

**PROVA DE MESTRADO PARA INGRESSO NO PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM
BIOCIÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA – INSTITUTO CARLOS CHAGAS – FIOCRUZ/PR**

ATENÇÃO: Instruções para realização da prova de mestrado

1. Confira se este caderno de provas corresponde à categoria/área (cabeçalho desta página) para o qual você se candidatou.
2. Confira os dados impressos no cartão de respostas. Quaisquer problemas deverão ser comunicados ao fiscal de sala, para registro em ata.
3. Assine o cartão de respostas. Você deverá informar seu número de inscrição de forma legível no cartão resposta utilizando caneta esferográfica azul ou preta.
4. Verifique se este caderno de prova contém 20 questões objetivas, 9 questões discursivas e 3 artigos científicos. Não serão consideradas reclamações posteriores ao término da prova
5. A prova de mestrado contém questões objetivas e discursivas. Você deverá responder as 20 questões objetivas e 3 questões discursivas.
6. Cada questão da prova constitui-se de cinco alternativas, identificadas pelas letras A, B, C, D e E, das quais apenas uma será a resposta correta.
7. O cartão de respostas não será substituído em hipótese alguma; portanto, evite rasuras.
8. Todas as respostas só serão consideradas se estiverem respondidas com caneta esferográfica azul ou preta.
9. Esta prova é individual. É vedada qualquer comunicação ou troca de material impresso entre os presentes, consulta a material bibliográfico, cadernos, anotações equipamentos eletrônicos ou outro de qualquer espécie.
10. Você terá 4 horas para responder as questões, incluído o tempo para preenchimento do cartão de respostas.
11. O candidato somente poderá entregar a prova e sair da sala após 1 (uma) hora de seu início.
12. Os (3) três últimos candidatos somente poderão se retirar da sala de prova simultaneamente e devem fazê-lo após a assinatura da ata de sala.
13. Ao concluir a prova, entregue ao fiscal de sala tanto o cartão de respostas quanto o caderno de provas.

QUESTÕES OBJETIVAS: 70 PONTOS (3.5 CADA)

1. A conformação final de uma determinada proteína em meio aquoso, como o encontrado no interior das células, é determinada por diversos fatores. Com base em seus conhecimentos sobre estrutura e enovelamento de proteínas, considere as afirmações a seguir:

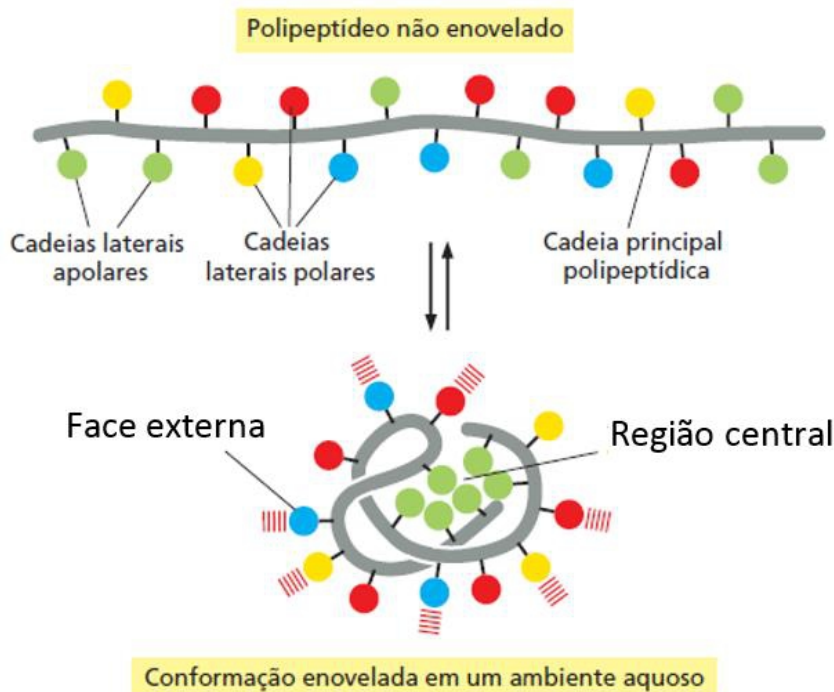
- I. As proteínas se enovelam na conformação de maior energia;
- II. A distribuição de aminoácidos polares e apolares na estrutura primária de uma proteína contribui de forma importante para o enovelamento e determinação da sua conformação final;
- III. A conformação final de uma proteína é determinada pela ação conjunta de ligações covalentes e ligações não covalentes;

- IV. São exemplos de ligações não covalentes as pontes dissulfeto, ligações iônicas, atrações eletrostáticas e atrações de van der Waals;
- V. Proteínas denominadas chaperonas ligam-se às cadeias polipeptídicas parcialmente enoveladas e conduzem o processo de enovelamento pela via mais favorável energeticamente. Na presença de chaperonas, a sequência de aminoácidos torna-se irrelevante para a conformação tridimensional da proteína.
- VI. Ligações não covalentes, individualmente, são 30 a 300 vezes mais fracas que ligações covalentes típicas. Entretanto, muitas ligações não covalentes em paralelo podem manter duas regiões de uma cadeia polipeptídica fortemente unidas.

Das afirmativas acima, estão corretas, apenas:

- a. I, II, III e VI.
- b. II, II, III, V e VI.
- c. II, III e VI.
- d. II, III, IV e VI.
- e. I, II, III, IV, V e VI.

2. Proteínas consistem em uma cadeia não ramificada de aminoácidos, unidos covalentemente entre si através de ligações peptídicas. A sequência de aminoácidos de uma proteína conhecida como sua estrutura primária e os 20 aminoácidos mais comuns são agrupados de acordo com a característica de suas cadeias laterais, as quais podem ser ácidas, básicas, polares não carregadas ou apolares. Em meio aquoso, como o encontrado no interior das células, a distribuição de aminoácidos polares e apolares na estrutura primária de uma proteína contribui para o enovelamento e determinação da sua conformação final, conforme ilustrado de maneira simplificada na figura abaixo.



Com base nessa informação e em seus conhecimentos sobre estrutura de proteínas e seu enovelamento em meio aquoso, classifique as afirmações a seguir como verdadeiras (V) ou falsas (F).

