

Identificação: _____

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA QUÍMICA
Avaliação para obtenção de bolsa de Mestrado e Doutorado – Capes
20 de fevereiro de 2019

ATENÇÃO :

COLOQUE SEU NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO EM TODAS AS FOLHAS.

USE O VERSO DA MESMA QUESTÃO PARA A RESPOSTA

NÃO COLOQUE UMA RESPOSTA NA FOLHA DE OUTRA (FRENTE OU VERSO).

PEÇA FOLHA ADICIONAL POR QUESTÃO

OBSERVAÇÃO: A prova vale 10,0 pontos e cada questão vale 2,0 pontos. A prova é constituída por 8 questões, sendo que destas, duas (uma da química e outra da biologia) são obrigatórias e três questões (de sua escolha) deverão ser excluídas e indicadas abaixo. Assim, o aluno deverá responder a um total (e somente) de 5 questões.

As três questões excluídas foram: _____

Agência  **FAPESP**

ED. Online 31 Jan/2019 – Biossensores possibilitam novas abordagens na descoberta de medicamentos

*Pesquisadores canadenses, em parceria com brasileiros, desenvolveram 13 biossensores luminescentes capazes de testar a eficácia de novos medicamentos in vitro. O estudo, publicado na revista **Science Signaling**, abre caminho para que novas drogas sejam testadas e caracterizadas, uma vez que os biossensores em questão têm como base a atuação de receptores acoplados à proteína G (do inglês G protein-coupled receptors, GPCR) – proteínas localizadas na membrana celular com função de comunicação entre as células. Não é por acaso que o objeto de estudo sejam os GPCRs. Estima-se que entre um terço e metade de todos os medicamentos comercializados atualmente tenham esses receptores como alvo de ação. “Essas proteínas são alvos de fármacos utilizados no tratamento de um número amplo de doenças, como alergia, dor, hipertensão, diabetes, entre outras. A expectativa é que os novos biossensores atuem também na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de um número ainda mais amplo de doenças”, disse **Claudio Miguel da Costa-Neto**, professor do Departamento de Bioquímica e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP) e um dos autores do artigo. Costa-Neto explica que há alguns anos os testes in vitro para o desenvolvimento de novos medicamentos – realizados antes dos ensaios em modelo animal e em humanos – mostravam apenas se o composto ativava ou bloqueava uma dada resposta celular.*

“Fazendo uma analogia, há alguns anos esses testes eram feitos como se houvesse um interruptor que acendia ou não uma lâmpada. Recentemente, vimos que é possível analisar as diferentes vias que podem ser ativadas por um receptor, bem como o quanto uma dada via de sinalização é ativada. Então, não é mais só um liga e desliga. É como se tivéssemos uma sala com várias luzes de LED, ou um dimmer, capaz de dizer quais e quantas vias foram ativadas e, sobretudo, como foi feita essa ativação ou bloqueio. Nossos biossensores, e os outros que estão sendo desenvolvidos por outros grupos, dão uma resposta mais completa, como um perfil de sinalização”, disse. No estudo, os pesquisadores desenvolveram ferramentas para medir as diferentes vias de sinalização intracelular (biossensores de BRET, do inglês Bioluminescence Resonance Energy Transfer) e detectar a atuação de medicamentos em cultura celular. Isso porque as cascatas de sinalização celular resultantes de interações entre os receptores acoplados à proteína G (GPCRs) e seus ligantes

Identificação: _____

(proteínas) controlam uma ampla variedade de processos intracelulares, tornando-os os principais alvos para a descoberta de novos fármacos.

A equipe internacional de pesquisadores, por técnicas de engenharia genética e biologia molecular, adicionou enzimas fluorescentes e luminescentes (como a luciferase, a mesma encontrada em vagalumes) nas proteínas que interagem com os GPCRs.

