

LÍNGUA PORTUGUESA

TEXTO – COMO MUDAR O RUMO

Desde que a humanidade deixou de se preocupar apenas em sobreviver às doenças para garantir um pouco mais de sobrevida na Terra, outro incômodo passou a ter prioridade. Voltando seu olhar ao redor, como se só então pudessem fazê-lo sem medo de contágio, os homens descobriram a pobreza e a terrível desigualdade social. Os que acumularam riqueza só pensavam em amealhar cada vez mais. Os que estavam no pé da pirâmide dificilmente conseguiam subir, a não ser com a ajuda de mãos caridosas.

Diferentemente daqueles que enxergam na ajuda filantrópica a única saída para este dilema milenar, há muitos que acreditam na força e na potência dos seres humanos, desde que lhes seja dada uma chance de se fazer ouvir por quem tem poder e capital.

1. Em função do que é lido no texto, o título "Como mudar o rumo" deve referir-se:
 - (A) à mudança das preocupações da humanidade;
 - (B) à substituição das doenças pelas preocupações sociais;
 - (C) ao comportamento diferente dos que amealharam grandes riquezas;
 - (D) aos que acreditam em algo mais do que a ajuda filantrópica para sanar problemas sociais;
 - (E) ao encaminhamento dos necessitados para a ajuda filantrópica.
2. "Desde que a humanidade deixou de se preocupar apenas em sobreviver às doenças para garantir um pouco mais de sobrevida na Terra, outro incômodo passou a ter prioridade"; a nova forma dessa frase que altera o seu sentido original é:
 - (A) Outro incômodo passou a ter prioridade, desde que a humanidade deixou de se preocupar apenas em sobreviver às doenças para garantir um pouco mais de sobrevida na Terra;
 - (B) Desde que a humanidade deixou de se preocupar apenas em sobreviver às doenças, outro incômodo passou a ter prioridade, para garantir um pouco mais de sobrevida na Terra;
 - (C) Desde que a humanidade deixou de se preocupar, para garantir um pouco mais de sobrevida na Terra, apenas em sobreviver às doenças, outro incômodo passou a ter prioridade;
 - (D) Outro incômodo passou a ter prioridade, desde que a humanidade deixou de se preocupar, para garantir um pouco mais de sobrevida na Terra, apenas em sobreviver às doenças;
 - (E) Desde que a humanidade, para garantir um pouco mais de sobrevida na Terra, deixou de se preocupar apenas em sobreviver às doenças, outro incômodo passou a ter prioridade.
3. "para garantir um pouco mais de sobrevida na Terra"; o significado de "sobrevida" no texto é:
 - (A) prolongamento da vida além de limite dado;
 - (B) tudo o que ocorre em seguida à vida terrena;
 - (C) a continuidade da vida após o desaparecimento de outros;
 - (D) a sobrevivência com qualidade de vida;
 - (E) a continuidade da vida na Terra com poucas espécies que escaparam da extinção.
4. A expressão "ter prioridade" equivale semanticamente a "ser prioritário"; a alternativa abaixo que mostra uma equivalência EQUIVOCADA é:
 - (A) ter pressa = ser apressado;
 - (B) ter problemas = ser problemático;
 - (C) ter dificuldades = ser deficiente;
 - (D) ter preocupações = ser preocupado;
 - (E) ter desinteresse = ser desinteressado.
5. Ao dizer que "outro incômodo passou a ter prioridade", pode-se deduzir que:
 - (A) a situação anterior não era incômoda;
 - (B) passam a existir dois incômodos prioritários;
 - (C) o problema anterior foi solucionado;
 - (D) o incômodo anterior foi momentaneamente esquecido;
 - (E) outro incômodo fez com que o anterior ficasse em segundo plano.
6. "Voltando seu olhar ao redor, os homens descobriram a pobreza..."; a alternativa que mostra uma forma desenvolvida do gerúndio "voltando" que é adequada ao contexto é:
 - (A) antes de voltarem;
 - (B) quando voltaram;
 - (C) se voltassem;
 - (D) apesar de voltarem;
 - (E) embora voltassem.
7. "os homens descobriram a pobreza e a terrível desigualdade social"; a alternativa que mostra uma forma INADEQUADA dessa frase por alterar o seu sentido original é:
 - (A) A pobreza foi descoberta pelos homens, juntamente com a terrível desigualdade social;
 - (B) A pobreza e a terrível desigualdade social foram descobertas pelos homens;
 - (C) A pobreza e a terrível desigualdade social, os homens as descobriram;
 - (D) Os homens descobriram, além da pobreza, a terrível desigualdade social;
 - (E) Pela terrível desigualdade social, os homens descobriram a pobreza.
8. "Os que acumularam riqueza só pensavam em amealhar cada vez mais"; a alternativa que mostra a reescritura dessa mesma frase em que a mudança de posição da palavra só NÃO altera o sentido original é:
 - (A) Só os que acumularam riqueza pensavam em amealhar cada vez mais;
 - (B) Os que só acumularam riqueza, pensavam em amealhar cada vez mais;
 - (C) Os que acumularam só riqueza pensavam em amealhar cada vez mais;
 - (D) Os que acumularam riqueza pensavam só em amealhar cada vez mais;
 - (E) Os que acumularam riqueza pensavam em amealhar só cada vez mais.

9. "Os que estavam ao pé da pirâmide dificilmente conseguiam subir"; os que estão "ao pé da pirâmide" são:
- (A) os desejosos de progredir socialmente;
 - (B) os de classe social mais alta;
 - (C) os que ajudam os demais a subir socialmente;
 - (D) os mais pobres;
 - (E) os que acreditam na força e na potência dos seres humanos.
10. "desde que lhes seja dada uma chance de se fazer ouvir"; o conectivo "desde que" expressa uma:
- (A) condição;
 - (B) situação temporal;
 - (C) comparação;
 - (D) causa;
 - (E) concessão.

BIOQUÍMICA

11. Em mamíferos, a adição de resíduos de monossacarídeos a oligossacarídeos e glicoproteínas requer a ativação do monômero. Como características desta reação podemos citar que:

- I - geralmente o intermediário formado é um nucleosídeo como o UDP-glicosil;
- II - são consumidas 2 ligações fosfato de alta energia, uma do ATP em função da sua hidrólise, formando ADP, e outra do UDP, gerando fosfato inorgânico;
- III - apenas uma ligação fosfato de alta energia é consumida, em função da hidrólise do UDP formando fosfato inorgânico;
- IV - depois da ativação, a reação de adição ocorre espontaneamente.

