

FIOCRUZ

# Concurso Público Fiocruz 2023

Tecnologista em Saúde Pública

Prova Objetiva e Discursiva

**TE55 - Plataforma tecnológica de caracterização  
de proteínas e citometria de fluxo**

Outubro / 2024



# Prova Objetiva

**01.** Hipoteticamente uma fração apresenta duas bandas proteicas em gel desnaturante de eletroforese com 25 kDa e 70 kDa. A técnica de purificação mais adequada para separação é:

- (A) ultracentrifugação de proteínas.
- (B) cromatografia de troca iônica.
- (C) eletroforese bidimensional.
- (D) cromatografia de exclusão molecular.
- (E) precipitação com sulfato de amônio.

**02.** Sabendo-se que a energia livre de Gibbs é a energia resultante de um sistema termodinâmico, das condições abaixo, pode levar à desnaturação de proteínas durante o processo de purificação:

- (A) uso de tampões com pH fisiológico e pressão constante.
- (B) manutenção de baixas temperaturas.
- (C) adição de agentes redutores como DTT.
- (D) variações extremas de pH.
- (E) adição de cloreto de sódio (NaCl) em concentrações fisiológicas.

**03.** Técnicas analíticas são importantes para a purificação de amostras, por exemplo, com aquelas com baixa concentração. A técnica utilizada para purificação de peptídeos sintéticos alfa-helicoidais catiônicos com 3000 Da é:

- (A) cromatografia de afinidade.
- (B) cromatografia de interação hidrofóbica.
- (C) cromatografia de troca iônica.
- (D) filtração em gel.
- (E) eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).

**04.** Eletroforese é uma técnica para monitoramento de proteínas em gel que pode ser do tipo nativo ou desnaturante. O papel do SDS na eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) é:

- (A) facilitar a formação de pontes de hidrogênio.
- (B) conferir carga uniforme às proteínas.
- (C) promover a interação com a matriz cromatográfica.
- (D) manter as proteínas em sua forma nativa.
- (E) facilitar a eluição das proteínas no gel.

**05.** De acordo com o princípio fundamental dos métodos de quantificação de proteínas, em um laboratório de bioquímica, temos o método de Bradford, Método de BCA, Método de Lowry, Folin-Ciocalteu, por exemplo. Sobre esse tema está INCORRETO afirmar que:

- (A) o método de Bradford baseia-se na interação do corante Coomassie Brilliant Blue com proteínas, o que altera a cor do corante e permite a quantificação.
- (B) o método de Lowry pode ser interferido por detergentes e outras substâncias presentes na amostra, o que pode afetar a precisão dos resultados.
- (C) o ácido bicinônico no método BCA reage com cobre reduzido para formar um complexo colorido, cuja absorvância é usada para quantificação.
- (D) o método de Folin-Ciocalteu envolve a reação do reagente Folin-Ciocalteu com grupos fenólicos nas proteínas para formar um complexo colorido.
- (E) absorção de luz UV a 280 nm é o comprimento utilizado para avaliar a presença de proteínas em uma amostra, avaliando a ligação peptídica nesse comprimento de onda.

**06.** Um pesquisador está realizando uma análise de proteínas usando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em seu laboratório. Após a separação das proteínas na coluna cromatográfica, o pesquisador usa um detector UV para monitorar a presença das proteínas na eluição. Considerando-se o comprimento de onda mais adequado para detectar a presença de ligações peptídicas e a importância de ajustar o detector para esse comprimento de onda, das opções abaixo, a correta é:

- (A) A absorvância é medida a 280 nm para detectar a presença de ligações peptídicas, pois este comprimento de onda é absorvido pelos anéis aromáticos dos aminoácidos em geral.
- (B) A absorção a 260 nm é adequada para detectar a presença de ligações peptídicas, já que é mais eficaz na identificação de grupos amida presentes nas proteínas.
- (C) O comprimento de onda de 216 nm é utilizado para medir a absorvância, pois é particularmente sensível aos grupos amida presentes nas proteínas, permitindo a detecção precisa durante a análise por CLAE.
- (D) O comprimento de onda de 280 nm é mais eficaz para a detecção de carboidratos ligados às proteínas, não sendo ideal para ligações peptídicas.
- (E) A medida da absorvância a 216 nm não é relevante para a detecção de proteínas, e a cromatografia líquida de alta eficiência não usa esse comprimento de onda.