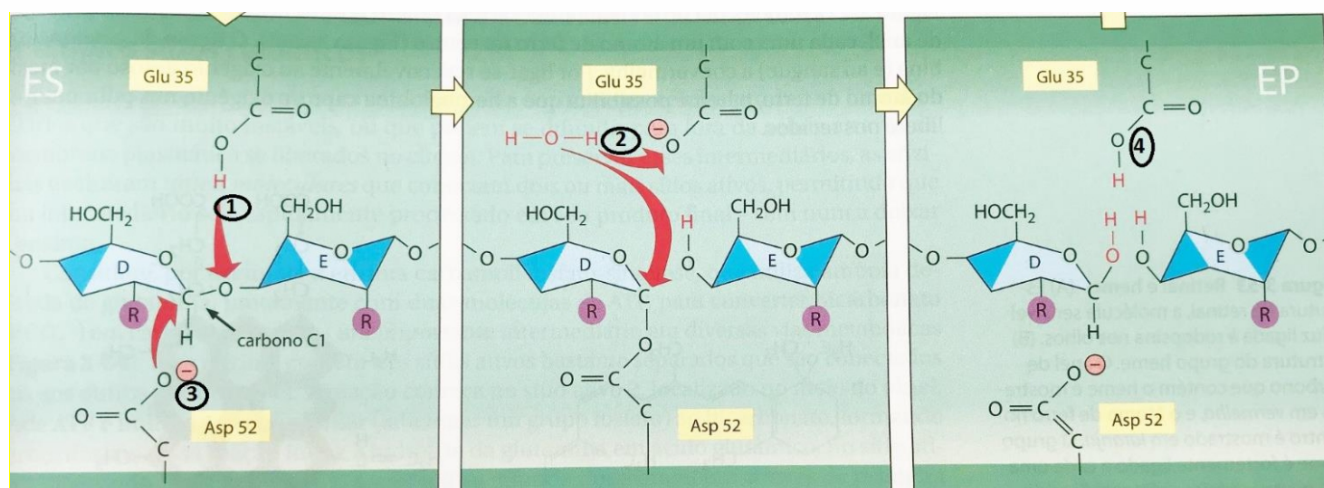
- () Cadeias laterais polares na superfície externa da proteína podem formar ligações de hidrogênio com a água.
- () Aminoácidos de cadeias laterais hidrofóbicas tendem a se agrupar no interior da molécula proteica.
- () Forças hidrofóbicas mantêm aminoácidos apolares agrupados no interior da molécula proteica, através da formação de ligações covalentes entre suas cadeias laterais.
- () Fenilalanina, leucina, valina e triptofano normalmente se localizam na superfície externa das proteínas.
- () Arginina e glutamina possuem cadeia lateral básica e polar não carregada, respectivamente, e ambas tendem a se posicionar na superfície externa da molécula proteica.

Após classificação, assinale a alternativa que indica a sequência correta:

- a. V, V, F, F, V
- b. V, F, V, F, F

- c. F, V, F, F, V
- d. F, V, V, V, F
- e. V, F, F, V, V

3. Em relação ao modelo clássico de eventos no sítio ativo da Lisozima, é correto afirmar que:



- a. 1 indica uma catálise ácida.
- b. 2 indica uma catálise básica.
- c. Em 3, a cadeia lateral de Asp 52 está protonada.
- d. Em 4, a cadeia lateral de Glu 35 está desprotonada.
- e. Todas as respostas estão erradas.

4. A década de 1950 foi marcada por uma corrida acirrada para desvendar a correta estrutura do DNA. Abaixo segue um fragmento do artigo publicado por Watson e Crick em 1953 cujas descobertas lhes renderam o Prêmio Nobel:

“A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey...Their model consists of three inter-twined chains, with the phosphates near to the fiber axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory...” Watson J., Crick F. Molecular structure of nucleic acids. *Nature*, 4356(171):737-8, 1953.

Sobre a estrutura da molécula de DNA proposta por Watson e Crick e as implicações decorrentes dela marque as afirmações como verdadeiras ou falsas:

- () A molécula de DNA é formada por uma dupla hélice orientada em volta de um eixo com os grupos fosfatos voltados para fora e as bases nitrogenadas voltadas para dentro da estrutura.
- () O DNA é um polímero de nucleotídeos compostos por uma pentose, um grupo fosfato e uma base nitrogenada que pode ser de quatro tipos distintos
- () O correto pareamento entre as bases nitrogenadas ocorre entre A e G (purinas) e entre T e C (pirimidinas).
- () A dupla-fita de DNA é unida por interações fortes, do tipo covalente, entre as bases nitrogenadas das duas fitas.
- () O pareamento entre as bases nitrogenadas permite uma replicação da molécula de DNA semi-conservativa, onde uma fita serve de molde para a nova fita a ser sintetizada.
- () A adição de um novo nucleotídeo a uma cadeia crescente de DNA ocorre sempre no grupo fosfato 3' gerando um sentido de síntese 3' → 5'.

A sequência correta de preenchimento dos parênteses, de cima para baixo, é:

- a. VVFVFF
- b. VFVFFV
- c. VVFVVF
- d. VVFFVF
- e. FVFFVV

5. O código das histonas foi proposto no ano 2000, e se refere às diversas modificações que as histonas estão sujeitas e como elas podem atuar, em conjunto, ou isoladamente, resultando na ativação ou inativação de um determinado processo biológico. Considere algumas das modificações encontradas na histona H4 representadas abaixo (A-acetilação; M-Metilação). Com base nessas modificações, é correto afirmar:



- I. As quatro lisinas acetiladas sugerem transcrição gênica ativa, pois as acetilações neutralizam as cargas positivas das lisinas (K), diminuindo a interação com o DNA, tornando-o mais frouxo e acessível.
- II. Em duas lisinas ocorrem metilações e acetilações ao mesmo tempo, o que

desencadearia dois processos biológicos simultâneos.

- III. Nenhuma modificação ocorre dentro do domínio globular (domínio dobra de histonas), pois as modificações estão restritas as porções N-terminais (N-), que estão expostas fora do nucleossomo
- IV. As modificações pós-traducionais são extremamente dinâmicas, podendo ser adicionadas e removidas rapidamente por enzimas. Sendo assim, diferentes combinações das acetilações e metilações representadas acima, poderiam resultar em processos diferentes.

Das afirmativas acima, estão corretas, apenas:

- a. Todas as alternativas estão corretas.
- b. I e IV.
- c. I, III e IV.
- d. II e IV
- e. todas as alternativas estão incorretas

6. Mutações na molécula de DNA tem papel importante na evolução das espécies. Contudo, a sobrevivência de um indivíduo requer estabilidade do seu genoma. Para tanto, as células possuem mecanismos para corrigir alterações eventuais na molécula de DNA. Sobre esse assunto, analise as afirmações a seguir.

- I) As taxas de mutação são extremamente baixas.
- II) Mutações são deletérias e são eliminadas pela seleção natural.
- III) Mutações geram variações no conjunto de genes da população.
- IV) As mutações não podem ser espontâneas, mas apenas causadas por fatores mutagênicos, tais como agentes químicos e físicos.
- V) A substituição de uma base nitrogenada no DNA pode não causar nenhuma alteração na proteína produzida pela célula.