Assinale a alternativa correta:

- (A) apenas as alternativas II e IV estão corretas;
 - (B) apenas as alternativas I e III estão corretas;
 - (C) apenas as alternativas III e IV estão corretas;
 - (D) apenas as alternativas I e II estão corretas;
 - (E) apenas as alternativas I e IV estão corretas.
12. Sobre as enzimas glicil-transferases, NÃO podemos afirmar que:
- (A) sua atividade geral é a adição de açúcares como galactose, galactosamina ou lactose a um precursor;
 - (B) a adição do glicídeo ao precursor se faz a partir da hexose ligada a um nucleosídeo;
 - (C) estas enzimas são responsáveis pela formação dos antígenos ABH que determinam o grupo sanguíneo ABO;
 - (D) estas enzimas participam da formação de oligossacarídeos que podem conter glicose;
 - (E) os diferentes tipos destas enzimas presentes nas células determinam os diferentes tipos de polissacarídeos formados.
13. Observe as afirmativas abaixo e, em seguida, assinale a alternativa correta.

- I - Embora o glicogênio e a celulose sejam polímeros de D-glicose de massa molecular semelhante, essas moléculas apresentam propriedades físicas completamente diferentes: a celulose é fibrosa e insolúvel em água, enquanto o glicogênio é altamente solúvel.
 - II - as ligações β 1-4 presentes na celulose forçam o polímero para uma conformação estendida que tende a se agregar, havendo formação de pontes de hidrogênio intra a inter-cadeia; no glicogênio, as ligações α 1-4 formam dobras, gerando uma conformação em hélice, e as ramificações expõem muitos grupos hidroxil para o meio aquoso.
- (A) as duas afirmativas estão corretas e a segunda justifica a primeira;
 - (B) as duas afirmativas estão corretas e a segunda não justifica a primeira;
 - (C) a afirmativa I está correta e a II incorreta;
 - (D) a afirmativa I está incorreta e a II correta;
 - (E) as duas afirmativas estão incorretas.

14. A tabela a seguir mostra os passos de purificação da proteína X a partir de um extrato bruto:

Etapa de Purificação	Fração	Proteína		Atividade			Fator de Purificação
		mg	%	Específica mg ⁻¹	Total	%	
	Extrato bruto	2768	100	100	276800	100	1
	Sephacryl S-IV	431	15,6	333	143523	52	
MonoQ pH 7,5	Q-I	59	2,1	667	39353	14	
	Q-II	27	1,0	1667	45009	20	
	Q-III	17	0,6	667	11339	4	
	Q-IV	11	0,4	1250	13750	7	
MonoQ pH 5,5	Proteína X	40	0,2	10000	40000	20	

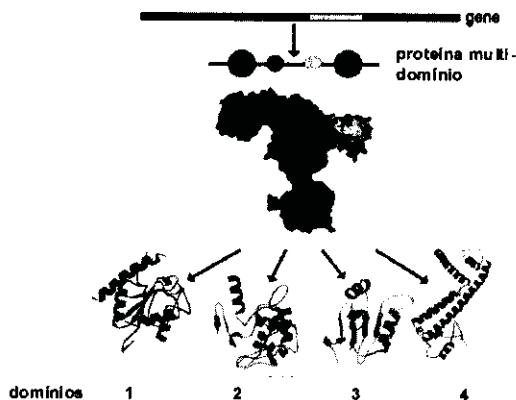
De acordo com os dados mostrados podemos afirmar que:

- I - a proteína foi purificada em 6 etapas, o extrato bruto contém 0,2 % desta proteína e houve recuperação de 20 % da atividade total.
- II - a etapa mais eficiente de purificação foi a última; e na primeira etapa houve a maior perda de atividade.
- III - a proteína foi purificada por cromatografia líquida de troca iônica seguida de 3 etapas de gel filtração.
- IV - os valores aproximados de fator de purificação para as frações na tabela devem ser 3,3 para S-IV; 6,7 para Q-I; 16,7 para Q-II; 6,7 para Q-III; 12,5 para Q-IV; e 100 para Proteína X.
- V - a atividade estudada se encontra dividida em várias frações.
- VI - os valores aproximados de fator de purificação para as frações na tabela devem ser 6,5 para S-IV; 47 para Q-I; 100 para Q-II; 167 para Q-III; 250 para Q-IV; e 500 para Proteína X.

Estão corretos os itens:

- (A) I, II e IV;
 - (B) I, III e IV;
 - (C) II, IV e V;
 - (D) II, V e VI;
 - (E) I, V e VI.
15. As histonas são proteínas que se ligam ao DNA, no núcleo das células eucarióticas. Essas proteínas apresentam um pI bastante alto, em torno de 10,8. Com base nessas informações, podemos concluir que:
- (A) as histonas apresentam um grande número de resíduos de Asp e Glu, que devem ser importantes para a ligação ao DNA através de interações hidrofóbicas;
 - (B) as histonas apresentam um grande número de resíduos de Asp e Glu, que devem ser importantes para a ligação ao DNA através de interações eletrostáticas;
 - (C) as histonas apresentam um grande número de resíduos de Arg e Lis, que devem ser importantes para a ligação ao DNA através de interações hidrofóbicas;
 - (D) as histonas apresentam um grande número de resíduos de Arg e Lis, que devem ser importantes para a ligação ao DNA através de interações eletrostáticas;
 - (E) as histonas apresentam um grande número de resíduos de His, que devem ser importantes para a ligação ao DNA através de interações eletrostáticas.

16. Uma proteína teve sua estrutura determinada por cristalografia de raios-X e mostrou presença de pelo menos quatro domínios globulares diferentes de acordo com a figura abaixo.



Sobre a estrutura desta proteína podemos afirmar que:

- (A) os domínios correspondem a diferentes subunidades (cadeias) que formam a proteína;
- (B) os domínios correspondem aos diferentes arranjos de estrutura secundária observados;
- (C) todos os domínios apresentam α -hélices e fitas β ;
- (D) as fitas β observadas no domínio 3 estão formando uma folha β anti-paralela;
- (E) os domínios estão ligados por pontes dissulfeto.
17. A atividade biológica e o conteúdo de α -hélices e folhas β , foram comparados entre uma proteína e seus cinco diferentes mutantes. Os resultados obtidos estão mostrados na tabela abaixo:

Proteína/mutante	Atividade Biológica (%)	Conteúdo α -hélice (%)	Conteúdo folhas β (%)
Proteína nativa	100	26	36
Arg60Asp	0	26	36
Arg60Lis	100	24	30
Glu 30 Δ Ile	50	10	42
Leu150Pro	100	10	20
Leu40Pro	50	23	43

Com base nesses resultados, podemos afirmar que:

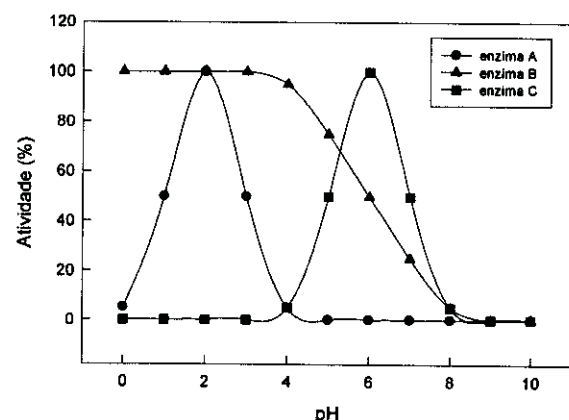
- (A) os resíduos Leu 40, Arg 60 e Glu 30 fazem parte do sítio ativo;
- (B) as Leu 40 e 150 e o Glu 60 participam da formação de α hélices;
- (C) a atividade biológica depende somente da Arg 60 e dos resíduos que fazem parte do sítio ativo;
- (D) somente os resíduos Glu 30 e Leu 150 são importantes para estrutura da proteína;
- (E) interações eletrostáticas com o resíduo 60 são importantes para a atividade biológica.

18. Embora a catálise enzimática seja reversível, uma determinada reação pode parecer irreversível
- (A) se os produtos são muito mais estáveis termodinamicamente do que os reagentes;
- (B) em pHs extremos;
- (C) se o produto acumula;
- (D) em altas concentrações de enzima;
- (E) em condições de equilíbrio.

19. Em 1969, William P. Jencks sugeriu o termo "anticorpos catalíticos" para designar anticorpos capazes de catalisar determinada reação, ou seja, capazes de funcionar como enzimas. O antígeno que deve ser usado para a produção desses anticorpos deve ser análogo ao:

- (A) produto da reação;
- (B) estado de transição;
- (C) sítio ativo;
- (D) substrato da enzima;
- (E) complexo enzima-substrato.

20. Observe no gráfico a seguir o efeito do pH sobre 3 enzimas hipotéticas e assinale a alternativa correta:



- (A) a enzima A apresenta atividade ótima quando a concentração de prótons do meio é quatro vezes maior do que aquela na qual a atividade da enzima C é ótima;
- (B) a enzima C apresenta atividade ótima quando a concentração de prótons do meio é quatro vezes maior do que aquela na qual a atividade da enzima A é ótima;
- (C) a protonação de resíduos de histidinas deve ser necessária para que a enzima B esteja na sua forma ativa;
- (D) a enzima A depende de baixa concentração de prótons para sua atividade;
- (E) o K_m da enzima B é 6.

21. Os ácidos graxos apresentam funções estruturais, regulatórias e energéticas nas células. As funções destas moléculas dependem de suas características estruturais. A respeito destas informações, pode-se afirmar que:

- I - a principal característica estrutural que determina a função dos ácidos graxos é o tamanho da cadeia de carbonos.
- II - a β -oxidação é a principal via de degradação oxidativa dos ácidos graxos e acontece nas mitocôndrias e nos peroxisomos.
- III - os ácidos graxos poli-insaturados das séries omega-3 e omega-6 são precursores de importantes sinalizadores celulares, os eicosanóides.
- IV - os ácidos graxos saturados aumentam a fluidez das membranas celulares.
- V - o único ácido graxo capaz de sofrer β -oxidação é o ácido palmítico, pois é o único transportado para a matriz mitocondrial.

Assinale a alternativa correta:

- (A) as afirmativas I e II estão corretas;
- (B) as afirmativas I e III estão corretas;
- (C) as afirmativas II e III estão corretas;
- (D) as afirmativas IV e V estão corretas;
- (E) todas as afirmativas estão corretas.

22. A oxidação total de uma molécula de glicose tem como produtos finais seis moléculas de CO_2 e seis moléculas de H_2O , liberando uma grande quantidade de energia. No entanto, para que esse processo exotérmico ocorra *in vivo* e haja aproveitamento da energia contida na molécula de glicose são necessárias várias etapas intermediárias. Na primeira etapa da via de metabolização da glicose, a glicólise, ocorre o gasto de duas moléculas de ATP. Observe as afirmativas abaixo:

- I - a energia da oxidação da glicose não pode ser aproveitada se não houver acoplamento com a formação de ligações fosfato de alta energia.
- II - o ATP é usado na fosforilação da glicose.
- III - a fosforilação da glicose impede que a mesma atravesse a membrana da célula onde vai ser metabolizada.
- IV - a fosforilação da glicose vai permitir a atuação da hexoquinase.

Assinale a alternativa correta:

- (A) os itens I, II e IV estão corretos;
- (B) os itens I, II e III estão corretos;
- (C) os itens I e IV estão corretos;
- (D) os itens I, III e IV estão corretos;
- (E) todos os itens estão corretos.

23. A glicólise é a via de degradação da glicose e sua conversão em piruvato. O piruvato formado pode ser oxidado ou reduzido, dependendo do tipo celular e/ou do estado metabólico da célula. A respeito da glicólise em células eucarióticas, é correto afirmar que:

- (A) a redução de piruvato com formação de lactato pode ser estimulada quando a capacidade oxidativa da célula não está sincronizada com a produção de piruvato pela glicólise;
- (B) durante o exercício físico, a redução de piruvato com formação de lactato é estimulada pela alta atividade mitocondrial de oxidação do piruvato e síntese de ATP;
- (C) a oxidação do piruvato com formação de acetil-CoA ocorre em células desprovidas de mitocôndrias, como as hemácias;
- (D) a oxidação de piruvato em CO_2 e H_2O gera uma quantidade de ATP menor do que sua redução a lactato;
- (E) a oxidação de piruvato com conseqüente formação de lactato e regeneração de NAD^+ contribui para a manutenção do estado redox da célula.

