



FIOCRUZ

# Concurso Público Fiocruz 2023

## Pesquisador em Saúde Pública

### Prova Discursiva

**PE 47**

## Biologia Molecular Aplicada ao Desenvolvimento

### Espelho de Resposta

**Pontuação de cada Questão Discursiva conforme Anexo II do Edital nº 3, de acordo com a Unidade detentora da vaga.**

**ESPERA-SE QUE O CANDIDATO, NO DESENVOLVIMENTO DO TEMA, TENHA FEITO CONSIDERAÇÕES TÉCNICAS ADEQUADAS SOBRE OS SEGUINTE PONTOS: (a seguir relacione esses pontos de forma sintética).**

#### Questão 01

**-Desenho dos *primers* (oligonucleotideos) para amplificação do DNA** Espera-se que seja descrita a análise da sequência de DNA para verificação, por exemplo, da presença de íntrons, de códons raros, de região não transcrita, ou seja, análise que se considere necessária para definir a escolha da molécula molde e dos sistemas de clonagem e de expressão da proteína.

#### **-Obtenção da molécula molde do PCR**

Descrição de qual variação da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) será usada para amplificar o DNA: a partir da análise da sequência do DNA definir se será RT-PCR ou PCR. Se não for descrita a análise para verificação de íntrons/definição da técnica de PCR, ou seja se o candidato não se atentar que esta análise deve ser realizada no início do projeto e for adiante com DNA genômico sem justificar, considerar somente metade do valor da questão.

#### **-Escolha do sistema de clonagem, se será um vetor com algum marcador (a proteína será expressa em fusão com algum peptídeo ou não).**

Espera-se descrição explicativa da escolha do sistema de clonagem, com os detalhes do sistema escolhido

**-Escolha do sistema de expressão, se será um sistema em procarioto ou eucarioto, descrevendo as principais características do sistema escolhido; como a expressão da proteína será obtida**  
Baseado nas escolhas anteriores, descrever qual será o sistema de expressão da proteína mostrando pontos positivos e/ou negativos do sistema escolhido.

**- Descrição das principais técnicas utilizadas para acompanhamento das etapas do processo de obtenção da proteína recombinante**

Espera-se que sejam descritas as técnicas relacionadas às etapas de clonagem e expressão da proteína, como por exemplo as de avaliação da massa molecular e pureza do DNA amplificado e do DNA recombinante, o sequenciamento do DNA, entre outras técnicas avaliativas do processo.

Descrição de técnicas de avaliação da proteína recombinante obtida (englobando, por exemplo, as que avaliem as estruturas primárias, secundárias, terciárias e/ou quaternárias da molécula), de acordo com o que é pedido na questão:

‘Além disso, descreva quais técnicas serão usadas para avaliar se o processo de obtenção da proteína recombinante foi concluído com sucesso.’

## Questão 02

- a) A ligação peptídica é essencialmente plana, não havendo rotação no eixo C-N, apesar desta ligação ser simples, ela possui um caráter parcial de ligação dupla, conferindo rigidez a mesma.
- b) Apesar de a rotação nas ligações  $\Psi$  e  $\Phi$  serem livres devido as mesmas serem ligações simples podendo rotacionar de  $360^\circ$ , as características físico-químicas das cadeias laterais dos aminoácidos vizinhos limitam seus ângulos de rotação, assim como interações intra-cadeias, características de estruturas secundárias, i.e., hélices- $\alpha$  e folhas- $\beta$ .
- c) Alterações no pH do meio podem influenciar os níveis de protonação de algumas cadeias laterais de aminoácidos, ou as terminações amino e carboxi da proteína resultando em uma alteração na carga total da proteína, levando à atração ou repulsão eletrostática entre diferentes regiões da mesma. O efeito final é uma mudança na conformação tridimensional ou mesmo a completa desnaturação da proteína.
- d) 1) Ureia age principalmente sobre as interações hidrofóbicas, desfazendo-as.  
2) elevadas temperaturas fornecem energia térmica superior às forças de interação fracas, ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas, interações hidrofóbicas e forças de van der Waals, quebrando tais interações.  
3) Detergentes se ligam a regiões hidrofóbicas, prevenindo interações desta natureza entre cadeias laterais e/ou regiões hidrofóbicas da proteína.