização em diferentes tecidos de um camundongo. Sabendo-se que o anticorpo anti-X foi obtido em coelho, é correto afirmar que:
- após eletroforese das proteínas totais de um tecido e transferência para nitrocelulose deve-se usar o anticorpo primário e um anticorpo secundário anti-anticorpo de camundongo conjugado com fosfatase alcalina;
 - após eletroforese das proteínas totais dos diferentes tecidos e transferência para nitrocelulose deve-se usar como anticorpo primário um anti-anticorpo de coelho conjugado com fosfatase alcalina;
 - após eletroforese das proteínas totais dos diferentes tecidos e transferência para nitrocelulose deve-se usar o anticorpo primário e um anticorpo secundário obtido em coelho;
 - após eletroforese das proteínas totais dos diferentes tecidos e transferência para nitrocelulose deve-se usar o anticorpo primário e um anticorpo secundário anti-anticorpo de coelho conjugado com fosfatase alcalina;
 - as proteínas totais de diferentes tecidos devem ser misturadas com o anticorpo primário junto com um anticorpo anti-anticorpo de coelho e posteriormente analisado por eletroforese.
49. Uma fusão tradicional foi construída para adicionar o epítopo comercial "Xpress" de 4kDa à porção N-terminal da proteína Z (de 50kDa). Após indução de sua expressão em *E. coli* e análise de "western-blot" com anticorpo anti-Xpress foi observado apenas uma banda de aproximadamente 4kDa no extrato celular. Com relação a esta experiência, NÃO é correto afirmar que:
- estando a construção correta, a proteína híbrida pode ter sido clivada *in vivo* em sua porção N-terminal;
 - a construção pode ter criado um códon de parada logo após à região codificante do epítopo Xpress;
 - para obter uma fusão estável pode-se tentar uma construção alternativa que adicione o epítopo no C-terminal da proteína Z;
 - estando a construção correta, a expressão de Z nesta *E. coli* pode ser avaliada empregando-se um anticorpo anti-Z.
 - certamente a proteína Z está sendo degradada nesta *E. coli*.
50. Sobre a afinidade de domínios da região Fc de anticorpos pela proteína A e G de parede celular bacteriana, é correto afirmar que:
- esta é a base de várias técnicas de purificação de anticorpos, imunoprecipitação e purificação de proteínas por imunoafinidade;
 - esta é uma interação que independe do pH;
 - todo anticorpo mamífero apresenta alta afinidade por estas duas proteínas;
 - toda proteína de superfície de bactérias Gram-positivas apresenta esta afinidade por anticorpos;
 - as únicas bactérias que não apresentam proteínas com esta afinidade são *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* do grupo C e G.