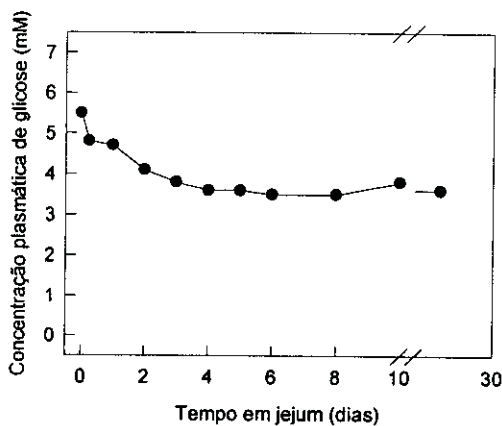
24. A atividade de duas diferentes substâncias, X e Y, foi testada sobre consumo de oxigênio e produção de ATP em mitocôndrias isoladas. Os resultados obtidos mostraram que a substância X diminui o consumo de O_2 e a produção de ATP, enquanto a substância Y aumenta o consumo de O_2 e diminui a produção de ATP. Sabendo-se que todas as substâncias interferem na fosforilação oxidativa, podemos afirmar que:

- (A) X bloqueia o transporte de elétrons e Y é um desacoplador;
- (B) X é um desacoplador e Y bloqueia o transporte de elétrons;
- (C) X inibe a ATP sintase e Y bloqueia o transporte de elétrons;
- (D) X bloqueia o transporte de elétrons e Y estimula o transporte de elétrons;
- (E) X estimula o transporte de elétrons e Y bloqueia a formação do gradiente de prótons.

25. A deficiência em carnitina causa uma série de sintomas clínicos que vão desde câibras recorrentes até fraqueza severa, podendo levar à morte. A via metabólica diretamente comprometida em quadros de deficiência em carnitina é:

- (A) degradação de glicogênio;
- (B) síntese de glicogênio;
- (C) síntese de ácidos graxos;
- (D) formação de corpos cetônicos;
- (E) β -oxidação de ácidos graxos.

26. O gráfico a seguir mostra a variação na glicemia de um indivíduo submetido a um jejum completo. Neste caso, alguns fatores que contribuem para manutenção da concentração sanguínea de glicose relativamente constante. Observe as afirmativas abaixo.



- I - A degradação do glicogênio hepático gera glicose que é liberada na corrente sanguínea.
- II - Todas as células do organismo deixam de consumir a glicose presente no sangue.
- III - A síntese de glicose a partir de precursores não glicídicos, conhecida como gliconeogênese, possibilita a liberação de glicose pelo fígado e pelos rins.
- IV - A gliconeogênese a partir de aminoácidos provenientes da degradação de proteínas estruturais e de ácidos graxos provenientes da mobilização dos triacilgliceróis no tecido adiposo possibilita a liberação de glicose na corrente sanguínea.

Assinale a alternativa correta:

- (A) apenas a alternativa I está correta;
 - (B) as alternativas I e III estão corretas;
 - (C) apenas a alternativa II está correta;
 - (D) as alternativas I e IV estão corretas;
 - (E) as alternativas I, III e IV estão corretas.
27. A origem de características e funções complexas deve ser visualizada preferencialmente como sucessivos eventos de mudanças de uma forma mais simples até o estágio mais complexo. O código genético universal é hoje complexo: lido de três em três bases, com quatro nucleotídeos possíveis, que perfazem 64 possibilidades de códons para 20 aminoácidos codificados. Leia as afirmativas a seguir que versam sobre a origem do código genético:

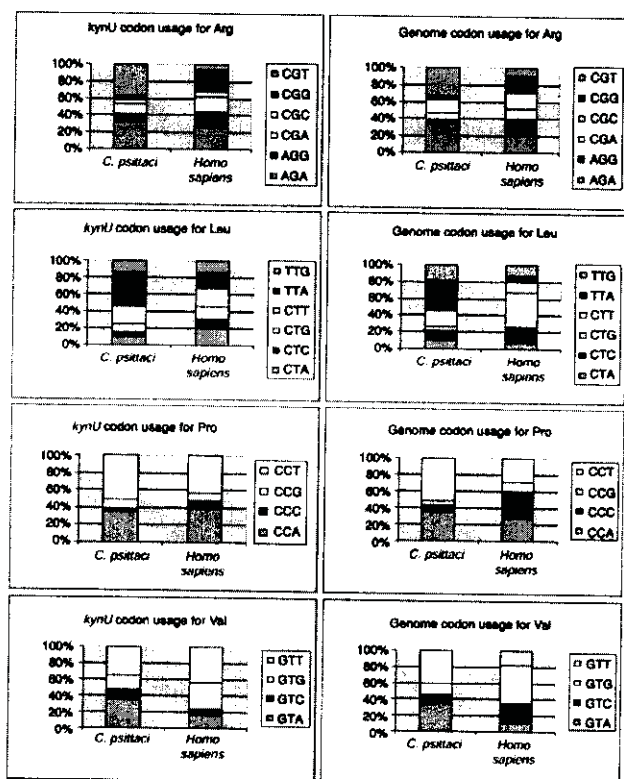
- I. O código genético sempre teve os mesmos constituintes básicos e os mesmos significados, pois qualquer forma de simplificação do código atual é simplesmente inconcebível biologicamente;
- II. O código genético inicial era lido de base em base, com cada base significando um único aminoácido. Ou seja, os quatro nucleotídeos significavam apenas quatro aminoácidos. Neste caso, as proteínas iniciais eram três vezes mais longas que as atuais;

- III. O código inicial sempre foi lido de três em três bases, mas apenas uma base significava aminoácidos. Ou seja, o código genético tinha a mesma estrutura, mas era mais degenerado do que o atual.

Estão corretas:

- (A) apenas I;
- (B) apenas II;
- (C) apenas III;
- (D) apenas I e III;
- (E) I, II e III.

28. A tabela abaixo foi retirada de um artigo da *Genomic Biology* publicado em 2002, na comparação do uso diferencial de códons no gene *KynU* e no genoma das espécies *Chlamydia psittaci* e *Homo sapiens*. Leia as afirmativas abaixo, sobre as possíveis conclusões dos autores.



- I. *C. psittaci* e *H. sapiens* apresentam muitas diferenças nos desvios no uso de codon;
- II. Diferenças nas populações de tRNAs da célula são a causa do desvio no uso de códons que, portanto, não mostra diferença entre os genes do genoma;
- III. Códons terminados por pirimidinas tendem a ser mais usados nos aminoácidos Arg e Leu em *Homo sapiens*.

Assinale a alternativa verdadeira:

- (A) apenas a primeira é verdadeira;
- (B) apenas as duas primeiras são verdadeiras;
- (C) as três afirmativas são verdadeiras;
- (D) apenas a primeira e a terceira são verdadeiras;
- (E) apenas a terceira é verdadeira.

29. Sobre o DNA e o RNA, é INCORRETO afirmar que:

- (A) os nucleotídeos estão ligados entre si por ligações covalentes fosfodiéster entre o carbono 5' de um nucleotídeo e o 3' de outro;
- (B) o RNA geralmente é encontrado em fita simples e por pareamento entre regiões de homologia numa mesma molécula pode assumir estruturas espaciais relevantes para seu metabolismo;
- (C) a hélice dupla fita de DNA apresenta uma cavidade maior e menor;
- (D) o mRNA eucariótico sofre no núcleo a adição de 5' CAP, de 3' cauda poli-A em alguns mRNAs e o processo de *splicing* para retirada do éxons;
- (E) a análise comparativa do perfil da população de mRNA de um determinado tecido de um organismo mantido sob dois tratamentos distintos, pode revelar genes com expressão induzida ou reprimida por um determinado tratamento.

