

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

FICHA DE EXPECTATIVA DE RESPOSTA DA PROVA ESCRITA

Edital nº:	035/2017-PROGESP
Carreira:	(X) MAGISTÉRIO SUPERIOR () MAGISTÉRIO EBTT
Unidade Acadêmica:	Departamento de Bioquímica
Área de Conhecimento:	Proteínas com Ênfase em Proteômica

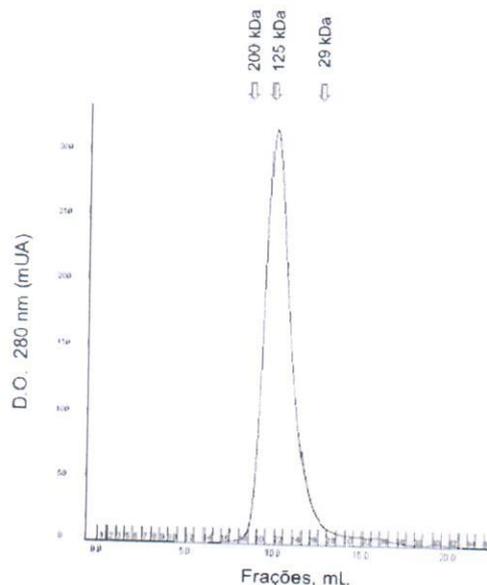
CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO PARA TODAS AS QUESTÕES DISCURSIVAS

- Clareza e propriedade no uso da linguagem;
- Coerência e coesão textual;
- Domínio dos conteúdos, evidenciando a compreensão dos temas objeto da prova;
- Domínio e precisão no uso de conceitos;
- Coerência no desenvolvimento das ideias e capacidade argumentativa.

QUESTÃO 1 - valor (0,00 a 03,00 pts):

Considere os dados experimentais a seguir de uma proteína hipotética purificada, denominada PRTN1.

- PRTN1 foi purificada em apenas 2 passos: precipitação com sulfato de amônio (30%), seguida de cromatografia de afinidade em uma coluna de Sepharose CL 4B (eluída com EDTA 100 mM, pH 7,0).
- Eletroforese (SDS-PAGE) de PRTN1, com e sem 2-mercaptoetanol, revelada por coloração com azul de Coomassie, mostrou uma banda única com 15,5 kDa.
- Cromatografia em Sephacryl S-300 de PRTN1, também revelou um único pico proteico (figura ao lado).
- PRTN1 aglutinou hemácias humanas do tipo B, sendo esta atividade suprimida apenas por lactose (mas não por sacarose, D-glicose ou D-galactose), ou quando a proteína foi extensivamente dialisada em pH ácido.
- A determinação quantitativa de PRTN1 não foi possível pelo método de Bradford, mas apenas por BCA (ácido bicinonínico).
- PRTN1 foi precipitada após aquecimento a 100 oC, em pH 4,0 (mas não em pH 7,0 ou 9,0).



Forneça tanta informação quanto possível a respeito da estrutura e classificação da proteína, explicitando suas deduções. Discuta, inclusive, quaisquer incoerências potenciais entre os dados fornecidos.

Handwritten signatures and initials in blue ink.

EXPECTATIVA DE RESPOSTA DA QUESTÃO 1:

PRTN1 é uma lectina (capacidade de hemaglutinação), que se liga especificamente com lactose na dependência de íon metálico, provavelmente cálcio (eluída da cromatografia de afinidade com EDTA e perde sua atividade após diálise em pH ácido, onde a proteína tem suas cargas negativas diminuídas). A proteína, na forma nativa, possui peso molecular ao redor de 125 kDa (Sephacryl) e é constituída de 8 subunidades proteicas (125/15,5) com mesma massa molecular, 15,5 kDa (SDS-PAGE), unidas por ligações não covalentes (mesma migração na SDS-PAGE com e sem 2-mercaptoetanol). PRTN1 tem característica de proteína ácida, PI próximo ao pH 4,0 (termoprecipitação neste pH), provavelmente rica em ácidos glutâmico e aspártico. Entretanto, este dado é inconsistente com a baixa concentração de sulfato de amônio (30%) necessária para precipitar a proteína. PRTN1 deve possuir uma reduzida quantidade de aminoácidos básicos e aromáticos (não é quantificada adequadamente pelo método de Bradford). Por este mesmo motivo, não deveria ser visualizada satisfatoriamente no gel de eletroforese pela técnica empregada (azul de Coomassie é o mesmo corante utilizado no reagente de Bradford).