Assinale a alternativa que contém todas as afirmativas corretas:

- a. I, II e III
- b. I, III e V
- c. I, IV e V

d. II, IV e V

e. II, III e V

7. Sabe-se que a replicação do DNA é semiconservativa. Com base nesse mecanismo de replicação, assinale com V (verdadeiro) ou F (falso) as afirmações abaixo.

() O DNA original atua como molde, e cada novo DNA possui uma fita antiga e outra nova.

() Os quatro ribonucleosídeos trifosfatados, dATP, dGTP, dCTP e dUTP, devem estar presentes.

() A forquilha de replicação é assimétrica no sentido de que a polimerização de uma das fitas ocorre na direção 5' para 3', enquanto que a polimerização da outra fita ocorre na direção 3' para 5'.

() O DNA deve ser desnaturado (desenrolado) pela ação da DNA primase para tornar-se acessível ao pareamento das novas bases.

() A enzima DNA polimerase adiciona nucleotídeos novos de acordo com o molde de DNA.

() Em células eucarióticas, a replicação do DNA ocorre na fase S do ciclo celular, porém diferentes regiões de um mesmo cromossomo se replicam em diferentes tempos na fase S.

A sequência correta de preenchimento dos parênteses, de cima para baixo, é:

a. V, V, V, F, F, V

b. F, V, F, F, V, V

c. F, F, F, V, V, V

d. V, F, F, V, F, V

e. V, F, F, F, V, V

8. Sobre a recombinação genética podemos afirmar:

I) A recombinação geral, também conhecida como recombinação homóloga, é essencial para a correta segregação cromossômica durante a meiose e é um fator de variabilidade genética.

II) Durante o *crossing-over* há troca de material entre sequências localizadas em cromossomos homólogos.

III) Durante a replicação geralmente ocorre quebras das fitas de DNA e há a necessidade da busca por sequências homólogas para reparo.

IV) Os transposons e retrotransposons são importantes elementos de recombinação sítio-específica.

A(s) alternativa(s) correta(s) é (são):

- a. I, II, III e IV
- b. III e IV
- c. II
- d. I e IV
- e. I

9. Assinale com V (verdadeiro) ou F (falso) as afirmações abaixo.

() O ribossomo possui três sítios utilizados durante a síntese proteica: o sítio A que faz referência ao AMP cíclico, o sítio P que faz referência à Ponte e o sítio E que faz referência à "Exit" ou saída dos tRNAs.

() A cadeia crescente do RNA é estendida pela RNA polimerase na direção 3' para 5'.

() No ribossomo, o mRNA é traduzido no sentido 5'→3' e os tRNAs carregam os aminoácidos que serão unidos por ligações peptídicas para formar as proteínas.

() Na transcrição dos procariotos, vários genes podem possuir o mesmo promotor, sendo transcritos em um mesmo RNA mensageiro por várias classes de RNA polimerases atuando conjuntamente.

A sequência correta de preenchimento dos parênteses, de cima para baixo, é:

- a. F, V, F, F
- b. F, F, V, F
- c. V, F, V, F
- d. F, F, V, V
- e. F, F, F, V

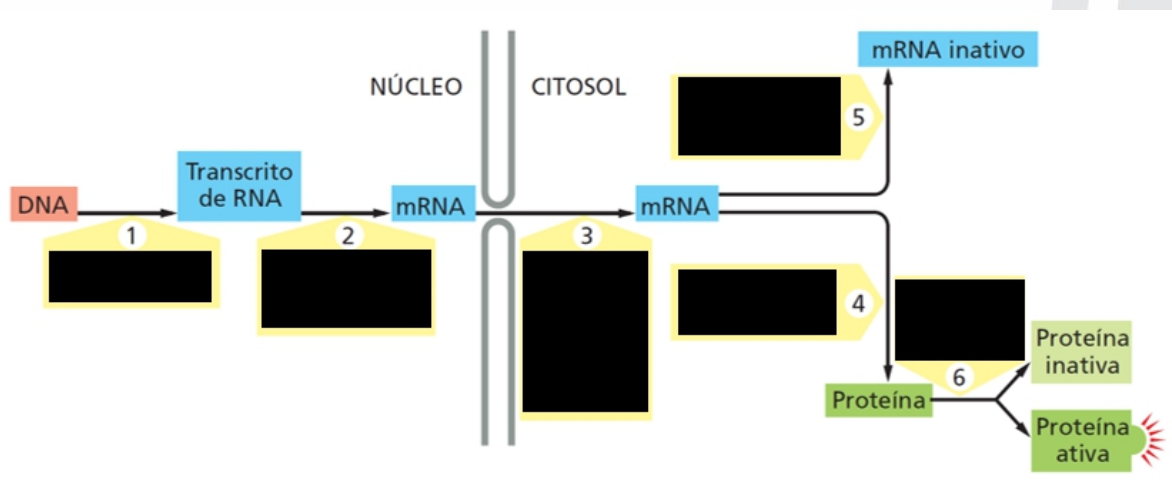
10. Durante a divisão celular, ocorre a separação das cromátides irmãs na transição da metáfase para a anáfase. Esta separação é regulada por um complexo enzimático conhecido como complexo promotor da anáfase (APC). A esse respeito, julgue as frases abaixo como verdadeiras (V) ou falsas (F):

- () O APC funciona como uma quinase que promove a ativação de proteases que clivam o complexo de coesão das cromátides irmãs;
- () O APC funciona como uma ubiquitina-ligase que promove a degradação de proteínas mitóticas regulatórias;
- () A ativação do APC depende de sua fosforilação e da degradação da proteína Cdc-20;
- () A degradação da proteína-fosfatase Cdc-20 aumenta à medida que a célula se aproxima da mitose.

A opção que indica a sequência correta é:

- A) F, V, V, F.
- B) F, V, F, F.
- C) V, F, F, V.
- D) V, F, V, V
- E) nenhuma das anteriores

11. Com base na figura abaixo, determine a ordem das seis etapas que a expressão gênica eucariótica pode ser regulada, enumerados nas caixas pretas:



1. Controle do transporte e da localização do RNA

2. Controle transcricional



3. Controle da degradação do RNA

4. Controle do processamento do RNA

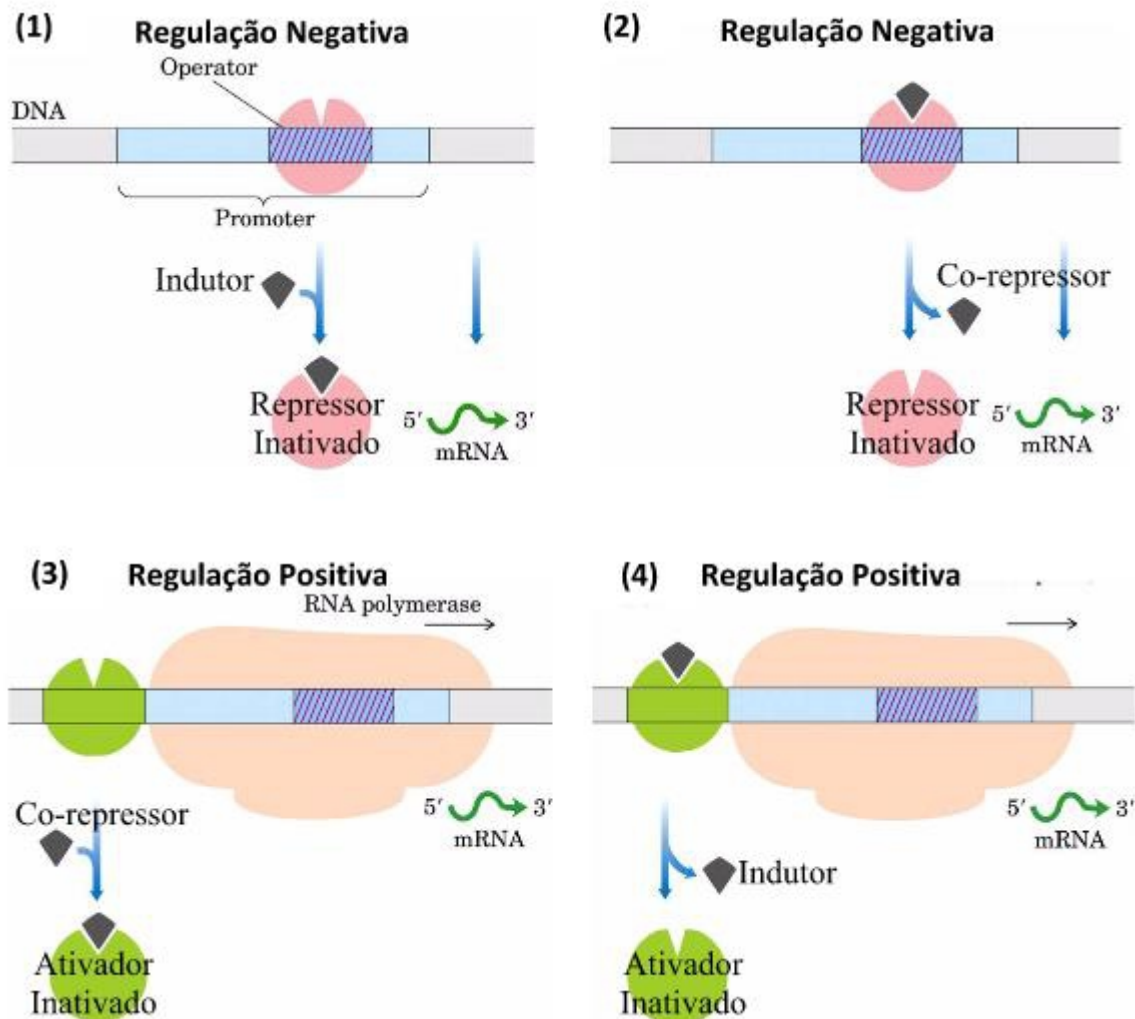
5. Controle da atividade proteica

6. Controle da tradução

Assinale a alternativa que apresenta a sequência correta desses eventos.

- a. 1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6
- b. 2 – 3 – 1 – 6 – 4 – 5
- c. 3 – 1 – 2 – 4 – 6 – 5
- d. 2 – 4 – 1 – 6 – 3 – 5
- e. 1 – 2 – 3 – 5 – 4 – 6

12. A Figura abaixo representa mecanismos de regulação gênica por proteínas ativadoras e repressoras e seus efetores (indutores ou co-repressores). Tendo em mente o mecanismo de regulação dos genes do *Operon Lac* bacteriano, e sabendo que um ativador e um repressor, juntos, controlam os genes *lac*, assinale a opção que representa este mecanismo e seus principais efetores:



- 1 e 4, onde o indutor do repressor Lac é a alolactose, e o indutor do ativador CAP é o cAMP.
- 1 e 3, onde o indutor do repressor Lac é a alolactose, e o co-repressor do ativador CAP é o cAMP.
- 2 e 3, onde o co-repressor do repressor Lac é o cAMP, e o co-repressor do ativador CAP é a alolactose.
- 2 e 4, onde o co-repressor do repressor Lac é o cAMP, e o indutor do ativador CAP é a alolactose.
- 1 e 2, onde o indutor do repressor LAC e ao cAMP, e o co-repressor do ativador CAP é a alolactose

13. De modo sucinto, podemos afirmar que as proteínas desempenham função estrutural e

dinâmica nas células e organismos. No aspecto estrutural podemos mencionar como exemplos as proteínas que compõem o citoesqueleto, a matriz extracelular, os cílios e flagelos. As funções dinâmicas incluem, catálise/síntese, transporte, sinalização, comunicação célula-célula, etc... As diferentes proteínas são codificadas por diferentes genes, sendo formadas por diferentes sequências de aminoácidos, conforme a função que desempenham. Sendo assim, embora compostas sempre pelos mesmos 20 aminoácidos, proteínas apresentam diferentes massas moleculares, diferentes padrões de hidrofobicidade e diferentes distribuições de cargas na superfície. As diferentes proteínas são também expressas em diferentes níveis de acordo com o padrão de expressão gênica do sistema, sendo que a expressão de uma dada proteína pode ser regulada por fatores fisiológicos ou ambientais. As células e organismos são então formados por misturas complexas de proteínas. Todavia, para determinação da atividade bioquímica de uma proteína é necessário isolá-lo do sistema e reconstituir sua atividade *in vitro*. Considerando as propriedades físico-químicas das proteínas avalie se as afirmativas abaixo quanto à purificação de proteínas:

a. Uma dada proteína pode ser purificada de misturas complexas com alto grau de homogeneidade através do uso de uma combinação de etapas de cromatografia líquida. Propriedades específicas das proteínas como tamanho, carga e ligante específico podem ser utilizadas, respectivamente, para realizar cromatografia de troca iônica, gel-filtração (ou exclusão molecular) e afinidade para purificar a proteína de interesse das demais.

b. Uma dada proteína pode ser purificada de misturas complexas com alto grau de homogeneidade através do uso de uma combinação de etapas de cromatografia líquida. Propriedades específicas das proteínas como tamanho, carga e ligante específico podem ser utilizadas, respectivamente, para realizar cromatografia de afinidade, troca iônica e gel-filtração (ou exclusão molecular) para purificar a proteína de interesse das demais.

