



## Prova Objetiva de Conhecimentos Específicos

Leia com atenção as instruções abaixo.

- 1 Confira atentamente o seu caderno de provas objetivas, que é constituído de duas provas, da seguinte forma:  
**Conhecimentos Básicos**, com **30** questões, ordenadas de **1 a 30**.  
**Conhecimentos Específicos**, com **40** questões, ordenadas de **31 a 70**.
- 2 Quando autorizado pelo chefe de sala, no momento da identificação, escreva, no espaço apropriado da **folha de respostas**, com a sua caligrafia usual, a seguinte frase:

O descumprimento dessa instrução implicará a anulação das suas provas e a sua eliminação do concurso.

- 3 Confira atentamente os seus dados pessoais e os dados identificadores de seu cargo/área, transcritos acima, com o que está registrado em sua **folha de respostas**. Confira também o seu nome, o nome e o número de seu cargo/área no rodapé de cada página numerada do seu caderno de provas. Caso o caderno esteja incompleto, tenha qualquer defeito, ou apresente divergência quanto aos seus dados pessoais ou aos dados identificadores de seu cargo/área, solicite ao fiscal de sala mais próximo que tome as providências cabíveis, pois não serão aceitas reclamações posteriores nesse sentido.
- 4 Não se comunique com outros candidatos nem se levante sem autorização de fiscal de sala.
- 5 Na duração das provas, está incluído o tempo destinado à identificação — que será feita no decorrer das provas — e ao preenchimento da folha de respostas.
- 6 Ao terminar as provas, chame o fiscal de sala mais próximo, devolva-lhe a sua folha de respostas e deixe o local de provas.
- 7 A desobediência a qualquer uma das determinações constantes em edital, no caderno de provas ou na folha de respostas poderá implicar a anulação das suas provas.

### OBSERVAÇÕES

- Não serão conhecidos recursos em desacordo com o estabelecido em edital.
- Informações adicionais: telefone 0(XX) 61 3448-0100; Internet – [www.cespe.unb.br](http://www.cespe.unb.br).
- É permitida a reprodução deste material apenas para fins didáticos, desde que citada a fonte.

Nas questões de **31 a 70**, marque, para cada uma, a única opção correta, de acordo com o respectivo comando. Para as devidas marcações, use a **folha de respostas**, único documento válido para a correção das suas provas.

## CONHECIMENTOS ESPECÍFICOS

### QUESTÃO 31

Considerando que a microscopia eletrônica de transmissão (MET) se diferencia da microscopia de luz em muitos aspectos, assinale a opção que apresenta apenas elementos pertencentes à MET.

- A** utilização de corantes, observação de material incluído em parafina e cortado em micrótomo, uso de luz no espectro do ultravioleta (UV)
- B** metalização do material a ser observado, marcação com anticorpos primários e secundários, observação de amostras vivas
- C** uso de feixe de elétrons para a formação das imagens, uso de soluções de sais de metais pesados como contrastantes, observação de cortes ultrafinos das amostras, de cerca 70 nm de espessura
- D** secagem das amostras ao ponto crítico, congelamento da amostras em nitrogênio líquido, uso de sondas fluorescentes associadas a anticorpos
- E** uso de resinas hidrofílicas para inclusão das amostras, observação de amostras coradas com azul de toluidina, uso de oligonucleotídeos marcados com fluorocromos específicos

### QUESTÃO 32

Na MET, a imagem se forma quando

- A** um feixe de elétrons atravessa a amostra, podendo ser desviado pela interação com os agentes contrastantes presentes nessa amostra. Nesse caso, a imagem é formada por uma combinação de elétrons que alcançam e não alcançam o *écran* do microscópio.
- B** a amostra é atravessada por um feixe de elétrons, que colidem com os elétrons dos átomos dessa amostra, provocando a liberação de raios X. Nesse caso, a imagem é formada com base na medição dos raios X emitidos pela amostra.
- C** um feixe de prótons é utilizado para atravessar a amostra e provoca a desestabilização do núcleo dos átomos dessa amostra; ocorre, então, a liberação de partículas pelo núcleo desses átomos, a energia das partículas é captada e medida, e a imagem é gerada com base nessas medições.
- D** um *laser* de alta potência é transmitido através da amostra corantes especiais são utilizados para maximizar as cores obtidas da amostra e um fotodetector recebe a imagem formada, transmitindo-a para um programa que a exibe em um monitor de computador.
- E** a amostra é atravessada por um feixe de elétrons que trocam de lugar com os elétrons das camadas mais externas dos átomos, presentes na amostra biológica. Essa troca de posição eletrônica libera energia na forma de calor, fazendo que uma imagem térmica seja formada, a partir da amostra, com o auxílio de um programa específico.