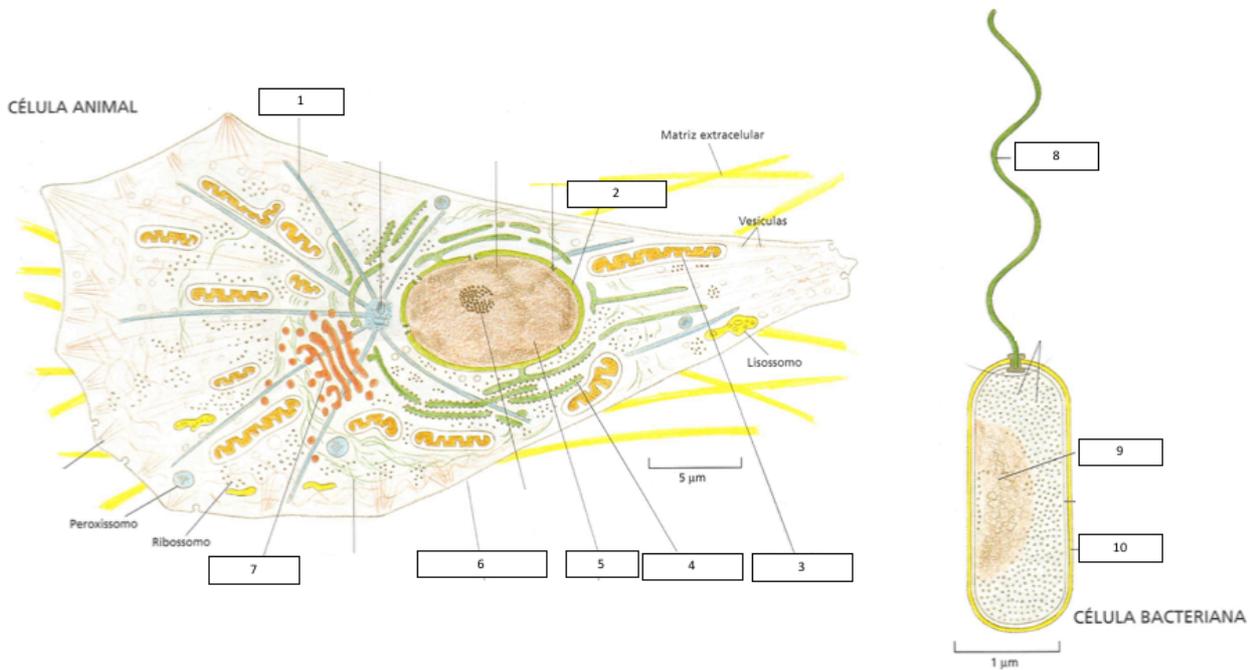
“Quando o receptor é ativado pelo fármaco e, portanto, aquela proteína de dentro da célula interage com o receptor, a luz emitida pela luciferase é transferida para a proteína fluorescente e esta é ativada. Com isso, conseguimos medir com precisão diferentes níveis de ação de um fármaco ou medicamento”, disse Costa-Neto.....

Identificação: _____

QUESTÃO 1 (QUESTÃO OBRIGATÓRIA DA ÁREA DE BIOLOGIA)

Bibliografia para questão OBRIGATÓRIA da Biologia: Alberts, B.; Bray, D.; Hopkin, K.; Johnson, A.; Lewis, J. Raff, M.; Roberts, K.; Walter. Fundamentos da Biologia Celular. Artmed Editora, 3ª edição, 2011. Cap. 1 – Introdução às células.

a) Identifique as estruturas celulares indicadas pelos números na imagem abaixo:



- 1- _____
- 2- _____
- 3- _____
- 4- _____
- 5- _____
- 6- _____
- 7- _____
- 8- _____
- 9- _____
- 10- _____

Identificação: _____

b) Explique as principais funções das estruturas com números 1 e 3.

Identificação: _____

QUESTÃO 2 (QUESTÃO OPTATIVA DA ÁREA DE BIOLOGIA)

Bibliografia: Guyton, A.C. & Hall, J.E. Tratado de Fisiologia Médica. 12a edição. Ed. Elsevier Ltda, 2011. (Cap. 1: Organização funcional do corpo humano e controle do “meio interno” e Cap. 4: O transporte de substâncias através das membranas celulares)

O receptor acoplado à proteína G (GPCR) está localizado na membrana plasmática das células. Para que um medicamento seja capaz de ativar ou inibir esse receptor, é necessário que ele seja transportado pelo fluido ou líquido extracelular do organismo. Esse líquido foi primeiramente definido como meio interno, pelo grande fisiologista francês do século XIX, Claude Bernard.

Com base no que você leu na bibliografia indicada para essa questão, descreva brevemente:

- a) as diferenças entre o líquido intracelular e o extracelular;
- b) a origem dos nutrientes do líquido extracelular.

Identificação: _____

QUESTÃO 3 (QUESTÃO OPTATIVA DA ÁREA DE BIOLOGIA)

Bibliografia: Alberts, B.; Bray, D.; Hopkin, K.; Johnson, A.; Lewis, J. Raff, M.; Roberts, K.; Walter. Fundamentos da Biologia Celular. Artmed Editora, 3ª edição, 2011. Cap. 16 – Comunicação Celular e Cap. 19 – Sexo e Genética.

Os receptores acoplados à proteína G (*do inglês G protein-coupled receptors, GPCR*) formam a família mais numerosa de receptores de superfície celular. As proteínas Gs são intermediárias essenciais para o mecanismo de transdução de sinal, ligando-se a diversos GPCRs, localizados na superfície celular. Apesar da grande diversidade de moléculas que podem se ligar aos GPCRs, a estrutura geral destes receptores é semelhante. Responda as questões abaixo referente aos GPCRs:

- a) Faça uma representação esquemática da estrutura geral dos GPCRs e identifique os 3 principais domínios destes receptores.
- b) Falhas nos mecanismos de `ligar` ou `desligar` o sinal da proteína G podem levar a patologias. Por exemplo, no caso do cólera, esta patologia é causada por uma bactéria que se multiplica no intestino e produz uma proteína chamada *toxina do cólera* que altera a proteína G e o seu padrão normal de inativação. Utilize esse exemplo, da bibliografia recomendada, para explicar o mecanismo pelo qual a proteína G é normalmente `desligada` após a ativação do GPCR .

Identificação: _____

QUESTÃO 4 (QUESTÃO OPTATIVA DA ÁREA DE BIOLOGIA)

Bibliografia Questão 4: Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case. Microbiologia. Cap. 7 - Controle do Crescimento Bacteriano.

1) Você trabalha em uma empresa de Biotecnologia e precisa preparar um litro de meio de cultura sólido que contém três grupos distintos de componentes. i) Uma solução de sais, ii) uma solução de vitaminas e iii) agarose a para solidificar o meio de cultura.

Abaixo, descreva qual método de esterilização você escolheria para cada componente, baseie sua resposta no capítulo 7 do livro do Tortora *et al* 10ed. Inclua na sua resposta a aplicação e a explicação sobre o(s) método(s) escolhido(s). Acrescente, se for o caso, tempo, temperatura e pressão e o modo pelo qual o microrganismo é morto/inativado.

Atenção: os componentes do item ii são termos sensíveis.

2) abaixo assinale V (verdadeiro) ou F (falso) para as afirmações relacionadas ao controle do crescimento bacteriano (cap. 7, Tortora *et al* 10ed.)

i. () Os halogênios, particularmente o iodo e o cloro, são agentes antimicrobianos eficazes, tanto isoladamente quanto como constituintes de compostos inorgânicos ou orgânicos. O iodo (I₂) é um dos antissépticos mais antigos e mais eficazes, sendo eficiente contra todos os tipos de bactérias, muitos endosporos, vários fungos e alguns vírus.

ii. () antissepsia, tem a finalidade de reduzir as contagens microbianas a níveis seguros de saúde pública e minimizar as chances de transmissão de doença de um usuário para outro. Isso normalmente é obtido por lavagem em altas temperaturas ou, no caso das louças em um bar, lavagem em uma pia seguida por imersão em um desinfetante químico.

iii. () Na Degerminação temos a destruição de patógenos na forma vegetativa. Pode fazer uso de métodos físicos ou químicos

iv. () Esterilização comercial é o tratamento de calor suficiente para matar os endosporos de *Clostridium botulinum* em alimentos enlatados. Os endosporos mais resistentes de bactérias termófilas podem sobreviver, mas não irão germinar e crescer sob condições normais de armazenamento.

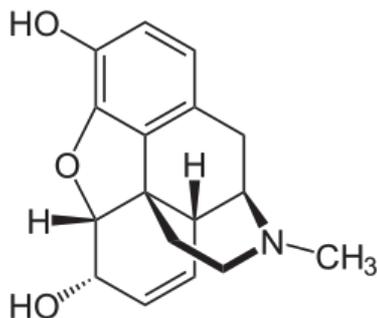
v. () Na esterilização em ar quente os itens a serem esterilizados por esse procedimento são colocados em uma autoclave. Geralmente, uma temperatura de cerca de 170°C mantida por aproximadamente duas horas que assegura a esterilização. Um tempo maior e uma temperatura mais alta (relativos ao calor úmido) são necessários, pois o calor na água é conduzido mais rapidamente para um corpo frio do que o calor no ar.

Identificação: _____

QUESTÃO 5 (QUESTÃO OBRIGATÓRIA DA ÁREA DE QUÍMICA)

Bibliografia: Bibliografia para questão básica da química: Brown T. L.; LeMay, H. E.; Bursten, B. E.; Burdge, J. R. Química: A Ciência Central. São Paulo: Prentice Hall, 2007. Cap 8 – Conceitos básicos de ligação química.