07. Uma bioquímica renomada estava conduzindo um estudo detalhado sobre a estrutura de proteínas em seu laboratório. Seu objetivo era entender as alterações na estrutura secundária das proteínas quando expostas a diferentes condições experimentais. Para alcançar seu objetivo precisava escolher o método analítico mais adequado. Ela estava considerando duas técnicas: a espectroscopia de dicroísmo circular (CD) e a espectroscopia UV-Vis convencional. A principal diferença entre a espectroscopia de dicroísmo circular e a espectroscopia UV-Vis convencional é que o CD:

- (A) mede a absorção de luz UV em diferentes pHs, enquanto a UV-Vis mede apenas a absorbância geral.
- (B) é específico para estruturas secundárias, enquanto a UV-Vis pode quantificar qualquer tipo de biomolécula.
- (C) é usado para analisar estruturas terciárias, enquanto a UV-Vis analisa apenas a estrutura primária.
- (D) mede apenas fluorescência, enquanto a UV-Vis mede a absorbância de luz.
- (E) analisa a absorção diferencial de luz polarizada circularmente, enquanto a UV-Vis mede a absorção absoluta de luz não polarizada.

08. Você utilizou um equipamento de Dicroísmo Circular (DC) para analisar a estrutura secundária de um peptídeo em diferentes condições experimentais. A seguir estão descritos os resultados obtidos:

Experimento A: O pico de CD a 222 nm diminuiu significativamente com o aumento da temperatura de 20°C a 90°C.

Experimento B: O espectro de DC do peptídeo foi registrado em soluções com pH variando de 4 a 10. A intensidade dos picos associados a  $\alpha$ -hélices diminuiu e a forma do espectro mudou com variações de pH.

Experimento C: O peptídeo foi avaliado em concentrações crescente de acetonitrila. Observou-se uma diminuição dos picos característicos da estrutura secundária helicoidal e aumento na dispersão do espectro em comparação com a solução aquosa.

De acordo com os resultados, é correto afirmar que:

- (A) o experimento A demonstra o aumento da quantidade de  $\beta$ -folhas a qual está diretamente relacionada com a diminuição do pico a 222 nm, devido ao aumento da dinâmica molecular causada pelo aumento da temperatura.
- (B) no experimento B, a mudança da forma do espectro com a variação de pH é esperada devido ao fato de desprotonamento dos grupos funcionais amina se comportarem como base, e isso não reflete na função da molécula.
- (C) no experimento C, o ambiente hidrofílico causado pelo aumento crescente de acetonitrila demonstra uma perda conformacional diretamente na função da molécula.

(D) no experimento A, com a diminuição do pico a 222 nm durante o aumento da temperatura, pode-se afirmar que o peptídeo perde conformação helicoidal, o que pode acarretar a perda da atividade biológica.

(E) os experimentos B e C podem indicar que o peptídeo é resistente a variações de pH e solvente orgânico, ficando evidente nos resultados obtidos, pois a conformação  $\beta$ -folha é a mais evidente com a dispersão do espectro em solução aquosa.

09. O dicroísmo circular (DC) é uma técnica importante para estudar a estrutura secundária de proteínas, como a folha beta, e a relação dessa estrutura com a atividade biológica. Em estudos relacionados à saúde pública, a análise estrutural de proteínas pode ajudar a entender como determinadas proteínas estão envolvidas em processos patológicos ou terapêuticos. Das afirmativas abaixo, aquela que descreve corretamente como a estrutura de folha beta detectada por DC pode influenciar a atividade biológica de uma proteína e sua relevância para a saúde pública é:

(A) A folha beta detectada por DC é irrelevante para a atividade biológica de proteínas, uma vez que a estrutura secundária não afeta diretamente a função proteica.

(B) O dicroísmo circular permite distinguir apenas estruturas alfa-hélice, não sendo eficaz para identificar folhas beta nas proteínas.

(C) A presença de folhas beta em proteínas, identificadas por DC, está frequentemente associada à formação de agregados proteicos, o que pode estar relacionado a doenças neurodegenerativas como o Alzheimer.

(D) A folha beta, identificada por DC, é uma estrutura típica de proteínas de membrana, o que as torna altamente suscetíveis a desestabilização térmica, afetando diretamente sua função em processos imunológicos.

(E) As proteínas com predominância de folhas beta, identificadas por DC, geralmente apresentam baixa atividade biológica, sendo menos relevantes em estudos relacionados à saúde pública.

10. O dicroísmo circular (DC) é amplamente utilizado para analisar a estrutura secundária de peptídeos e proteínas em diferentes condições ambientais. Em peixes polares, a presença de peptídeos anticongelantes é essencial para sua sobrevivência em temperaturas abaixo de zero graus, sendo essas moléculas capazes de inibir a formação de cristais de gelo. A estrutura secundária, frequentemente na forma de alfa-hélice, desempenha um papel crucial nessa atividade. Considerando o papel do dicroísmo circular na caracterização de peptídeos anticongelantes, das alternativas abaixo, a que descreve corretamente a relação entre a estrutura secundária de alfa-hélice e a atividade anticongelante dos peptídeos de peixes polares é:

- (A) O dicroísmo circular não é eficaz para identificar a estrutura secundária de alfa-hélice em temperaturas abaixo de zero graus.
- (B) Os peptídeos anticongelantes de peixes polares são compostos por estruturas secundárias de folha beta, identificadas por DC, sendo essa estrutura a responsável pela inibição do gelo.
- (C) A técnica de DC é capaz de confirmar que os peptídeos anticongelantes de peixes polares formam principalmente estruturas alfa-hélice, que interagem com cristais de gelo e inibem seu crescimento.
- (D) O dicroísmo circular mostra que, em temperaturas abaixo de zero, os peptídeos anticongelantes perdem sua estrutura alfa-hélice, tornando-se inativos.
- (E) Peptídeos anticongelantes de peixes polares não possuem estrutura secundária estável em temperaturas abaixo de zero, o que inviabiliza seu estudo por dicroísmo circular.