c. Uma dada proteína pode ser purificada de misturas complexas com alto grau de homogeneidade através do uso de uma combinação de etapas de cromatografia líquida. Propriedades específicas das proteínas como tamanho, carga e ligante específico podem ser utilizadas, respectivamente, para realizar cromatografia de gel-filtração (ou exclusão molecular), troca iônica e afinidade para purificar a proteína de interesse das demais.

d. As alternativas a, b e c estão incorretas

e. As alternativas a, b e c estão corretas

14. Dentre as estratégias para se analisar a função de genes essenciais, as que mais contribuíram para o entendimento da função de novos genes envolvem a geração de mutantes condicionais. Este tipo de estratégia foi utilizado inicialmente em organismos unicelulares como *Escherichia coli* e *Saccharomyces cerevisiae*, que eram submetidos a agentes mutagênicos e depois selecionados para fenótipos específicos, sendo dois exemplos os mutantes em genes de reparo de DNA e no caso de específico de *Saccharomyces cerevisiae*, mutantes que apresentavam defeitos no ciclo celular. Subsequentemente, foram desenvolvidas técnicas para gerar organismos geneticamente modificados tanto unicelulares como multicelulares, incluindo plantas e animais. Considerando as modificações genéticas que podem ser feitas avalie se as afirmações são

(V) verdadeiras ou (F) falsas.

() Podem ser gerados organismos geneticamente modificados tanto para se inserir um gene novo ou para fazer deleção ou modificação de um gene ou segmento de DNA específico.

() Modificações genéticas em um dado organismo podem ser feitas apenas através de modificações no gene alvo, pois são os genes que modulam a síntese dos RNAs e das proteínas.

() Modificações genéticas podem ser feitas tanto diretamente no gene alvo como indiretamente através de modificações que modulem a transcrição do RNA codificado por este gene.

() Para organismos unicelulares haploides, a modificação de um gene que gere alterações fenotípicas, permite uma correlação direta dos fenótipos com a função do respectivo gene.

() A modificação de um gene que gere alterações fenotípicas, permite uma correlação direta dos fenótipos com a função do respectivo gene, independentemente do organismo ser diplóide ou haploide.

A sequência correta de preenchimento dos parênteses, de cima para baixo, é:

a. V, F, V, V, F

b. F, V, F, V, V

c. V, F, V, V, V

d. F, F, V, V, F

e. todas as alternativas estão incorretas

15. Uma célula animal típica tem de 10 a 20 μm de diâmetro, cerca de um quinto do tamanho da menor partícula visível a olho nu. Somente depois que bons microscópios ópticos tornaram-se disponíveis no início do século XIX, Schleiden e Schwann propuseram que todos os tecidos vegetais e animais são agregados de células individuais. A sua descoberta em 1838, conhecida como doutrina celular, marca o nascimento formal da biologia celular.

Com base nos seus conhecimentos e informações contidas no capítulo 9, intitulado “Visualizando células”, do livro Molecular Biology of the Cell” (6th ed. Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P.; New York: Garland Publishing; 2014, julgue os itens a seguir como verdadeiros (V) ou falsos (F):

() Uma limitação fundamental de todos os microscópios é que um certo tipo de radiação não pode ser utilizado para examinar detalhes estruturais muito menores do que o seu próprio comprimento de onda.

() Em microscopia ótica, o limite de separação pelo qual dois objetos ainda podem ser vistos como distintos, o assim chamado limite de resolução, depende tanto do tamanho da estrutura observada quanto da abertura numérica do sistema de lentes utilizado.

() As microscopias de contraste de fase, de contraste de interferência diferencial e de campo escuro tornaram possível visualizar os movimentos envolvidos em processos como a mitose e a migração celular.

() O baixo contraste alcançável por microscopia de contraste de interferência diferencial computadorizada tornou possível visualizar até mesmo objetos muito pequenos como um microtúbulo isolado, que tem um diâmetro de 0,025 μm , menor do que um décimo do comprimento de onda da luz.

() Os corantes fluorescentes utilizados para corar células são detectados por um microscópio de fluorescência. Este microscópio é semelhante a um microscópio óptico comum, exceto que a luz utilizada para iluminação, originada de uma fonte muito potente, passa através de dois conjuntos de filtros -um para filtrar a luz antes de ela atingir a amostra e um para filtrar a luz obtida a partir da amostra.

A sequência correta de preenchimento dos parênteses, de cima para baixo, é:

- a. V, F, F, F, F.
- b. V, F, V, F, V.
- c. F, V, F, V, F.
- d. V, V, V, F, V.
- e. nenhuma das anteriores

16. Para as análises na microscopia, a maioria das amostras de tecido é muito espessa para que suas células individuais sejam examinadas diretamente a uma alta resolução. As amostras precisam ser cortadas em fatias transparentes muito finas, ou secções.

Com base nos seu conhecimentos e informações contidas no capítulo 9, intitulado “Visualizando células”, do livro Molecular Biology of the Cell” (6th ed. Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P.; New York: Garland Publishing; 2014, determine a ordem dos eventos descritos para o correto processamento de amostras para análise da microscopia óptica

1. Tradicionalmente, as secções podem ser coradas com corantes orgânicos que têm alguma afinidade específica por determinados componentes subcelulares.
2. Os tecidos necessitam ser envolvidos em um meio de suporte antes de serem seccionados.

Os meios comuns de emblocamento são ceras ou resinas.

3. Para imobilizar e preservar as células no tecido elas devem ser tratadas com um fixador.
4. O tecido pode ser prontamente seccionado com um micrótomo, uma máquina com uma lâmina afiada que funciona como um fatiador de carne.

Assinale a alternativa que apresenta a sequência correta desses eventos.

- a) 1 – 2 – 3 – 4.
- b) 3 – 2 – 4 – 1.
- c) 2 – 4 – 3 – 1.
- d) 3 – 4 – 2 – 1.
- e) 1 – 2 – 4 – 3.

17. Sobre o uso de fluoróforos para identificação de alvos intracelulares, é correto afirmar:

I - moléculas fluorescentes podem absorver a luz em um comprimento de onda e emitir em outro comprimento de onda mais longo do que o comprimento de onda de absorção.

II - A proteína verde fluorescente (GFP – green fluorescent protein) pode ser utilizada como proteína reportadora para monitorar a expressão gênica por microscopia de fluorescência apenas em organismos transgênicos onde a sequência codificadora do GFP estiver sobre o controle do promotor do gene de interesse.

III - é possível acoplar fluoróforos a anticorpos, permitindo a detecção específica de alvos celulares.

IV - moléculas fluorescentes podem absorver a luz em um comprimento de onda e emitir em outro comprimento de onda menor do que o comprimento de onda de absorção.

V - É possível utilizar fluoróforos com mesmo comprimento de onda de emissão, como a fluoresceína e a rodamina para avaliar diferentes alvos celulares na mesma célula.