QUESTÃO 2 - valor (0,00 a 03,00 pts):

O desenvolvimento das técnicas de sequenciamento de nova geração tem proporcionado um grande avanço na área da genômica, de modo que a quantidade de genomas completamente sequenciados tem crescido de forma marcante nas últimas décadas. As técnicas de análise transcricional também têm avançado sobremaneira nos últimos anos, igualmente beneficiadas pelo avanço nas técnicas de sequenciamento de ácidos nucleicos. Quando comparadas às técnicas de sequenciamento de ácidos nucleicos, as técnicas de identificação de proteínas ainda não atingiram a mesma resolução, embora tenham avançado consideravelmente nos últimos anos. Discuta como a integração de dados oriundos de diferentes tecnologias ômicas (genômica e transcriptômica) pode contribuir para a análise e interpretação de dados provenientes de proteomas.

EXPECTATIVA DE RESPOSTA DA QUESTÃO 2:

Espera-se que nessa questão o candidato descreva a relação informacional existente entre o genoma, onde a informação relativamente estática (praticamente inalterada em relação ao status fisiológico, ao tipo de tecido, etc.) o transcriptoma, que apresenta variações consideráveis em relação ao tipo de tecido, à condição fisiológica, etc., e ao proteoma, que é também variável dependendo do modelo biológico. Embora a busca em bancos de sequências de peptídeos seja o padrão ouro para a análise de sequências proteicas, as informações obtidas pelo genoma e pelo transcriptoma da amostra podem contribuir para a identificação de variantes específicas como mutações que introduzam códons de parada, podendo eventualmente produzir peptídeos menores do que os encontrados nos bancos de dados, etc. Espera-se que o candidato disserte sobre a proteogenômica, que representa uma área de interface entre genômica e proteômica, onde técnicas computacionais são utilizadas para gerar informações do conteúdo proteico esperado a partir da análise genômica, com digestões simuladas, a fim de enriquecer bancos de dados proteicos de baixa resolução. Da mesma forma, a construção do transcriptoma da amostra pode auxiliar na identificação da variabilidade da amostra. Ainda, a identificação de possíveis variantes de splicing pode ser facilitada pela análise transcricionais, desde que utilizada uma tecnologia que contemple esse tipo de análise. Os dados transcricionais podem ser especialmente úteis quando o modelo biológico envolve organismos com seus proteomas pouco representados em bancos de peptídeos.



QUESTÃO 3 - valor (0,00 a 04,00 pts):

As proteínas são biomoléculas de grande diversidade estrutural e funcional, podendo ser utilizadas como biomarcadores de diversos processos patológicos. Boa parte do conteúdo proteico de uma amostra advém de proteínas ordinárias, como proteínas de citoesqueleto, albumina no soro, etc. Entretanto, muitas patologias estão associadas a proteínas quantitativamente pouco representadas no proteoma de uma amostra biológica, tornando esses analitos difíceis alvos de investigação (por exemplo, o soro possui uma variabilidade de 5 ordens de grandeza na concentração de diferentes proteínas e espera-se que os biomarcadores de doenças sejam encontrados na faixa de menor concentração). Descreva e discuta os principais problemas encontrados na extração, purificação, e identificação de biomarcadores, bem como as principais estratégias a serem aplicadas para a validação biológica dessas proteínas.

EXPECTATIVA DE RESPOSTA DA QUESTÃO 3:

Espera-se que os candidatos dissertem sobre dificuldades experimentais na extração, purificação e identificação de proteínas (por exemplo a baixa solubilidade em tampões contendo uréia; diferente solubilidade de proteínas de membrana em relação aos detergentes disponíveis; peptídeos com baixa capacidade de ionização para identificação em espectrometria de massas; proteínas de organismos com baixa cobertura em bancos de peptídeos, entre outros). Ainda os candidatos devem sugerir alternativas para melhor preparação das amostras, já que é esperado que os biomarcadores proteicos possuam baixa representatividade no proteoma (por exemplo o uso de colunas de purificação de amostras, como as colunas comerciais de depleção de proteínas abundantes do soro; isolamento de organelas para aumentar a representatividade de determinada proteína; uso de filtros de diferentes tamanhos (5k, 10k, 20k, 40k, 50k, 100k; uso de tiras para focalização isoelétrica com diferentes faixas de pI para melhor resolver as proteínas em abordagens de eletroforese bi-dimensional). Quanto as estratégias para validação biológica de biomarcadores proteicos, os candidatos poderiam sugerir a utilização modelos celulares da patologia em questão combinados com o estabelecimento de algum desfecho biológico relevante para o biomarcador (por exemplo, métodos que avaliam a viabilidade celular para biomarcadores de morte) e através da modulação dos níveis de expressão da proteína com ferramentas de biologia molecular (superexpressão e silenciamento gênico) avaliar o comportamento desse biomarcador frente ao desfecho estabelecido. Ainda, os candidatos poderiam sugerir a comparação dos níveis do biomarcador em estudos depositados em repositórios públicos (de proteoma ou transcriptoma) com dados clinico-patológico dos pacientes (tempo de doença, sobrevida, etc) para aumentar a robustez do biomarcador em questão.

**Assinatura dos Membros da
Comissão**

1º membro (Presidente):

2º membro:

3º membro:

