Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica

Edital Geral PRPGP/UFSM N° 065/2024

Seleção 20251/ 3ª janela – Nível Mestrado

# Prova de conhecimentos gerais em Bioquímica e Biologia Molecular

Nome do candidato: _____

INSTRUÇÕES:

- A prova tem duração de duas horas (2h).
- É permitido consultar dicionário inglês/português (material físico).
- O caderno de questões e a folha de respostas definitiva devem ser entregues aos avaliadores ao final da prova.
- O caderno de questões e o gabarito final serão publicados na página do PPGBTox após a prova.
- As questões são objetivas e possuem apenas uma alternativa correta.
- Suas respostas devem ser embasadas no texto do caderno de questões e no seu conhecimento sobre o assunto.
- A folha de respostas definitiva encontra-se na próxima página e deve ser preenchida de maneira que seja possível identificar as suas respostas.

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica

Edital Geral PRPGP/UFSM N° 065/2024

Seleção 20251/ 3ª janela – Nível Mestrado

# Prova de conhecimentos gerais em Bioquímica e Biologia Molecular

Nome do candidato: _____

Documento do candidato: _____

FOLHA DE RESPOSTAS DEFINITIVA:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 01 | a) ( ) | b) ( ) | c) ( ) | d) ( ) | e) ( ) |
| 04 | a) ( ) | b) ( ) | c) ( ) | d) ( ) | e) ( ) |
| 03 | a) ( ) | b) ( ) | c) ( ) | d) ( ) | e) ( ) |
| 04 | a) ( ) | b) ( ) | c) ( ) | d) ( ) | e) ( ) |
| 05 | a) ( ) | b) ( ) | c) ( ) | d) ( ) | e) ( ) |
| 06 | a) ( ) | b) ( ) | c) ( ) | d) ( ) | e) ( ) |
| 07 | a) ( ) | b) ( ) | c) ( ) | d) ( ) | e) ( ) |
| 08 | a) ( ) | b) ( ) | c) ( ) | d) ( ) | e) ( ) |
| 09 | a) ( ) | b) ( ) | c) ( ) | d) ( ) | e) ( ) |
| 10 | a) ( ) | b) ( ) | c) ( ) | d) ( ) | e) ( ) |

Assinatura do candidato: _____

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica

Edital Geral PRPGP/UFSM N° 065/2024

Seleção 20251/ 3ª janela – Nível Mestrado

## Caderno de Questões

Read the report below, adapted from the Science magazine website, and answer the questions that follow:

# Gene-editing therapy made in just 6 months helps baby with life-threatening disease

Custom CRISPR paves the way for treating genetic disorders in tailormade ways

15 May 2025 By Jocelyn Kaiser

doi: 10.1126/science.zp4aln0

In a world first, researchers report easing the symptoms of a baby boy with a rare, life-threatening disease by giving him a version of the CRISPR gene editor tailored to a mutation he carries.

The boy, first treated in February at just 7 months old, still needs a special diet and medication; the experimental therapy alone isn't enough to prevent a dangerous buildup of ammonia in his blood caused by a faulty gene for a key liver enzyme. Still, the rapid development of a gene editor that appears to have repaired the defect in some of his liver cells is a landmark demonstration of a personalized approach that has tantalized rare disease researchers.

His treatment relies on a base editor, a variation on the better known CRISPR. With CRISPR, an enzyme fully cuts DNA at a specific site in the genome determined by a strand of guide RNA. In base editors, CRISPR's enzyme is altered so it only nicks one of DNA's double strands. A second enzyme then swaps out a DNA base, correcting a single "letter" misspelling. Base editors infused into a body to edit liver cells have shown success at treating adults with a high cholesterol disease and another genetic disorder.

Cardiologist Kiran Musunuru of the University of Pennsylvania Perelman School of Medicine, who helped develop one such treatment, and Rebecca Ahrens-Nicklas, a physician-scientist at Penn Medicine and the Children's Hospital of Philadelphia (CHOP) who treats metabolic diseases, wanted to move on to a bigger challenge. They set their sights on quickly designing base editors customized for young patients born with diseases called urea cycle disorders, who might avoid organ damage and other complications if treated very early in life. These conditions involve defects—often a single-base change—in genes encoding enzymes the liver needs to create harmless urea from the body's ammonia. Ammonia, produced by the breakdown of proteins, accumulates in the blood, where it can cause lethargy, coma, and brain damage.

The idea was to develop a pipeline to rapidly test various base-editing enzyme components and guide RNAs to find a combination that could effectively repair a patient's mutated gene. The Penn Medicine team and collaborators first practiced on mice with various mutations for a metabolic disorder called phenylketonuria. By streamlining steps such as inserting the disease gene into cultured cells, they reduced the time needed to make a custom base editor from 1 to 2 years to months and showed they could cure the mice.

In August 2024, they found an ideal human test case, a baby whose urea acid disorder would likely become so severe the potential benefits of treating him outweighed the risks. The infant, nicknamed KJ by his family, was diagnosed soon after birth with severe carbamoyl phosphate synthetase 1 (CPS1) deficiency, a disease that occurs in just one in 1 million births. Doctors immediately controlled KJ's ammonia levels with a low-protein diet and nitrogen-scavenging drugs, but he was likely going to need a risky liver transplant.

The CHOP/Penn Medicine team and collaborators raced to develop and test a base editor to correct one of KJ's broken copies of the CPS1 gene in just 6 months. After safety testing in lab animals, they got regulatory approval to infuse microscopic balls of fats, known as lipid nanoparticles, carrying messenger RNA encoding the editing tools into the bloodstream of the nearly 7-month-old.

Although the team didn't feel it could ethically do a risky liver biopsy to prove the base editor repaired KJ's cells, indirect evidence suggests it worked. After three doses, KJ can consume more protein and needs less medication to control his blood ammonia levels. The study's approval only allowed KJ to get three doses of the base editor, and he's clearly not cured. But his doctors hope he can avoid a liver transplant—and could in theory get more doses of the base editor as he grows. He is reaching developmental milestones and his father, Kyle Muldoon, said in a press call, "We're very, very happy with the results." He will soon go home from the hospital.

The treatment caused levels of certain liver enzymes to rise, signaling an immune response to the nanoparticles or their cargo, but they soon returned to normal. As with CRISPR, base editors have a theoretical risk of changing unintended DNA sequences—indeed, tests of KJ's base editor on cells revealed an off-target change, but not one likely to cause harm. "We're thrilled," Ahrens-Nicklas says. "This seems to be safe. … There's some early signs that this is going to benefit [KJ]." Musunuru adds, "Our hope is that this will be the start of something that many, many others around the world will pick up on."

Another promising approach relies on a CRISPR-like tool not to repair a gene, but to insert a whole working version at a specific site in the genome. A baby who received this treatment for a different urea cycle disorder, ornithine transcarbamylase (OTC), is now off all special diet and medication, a company reported in January and in recent scientific meeting presentations.

The gene insertion strategy is delivered with a virus, however, which carries its own risks. It can only be given once for now and is much more expensive to manufacture than base editors. Medical geneticist Cary Harding of Oregon Health & Science University, who is consulting on the trial for OTC, welcomes a diversity of strategies to treat these rare but devastating conditions. "At this stage, it's all experimental and all [approaches] deserve to be explored."

**QUESTÃO 01.**

Com base no artigo fornecido, qual das seguintes afirmações melhor resume a principal conquista e a significância da terapia de edição genética relatada?

a) Pesquisadores alcançaram uma melhora significativa e duradoura em um distúrbio grave do ciclo da ureia de um bebê, usando uma forma avançada da tecnologia CRISPR, levando a uma quase eliminação da necessidade de restrições alimentares.

b) Uma nova terapia de edição de base, personalizada e desenvolvida rapidamente, mostrou resultados promissores em um bebê com uma rara deficiência de enzima hepática, reduzindo sua necessidade de medicação e potencialmente evitando um transplante de fígado.

c) O estudo destacou principalmente o potencial de medicamentos personalizados baseados em RNA para uma ampla gama de distúrbios metabólicos hepáticos hereditários em crianças, demonstrando sua natureza menos invasiva em comparação com os tratamentos tradicionais.

d) Cientistas alcançaram com sucesso uma reparação quase completa de um gene mutado em uma porção substancial das células hepáticas de um bebê através de uma terapia genética viral de ponta, levando a um benefício substancial a longo prazo para sua condição.

e) O foco principal desta pesquisa inovadora foi otimizar os sistemas de entrega de ferramentas de edição genética para uma aplicação mais ampla em uma infinidade de condições genéticas raras, visando a acessibilidade generalizada em vez do sucesso de pacientes individuais.

**QUESTÃO 02.**

O caso do Bebê KJ é apresentado como um marco na terapia genética para distúrbios metabólicos hereditários. Dada a natureza fatal de sua condição, que era caracterizada pela incapacidade do corpo de processar eficazmente um subproduto comum do metabolismo de proteínas, qual deficiência enzimática específica destacada no artigo foi o alvo da terapia de edição genética?

a) Fenilcetonúria (PKU), um distúrbio do metabolismo da fenilalanina, que pode levar a danos neurológicos graves se não tratado na infância.
b) Deficiência de Ornitina Transcarbamilase (OTC), um distúrbio do ciclo da ureia ligado ao X que também causa hiperamonemia e sintomas graves em recém-nascidos.
c) Acidemia Metilmalônica (MMA), um distúrbio do metabolismo de ácidos orgânicos que pode levar a acidose metabólica grave e complicações neurológicas no início da vida.
d) Doença da Urina do Xarope de Bordo (MSUD), um distúrbio do metabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada que causa acúmulo tóxico e efeitos neurológicos graves em crianças.
e) Deficiência de Carbamoil Fosfato Sintetase 1 (CPS1), um distúrbio autossômico recessivo do ciclo da ureia caracterizado pela incapacidade do fígado de converter amônia em ureia.

**QUESTÃO 03.**

A rara deficiência de enzima hepática do Bebê KJ, conforme discutido no artigo, leva a um acúmulo crítico de uma substância altamente tóxica em sua corrente sanguínea. Essa substância é um subproduto perigoso do metabolismo de proteínas que, quando acumulada, pode causar danos neurológicos graves e outras complicações com risco de vida. Qual é essa substância nociva?

a) Glicose
b) Ureia
c) Aminoácidos
d) Amônia
e) Ácidos Graxos

**QUESTÃO 04.**

A tecnologia CRISPR-Cas (do inglês, *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-CRISPR-associated proteins*) revolucionou a engenharia genética ao permitir a edição precisa do genoma. Considerando os princípios básicos e as diversas aplicações

do sistema CRISPR-Cas em biotecnologia e medicina, qual das seguintes afirmações é a mais precisa?

a) A principal característica do CRISPR-Cas é sua capacidade de fazer cortes aleatórios no DNA para induzir mutações, sendo sua precisão uma preocupação secundária, já que o foco é gerar variabilidade genética.
b) Apesar de sua precisão, a tecnologia CRISPR-Cas ainda possui uma grande limitação na completa ausência de efeitos "off-target" (edições em locais não intencionais), garantindo que todas as modificações genéticas sejam sempre seguras e previsíveis.
c) A especificidade de direcionamento do CRISPR-Cas é determinada por uma sequência de RNA guia que se pareia com o DNA alvo, enquanto a enzima Cas é responsável por fazer cortes precisos na dupla hélice, abrindo caminho para inserções, deleções ou correções genéticas.
d) Variações do sistema CRISPR, como os editores de base, são essencialmente ferramentas para silenciamento da expressão gênica, atuando principalmente na degradação de mRNA, e, portanto, não são adequadas para correções permanentes no nível do DNA genômico, especialmente para mutações de ponto único.
e) As principais aplicações da tecnologia CRISPR-Cas são restritas à pesquisa laboratorial básica, com perspectivas limitadas de tradução para terapias humanas ou melhoramento genético de culturas devido à sua complexidade e alto custo.

**QUESTÃO 05.**

Com base no texto fornecido e em sua compreensão mais ampla de biologia molecular e terapias genéticas, qual das seguintes afirmações compara e contrasta com mais precisão as abordagens de “edição de base” e “inserção gênica”, detalhando seus mecanismos, aplicações específicas e desafios inerentes conforme apresentados no artigo?

a) A edição de base, uma variante mais precisa do CRISPR, corrige principalmente "erros de adição" de nucleotídeos únicos no DNA, trocando uma base sem cortes de fita dupla completos, provando ser altamente eficaz para distúrbios relacionados ao fígado devido

à sua entrega via nanopartículas lipídicas e potencial para redosagem; enquanto a inserção gênica introduz um gene funcional inteiro, frequentemente via vetores virais, o que, apesar de oferecer uma substituição completa do gene, acarreta custos de fabricação mais altos, potencial de resposta imune e limitações atuais na redosagem.

b) Tanto a edição de base quanto a inserção gênica dependem fundamentalmente da mesma enzima CRISPR-Cas9 para quebras precisas do DNA de fita dupla, diferindo apenas no tipo de RNA guia usado, tornando-as igualmente versáteis para tratar qualquer distúrbio genético, independentemente do tipo de mutação ou órgão-alvo.

c) A inserção gênica é inerentemente superior à edição de base, pois garante uma cura permanente ao substituir totalmente um gene defeituoso em todas as células afetadas, eliminando a necessidade de medicação contínua ou restrições alimentares, como foi inequivocamente demonstrado no caso do bebê KJ.

d) A principal vantagem da edição de base reside em sua capacidade de inserir grandes sequências de DNA funcionais em locais genômicos específicos, tornando-a ideal para distúrbios genéticos complexos, enquanto a inserção gênica é projetada especificamente para a correção de mutações de ponto único de nucleotídeo.

e) Tanto a edição de base quanto a inserção gênica são atualmente consideradas terapias curativas permanentes e sem riscos que não provocam respostas imunes, não possuem efeitos fora do alvo e são fabricadas de forma fácil e barata para acessibilidade global, como implícito em seu rápido desenvolvimento e histórias de sucesso iniciais.

**QUESTÃO 06.**

O artigo discute diferentes abordagens de terapia genética, mencionando que as terapias baseadas em RNA são consideradas mais adequadas para distúrbios neurológicos, enquanto os editores de base mostram-se promissores para doenças hepáticas. Qual é a inferência mais plausível sobre a razão para essa especificidade na aplicação da terapia, com base nas informações e no contexto geral do texto?

a) A especificidade se deve ao fato de que as doenças neurológicas são causadas por mutações diferentes daquelas que afetam o fígado, tornando as terapias baseadas em RNA mais eficazes para o cérebro.

b) As nanopartículas lipídicas, usadas para entregar editores de base, são facilmente absorvidas pelo fígado, enquanto os medicamentos à base de RNA são mais eficientes em cruzar a barreira hematoencefálica para alcançar o tecido neural.

c) As doenças neurológicas exigem cortes duplos no DNA para serem corrigidas, o que é uma característica dos medicamentos de RNA, e não dos editores de base.

d) A fabricação de editores de base é mais cara e complexa para doenças cerebrais, tornando os medicamentos de RNA uma opção mais viável para esses casos.

e) A especificidade é arbitrária, e ambas as tecnologias podem ser igualmente eficazes para distúrbios neurológicos e hepáticos, dependendo apenas do tipo de mutação.

**QUESTÃO 07.**

O texto destaca a "personalização" como um aspecto chave das novas terapias. Qual das seguintes opções melhor descreve os desafios e o potencial futuro da abordagem personalizada na terapia gênica para doenças raras, considerando as informações fornecidas?

a) A personalização da terapia gênica é um processo rápido e de baixo custo, o que facilitará sua adoção generalizada imediata para todas as doenças genéticas.

b) O principal desafio da terapia personalizada é a falta de mutações genéticas específicas às quais ela pode ser aplicada, limitando seu uso apenas a doenças extremamente raras.

c) A capacidade de desenvolver rapidamente uma terapia personalizada, como em 6 meses para KJ, demonstra o potencial de tratar doenças raras precocemente, mas ainda enfrenta desafios regulatórios, de segurança e de custos de fabricação.

d) Terapias personalizadas como drogas baseadas em RNA e edição de base são mutuamente exclusivas e competem entre si, tornando impossível uma abordagem diversificada para tratar doenças raras.

e) A personalização elimina completamente a necessidade de testes de segurança em animais e aprovações regulatórias, pois cada tratamento é único para o paciente.

**QUESTÃO 08.**

O grave distúrbio metabólico do bebê KJ, caracterizado pelo acúmulo de uma substância altamente tóxica, decorre de um defeito na capacidade do corpo de processar adequadamente os produtos da quebra de qual macromolécula principal?

a) Carboidratos
b) Lipídios
c) Ácidos Nucleicos
d) Proteínas
e) Vitaminas

**QUESTÃO 09.**

O texto descreve a deficiência de CPS1 como uma condição em que o fígado não consegue converter amônia em ureia de forma eficiente. Considerando o papel fisiológico e bioquímico do ciclo da ureia, bem como as implicações toxicológicas de seu mau funcionamento, qual das seguintes afirmações descreve corretamente a relação entre o defeito enzimático, a toxicidade e os sintomas observados em pacientes como o bebê KJ?"

a) A deficiência da enzima CPS1 resulta na conversão excessiva de proteínas em ureia, levando à sobrecarga renal e consequente toxicidade da ureia no sangue, manifestada por letargia e coma.
b) Embora a amônia seja produzida em vários tecidos e pelo metabolismo intestinal, sua toxicidade sistêmica em casos de deficiência do ciclo da ureia é mitigada pela rápida excreção renal, prevenindo danos significativos a longo prazo em órgãos vitais além do fígado.
c) A falha da enzima CPS1 impede a conversão eficiente de amônia, uma substância altamente neurotóxica produzida pelo catabolismo de proteínas, levando ao seu acúmulo

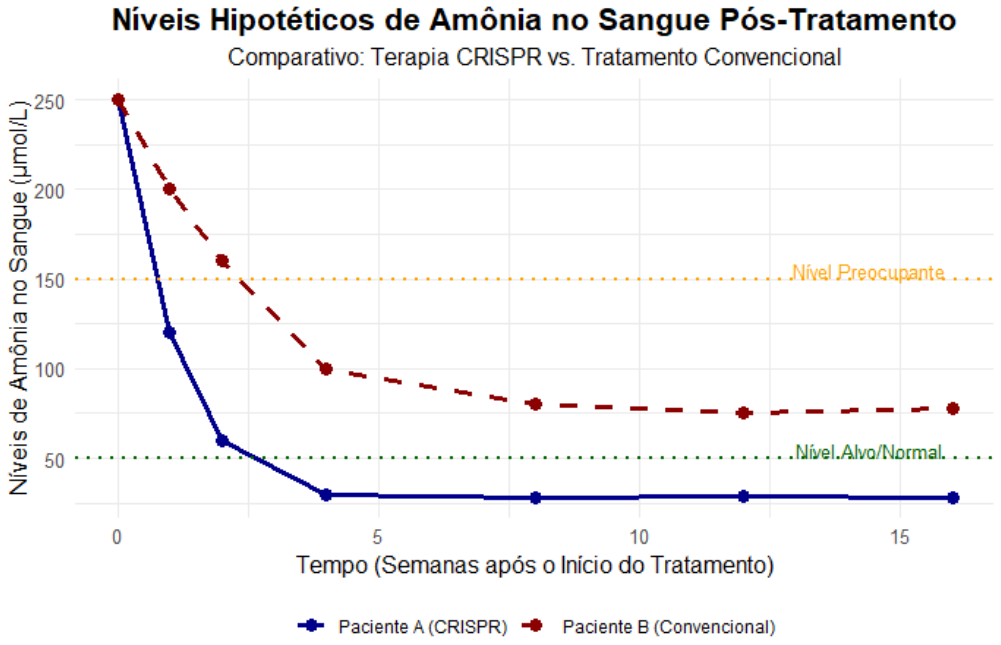
no sangue e causando danos cerebrais, letargia e coma, como observado em casos graves de distúrbios do ciclo da ureia.

d) A toxicidade da amônia em pacientes com deficiência de CPS1 é amplificada porque o ciclo da ureia, essencial para a desintoxicação da amônia, é principalmente ativo nas células cerebrais, onde a amônia é predominantemente convertida em ureia.

e) Pacientes com deficiência de CPS1 podem metabolizar a amônia por vias alternativas eficientes no músculo, o que previne a neurotoxicidade e torna a doença assintomática na maioria dos casos.

**QUESTÃO 10.**

Distúrbios do ciclo da ureia levam ao acúmulo tóxico de amônia no sangue, causando danos graves. Novas terapias genéticas visam superar os tratamentos convencionais. Observe o gráfico hipotético representando os níveis de amônia no sangue de dois pacientes (A e B) ao longo do tempo. O Paciente A recebeu terapia gênica baseada em CRISPR, enquanto o Paciente B recebeu tratamento médico convencional. Ambos começaram com amônia elevada. Com base no gráfico, qual afirmação melhor compara a eficácia e o impacto dos dois tratamentos?



a) Ambos os tratamentos demonstraram eficácia semelhante na redução dos níveis de amônia, sugerindo que a terapia CRISPR não oferece vantagens significativas a longo prazo sobre o manejo convencional.

b) O tratamento convencional resultou em uma redução mais rápida e completa da amônia, indicando sua superioridade sobre a terapia CRISPR.

c) A terapia gênica baseada em CRISPR proporcionou um controle mais rápido, robusto e sustentado dos níveis de amônia, refletindo uma potencial correção da causa subjacente do distúrbio.

d) Embora o CRISPR tenha mostrado uma melhora inicial, os níveis de amônia do tratamento convencional acabaram se tornando mais baixos e mais estáveis ao longo do tempo.

e) Nenhum dos tratamentos foi eficaz na redução dos níveis de amônia para limites seguros, indicando a necessidade de abordagens terapêuticas adicionais em ambos os casos.