30. Sobre a transcrição é correto afirmar que:

- (A) a região promotora é responsável pela ligação dos ribossomos;
- (B) o início de transcrição é determinado pelo codon de início AUG;
- (C) a RNA polimerase pode depender da presença de proteínas regulatórias ativas para iniciar a transcrição;
- (D) ativadores transcricionais se ligam à região operadora para uma regulação negativa da transcrição;
- (E) o término de transcrição é determinado pela degradação da subunidade Sigma da RNA polimerase.

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E ANÁLISE PROTEÔMICA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS

31. A cruzaina ou cruzipaina, principal cisteino proteinase presente no parasita *Trypanosoma cruzi*, teve sua estrutura solucionada por cristalografia de raios X. Sua estrutura apresenta enovelamento semelhante àquele da papaína, a cisteino proteinase mais estudada até hoje, apresentando dois domínios, um chamado domínio L, composto quase que exclusivamente por α -hélice, e o domínio R, que possui uma região de folhas β antiparalelas. O sítio ativo da cruzipaina é formado pelos resíduos Cis 25, His 159, Asn 175 (numeração da papaína). Apesar das homologias de seqüência e estrutural, um inibidor típico de cisteino proteases que inibe 100% a atividade da papaína não inibe de forma eficaz a cruzipaina. Sabendo-se que este inibidor se acomoda exclusivamente no sítio ativo da enzima podemos afirmar que:

- outros aminoácidos fazem parte da tríade catalítica da papaína.
- resíduos de aminoácidos vizinhos à tríade catalítica participam da interação com substratos e inibidores, e são diferentes quando comparamos a papaína e a cruzipaina.
- todas as diferenças encontradas entre estas enzimas podem servir de base para o desenho de inibidores mais específicos.

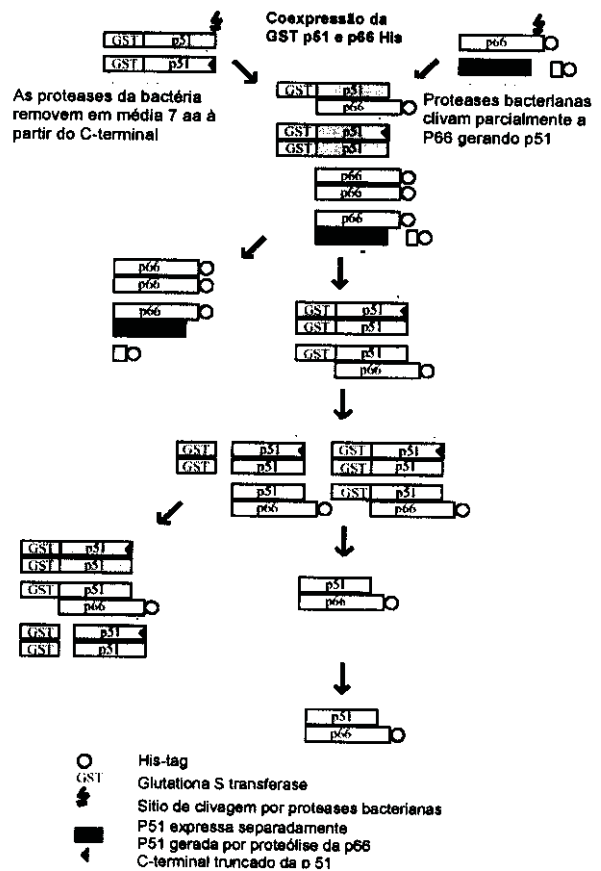
Assinale a alternativa correta:

- as afirmativas I e II estão corretas;
- as afirmativas I e III estão corretas;
- as afirmativas II e III estão corretas;
- somente a alternativa II está correta;
- somente a alternativa III está correta.

32. A proteína principal presente na superfície da forma promastigota de *Leishmania* é uma metaloproteinase chamada de GP63. A expressão desta proteína em sistema heterólogo (em células de inseto) foi bem sucedida. No entanto, a proteína se encontrava inativa. Foi mostrado, para enzimas da mesma família, que estas são expressas numa forma latente, na qual a atividade se encontra bloqueada pela presença de uma interação entre um resíduo de cisteína, presente no pro-peptídeo, e o zinco presente no sítio ativo, num mecanismo chamado de "switch off". Para verificar se a enzima recombinante se encontra na forma latente, o tratamento que se recomenda para recuperar a atividade é:

- fazer a hidrólise com uma cisteino protease;
- adicionar uma pequena concentração de GP63 já ativada;
- fazer tratamentos que removam o zinco, com ortofenantrolina por exemplo;
- fazer tratamento com agentes redutores;
- fazer tratamento com agentes que levem a mudanças conformacionais como SDS e metais.

33. O esquema abaixo mostra a estratégia de purificação de uma proteína recombinante heterodimérica (extraído de Eur. J. Biochem.: 261,10-18, 1999)



As possíveis estratégias utilizadas para cada etapa mostrada no esquema foram:

- I- coluna de afinidade de Ni/nitrilotriacetato, II- tratamento com protease, III- coluna de gel-filtração e IV- coluna de glutaciona agarose;
- I- coluna de afinidade de glutaciona agarose, II- hidrólise ácida, III- coluna de gel-filtração e IV- coluna de Ni/nitrilotriacetato;
- I- coluna de afinidade de glutaciona agarose, II- tratamento com protease, III- coluna de fase reversa e IV- coluna de Ni/nitrilotriacetato;
- I- coluna de afinidade de glutaciona agarose, II- hidrólise ácida, III- coluna de fase reversa e IV- coluna de Ni/nitrilotriacetato.
- I- coluna de afinidade de Ni/nitrilotriacetato, II- tratamento com protease, III- coluna de fase reversa e IV- coluna de glutaciona agarose,

34. Na análise de proteínas secretadas por um tripanosomatídeo em cultura foi verificada a presença de uma atividade inibidora da enzima conversora de angiotensina. Como estratégia inicial, os pesquisadores resolveram separar as proteínas acima de 10 kDa de peptídeos menores. A atividade foi encontrada na fração peptídica. Uma segunda etapa de purificação mostrou que o peptídeo ativo apresentava uma característica muito hidrofóbica. A partir destes dados podemos afirmar que:

- (A) a primeira etapa foi uma precipitação com sulfato de amônia e a segunda foi uma cromatografia de troca iônica;
- (B) a primeira etapa foi uma cromatografia de gel filtração e a segunda uma cromatografia de afinidade;
- (C) a primeira etapa foi uma ultrafiltração e a segunda uma cromatografia de troca iônica;
- (D) a primeira etapa foi uma fase reversa e a segunda uma ultrafiltração;
- (E) a primeira etapa foi uma ultrafiltração e a segunda uma cromatografia de fase reversa.