11. Relacione a coluna 1 com a coluna 2, considerando as técnicas analíticas para determinação da afinidade de interação proteína-proteína com a funcionalidade de cada uma.

Coluna 1

- I. Espalhamento dinâmico de luz
- II. Transferência de energia ressonante de fluorescência
- III. Calorimetria de titulação isotérmica
- IV. Ressonância plasmônica de superfície

Coluna 2

- ( ) Permite a detecção de interações proteína-proteína em tempo real, medindo a mudança no índice de refração, à medida que as proteínas se ligam ou dissociam de uma superfície sensora.
- ( ) Mede diretamente o calor liberado ou absorvido durante uma interação proteína-proteína, fornecendo informações sobre a afinidade de ligação, além de parâmetros termodinâmicos como  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  e  $\Delta G$ .
- ( ) Mede flutuações na intensidade da luz espalhada por proteínas em solução, sendo usado para analisar complexos proteína-proteína e estudar a cinética de ligação.

- ( ) Mede a proximidade entre duas proteínas marcadas com fluoróforos, detectando interações baseadas na transferência de energia de um fluoróforo doador para um receptor.

De cima para baixo, a numeração correta é:

- (A) IV, III, I e II.
- (B) III, IV, II e I.
- (C) IV, II, I e III.
- (D) III, I, IV e II.
- (E) IV, III, II e I.

12. Ao analisar um peptídeo antimicrobiano interagindo com a superfície de uma bactéria podemos medir a força com que um peptídeo se liga à membrana bacteriana com uma agulha sensora capaz de detectar essas forças de interação em escala nanométrica, permitindo uma compreensão detalhada de como o peptídeo interage com os lipídios ou proteínas da membrana bacteriana. A analisando-se o texto acima, é correto afirmar que a metodologia empregada é:

- (A) espectrometria de massas.
- (B) ressonância magnética nuclear.
- (C) microscopia de força atômica.
- (D) calorimetria diferencial de varredura.
- (E) eletroforese capilar.

13. Das técnicas abaixo, deve ser utilizada para medir a alteração de massa associada a interações proteína-proteína imobilizadas em uma superfície sensora em um campo de energia:

- (A) cromatografia de afinidade.
- (B) dicroísmo circular.
- (C) espectroscopia de infravermelho.
- (D) espectrometria de massas MALDI-TOF.
- (E) interferometria de biocamada.

14. Das técnicas abaixo, é especialmente útil para estudar a afinidade de ligação de interações proteína-proteína que envolvem antígenos e anticorpos:

- (A) western blot.
- (B) espectrometria de massas.
- (C) enzyme-linked immunosorbent assay.
- (D) dicroísmo circular.
- (E) cromatografia líquida de alta performance.

15. A técnica de luminescência amplamente usada para estudar interações proteína-proteína, envolvendo a transferência de energia entre proteínas marcadas com fluoróforos, é:

- (A) quimiluminescência.
- (B) transferência de energia ressonante de fluorescência.
- (C) bioluminescência por transferência de energia.
- (D) luminometria de cintilação.
- (E) eletroforese capilar.

16. A bioluminescência por transferência de energia (BRET) é uma técnica de luminescência frequentemente usada para estudar interações proteína-proteína. A diferença entre o BRET e o FRET é que:

- (A) no BRET, a fonte de excitação é uma reação de quimiluminescência em vez de luz externa.
- (B) o BRET mede a proximidade das proteínas através da detecção de radiação gama.
- (C) no BRET, a excitação de fluoróforos ocorre por aplicação de um campo elétrico.
- (D) o BRET usa cromóforos em vez de fluoróforos para gerar luminescência.
- (E) no BRET, as proteínas interagem sem a necessidade de marcadores fluorescentes.

17. Das afirmativas abaixo, a que descreve corretamente uma aplicação da técnica de Split-Luciferase para estudar interações proteína-proteína é:

- (A) As proteínas que interagem ativam a bioluminescência ao promoverem a separação dos domínios da luciferase.
- (B) O complexo de proteínas que interagem promove a dissociação da luciferase, levando à perda de sinal luminescente.
- (C) As proteínas de interesse são fundidas a fragmentos inativos de luciferase, que reconstituem a atividade luminescente após a interação proteína-proteína.
- (D) A Split-Luciferase mede a interação proteína-proteína apenas por mudanças de temperatura.
- (E) A técnica Split-Luciferase é utilizada para medir a estabilidade de proteínas em soluções salinas.