Das afirmativas acima, estão corretas, apenas

- A) III e IV.
- B) II, V.
- C) I e III.

D) I e II.

E) I e IV

18. Com relação ao sistema imune, as afirmações abaixo podem ser consideradas verdadeiras (V) ou falsas (F):

() A imunidade inata não requer exposição prévia ao antígeno e está presente desde o nascimento.

() A primeira defesa do organismo a um dano tecidual é a resposta inflamatória, um processo biológico complexo que envolve componentes vasculares, celulares e uma diversidade de substâncias solúveis, além de apresentar como sinais clínicos característicos rubor, calor, edema, dor e prejuízo funcional. A finalidade desse processo é remover o estímulo indutor da resposta e iniciar a recuperação tecidual local. Na inflamação aguda, predominam elementos da resposta imune inata e as principais células envolvidas são os linfócitos B.

() Patógenos apresentam moléculas chaves específicas chamados de padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs) que são reconhecidos pelos receptores de reconhecimento de padrões (PRRs). Diferentes PRRs reagem com específicos PAMPs mostrando distintos padrões de expressão e vias de sinalização ativas específicas, o que gera distintas respostas a diferentes patógenos.

A sequência correta de preenchimento dos parênteses, de cima para baixo, é:

a. V, F, V.

b. V, F, F.

c. F, F, V.

d. V, V, F.

e. nenhuma das anteriores

19. Maria, uma jovem estudante, viajou durante as suas férias para uma praia no nordeste brasileiro. Voltando das férias, Maria teve sintomas similar a uma gripe forte e aumento nos gânglios linfáticos o que a levou a procurar auxílio médico. O médico desconfiou de uma infecção causada por *Toxoplasma gondii*. Para confirmar esta suspeita, o médico solicitou um exame, baseado em sorologia contra o toxoplasma. Caso a suspeita do médico esteja correta, qual o mais provável resultado do diagnóstico sorológico?

- a. Presença de anticorpos IgE contra o *Toxoplasma gondii*
- b. Presença de anticorpos de IgG de alta afinidade contra o *Toxoplasma gondii*
- c. Presença de anticorpos IgD contra o *Toxoplasma gondii*
- d. Presença de anticorpos IgM contra o *Toxoplasma gondii*
- e. Presença de anticorpos IgT contra *Toxoplasma gondii*

20. A resposta imune é dividida didaticamente em múltiplas etapas. Ordene essas etapas (números) e associe com a função (letras) abaixo:

- 1 - Reconhecimento
- 2 - Ativação e expansão
- 3 - Resolução
- 4 - Declínio
- 5 - Memória

- () Fase onde ocorre a expansão clonal de células T para combate ao patógeno invasor;
- () Momento em que células específicas são armazenadas para futuro combate ao patógeno em caso de re-infecção;
- () Fase em que o patógeno já foi eliminado e a resposta cessa;
- () Fase em que ocorre a efetiva eliminação do patógeno;
- () Fase em que ocorre o processamento, apresentação de antígenos visando estimular células T específicas.

A ordem correta é:

- a. 2,4, 5, 3,1
- b. 2,5,4,3,1
- c. 2,5,4,1,3
- d. 5, 2,4,1,3
- e. 2,4,3,5,1

CARTÃO RESPOSTA – PROVA DE MESTRADO

- 1- Confira todos os seus dados e assine no campo indicado. Em caso de divergência comunique ao fiscal de prova
- 2- Não amasse, não dobre, não suje esta folha
- 3- Assinale apenas uma alternativa para esta questão. Mais de uma marcação anulará a resposta.
- 4- Faça marca sólidas nas bolhas, conforme orientação abaixo.

Número de inscrição: _____

Assinatura do candidato: _____

Respostas de 1 a 20					
1	A	B	C	D	E
2	A	B	C	D	E
3	A	B	C	D	E
4	A	B	C	D	E
5	A	B	C	D	E
6	A	B	C	D	E
7	A	B	C	D	E
8	A	B	C	D	E
9	A	B	C	D	E
10	A	B	C	D	E
11	A	B	C	D	E
12	A	B	C	D	E
13	A	B	C	D	E
14	A	B	C	D	E
15	A	B	C	D	E
16	A	B	C	D	E
17	A	B	C	D	E
18	A	B	C	D	E
19	A	B	C	D	E
20	A	B	C	D	E

ATENÇÃO
Modo correto de preencher as bolhas: ●

**PROVA DE MESTRADO PARA INGRESSO NO PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM
BIOCIÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA – INSTITUTO CARLOS CHAGAS – FIOCRUZ/PR**

QUESTÕES DISCURSIVAS: 30 PONTOS

ATENÇÃO: RESPONDER 3 QUESTÕES DAS 9 POSSÍVEIS

Artigo 1: The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors

Questões

- 1) Qual foi a hipótese principal do trabalho e que informações prévias levaram os autores a formulação dessa hipótese? (Ponto: 10)
- 2) Segundo o artigo de Emma Lefrançais e colaboradores, cerca de 50% da produção total de plaquetas acontece nos pulmões do camundongo. De maneira geral, como os autores chegaram a essa estimativa? (Ponto: 10)
- 3) Explique e interprete de maneira integral o gráfico da figura 3b. (Ponto:10)

Artigo 2: A single mutation in the prM protein of Zika virus contributes to fetal microcephaly.

Questões

- 1) O Zika vírus foi primeiramente isolado em 1947. Qual a hipótese desse trabalho para justificar a ausência de relação entre a infecção por Zika vírus e quadros de microcefalia até o século 21? Quais informações prévias levaram os autores à formulação dessa hipótese? (Ponto: 10)
- 2) Esse trabalho identifica uma mutação potencialmente patogênica.
 - a. Que mutação é essa? (Ponto: 2.0)
 - b. Em qual proteína do vírus a mutação ocorre? (Ponto 1.0)
 - c. Qual a função dessa proteína? (Ponto 3.5)
 - d. Qual a provável implicação dessa mutação? (Ponto: 2.5)
- 3) Em relação às conclusões desse trabalho.
 - a. Descreva as evidências científicas que suportam as conclusões desse trabalho? (Ponto: 5.0)
 - b. Descreva as metodologias empregadas para suportar as conclusões desse trabalho? (Ponto: 5.0)

Artigo 3: Thiol-linked alkylation of RNA to assess expression dynamics

Questões

- 1) O trabalho intitulado “Thiol-linked alkylation of RNA to assess expression dynamics”, apresenta um método elegante para avaliar a dinâmica de expressão gênica. De acordo com os autores do trabalho, responda:

- a. Qual é a principal vantagem do método proposto no artigo em relação aos demais métodos que utilizam-se de marcação metabólica de RNAs? (Ponto: 5.0)
- b. Quais seriam as principais limitações descritas para aplicação do método? (Ponto: 5.0)