35. São consideradas limitações da eletroforese bidimensional:

- I. a análise de proteínas que tenham massa molecular acima de 200 kDa e abaixo de 8 kDa;
- II. a análise de proteínas que tenham ponto isoelétrico extremos;
- III. a análise de proteínas que são expressas com número de cópias reduzido;
- IV. a análise de isoformas.

Assinale a alternativa correta:

- (A) todas as afirmativas estão corretas;
- (B) nenhuma das afirmativas está correta;
- (C) apenas as afirmativas I, II e III estão corretas;
- (D) apenas as afirmativas I, II e IV estão corretas;
- (E) apenas as afirmativas II, III e IV estão corretas.

36. A obtenção do genoma completo de alguns parasitos será essencial para o entendimento do desenvolvimento parasitário. As estratégias pós-genômicas constituem um passo essencial para a compreensão dos mecanismos biológicos que provocam as mudanças de estágios, e para o desenvolvimento de drogas que possam combater a infecção e o crescimento dos parasitas. Nugente e colaboradores (*Molecular & Biochemical Parasitology* 136 (2004) 51–62) avaliaram a distribuição de proteínas de *Leishmania mexicana* em três diferentes estágios. Os pesquisadores iniciaram seus estudos analisando as atividades proteásica e nucleásica. A forma amastigota do parasita apresentou um elevado nível de proteases. A lise das células nos diferentes estágios foi realizada em quatro diferentes condições e aquela que mostrou melhor resultado foi: 2% SB3-10, 2% CHAPS, 5M uréia, 2M tiouréia, 0,5% de tampão IPG, 5mM Tris(2-carboxyethyl)-fosfina. A análise da forma amastigota mostrou ausência de proteínas de alta massa molecular. A partir dos dados relatados podemos afirmar que:

- I. deveríamos adicionar inibidores de proteases principalmente durante a extração das proteínas da forma amastigota.
- II. deveríamos ferver a amostra, depois da extração nas condições indicadas, para obter um resultado melhor, especialmente para forma amastigota.

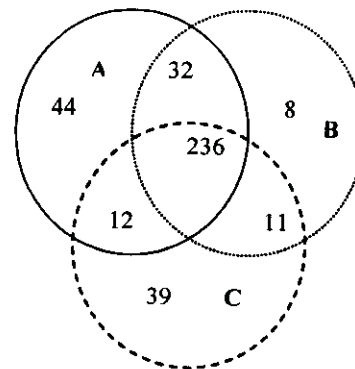
III. a utilização dos detergentes, uréia e tiouréia auxiliam na dissociação das proteínas que estariam associadas na célula;

IV. nenhum agente redutor foi adicionado às amostras.

Assinale a alternativa correta:

- (A) apenas as afirmativas I e III estão corretas
- (B) apenas as afirmativas II e IV estão corretas;
- (C) apenas as afirmativas I e IV estão corretas
- (D) apenas as afirmativas I, III e IV estão corretas;
- (E) apenas as afirmativas I, II e III estão corretas.

37. Para analisar a expressão diferencial de proteínas de um tripanosomatídeo em três diferentes estágios (A, B, e C) realizou-se a eletroforese bidimensional dos extratos celulares. Todas as eletroforeses foram repetidas pelo menos três vezes. De acordo com os resultados foi construído o diagrama abaixo:



Assinale a alternativa que NÃO corresponde a um resultado encontrado:

- (A) foram observadas 324 proteínas na condição A, 287 na condição B e 298 na condição C;
- (B) as condições A, B e C compartilham 236 proteínas;
- (C) a condição A apresenta 37 proteínas diferentes da condição B e 26 da condição C;
- (D) 39 proteínas são exclusivas da condição C;
- (E) as condições A e C compartilham 248 proteínas.

38. A análise de expressão diferencial de proteínas de diferentes tipos celulares foi muito facilitada depois da implementação das técnicas DIGE (Fluorescence 2-D Difference Gel Electrophoresis). Nesta técnica, as amostras provenientes de diferentes condições são marcadas com sondas fluorescentes específicas e apenas um gel 2D é corrido. Depois da digitalização do gel nos diferentes comprimentos de onda, escolhidos de acordo as sondas fluorescentes utilizadas, é realizada a análise do gel através de um programa denominado DeCyder. Uma das plataformas faz a análise "diferencial in gel" (DIA) para avaliação da abundância relativa de uma proteína através da comparação:

- (A) da área ocupada pelo "spot" observado com as diferente sondas;
- (B) do volume ocupado pelo "spot" observado com as diferente sondas;
- (C) da fluorescência total do "spot" observado com as diferente sondas;
- (D) da coloração total do "spot" observado com as diferente sondas;
- (E) do diâmetro do "spot" observado com as diferente sondas;

39. Mais recentemente, técnicas de proteólise extensiva de proteínas de extratos celulares, seguida de separação dos peptídeos por nanoHPLC acoplado a espectrômetro de massas tipo ESI, chamada de identificação de proteínas multidimensional (MudPIT), ganharam força devido ao alto desempenho. No entanto, proteínas de membrana ainda têm limitação de identificação devido à dificuldade de clivagem. O grupo do Dr Yates estabeleceu uma técnica específica de clivagem usando proteinase K em pH alto. Este protocolo permite:

- (A) a solubilização das membranas e conseqüente hidrólise total das proteínas;
- (B) a hidrólise das proteínas na porção C-terminal dos resíduos de lisina;
- (C) a quebra dos compartimentos membranares fechados produzindo membranas abertas onde as proteínas são clivadas pela proteinase K somente nas porções expostas;
- (D) a extração das proteínas e sua hidrólise na porção N-terminal dos resíduos de lisina;
- (E) a separação das frações membranares por sedimentação e hidrólise das proteínas nas suas porções membranares.