18. A fluorescência intrínseca de proteínas geralmente decorre da presença dos seguintes aminoácidos aromáticos:

- (A) triptofano, tirosina e fenilalanina.
- (B) prolina, histidina e asparagina.
- (C) glicina, valina e serina.
- (D) cisteína, alanina e arginina.
- (E) glutamina, metionina e leucina.

19. A análise cinética de proteínas usando fluorescência intrínseca pode ser prejudicada em razão da seguinte condição:

- (A) alta presença de resíduos aromáticos que acarreta baixa sinalização.
- (B) baixa concentração de proteínas resultando em quenching de agregação.
- (C) temperaturas fisiológicas podem induzir desdobramento conformacional.
- (D) excitação fora do comprimento de onda adequado diminui a sensibilidade da fluorescência.
- (E) presença de solventes orgânicos que provem maior exposição dos resíduos polares.

20. Em estudos de cinética de proteínas, é correto afirmar que a fluorescência do triptofano é mais sensível a mudanças conformacionais do que a fluorescência da tirosina porque:

- (A) a tirosina não é fluorescente.
- (B) o triptofano tem um ambiente químico mais reativo.
- (C) o triptofano tem uma maior sensibilidade ao ambiente hidrofóbico.
- (D) a fluorescência do triptofano é mais forte do que a da tirosina.
- (E) a tirosina é menos abundante em proteínas.

21. Na citometria de fluxo, a principal função do foco hidrodinâmico é:

- (A) aumentar a viscosidade do fluido.
- (B) alinhar as células em uma fileira única para precisão da análise.
- (C) potencializar a intensidade do laser.
- (D) separar as células por tamanho e granulosidade.
- (E) proporcionar a visualização de populações celulares raras.

22. Ao fazer uma seleção de fluorocromos para um experimento de citometria de fluxo convencional, um fator crítico a ser considerado é:

- (A) a velocidade de ligação do fluorocromo à amostra.
- (B) a empresa que produz o fluorocromo e o custo dos demais reagentes.
- (C) sua compatibilidade com os filtros de detecção e potencial sobreposição dos espectros.
- (D) a estabilidade dos fluorocromos tanto a 4° C quanto 37° C.
- (E) a semelhança da intensidade de fluorescência entre todos os fluorocromos utilizados.

23. Na citometria de fluxo convencional, é necessário fazer a compensação de fluorescência para:

- (A) aumentar a intensidade de fluorescência de todos os canais.
- (B) não haver necessidade de usar marcações simples nas amostras.
- (C) eliminar a autofluorescência das amostras.
- (D) compensar o uso de dois marcadores diferentes com o mesmo fluorocromo.
- (E) corrigir a sobreposição espectral entre diferentes fluorocromos.

24. Células CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup>/CD3<sup>+</sup>/CD161<sup>+</sup> presentes em uma amostra biológica são:

- (A) células NKT (*natural killer T cells*).
- (B) timócitos imaturos duplo-negativos.
- (C) células linfoides inatas intestinais.
- (D) basófilos ativados.
- (E) células dendríticas imaturas.

25. Os protocolos de marcação intracelular usadas em citometria de fluxo incluem etapas de fixação, nas quais utilizam-se agentes com características importantes para que essa fixação ocorra adequadamente. Assim, o agente fixador mais frequentemente empregado tem como principais alvos os grupos amino em aminoácidos de proteínas e nas bases de ácidos nucleicos, além de ser eficaz para fixar lipídios sem alterar os grupamentos funcionais das glicoproteínas na superfície celular. Estamos falando do agente fixador chamado:

- (A) propilenoglicol.
- (B) polietilenoglicol.
- (C) metanol absoluto.
- (D) paraformaldeído.
- (E) acetona glicerinada.

26. Um passo essencial para a calibração de um citômetro de fluxo é:

- (A) trabalhar à temperatura ambiente.
- (B) usar sempre reagentes novos.
- (C) ajustar a intensidade dos lasers ao final do processo.
- (D) executar regularmente os controles de qualidade.
- (E) limitar a operação apenas a um tipo de amostra.

27. Uma avaliação realizada rotineiramente em laboratórios clínicos empregando citometria de fluxo é o(a):

- (A) monitoramento de níveis de colesterol.
- (B) determinação de coagulação sanguínea.
- (C) identificação de cepas bacterianas em amostras clínicas.
- (D) análise de perfis glicêmicos.
- (E) diagnóstico de leucemias e linfomas.