2) Considerando o método de marcação metabólica de RNAs apresentada no trabalho, responda:

- a. Como é feita a identificação das espécies de RNAs transcritos marcados pelo método descrito? (Ponto: 5.0)
- b. Qual foi o método experimental empregado determinação da meia-vida dos mRNAs transcritos? Descreva-o resumidamente. (Ponto: 5.0)

3) Uma maneira de avaliar a dinâmica da expressão gênica consiste em análise de estabilidade de RNAs. Nesse contexto, responda:

- a. Analisando-se a Figura 3, qual foi a explicação dada pelos autores quanto à observação de alta taxa de conversão T>C para Sox2 e miR-290-295, e a baixa taxa de conversão T>C para Gapdh? (Ponto: 5.0)
- b. Qual foi o racional dos autores ao empregar o sistema CRISPR/Cas9 na validação do método? (Ponto: 5.0)

**PROVA DE MESTRADO PARA INGRESSO NO PROGRAMA DE PÓS
GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA – INSTITUTO
CARLOS CHAGAS – FIOCRUZ/PR**

QUESTÕES OBJETIVAS

1- C

2- A

3- A

4- D

5- QUESTÃO ANULADA POR DUBIEDADE DE INTERPRETAÇÃO

6- B

7- E

8- A

9- B

10- B

11- D

12- A

13- C

14- C

15- B

16- B

17- C

18- A

19- D

20- B

QUESTÕES DISCURSIVAS

Artigo 1: The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors

Questões

1) Qual foi a hipótese principal do trabalho e que informações prévias levaram os autores a formulação dessa hipótese? (Ponto: 10)

Resposta: A hipótese do trabalho foi que os pulmões teriam um papel importante na biogênese das plaquetas (**ponto: 4**). Os autores se basearam em trabalhos anteriores que mostrou a presença de megacariócitos (células que dão origem as plaquetas) nos pulmões e que o sangue que sai dos pulmões contém mais plaquetas e menos megacariócitos do que o sangue que entra nos pulmões (**ponto: 6**).

2) Segundo o artigo de Emma Lefrançais e colaboradores, cerca de 50% da produção total de plaquetas acontece nos pulmões do camundongo. De maneira geral, como os autores chegaram a essa estimativa? (Ponto: 10)

Resposta: Os autores quantificaram os megacariócitos e as pró-plaquetas (GFP +) nos pulmões atribuindo volumes de superfície (**ponto: 2**). Para cada célula GFP + grande submetida a liberação de plaquetas, calcularam o número de plaquetas que poderiam ser liberadas na circulação pulmonar, e isso variou de menos de 500 plaquetas para pequenos megacariócitos ou mais de 1.000 plaquetas para megacariócitos maiores, com uma mediana de cerca de 500 plaquetas por megacariócito (**ponto: 2**). No total, foi analisado 20 h de metragem de 10 camundongos, e observou uma média de 2,2 megacariócitos por hora em um volume pulmonar formado de 0,07 mm³ (**ponto: 2**). Quando extrapolado para todo o volume dos pulmões, isso equivale a mais de 10 milhões de plaquetas produzidas por hora dos pulmões (**ponto: 2**). Quando ajustado o tempo de vida das plaquetas e sequestro pelo baço, estimou-se que o pulmão é responsável por aproximadamente 50% das plaquetas totais no camundongo (**ponto: 2**).

3) Explique e interprete de maneira integral o gráfico da figura 3b. (Ponto:10)

Resposta: Os pulmões de doadores foram extensivamente perfundidos e os pulmões esquerdos foram imediatamente transplantados para ratos receptores do tipo selvagem ou mutante c-mpl-/- (trombocitopênico – redução do número de plaquetas) (**Ponto: 1.5**). Estes ratinhos transplantados foram injetados com TPO (growth factor thrombopoietin – estimula a formação de plaquetas) nos dias 3 e 40 pós-transplante e sangrado semanalmente para rastrear o número de plaquetas (**Ponto: 1.5**). O gráfico apresenta no eixo “X” os dias após o transplante e no eixo “Y” o número de plaquetas no sangue (10⁶ por ml) (**Ponto: 01**). Estão plotados no gráfico os grupos: controle positivo (PF4-tom -> WT), Resposta sustentada (PF4-tom -> c-mpl-/-) e controle negativo (c-mpl-/- -> c-mpl-/-) (**Ponto: 1**). No grupo controle positivo, a produção de plaquetas se manteve constante ao longo dos dias, enquanto que o grupo do controle negativo não apresentou produção de plaquetas (**Ponto: 1**). O grupo de “Resposta sustentada”, que representa o camundongo sem produção de plaquetas com o pulmão esquerdo transplantado de um camundongo normal (**Ponto: 1**), passa a produzir plaquetas a partir de ~40 dias e com ~90 dias apresenta produção de plaquetas muito próximo ao controle positivo (**Ponto: 1.5**). Conclusão: como o pulmão foi “lavado” antes do transplante, os megacariócitos intravasculares foram removidos, e mesmo assim o grupo “Resposta sustentada” apresentou produção de plaquetas, sugerindo que os megacariócitos extravasculares são capazes de restaurar a produção de plaquetas (**Ponto:1.5**).

Artigo 2: A single mutation in the prM protein of Zika virus contributes to fetal microcephaly.

Questões

1) O Zika vírus foi primeiramente isolado em 1947. Qual a hipótese desse trabalho para justificar a ausência de relação entre a infecção por Zika vírus e quadros de microcefalia até o século 21? Quais informações prévias levaram os autores à formulação dessa hipótese? (Ponto: 10)

Resposta: ZIKV adquiriu algumas mutações adaptativas para tornar-se mais virulenta para o cérebro fetal humano (Ponto: 5). Alguns resultados preliminares das linhas celulares indicam efeitos específicos da tensão em células infectadas pelo ZIKV (Ponto: 5).

2) Esse trabalho identifica uma mutação potencialmente patogênica.

a. Que mutação é essa? (Ponto: 2.0)

Resposta: Mutação da serina 139 por asparagina (S139N)

b. Em qual proteína do vírus a mutação ocorre? (Ponto 2.0)

Resposta: prM

c. Qual a função dessa proteína? (Ponto 3.5)

Resposta: A proteína prM do flavivírus é necessária para a maturação, a saída e a secreção viral, e pensa-se que o domínio pr evita a fusão prematura dentro das células infectadas.

d. Qual a provável implicação dessa mutação? (Ponto: 2.5)

Resposta: A substituição S139N pode ter alguns efeitos sobre a transição do ZIKV do virion imaturo para o viron maduro e a heterogeneidade na maturidade dos virions da progênie pode, portanto, afetar a aptidão viral e a neurovirulência.

