

Prova de Seleção para Mestrado 2017 – PPGBB/ICC-Fiocruz PR

Fundamentos

Com base nos seus conhecimentos, responda 7 das 8 questões disponíveis:

Questão 1:

a) Na década de 1940, os biólogos tinham dificuldade para acreditar que o DNA era o material genético, devido principalmente à simplicidade de sua estrutura. Entretanto, após a descoberta da estrutura desta molécula por Watson e Crick, o potencial do DNA para a replicação e a codificação da informação tornou-se aparente. Cite, pelo menos duas características do DNA que o torne extraordinariamente adequado para ser a molécula responsável pela hereditariedade entre os seres vivos.

b) Qual a importância dos fragmentos de *Okasaki* na replicação do DNA? Qual das sequências de DNA a seguir é mais estável, ou seja, mais difícil de desnaturar? Por que?

AAACGTTTAAACAATTGCAAA ou GGGCCCTATGGGCCACACGG

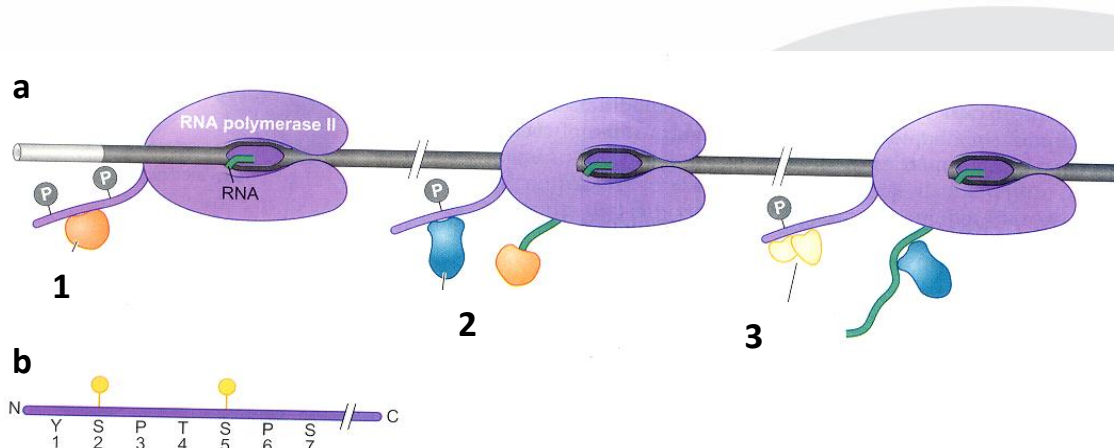
c) Pesquisadores da Fiocruz capturaram fêmeas do mosquito *Aedes aegypti* no quintal da casa da dona Joana em Paranaguá/PR. Ao construir uma biblioteca genômica a partir de células do epitélio intestinal do mosquito, encontraram 10 sequências de DNA com altíssima homologia com genes de humanos. Como explicar este achado?

Questão 2:

Explique porque as etapas que compõem o fluxo da informação genética de DNA até proteína (replicação, transcrição e tradução) são muito mais complexas em eucariotos do que em procariotos. Ressalte as principais diferenças entre estes mecanismos nos dois tipos celulares distintos.

Questão 3:

a) A figura abaixo representa a transcrição e as etapas de processamento do mRNA de eucariotos. Em (a), explique de maneira sucinta quais os processos que ocorrem de 1 a 3. O que significa a imagem em (b) e qual a importância desta estrutura para a RNA-polimerase II eucariótica?