40. Durante o estabelecimento de técnicas para obtenção de um protocolo adequado para hidrólise de proteínas separadas por eletroforese bidimensional, utilizou-se a lisozima como padrão. Para tanto, diferentes quantidades da proteína foram previamente separadas por SDS-PAGE. As hidrólises ocorreram na presença de 12,5 µg/ml de tripsina diluída em 25 mM de carbonato de amônia. Os resultados obtidos estão mostrados na tabela abaixo:

Quantidade analisada (µg)	No. de picos obtidos	Intensidad e máxima	Identificação (% cobertura)
0,01	8	2500	negativa
0,05	20	10000	Positiva (15%)
0,1	50	3x10 ⁵	Positiva (55%)
0,5	30	2x 10 ⁴	Positiva (40%)
1	12	1500	negativa

De acordo com os dados obtidos podemos afirmar que:

- (A) é possível extrapolar estes resultados para todas as proteínas;
 - (B) a quantidade 0,01 mg de lisozima por se muito maior do que a de tripsina resultou em uma hidrólise inadequada;
 - (C) a quantidade de 0,5 mg foi ideal para a hidrólise da lisozima, pois o número de picos esperados para hidrólise total da lisozima é de aproximadamente 30 peptídeos;
 - (D) para 1 mg de lisozima, a tripsina foi inativada;
 - (E) a melhor identificação foi com 0,1 mg uma vez que houve uma maior cobertura da seqüência.
41. O estudo da interação entre proteínas é fundamental para a atribuição de funções de proteínas conhecidas e desconhecidas. As abordagens utilizando espectrometria de massa são muitas, entre elas a utilização de "crosslinkers" – tanto para identificação dos sítios de interação, como para identificação de "parceiros" – é uma estratégia muito empregada. No

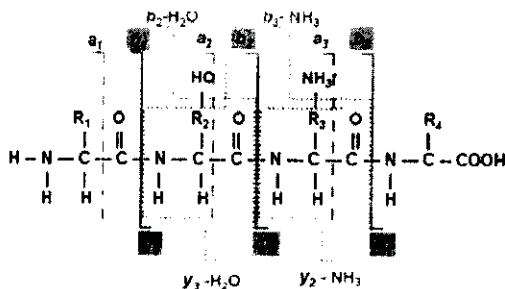
entanto, estas estratégias são de difícil interpretação, pois os reagentes ("crosslinkers") podem interagir com diversas partes da molécula dependendo dos sítios alvo. Um reagente desenvolvido recentemente possui uma ligação clivada por grupos tióis. Assim, o protocolo utilizado envolve: (a) incubação de proteínas que formam complexos não covalentes com os "crosslinkers" formando um complexo covalentemente estável; (b) o complexo é digerido por proteólise enzimática e os peptídeos analisados por espectrometria de massa; (c) em seguida trata-se a mistura de peptídeos com reagentes tióis e se obtém os novos espectros. Comparando-se os espectros antes e depois do tratamento com reagentes tióis podem-se determinar os peptídeos que se ligaram na interface da interação entre as proteínas e os peptídeos de superfície que interagiram com o crosslinker. A partir deste protocolo devemos esperar que depois do tratamento com agente redutor:

- (A) os peptídeos ligados unicamente ao "crosslinker" perderão uma massa conhecida; a massa correspondente aos peptídeos que estão na interface de interação desaparecerá do espectro, com o aparecimento de duas massas menores que somadas resultam na massa desaparecida;
- (B) somente as massas correspondentes aos peptídeos ligados ao crosslinker desaparecerão do espectro;
- (C) somente as massas correspondentes aos peptídeos não ligados ao crosslinker desaparecerão do espectro;
- (D) somente as massas correspondentes aos peptídeos que estão na interface de interação desaparecerão do espectro;
- (E) os peptídeos ligados unicamente ao crosslinker não serão modificados e os peptídeos que estão na interface de interação desaparecerão do espectro com o aparecimento de duas massas menores e somatórias.

42. A utilização de anticorpos monoclonais tem sido importante na identificação e caracterização funcional de proteínas. Recentemente, várias técnicas associando a utilização de anticorpos monoclonais e espectrometria de massa tem sido utilizadas para a determinação de epitópos específicos e comparação de epitópos entre proteínas reconhecidas pelo mesmo anticorpo. Dentre as técnicas existentes uma delas descreve a incubação dos peptídeos, gerados por hidrólise da proteína alvo, com os anticorpos monoclonais ou policlonais estudados. Os espectros do mapa peptídico são obtidos na presença e ausência dos anticorpos. Sobre os resultados esperados podemos afirmar:

- (A) somente os peptídeos que interagem com os anticorpos poderão ser visualizados no espectro na presença do anticorpo, quando comparados com o espectro em sua ausência;
- (B) os peptídeos que interagem com o anticorpo serão suprimidos do espectro quando se compara com o espectro em sua ausência;
- (C) não é possível realizar este experimento pois os complexos antígeno-anticorpo têm massas moleculares muito altas;
- (D) verificaremos o deslocamento da massa do anticorpo, que corresponde à massa do mesmo associado ao epitopo ligado;
- (E) verificaremos um deslocamento de ~80 Da da massa do peptídeo que interagiu com o anticorpo.

43. O esquema abaixo mostra os principais pontos de fragmentação que ocorrem em um peptídeo quando este é clivado no espectrômetro de massa em tandem. Dependendo da ionização do fragmento, podemos visualizar os íons das diferentes séries. As linhas cinzas contínuas mostram:



- (A) a fragmentação do peptídeo que forma as séries *a* do lado C-terminal e *y* a partir do N-terminal;
 (B) a fragmentação do peptídeo que forma as séries *x* do lado C-terminal e *a* a partir do N-terminal;
 (C) a fragmentação do peptídeo que forma as séries *y* do lado C-terminal e *a* a partir do N-terminal;
 (D) a fragmentação do peptídeo que forma as séries *y* do lado C-terminal e *b* a partir do N-terminal;
 (E) a fragmentação do peptídeo que forma as séries *b* do lado C-terminal e *x* a partir do N-terminal.

44. No sequenciamento do peptídeo EGSR, os fragmentos gerados pela série *y* seriam:

(As massas moleculares monoisotópicas dos resíduos de aminoácidos são:

E = 129,04; G = 57,02; S = 87,03; R = 156,10).

- (A) 148,43; 205,45; 292,48; 448,58;
 (B) 147,43; 204,45; 291,48; 447,58;
 (C) 175,10; 262,13; 319,15; 448,58;
 (D) 174,12; 261,15; 318,18; 447,58;
 (E) 57,02; 87,03; 129,04; 174,12.