3) Em relação às conclusões desse trabalho.

a. Descreva as evidências científicas que suportam as conclusões desse trabalho? (Ponto: 5.0)

Resposta:

a cepa contemporânea VEN / 2016 mostrou características de crescimento e placa similares às da CAM / 2010 em estudos baseados em linhagens celulares in vitro. Estes resultados mostram que as cepas contemporâneas de ZIKV são mais neurovirulentas em camundongos do que a sua cepa ancestral CAM / 2010.

Utilizando as cepas contemporâneas e ancestrais em um modelo estabelecido de microcefalia embrionária de camundongo, vEN / 2016 apresentaram replicação significativamente aumentada no cérebro em comparação com CAM / 2010.

Este resultado foi também verificado em cultura primária de NPCs de camundongos (mNPCs). Especificamente, VEN / 2016 induziu mais apoptose (células positivas para a forma ativada de Caspase 3) em diferentes regiões do cérebro, bem como maior perda de neurônios maduros e imaturos (neurônios positivos para NeuN e Tbr1, respectivamente), em comparação com CAM / 2010. Além disso, descobrimos que VEN/2016 perturbou a proliferação e a diferenciação dos NPCs de forma mais significativa do que CAM/2010, como indicado pela diminuição substancial das células positivas de histona H3 (P-H3) fosforiladas e índice de saída do ciclo celular (Ki67-BrdU + / BrdU + células).

a análise coalescente indicou que várias substituições críticas de resíduos surgiram em diferentes pontos de tempo antes do surto sul-americano e foram mantidas de forma estável nas cepas epidêmicas contemporâneas.

uma única substituição reversa, N139S, do vírus parental VEN / 2016 diminuiu substancialmente a mortalidade causada pelo vírus em camundongos neonatais

Nós ainda caracterizamos a infectividade dos vírus S139N e WT em NPCs humanos (hNPCs), derivados de células-tronco embrionárias humanas, e os resultados confirmaram que S139N apresentou replicação aumentada em hNPCs e causou uma morte celular mais extensa em comparação com o vírus WT. Da mesma forma, o mutante S139N mostrou replicação viral aumentada em mNPCs em comparação com o vírus WT.

Testamos o impacto da substituição do S139N no modelo de microcefalia embrionária. De forma notável, a infecção do vírus mutante S139N levou a um fenótipo microcefálico mais severo e um córtex mais fino do que o vírus WT. Especificamente, o vírus mutante S139N mostrou uma infecção mais robusta dos NPCs do cérebro embrionário, acompanhada de mais morte celular na placa cortical. Além disso, o mutante S139N perturbou a proliferação e diferenciação NPC mais significativamente do que o vírus WT. Como esperado, o vírus mutante N130S causou muito menos morte celular do que o mutante S139N em diferentes regiões do cérebro, semelhante ao vírus WT.

b. Descreva as metodologias empregadas para suportar as conclusões desse trabalho? (Ponto: 5.0)

Ensaio de placa, Análise filogenético e de relógio molecular, Geração de Mutantes ZIKV, Análise da Curva de Crescimento, Experimentos em células e em animais, imuno-histoquímica, imunofluorescência e ensaios com anticorpos, microscopia confocal, modelagem estrutural.

Artigo 3: Thiol-linked alkylation of RNA to assess expression dynamics

Questões

1) O trabalho intitulado “Thiol-linked alkylation of RNA to assess expression dynamics”, apresenta um método elegante para avaliar a dinâmica de expressão gênica. De acordo com os autores do trabalho, responda:

a. Qual é a principal vantagem do método proposto no artigo em relação aos demais métodos que utilizam-se de marcação metabólica de RNAs? (Ponto: 5.0)

Resposta: O diferencial do método proposto é a possibilidade de identificação direta das espécies de RNAs marcados em meio ao RNA total, não havendo necessidade de separação e/ou purificação dos RNAs marcados previamente à análise.

b. Quais seriam as principais limitações descritas para aplicação do método? (Ponto: 5.0)

Resposta: O método restringe-se à análise de expressão gênica de transcritos dependentes da RNA polimerase II e falha em discriminar variantes de transcritos como isoformas decorrentes de splicing alternativo. Além disso, em alguns casos, a incorporação de s4U foi associada a defeitos no processamento do rRNA em células humanas cancerosas.

2) Considerando o método de marcação metabólica de RNAs apresentada no trabalho, responda:

a. Como é feita a identificação das espécies de RNAs transcritos marcados pelo método descrito? (Ponto: 5.0)

Resposta: Através da identificação da conversão de Timidina (T) para Citidina (C) (T>C) a partir do resultado do sequenciamento do DNA oriundo da transcrição reversa dos RNAs contendo s4U alquilados.

b. Qual foi o método experimental empregado na determinação da meia-vida dos mRNAs transcritos? Descreva-o resumidamente. (Ponto: 5.0)

Resposta: O método empregado foi Pulse-Chase. As células foram cultivadas na presença de s4U por um determinado tempo (24h), seguida de lavagem e substituição de s4U por U (uridina não marcada). Então os RNAs foram coletados em diversos pontos subsequentes e analisados pelo método descrito no artigo. Com base na diminuição do número de conversões T>C nos transcritos específicos ao longo do tempo, a meia-vida dos respectivos transcritos pôde ser calculada.

3) Uma maneira de avaliar a dinâmica da expressão gênica consiste em análise de estabilidade de RNAs. Nesse contexto, responda:

a. Analisando-se a Figura 3, qual foi a explicação dada pelos autores quanto à observação de alta taxa de conversão T>C para Sox2 e miR-290-295, e a baixa taxa de conversão T>C para Gapdh? (Ponto: 5.0)

Resposta: Provavelmente porque Sox2 e miR-290-295 são instáveis, com alta taxa de turnover, incorporando mais frequentemente s4U durante o processo de marcação metabólica, ao passo que o Gapdh, um gene constitutivo, seria mais estável, ou seja, com baixo turnover, de forma que sua marcação aconteceria numa frequência menor.

b. Qual foi o racional dos autores ao empregar o sistema CRISPR/Cas9 na validação do método desenvolvido? (Ponto: 5.0)

Resposta: Os autores aplicaram o sistema CRISPR/Cas9 para inativar Xpo5 e Mettl3, componentes chave em complexos associados à degradação de RNAs, como biogênese de miRNAs e metilação de RNAs, respectivamente. Com a inativação de complexos que atuam na degradação de RNAs, espera-se aumento na estabilidade dos transcritos-alvos. Nas duas condições avaliadas, tanto para inativação de Xpo5 quanto para inativação de Mettl3, os autores observaram aumento significativo da estabilidade relativa dos transcritos-alvos frente à condição selvagem, confirmando os resultados esperados e assim, validando o método.