

### Exercício 1 - *blender experiment*

Em 1952, Alfred Hershey (1908-1997) e Martha Chase (1927-2003) contribuiu com a



identificação do DNA como material hereditário. Hershey e Chase realizaram o “*blender experiment*”. Basicamente foram experiências com um vírus, o fago T2, cuja estrutura era conhecida (uma cápsula proteica envolvendo o seu material genético). O fago infecta bactérias aderindo-se à sua membrana externa e injeta algum material no citoplasma bacteriano e deixa acoplado o capsídeo a membrana. Daí a célula da bactéria produz várias partículas virais. Numa primeira experiência, produziram fagos em meio cujo **um dos elementos do DNA** fora marcado por um

isótopo radioativo. Depois puseram os fagos em uma cultura bacteriana, *Escherichia coli*. Feito isso observaram que o indicador radioativo era visível somente nas células bacterianas e não nas coberturas proteicas remanescentes na membrana. Numa segunda experiência, produziram fagos em **meio com aminoácidos marcados** com um isótopo radioativo. E ao proceder da mesma maneira; fora realizada a infecção de *E. coli* seguida Depois da separação, feita num liquidificador (*blender*) observaram que o indicador estava presente nas capsídeos proteicos e não nas bactérias infectadas. Com isto confirmou-se que é o material genético viral que é o responsável por infectar a bactéria.

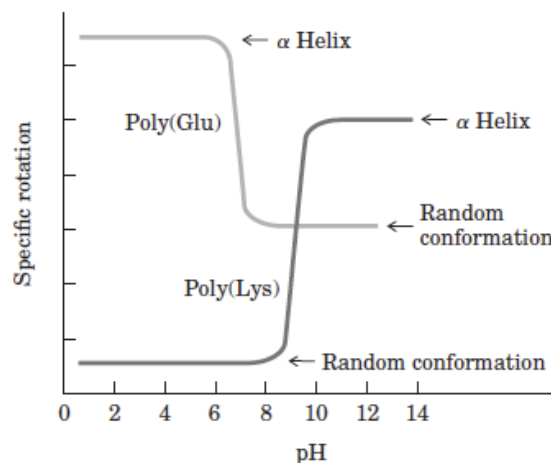
Este experimento foi essencial para se elucidar a hipótese de eram as moléculas de DNA as responsáveis pela transmissão de informações genéticas e desvincular esse papel das proteínas. Entretanto esse experimento só foi possível de ser realizado escolhendo-se na **primeira e na segunda experiência elementos exclusivos das respectivas moléculas** para serem marcados com isótopos radioativos. Pergunta-se:

- Quais elementos seriam esses?
- Se você fosse membro da equipe de Alfred Hershey e Martha Chase responsável por cultivar os fagos em meio com os aminoácidos marcados com isótopos radioativos, e houvesse no laboratório um frasco com L-aminoácidos e D-aminoácidos, qual deles você escolheria para utilizar e por quê?
- Quais as estruturas dos aminoácidos que tiveram seus grupamentos R marcados com o isótopo radioativo em questão?
- Quais as propriedades das cadeias laterais desses aminoácidos quanto a polaridade?

**Exercício 2 - Síndrome de Li Fraumeni** - A Síndrome de Li Fraumeni (LFS) foi descrita em 1969. Corresponde a uma síndrome rara, caracterizada por mutações herdadas no gene P53 (cerca de 70% dos casos). Ou seja, Li Fraumeni caracteriza-se pela predisposição ao câncer, os portadores de 50 anos possuem vinte e cinco vezes mais chances de desenvolver vários tipos de tumores malignos, comparada com a população em geral. Mais de 85% dos casos de LFS são causados mutações genéticas que causam a substituição de um aminoácido por outro na mesma posição na proteína p53, resultando na produção de uma proteína pouco funcional. Tais mutações são comuns no cólon, cérebro, pulmões, mama, pele, bexiga, dentre outros órgãos.

- Baseando-se em estruturas de polipeptídios, explique como a substituição de um aminoácido por outro pode alterar a atividade de uma proteína.
- A uma reportagem em um blog continha a seguinte afirmação “**toda substituição de aminoácidos em um polipeptídio compromete sua atividade biológica**”. Imagine-se como um leitor consciente e escreva um comentário que você faria para contornar o possível equívoco da afirmação, explicando quais os possíveis impactos sobre a estrutura primária, secundária e terciária de polipetídeos.

**Exercício 3 - Estrutura secundária** - A desnaturação de uma alfa-hélice formando um polipeptídeo sem estrutura definida (*random coil*) é acompanhada da diminuição de uma propriedade chamada rotação específica (a capacidade de uma solução de alterar o plano da luz plano-polarizada). Poli-Glu, um polipeptídeo constituído apenas por resíduos de L-Glu, assume conformação em alfa-hélice a pH 3.0. Quando o pH é aumentado para 7.0, ocorre uma grande diminuição da rotação específica da solução. De forma análoga, a poli-Lys (resíduos de L-Lys) forma uma alfa-hélice em pH 10.0, mas quando o pH é diminuído para 7.0 a rotação específica da solução diminui conforme mostrado no gráfico abaixo:



Qual é a explicação para o efeito do pH sobre a conformação de poli-Glu e poli-Lys? Por que essa transição ocorre em uma faixa tão estreita de pH?

**Exercício 4 - Peptídeos Microbianos** - Peptídeos antimicrobianos (PAMs) fazem parte do sistema de defesa de muitas plantas e animais, e apresentam potente ação contra micro-organismos parasitas e patógenos, sem causar danos às células do organismo hospedeiro. Dentre eles os mastoparinas são uma família de peptídeos líticos, extraídos de veneno de vespas. Esses PAMs que apresentam moderada a intensa atividade antimicrobiana e alguns são hemolíticos e citotóxicos. Embora o mecanismo de ação destes peptídeos não seja bem compreendido ainda, aceita-se que envolva desestabilização da fase lipídica da membrana celular. Acredita-se que a carga líquida do peptídeo e sua hidrofobicidade média contribuam na modulação da atividade.

- Algumas pesquisas mostram que a atividade dos PAMs é dependente dos valores de pH nos quais eles se encontram. Como meios de pHs diferentes podem alterar a estrutura dos peptídeos e alterar sua atividade biológica?
- Cada peptídeo, e polipeptídeo, demonstra um comportamento de carga em diferentes valores de pH, qual a solução experimental adotada comumente em laboratórios para se ter certeza de que o meio utilizado se manterá próximo ao valor de pH determinado durante um experimento?