A morfina é um potente analgésico de origem natural que atua sobre os receptores acoplados na proteína G. Considerando a estrutura da morfina (apresentada abaixo) responda as questões:



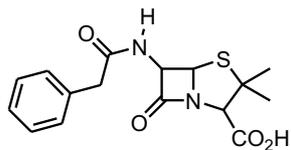
- Classifique a morfina em termos de polaridade (apolar, pouco polar ou muito polar). Justifique a sua resposta em termos estruturais comparando a estrutura da morfina com estruturas de outras substâncias químicas.
- Apresente todas as estruturas de ressonância plausíveis (com separação de cargas) considerando a porção fenólica presente na estrutura da morfina.

Identificação: _____

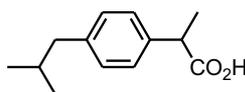
QUESTÃO 6 (QUESTÃO OPTATIVA DA ÁREA DE QUÍMICA)

Bibliografia: Brown T. L.; LeMay, H. E.; Bursten, B. E.; Burdge, J. R. Química: A Ciência Central. São Paulo: Prentice Hall, 2007. Cap. 13 - Propriedades de soluções; Cap. 14 - Equilíbrio químico; Cap. 16 - Equilíbrio ácido/base; Cap. 17 - Equilíbrio Iônico em Solução Aquosa; Cap. 25 - Química Orgânica e Biológica.

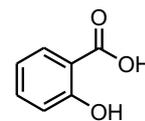
Fármacos utilizados nos estudos de interações com a proteína G são utilizados em uma série de doenças como alergia, dor, hipertensão, diabetes, entre outras. Muitos destes fármacos apresentam em sua estrutura diversas funções orgânicas ácidas. Considerando os fármacos abaixo dê o produto de reação destes com solução aquosa de NaOH.



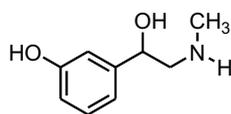
penicilina G



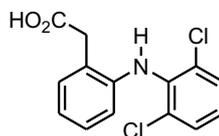
ibuprofeno



ácido salicílico



fenilefrina



diclofenaco

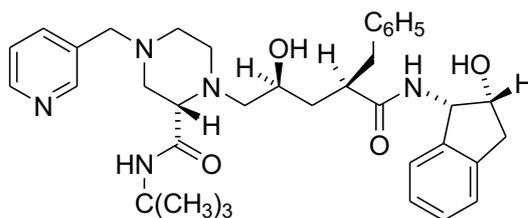
Identificação: _____

QUESTÃO 7 (QUESTÃO OPTATIVA DA ÁREA DE QUÍMICA)

Bibliografia: Brown T. L.; LeMay, H. E.; Bursten, B. E.; Burdge, J. R. Química: A Ciência Central. São Paulo: Prentice Hall, 2007. Cap. 13 - Propriedades de soluções; Cap. 14 - Equilíbrio químico; Cap. 16 - Equilíbrio ácido/base; Cap. 17 - Equilíbrio Iônico em Solução Aquosa; Cap. 25 - Química Orgânica e Biológica.

Crixivan, cuja estrutura está representada abaixo é um medicamento importante no tratamento de AIDS, atuando como inibidor de protease.

- Indique todos carbonos quirais na estrutura do crixivan.
- Desenhe a estrutura do enantiômero do crixivan.
- Uma mistura equimolar de crixivan e seu enantiômero vai apresentar atividade óptica? Justifique



Crixivan (inibidor de protease)

Identificação: _____

QUESTÃO 8 (QUESTÃO OPTATIVA DA ÁREA DE QUÍMICA)

Bibliografia: Brown T. L.; LeMay, H. E.; Bursten, B. E.; Burdge, J. R. Química: A Ciência Central. São Paulo: Prentice Hall, 2007. Cap. 13 - Propriedades de soluções; Cap. 14 - Equilíbrio químico; Cap. 16 - Equilíbrio ácido/base; Cap. 17 - Equilíbrio iônico em Solução Aquosa; Cap. 25 - Química Orgânica e Biológica.

Considerando um experimento com uma nova droga utilizando como modelo animais (ratos), onde serão usados 6 animais como controle e seis animais expostos à esta droga via oral. Os animais possuem peso médio de 250 g. Considere as informações físico-química da droga que está na sua forma líquida e apresenta a densidade de 0,98 g/ml e pureza de 97%. Os animais receberão uma dose diária de 50 μg por kg de animal, durante uma semana. Demostre (cálculos) e como você prepararia uma solução única para administrar a droga neste experimento, sendo ministrado um volume de 1 ml diário para estes animais (grupo tratado). Não esqueça que o grupo exposto deverá receber a dose diária de 50 μg por kg de animal.