### QUESTÃO 33

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) também utiliza feixe de elétrons que interagem com a amostra. Na MEV, o feixe de elétrons é emitido

- A** a partir de uma placa de ouro submetida a uma elevada diferença de potencial.
- B** termionicamente, a partir de um catodo (filamento) de tungstênio ou hexaboreto de lantânio, acelerado por meio de um anodo.
- C** a frio, a partir de uma placa de titânio submetida ao processo de eletrólise química.
- D** a partir de uma bobina eletromagnética, pela qual elevada corrente elétrica passa, removendo uma nuvem eletrônica, que é atraída para a coluna do microscópio de varredura por elevada carga positiva.
- E** a partir de uma ampola de gás neônio, que é submetida a grande diferença de potencial elétrico.

### QUESTÃO 34

O tungstênio, metal de escolha para a produção de filamentos para microscopia eletrônica, apresenta como vantagens, para esse tipo de aplicação, entre outras, o fato de

- A** ser encontrado dissolvido na água do mar e ser fácil de purificar, sendo extremamente abundante para uso industrial.
- B** ter baixo ponto de fusão e alta resistência à temperatura, sendo ideal para uso como fonte emissora de elétrons.
- C** ser metal refratário ao calor e ter alta pressão de vapor, apresentando índice de desprendimento de elétrons elevado.
- D** possuir grande resistência à oxidação e elevado índice de combinação com outros metais, sendo o metal de escolha para a produção de ligas metálicas.
- E** ter alto ponto de fusão e baixa pressão de vapor, permitindo que seja aquecido para a emissão de elétrons.

**QUESTÃO 35**

Na MEV típica, durante a interação do feixe de elétrons com a amostra, ocorre troca de energia entre o feixe de elétrons e a amostra. Essa interação acarreta

- A reflexão de elétrons de alta energia por interação elástica, emissão de elétrons secundários por interação inelástica e emissão de radiação eletromagnética.
- B emissão de partículas carregadas oriundas da desintegração nuclear dos átomos da amostra, emissão de raios UV e emissão de radiação térmica.
- C emissão de fótons devido à mudança de orbital dos elétrons, emissão de partículas gama pelos núcleos atômicos e emissão de raios X.
- D emissão de luz no comprimento de onda do UV, emissão de micro-ondas e emissão de calor.
- E emissão de fótons de baixa energia, emissão de raios X e emissão de fótons nos comprimentos de onda de 560 nm a 650 nm.

**QUESTÃO 36**

As imagens formadas a partir da MEV apresentam diferenças significativas quando comparadas às imagens obtidas pela MET. Nas imagens obtidas por MEV, a principal característica da imagem é ser

- A topográfica, tipicamente da superfície da amostra, gerada em tons de cinza e em três dimensões.
- B plana, em duas dimensões e colorida, tipicamente representando o interior da amostra.
- C colorida, representativa das estruturas analisadas e em duas dimensões.
- D composta por linhas de contorno, em duas dimensões e em preto e branco.
- E colorida, mostrando cores apenas em um comprimento de onda selecionado pelo operador, ou seja, uma imagem exclusivamente do interior do material observado.

**QUESTÃO 37**

O microscópio de varredura de dois feixes apresenta algumas vantagens sobre o microscópio de varredura convencional. Assinale a opção que descreve a configuração típica para emissão e a natureza dos feixes.

- A uma coluna única, com dois canhões de emissão de elétrons, um de baixa e outra de alta voltagem.
- B duas colunas, uma para emissão de elétrons em alto vácuo e outra para emissão de elétrons em condições ambientais.
- C uma coluna única, com dois canhões de emissão de elétrons, sendo que os feixes de elétrons são emitidos intercaladamente, cada um incidindo na amostra em momentos diferentes.
- D uma coluna para o feixe primário de íons e uma coluna para o feixe de elétrons.
- E duas colunas que emitem cada uma um feixe de íons, sendo que a aceleração dos íons na coluna primária é feita por alta voltagem e na secundária, por baixa voltagem.

**QUESTÃO 38**

A reconstrução tridimensional de imagens em MET passou a ser mais prática com o surgimento de microscópios de média e alta voltagem. Nesse contexto, assinale a opção correta com relação ao procedimento utilizado na tomografia de elétrons.