28. O uso de anticorpos anti-receptor Fc (Fc block) é importante em algumas análises para:

- (A) reduzir potenciais ligações não específicas dos demais anticorpos à amostra.
- (B) facilitar a ligação de anticorpos secundários ao antígeno de interesse.
- (C) prolongar a vida útil das amostras durante o armazenamento.
- (D) garantir que todas as células sejam analisadas independente da presença de alvos relevantes.
- (E) aumentar a viabilidade celular das populações que expressam o receptor Fc.

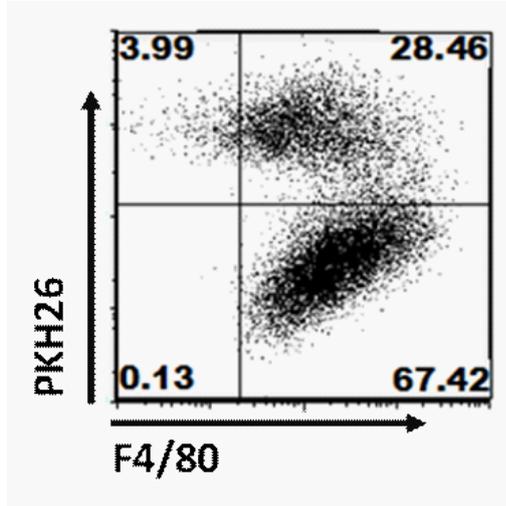
29. Um corante NÃO utilizado para avaliar a viabilidade celular em citometria de fluxo é:

- (A) 7-aminoactinomicina D (7-AAD).
- (B) iodeto de propídio (PI).
- (C) isotiocianato de fluoresceína (FITC).
- (D) 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI).
- (E) SYTOX Green.

30. Você trabalha com um citômetro de fluxo BD FACSCanto IITM que possui os lasers azul (488nm), vermelho (633nm) e violeta (405nm) numa configuração 4-2-2. Se um usuário pedir sua ajuda para montar um painel com 6 marcações diferentes, a combinação de fluorocromos mais apropriada para esse tipo de citômetro seria:

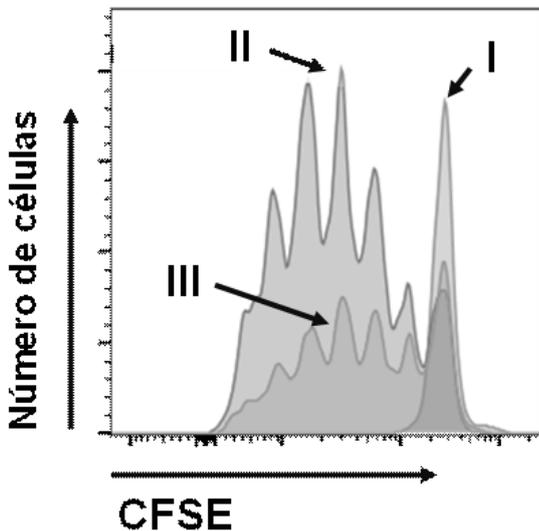
- (A) FITC, PerCP, Pacific Blue, AmCyan, APC e Alexa Fluor 488.
- (B) Pacific Blue, PerCP, AmCyan, APC, Alexa Fluor 750 e FITC.
- (C) Alexa Fluor 647, FITC, PE, Pacific Blue, BV421 e APC.
- (D) APC-Cy7, Pacific Blue, PE-Cy5.5, FITC, APC e Alexa Fluor 750.
- (E) AmCyan, APC, Alexa Fluor 488, PE, FITC e Pacific Blue.

31. Células tumorais foram marcadas com PKH26 (um corante lipofílico de membrana), irradiadas com luz ultravioleta e coincubadas com fagócitos por 4 horas. Após esse período, as células foram coletadas, os fagócitos foram marcados e as amostras foram adquiridas por citometria de fluxo, conforme ilustração a seguir. Com base no *dot plot* apresentado, o fagócito utilizado no ensaio e o processo observado no quadrante duplo-positivo (F4/80<sup>+</sup>/PKH26<sup>+</sup>) são, respectivamente:



- (A) neutrófilos e piroptose.
- (B) células dendríticas e eferocitose.
- (C) macrófagos e eferocitose.
- (D) células dendríticas e apoptose.
- (E) macrófagos e piroptose.

32. Linfócitos T purificados foram marcados com CFSE (um corante que se difunde passivamente pela membrana celular e marca proteínas intracelulares) e utilizados para testar um novo fármaco imunossupressor da proliferação dessas células. Na figura abaixo, as condições de cultura representadas por cada algarismo são:



- (A) I, linfócitos ativados; II, linfócitos ativados, mas suprimidos; III, linfócitos não ativados.
- (B) I, linfócitos não ativados; II, linfócitos ativados, mas suprimidos; III, linfócitos ativados.
- (C) I, linfócitos ativados, mas suprimidos; II, linfócitos não ativados; III, linfócitos ativados.
- (D) I, linfócitos ativados; II, linfócitos não ativados; III, linfócitos ativados, mas suprimidos.
- (E) I, linfócitos não ativados; II, linfócitos ativados; III, linfócitos ativados, mas suprimidos.