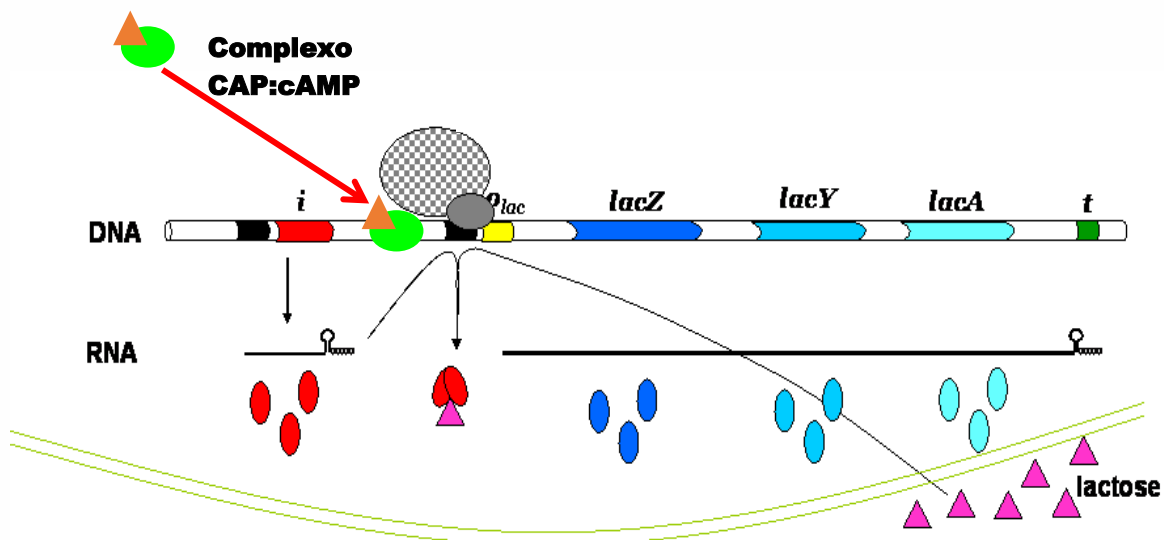
b) Uma ORF completa de um gene, após a remoção de um íntron e a junção dos dois exons, tem 780 nucleotídeos. Sem a retirada do íntron, esta sequência possui 1110 nucleotídeos. A sequência localizada imediatamente após o íntron até o último nucleotídeo do stop códon possui 390 nucleotídeos e constitui o exon 2. Com base nestas informações responda: Quantos aminoácidos o mRNA maduro de 780 nucleotídeos codifica? Por que? Qual é o tamanho do íntron? Quantos nucleotídeos possui o exon 1, localizado na porção 5' da ORF, a montante do íntron? Considerando que após a retirada do íntron, inserimos uma sequência de 120 nucleotídeos entre os dois exons, qual o tamanho (em aminoácidos) da proteína recombinante obtida? Faça um esquema da sequência gênica proposta e da proteína recombinante.

Questão 4:

a) Na visão tradicional, um mRNA eucariótico maduro é uma molécula com três principais regiões: a 5'UTR, a ORF e a 3'UTR. Este conceito assume que os ribossomos traduzem uma única ORF e produzem uma única proteína. Este conceito está correto? Justifique sua resposta.

b) A figura representa o operon *Lac* bacteriano. Diante das situações descritas abaixo, responda se o operon estará ativado ou desativado, explicando em detalhes sua resposta.

- + Glicose e + Lactose
- + Glicose e - Lactose
- Glicose e - Lactose
- Glicose e + Lactose



Questão 5:

Certa vez, um grupo de Cientistas Mirins veio ao ICC para desvendar os mistérios da membrana celular. Nesta ocasião lhes foi apresentado os diferentes tipos de moléculas que compõe as membranas celulares, como estas moléculas estão dispostas nestas estruturas e quão dinâmicas seriam suas interações. Para entender tudo isso na prática, o grupo de Cientistas Mirins foi levado ao Centro de Microscopia do ICC, onde alguns experimentos foram realizados.

Com base neste enunciado, responda às seguintes questões:

- a- Explique quais as características e o arranjo espacial das proteínas transmembranares que permitem a passagem de moléculas hidrofílicas através da membrana de uma célula. Dê um exemplo de como demonstrar este fenômeno na prática.
- b- Quais são as propriedades que regulam a fluidez de uma bicamada lipídica? Dê um exemplo de como demonstrar na prática a difusão das proteínas no plano da membrana plasmática.

Questão 6:

Durante um experimento hipotético em laboratório, foram realizadas infusões consecutivas de um determinado neurotransmissor no cérebro de camundongos para avaliação da atividade sináptica neuronal. Este neurotransmissor era capaz de provocar a abertura de canais de Ca^{2+} nos neurônios que acabavam por induzir um estímulo mensurável qualquer nestes animais. De acordo com as oscilações nos níveis de Ca^{2+} intracelular, os pesquisadores puderam observar diferentes variações na mensuração daquele estímulo. Estas variações chegaram ao ponto em que o estímulo se tornou permanente (ao menos durante um longo período de tempo), ainda que os níveis de Ca^{2+} intracelular já estivessem normalizados e as infusões do neurotransmissor fossem realizadas em intervalos longos de tempo.