- A São utilizados cortes extremamente delgados do material, a amostra é fotografada com diferentes voltagens de aceleração dos elétrons, as imagens são adquiridas por uma câmera CCD e utilizadas para a reconstrução tridimensional pelo tomograma.
- B Dentro da coluna do microscópio, encontram-se associadas uma câmera CCD de alta velocidade de registro de imagens e uma lâmpada estroboscópica, o material é cortado em seções de cerca de 70 nm, e o feixe de elétrons é desativado no momento da captura da imagem. A lâmpada estroboscópica é acionada e a câmera captura uma série de imagens do material. Essas imagens serão utilizadas para a reconstrução tridimensional em um programa específico.
- C São utilizados cortes espessos do material, de 1  $\mu\text{m}$  a 2  $\mu\text{m}$ . Para a tomografia, o espécime é girado no eixo Y com incremento de 2° de -60° a +60°. As imagens obtidas com esse procedimento correspondem às diversas retas que atravessam o volume do espécime e serão utilizadas na reconstrução pelo tomograma.
- D São utilizados cortes espessos do material, de cerca de 1 mm. O espécime é colocado no porta-amostra e girado em ângulo de 90°; é obtida uma imagem a cada 90° do material, até que ele tenha girado 360°. Essas imagens serão carregadas em um programa de reconstrução de imagem para gerar a imagem definitiva.
- E A amostra cortada em espessura de rotina (cerca de 70 nm) é colocada no porta-amostra para que se obtenha uma imagem a cada 10 s, sendo que, a cada imagem, há uma variação da corrente do filamento da ordem de 1 A. Ao final, as imagens são carregadas em um programa de reconstrução tridimensional, que reconstrói a imagem final.

**QUESTÃO 39**

As principais vantagens da tomografia de elétrons em relação à reconstrução tridimensional a partir de cortes seriados incluem

- A sua propriedade de gerar imagens coloridas, mesmo utilizando-se elétrons.
- B ser capaz de reconstruir uma imagem tridimensional a partir de uma única imagem capturada e com gasto mínimo de tempo.
- C ser mais precisa, por utilizar imagens obtidas das emissões de raios X, e poder ser executada em menor tempo, sendo, portanto, ideal para reconstruir moléculas como ácido desoxirribonucleico e proteínas.
- D ser mais precisa, de tal modo que se mostra ideal para reconstrução atômica das moléculas contidas em amostra biológica ou em outros tipos de materiais, especialmente os metálicos.
- E ser menos laboriosa, apresentar maior fidelidade e precisão, especialmente em relação a estruturas delgadas e de grande extensão, como túbulos T e retículo endoplasmático.

**QUESTÃO 40**

Com referência aos requisitos básicos para a fixação de material biológico no processamento de amostras biológicas para observação por microscopia eletrônica, assinale a opção correta.

- A** A luminosidade da sala onde o processamento será realizado deve ser mantida inalterada, porque as soluções fixadoras são severamente afetadas pela exposição à luz; por isso, tanto o estoque quanto o manuseio de tais soluções devem ser feitos em câmaras escuras.
- B** O pH das soluções fixadoras deve ser mantido inalterado, porque materiais fixados em soluções fixadoras não tamponadas sofrem profundas alterações, visto que a acidificação da amostra precede a fixação e pode dissociar moléculas, como, por exemplo, proteínas em peptídios de menor peso molecular.
- C** O tempo de remoção da amostra deve ser rigorosamente controlado, por ser um fator crítico em sua preservação, visto que, quanto mais tempo a amostra ficar fora das soluções fixadoras, exposta diretamente ao ar, maior será sua preservação. O ar ainda traz o benefício de oxidar as moléculas biológicas, evitando, dessa forma, sua dissecação.
- D** O ponto de ebulição das soluções fixadoras deve ser cuidadosamente modificado pela adição de solutos não voláteis, propriedade coligativa que determina o aumento da capacidade de fixação do agente fixador por promover o abaixamento do seu ponto de congelamento.
- E** O tamanho da amostra em relação ao volume de solução fixadora é um dos requerimentos básicos para a preservação das amostras, desta forma deve obter o maior fragmento possível da amostra e fixá-lo com o menor volume possível de solução fixadora, desta forma o agente fixador que não é um composto aditivo penetrará na amostra fixando-a por completo.

**QUESTÃO 41**

Considerando que o pH das soluções-tampão está sujeito a variações sob determinadas condições, assinale a opção correta.