33. No software FACSDiva™ é possível realizar a compensação em modo *offline* (com o citômetro desconectado) após a aquisição das amostras. A respeito do ajuste de voltagem dos lasers, podemos dizer que:

- (A) também é possível fazer em modo *offline* com o FACSDiva™, pois a aquisição de amostras é digital e permite sejam feitos todos os ajustes necessários para análise das amostras.
- (B) não é possível fazer em modo *offline* com o FACSDiva™, mas há outros softwares de análise como o FlowJo e o FCS Express que permitem esse ajuste em modo *offline*.
- (C) é possível fazer em modo *offline* com o FACSDiva™, desde que os parâmetros FSC e SSC tenham sido padronizados de forma correta durante a aquisição da amostra.
- (D) os ajustes de voltagem podem ser feitos em modo *offline* no FACSDiva™ para que o usuário possa realizar análises temporárias antes de executar a aquisição definitiva das amostras.
- (E) não é possível fazer em modo *offline* com o FACSDiva™ nem com outros softwares de análise, pois esse parâmetro só pode ser alterado antes e durante a aquisição da amostra.

34. Células com o fenótipo CD138<sup>+</sup>/IgM<sup>-</sup>/IgD<sup>-</sup>/CD19<sup>-</sup> correspondem aos:

- (A) plasmócitos.
- (B) linfócitos B maduros.
- (C) linfócitos B foliculares.
- (D) linfócitos B ativados.
- (E) linfócitos B virgens (naive).

35. Você está adquirindo amostras fixadas no citômetro de fluxo e, de repente, o número de eventos adquiridos é zero. Ainda há volume visível no tubo de amostras. É provável que:

- (A) os fluorocromos usados estejam esgotados.
- (B) existam agregados de células na suspensão que impedem o fluxo pelo equipamento.
- (C) todas as células foram aspiradas.
- (D) o compartimento de descarte (waste) esteja vazio.
- (E) o software do citômetro ativou o modo de compensação automática, bloqueando a detecção de todas as células.

36. A vantagem de analisar ou adquirir amostras na citometria de fluxo utilizando os parâmetros de altura (H) x largura (A) em *forward scatter* (FSC) ou *side scatter* (SSC) é:

- (A) incluir na análise ou aquisição somente células viáveis (*viable cells*).
- (B) eliminar artefatos derivados de autofluorescência (*autofluorescence*).
- (C) evitar que sejam incluídas células duplo-positivas (*double positive*).
- (D) excluir células ou eventos duplos (*doublets*).
- (E) aumentar a chance de inclusão de eventos raros (*rare events*).

37. Em análises clínicas de rotina, a contagem diferencial de linfócitos T CD4<sup>+</sup> e linfócitos T CD8<sup>+</sup> por citometria de fluxo é principalmente utilizada para:

- (A) avaliação da resposta imunológica desenvolvida após vacinação.
- (B) estimativa do potencial auxiliador destes linfócitos para a resposta humoral.
- (C) avaliação do tratamento antirretroviral e evolução de pacientes positivos para o HIV.
- (D) avaliação de um quadro de septicemia aguda.
- (E) diagnóstico de câncer, não sendo utilizada em outras análises clínicas de rotina.

38. Sobre a utilização da citometria de fluxo como estratégia de análise fenotípica, é correto afirmar que:

- (A) o controle de qualidade num serviço de citometria só precisa ser feito anualmente por conta da robustez das plataformas atuais.
- (B) qualquer anticorpo específico para um determinado antígeno pode ser utilizado em qualquer espécie, pois possui alto grau de reação cruzada.
- (C) é uma técnica tão versátil que detecta inclusive corantes histológicos como a hematoxilina e o azul de tripano.
- (D) os equipamentos mais modernos podem ser configurados para análises multiparamétricas com até dezenas de cores simultâneas.
- (E) o gráfico de pontos (*dot plot*) só pode ser utilizado para analisar células em suspensão pois cada ponto corresponde ao logaritmo de 10 células.