45. A análise de proteínas glicosiladas pode ser realizada por espectrometria de massa depois de ação de enzimas como a N-glicosidase. Nesta reação:

- (A) a enzima quebra o grupo glicano, resultando na formação de glicosamina e deixando um resíduo de ácido aspártico no lugar da asparagina;
 (B) a enzima quebra o grupo glicano, resultando na formação de glicosamina e deixando um resíduo de ácido glutâmico no lugar de glutamina;
 (C) a enzima quebra o grupo glicano, resultando na formação de um glicosil e deixando o resíduo de asparagina;
 (D) a enzima quebra o grupo glicano, resultando na formação de um glicosil e deixando o resíduo de glutamina;
 (E) a enzima quebra o grupo glicano, resultando na formação de um glicosil deixando o resíduo de lisina.

46. A análise de proteínas fosforiladas por espectrometria de massa apresenta algumas dificuldades, principalmente relacionadas à quantidade relativa do peptídeo fosforilado na mistura de peptídeos depois de uma hidrólise com tripsina. Em uma técnica desenvolvida recentemente, podemos purificar os peptídeos contendo modificações através do tratamento com etanoditiol em pH ácido. Este tratamento provocará a perda de H_3PO_4 devido à β -eliminação que ocorre em fosfo-serina ou fosfo-treonina. A reação com etanoditiol leva à substituição do fosfato por um grupo tiol formando um "tag". Podemos ligar a este grupo a molécula de biotina, facilitando a purificação dos peptídeos modificados por coluna de afinidade com avidina. No entanto, nesta técnica os grupos tióis de cisteínas devem ser protegidos. Assinale a alternativa que corresponde ao método que permite melhor bloqueio dos resíduos de cisteína neste caso:

- (A) oxidação com ácido perbórmico;
 (B) alquilação com iodacetamida;
 (C) redução com ditioneitol;
 (D) redução com cisteína;
 (E) oxidação com glutatona.

Observe a tabela abaixo que está relacionada às duas próximas questões. A tabela mostra proteínas identificadas em um gel bidimensional do extrato celular de *Leishmania panamensis*.

Spot	Proteína	MM Exper.	MM Teór.	pI Exper.	pI Teór.	No. picos (%cobertura)	Score Mascot
1	β -Tubulina	22,2	49,7	5,32	4,5	2(4,7)	104
2	Cisteína sintase	34,4	35,7	6,87	6,55	5(15)	121
	Frutose 1,6 bifosfato aldolase	34,4	41,2	6,87	8,89	4(12)	158
3	Piruvato Desidrogenase	35	42,8	6,85	7,8	2(7)	86
4	Heat Shock Protein 83	38,2	81	5,5	5,08	13(15)	615
5	Glicose 6-P Desidrogenase	16,6	63,6	6,6	5,98	3(6)	77
6	Proteína ligadora de Ram	18,1	17,7	5,91	5,5	3(18)	177
7	Espectro bom sem identificação	18,3	-	6,21	-	-	-

47. Em relação à tabela acima a proteína que foi identificada com maior grau de confiabilidade é:

- (A) a β -Tubulina, pois é a primeira da lista;
 (B) a proteína "heat shock protein", pois a mesma apresenta maior número de peptídeos identificados e maior cobertura de seqüência;
 (C) a proteína ligadora de RAM, pois apresentou maior cobertura de seqüência;
 (D) a cisteína sintase, pois esta apresenta massa molecular e pI experimentais próximos dos teóricos;
 (E) a piruvato desidrogenase, pois os somente 2 peptídeos não foram identificados;

48. Ainda em relação à tabela, leia as afirmativas abaixo:

- I. a única possibilidade para não identificação do spot 7 é que a proteína não se encontra nos bancos de dados;
- II. os spots 2 e 3 provavelmente se encontram próximos no gel;
- III. as proteínas dos spots 1, 4 e 5 sofreram hidrólise por proteases;
- IV. a glicose 6-P desidrogenase se encontra fosforilada.

Assinale a alternativa correta:

- (A) todas as afirmativas estão corretas;
- (B) somente a alternativa I está correta;
- (C) as alternativas II e III estão corretas;
- (D) as alternativas III e IV estão corretas;
- (E) apenas a alternativa IV está correta.

49. Um estudo recente, publicado na revista Science, 2005, mostrou a análise proteômica do parasita *Trypanosoma cruzi* em seus quatro diferentes estágios. Entre os achados mais importantes deste estudo podemos citar:

- I. das 50 proteínas identificadas com maior "score" para os tripomastigotas, 30 se referem à família das trans-sialidases;
- II. os amastigotas e metacíclicos expressam "subsets" específicos de trans-sialidases, enquanto essas enzimas não foram identificadas em epimastigotas;
- III. MASPs ("mucin associate surface proteins") foram encontradas principalmente em tripomastigotas;
- IV. a transformação de tripomastigota para amastigota é acompanhada por uma mudança do metabolismo energético dependente de lipídeo para dependente carboidrato, mostrada pela ausência de transportadores de glicose na forma amastigota.

Assinale a alternativa correta:

- (A) todas as afirmativas estão corretas;
- (B) somente a alternativa I está correta;
- (C) somente a alternativa IV está correta.;
- (D) as alternativas I, III e IV estão corretas;
- (E) as alternativas I, II e III estão corretas.

50. O número de genomas seqüenciados de parasitas e hospedeiros tem crescido ano a ano. Apesar dos avanços significativos que o genoma trouxe para a biologia, é uma abordagem limitada para a compreensão dos processos biológicos, pois, a estrutura das proteínas, sua função e abundância e o momento de sua expressão nem sempre podem ser preditos somente através da seqüência de DNA. Assim a era pós genômica necessita de teorias e técnicas que respondam as perguntas de maneira mais integrada no sistema. O parasito e hospedeiros se cruzam numa interface que passa pelo estudo da doença e da resposta do hospedeiro/ parasita. Alguns estudos têm mostrado a produção de uma variedade de moléculas induzidas pela infecção parasitária em hospedeiros relacionados à resposta imune (constitutiva, induzida e específica). A maior parte dos trabalhos publicados compara células ou tecidos de hospedeiros normais com os respectivos modelos infectados por um único parasita. Observe as afirmativas abaixo:

- I. Nos modelos que estudam a resposta celular a um único parasita, a diferenciação entre resposta específica (que pode ser usada no diagnóstico) e resposta de defesa inespecífica fica dificultada;

PORQUE

- II. A comparação da resposta obtida pelo mesmo organismo (tecidos ou células) a diferentes parasitas ou outras agressões - físicas por exemplo - pode fornecer dados mais completos que diferenciem a resposta específica da inespecífica;
 - (A) as duas afirmações são verdadeiras e a segunda justifica a primeira;
 - (B) as duas afirmações são verdadeiras e a segunda não justifica a primeira;
 - (C) as duas afirmações são falsas;
 - (D) a primeira afirmação é verdadeira e a segunda é falsa;
 - (E) a primeira afirmação é falsa e a segunda é verdadeira.