Com base nas observações obtidas através deste experimento, explique o possível mecanismo de sinalização celular desencadeado nos neurônios dos camundongos.

Questão 7:

Cite quais são as formas de controle do ciclo celular através da regulação dos níveis de ciclinas na maioria dos eucariotos.

Questão 8:

Explique uma das formas pelas quais os fatores de sobrevivência, como os mitógenos e os fatores de crescimento, suprimem a apoptose.

Prova de Seleção para Mestrado 2016 – PPGBB/ICC-Fiocruz PR

Interpretação de Artigos Científicos

Selecione e responda quaisquer 3 perguntas, com base nos respectivos artigos:

*Obs.: Para cada resposta, indicar claramente o **número do artigo** e **número da questão**.*

ARTIGO 1

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

The Long Non-Coding RNA GAS5 Cooperates with the Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E to Regulate c-Myc Translation



Guangzhen Hu, Zhenkun Lou, Mamta Gupta*

Questão 1:

Qual a principal pergunta do artigo? Quais evidências científicas levaram os autores a formularem sua hipótese de trabalho? Qual a conclusão final do artigo?

Questão 2:

Na figura 1 os autores demonstraram que GAS5 está associado com eIF4E através de experimentos distintos. Escolha um destes experimentos e explique em detalhes a técnica utilizada, incluindo o(s) controle(s).

Questão 3: Em relação a Figura 4, responda:

- a) Por que os autores utilizaram cicloheximida no ensaio para verificar a estabilidade da proteína c-Myc nas células transfectadas com GAS5 siRNA?
- b) Qual o racional para a utilização da sequência de DNA sense e de GAPDH como controles no experimento de pull down com biotina?

ARTIGO 2

Exosomes mediate cell contact-independent ephrin-Eph signaling during axon guidance

Jingyi Gong,^{1,3} Roman Körner,^{2,3} Louise Gaitanos,¹ and Rüdiger Klein^{1,3}

Questão 1:

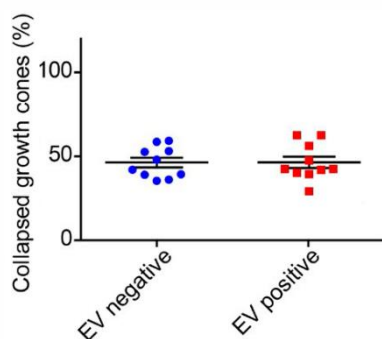
Segundo os autores, como os receptores EphB2 seriam possivelmente incorporados aos exossomos? De acordo com os resultados do trabalho descreva qual a maquinaria molecular que participa deste processo.

Questão 2:

Descreva como os autores demonstraram a possibilidade de sinalização celular pelo receptor EphB2 via vesículas extracelulares.

Questão 3:

Os autores demonstraram que as vesículas extracelulares positivas para EphB2 promovem o colapso dos cones de crescimento de neurônios motores nos cultivos de explantes corticais de camundongos. Considerando a interação das vesículas extracelulares e dos cones de crescimento neuronais, descreva qual poderia ser a conclusão se a contagem de cones de crescimento colapsados fosse a mesma naqueles em contato ou sem contato com as vesículas extracelulares (conforme gráfico abaixo – fig. 4G).



ARTIGO 3

GFinisher: a new strategy to refine and finish bacterial genome assemblies

Dieval Guizelini^{1,2}, Roberto T. Raittz², Leonardo M. Cruz^{1,2}, Emanuel M. Souza^{1,2},
Maria B. R. Steffens^{1,2} & Fabio O. Pedrosa^{1,2}

Questão 1:

O programa *GFinisher* surge com uma nova proposta para análise de genomas. Sendo assim:

- a) Qual é o principal objetivo do programa *GFinisher*?
- b) Qual o diferencial do programa *GFinisher* descrito pelos autores?

Questão 2:

Com base na figura 1, quais dados de entrada são necessários para realizar a análise e como o processo é realizado?

Questão 3:

Sobre a lógica *fuzzy*, responda:

- a) O que é lógica *fuzzy*?
- b) Analisando a figura 2, qual vantagem o uso da lógica *fuzzy* trouxe em relação à análise de *GC skew* original?