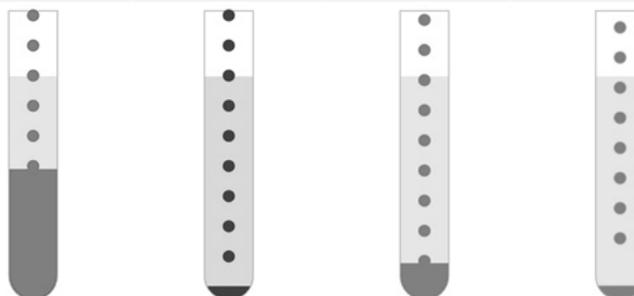
39. Em um experimento de citometria de fluxo, você deseja analisar a superfície celular de uma população, determinar a viabilidade celular e avaliar a produção de citocinas intracelulares após a estimulação. Nas etapas de preparação das amostras, você deverá:

- (A) realizar marcação da viabilidade celular, realizar marcação das moléculas de superfície celular, fixar as células e realizar marcação para citocinas intracelulares.
- (B) realizar marcação para citocinas intracelulares, realizar marcação da viabilidade celular, fixar as células e realizar marcação das moléculas da superfície celular.
- (C) realizar as marcações em qualquer ordem, desde que as células sejam fixadas no início da preparação, o que garantirá a preservação dos componentes intracelulares e intracelulares.
- (D) colocar as células em cultura por um período entre 24 a 48 horas, realizar a marcação das moléculas de superfície celular, de viabilidade celular e para citocinas celulares ao mesmo tempo, e fixar as células por último.
- (E) realizar marcação das moléculas de superfície celular sem se preocupar com a viabilidade celular nesse caso, uma vez que a presença dos fluorocromos garante a análise correta, fixar as células e realizar marcação para citocinas intracelulares.

40. A técnica de separação celular por citometria de fluxo (*cell sorting*) permite isolar fisicamente subpopulações celulares a partir de uma suspensão celular heterogênea. A figura abaixo apresenta dados de um experimento de *cell sorting* em andamento e com 50% do volume inicial já adquirido. Com base nessas informações, é correto afirmar que:

- (A) a população celular isolada no tubo 1 (P1) indica maior percentual de pureza, pois apresenta maior razão de separação (células/segundo).
- (B) a população celular isolada no tubo 2 (P2) apresenta menor razão de separação (células/segundo) e será a população com a menor quantidade de eventos ao final do experimento.
- (C) a população celular isolada no tubo 3 (P3) será adquirida em maior quantidade ao final do experimento, pois apresenta o maior percentual de eficiência.
- (D) a população celular isolada no tubo 4 (P4) representa o maior percentual de células na suspensão celular inicial, pois apresenta alto percentual de eficiência.
- (E) todas as populações celulares apresentarão a mesma pureza ao final do experimento, visto que todos os tubos terão a mesma quantidade de células.

População	P1	P2	P3	P4
Contagem-alvo	1.000.000	1.000.000	1.000.000	1.000.000
Contagem atual	585.420	62.401	164.902	64.177
Razão (células/segundo)	837	2	406	40
Eficiência (%)	95,69	94,81	96,20	95,92



# Prova Discursiva

## QUESTÃO

Com base em toxinas proteicas bioprospectadas e purificadas como objeto de estudo para o desenvolvimento de novos fármacos, temos as toxinas de diversos animais. A caracterização de novas toxinas pode promover alternativas no combate e controle de diversas doenças. Essa biodiversidade rica em biomoléculas proteicas pode ser útil à saúde humana, especialmente as oriundas de venenos e secreções. Desta forma, a busca por opções terapêuticas menos invasivas e com menos efeitos colaterais é de extrema importância para a resolução de problemas da saúde resultando no aumento da qualidade de vida dos pacientes. Diante disso, foi identificada hipoteticamente uma toxina de escorpião cuja sequência primária apresenta 17 aminoácidos (FLKLIPSLVKKSISAFK), que deverá ser avaliada frente a uma membrana plasmática hipotética carregada negativamente.

Com base nas afirmações acima, responda, com o mínimo de 50 linhas e o máximo de 150 linhas:

- (A) Quais aminoácidos estariam interagindo com a membrana plasmática hipotética e quais características físico-químicas desses aminoácidos levam você a acreditar nisso? Além disso, descreva duas técnicas proteômicas que você usaria para identificar a estrutura secundária do peptídeo em solução, assim como a afinidade de ligação do peptídeo com o alvo, destacando as vantagens da técnica escolhida.
- (B) Imagine que este peptídeo tenha uma atividade antitumoral, mas você não sabe ainda se isso ocorre em função de sua ligação à membrana plasmática, ou porque ele afeta vias intracelulares de proliferação, ou ambos. Como você produziria versões modificadas desse peptídeo para avaliá-lo como um marcador extracelular (de moléculas e/ou receptores de membrana) e intracelular (vias de ativação e/ou cascata de sinalização) em citometria de fluxo? Na sua resposta, descreva a metodologia de marcação celular que seria usada para cada finalidade.

