



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* (oligonucleotídeos) 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 Ψ e Φ serem livres devido as mesmas serem ligações simples podendo rotacionar de 360° , 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- α e folhas- β .
- 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.