RASCUNHO

RASCUNHO

RASCUNHO

RASCUNHO

RASCUNHO

## INSTRUÇÕES

1. Por motivo de segurança, a Fiocruz solicita que o candidato transcreva em letra cursiva, em espaço próprio no Cartão de Respostas da Prova Objetiva, a frase abaixo apresentada:

“Julgue seu sucesso pelas coisas que você teve que renunciar para conseguir.” ( Dalai Lama )

2. Para cada uma das questões da prova objetiva são apresentadas 5 (cinco) alternativas classificadas com as letras (A), (B), (C), (D) e (E), e só uma responde da melhor forma possível ao quesito proposto. Você só deve assinalar UMA RESPOSTA. A marcação de nenhuma ou de mais de uma alternativa anula a questão, MESMO QUE UMA DAS RESPOSTAS SEJA A CORRETA.

3. A duração da prova é de 4 (quatro) horas, considerando, inclusive, a marcação do Cartão de Respostas e a Prova Discursiva. Faça-a com tranquilidade, mas controle o seu tempo.

4. Verifique se a prova é para o **PERFIL** para o qual concorre.

5. Somente após autorizado o início da prova, verifique se este Caderno de Questões está completo e em ordem. Folhear o Caderno de Questões antes do início da prova implica na eliminação do candidato.

6. Verifique, no **Cartão de Respostas da Prova Objetiva**, se seu nome, número de inscrição, identidade e data de nascimento estão corretos. Caso contrário, comunique ao fiscal de sala.

7. O **Caderno de Questões** poderá ser utilizado para anotações, mas somente as respostas assinaladas no **Cartão de Respostas da Prova Objetiva** e no **Caderno de Respostas da Prova Discursiva** serão objeto de correção.

8. Observe as seguintes recomendações relativas ao **Cartão de Respostas da Prova Objetiva**:

. não haverá substituição por erro do candidato;

. não deixar de assinar no campo próprio;

. não pode ser dobrado, amassado, rasurado, manchado ou conter qualquer registro fora dos locais destinados às respostas;

. a maneira correta de marcação das respostas é cobrir, fortemente, com esferográfica de tinta azul ou preta, o espaço correspondente à letra a ser assinalada;

. outras formas de marcação diferentes da que foi determinada acima implicarão a rejeição do **Cartão de Respostas**;

9. O fiscal não está autorizado a alterar quaisquer dessas instruções.

10. Você só poderá retirar-se da sala após 60 minutos do início da prova.

11. Quaisquer anotações só serão permitidas se feitas no caderno de questões.

12. Você poderá anotar suas respostas da prova objetiva em área específica do Caderno de Questões, destacá-la e levar consigo.

13. Os três últimos candidatos deverão permanecer na sala até que o último candidato entregue ao fiscal todo o seu material de prova.

14. Ao terminar a prova, entregue ao fiscal de sala, obrigatoriamente, o **Cartão de Respostas da Prova Objetiva**, o **Caderno de Respostas da Prova Discursiva** e o **Caderno de Questões**.

### 15. Prova Discursiva:

- A questão discursiva deverá ter um limite mínimo de 50 linhas e máximo de 150 linhas.

- Transcreva sua resposta para a parte pautada do **Caderno de Respostas da Prova Discursiva**. Não assine, rubrique ou coloque qualquer marca que o identifique, sob pena de ser anulado. Assim, a detecção de qualquer marca identificadora no espaço destinado à transcrição do texto definitivo acarretará nota ZERO na respectiva prova discursiva.

- O tempo total de duração das provas será de 4 (quatro) horas, incluindo o tempo para o preenchimento da Resposta Definitiva da Questão Discursiva. Nenhum rascunho SERÁ LEVADO EM CONTA.

Boa Prova!

.....  
Ao término da prova, anote aqui suas respostas e destaque na linha pontilhada.

01	<input type="checkbox"/>	09	<input type="checkbox"/>	17	<input type="checkbox"/>	25	<input type="checkbox"/>	33	<input type="checkbox"/>
02	<input type="checkbox"/>	10	<input type="checkbox"/>	18	<input type="checkbox"/>	26	<input type="checkbox"/>	34	<input type="checkbox"/>
03	<input type="checkbox"/>	11	<input type="checkbox"/>	19	<input type="checkbox"/>	27	<input type="checkbox"/>	35	<input type="checkbox"/>
04	<input type="checkbox"/>	12	<input type="checkbox"/>	20	<input type="checkbox"/>	28	<input type="checkbox"/>	36	<input type="checkbox"/>
05	<input type="checkbox"/>	13	<input type="checkbox"/>	21	<input type="checkbox"/>	29	<input type="checkbox"/>	37	<input type="checkbox"/>
06	<input type="checkbox"/>	14	<input type="checkbox"/>	22	<input type="checkbox"/>	30	<input type="checkbox"/>	38	<input type="checkbox"/>
07	<input type="checkbox"/>	15	<input type="checkbox"/>	23	<input type="checkbox"/>	31	<input type="checkbox"/>	39	<input type="checkbox"/>
08	<input type="checkbox"/>	16	<input type="checkbox"/>	24	<input type="checkbox"/>	32	<input type="checkbox"/>	40	<input type="checkbox"/>