- A** Visto que o solvente da solução-tampão influencia diretamente o pH da solução, deve-se fazer sempre soluções em HCl para manter o pH em torno de 7,2.
- B** Soluções-tampão sempre devem ser preparadas com solventes orgânicos, que impedem a variação do pH e ainda proporcionam os efeitos sinérgicos de tamponamento e desidratação simultânea no material biológico.
- C** A adição de cátions divalentes nos tampões deve ser feita de forma bastante abundante, notadamente com o uso de cloreto de cálcio, uma vez que elevadas concentrações desses elementos estabilizam o pH das soluções-tampão.
- D** A temperatura influencia diretamente a constante de dissociação (pKa) de uma solução-tampão, visto que um mesmo tampão pode variar até uma unidade de pH se estiver a 4 °C ou a 37 °C.
- E** O uso de HCl provoca a elevação do pH das soluções-tampão; por isso, tampões diferentes devem conter o mesmo volume de HCl para que o pH fique estável.

**QUESTÃO 42**

Assinale a opção que contém algumas exigências para um “bom tampão” para uso no preparo de amostras biológicas para microscopia eletrônica.

- A** 1,5 e 3,0, baixa solubilidade em água, suscetibilidade à oxidação e altas concentrações de aminas primárias que possam reagir com o glutaraldeído, melhorando a fixação.
- B** 12 e 14, alta solubilidade em xilol, alta condutibilidade elétrica e efeito acentuado com íons presentes nas soluções fixadoras.
- C** 1 e 2, alta solubilidade em água, alta condutibilidade térmica, baixo ponto de ebulição e baixo ponto de congelamento.
- D** 0,5 e 2, mercúrio bem solubilizado, alta condutibilidade elétrica, baixo ponto de ebulição e alto ponto de fusão.
- E** 6,0 e 8,0, solubilidade máxima em água e mínima em outros solventes, resistência à oxidação e ausência de aminas primárias que possam reagir com o glutaraldeído, interferindo na fixação.

**QUESTÃO 43**

Durante o processamento de amostras biológicas para MET, ocorre a etapa de desidratação, que é

- A** uma etapa de transição que visa remover a água presente nas amostras biológicas por meio de exposição dessas amostras a temperatura de 60 °C por 30 min. Nessa temperatura, a perda da água será gradual e o material terá sua morfologia preservada.
- B** uma etapa de transição que visa remover os lipídios presentes nas amostras biológicas por meio de sua substituição por solventes orgânicos, de forma que as resinas de inclusão possam ocupar os espaços antes ocupados por tais moléculas.
- C** uma etapa de transição que visa substituir a água presente nas amostras biológicas por um fluido miscível com as resinas de inclusão, que são, na maioria das vezes, hidrofóbicas.
- D** uma etapa intermediária que visa remover as proteínas encontradas no citoplasma, de forma a reduzir a força osmótica e, dessa forma, remover a água presente nas amostras biológicas.
- E** a etapa final do processamento da amostra biológica, que visa remover os carboidratos presentes nas amostras biológicas, de forma a minimizar as cargas negativas da superfície das membranas plasmáticas, o que permite a inclusão do material nas resinas hidrofóbicas.

**QUESTÃO 44**

No processamento de amostras biológicas para microscopia eletrônica, a escolha da acetona como agente desidratante tem a desvantagem de essa substância

- A não ser volátil e não provocar a extração de lipídios dos materiais.
- B não ser higroscópica e preservar totalmente o conteúdo lipídico das amostras.
- C apresentar alto ponto de ebulição (acima de 120 °C) e não ser higroscópica.
- D provocar menor retração nos tecidos e apresentar melhor miscibilidade com a resina Epon.
- E ser higroscópica e apresentar baixa miscibilidade com a resina Epon.

**QUESTÃO 45**

O preparo de amostras biológicas para a análise pela MEV introduz alguns elementos novos quando comparado ao processamento para MET. Assinale a opção correspondente a procedimentos executados apenas no preparo de amostras para MEV convencional.

- A secagem pelo ponto crítico e metalização
- B fixação e inclusão
- C infiltração e ultramicrotomia
- D fixação e desidratação
- E pós-fixação e desidratação

**QUESTÃO 46**

A técnica que pode ser usada, na MET, para observar macromoléculas isoladas e partículas virais a partir do preparo dessas amostras íntegras, visando a uma representação tridimensional, é a

- A microscopia de campo escuro.
- B contrastação negativa.
- C contrastação opositiva.
- D imunocitoquímica.
- E citoquímica ultraestrutural.

**QUESTÃO 47**

Na MET, para se observar partículas virais e macromoléculas, é necessário o tratamento prévio das grades que receberão o material, que consiste de

- A revestimento com ouro coloidal e poli-L-lisina.
- B revestimento com uma camada de ouro de 20 nm e, em seguida, pulverizadas com carbono.
- C revestimento com películas de formvar ou colódio e, em seguida, pulverizadas com carbono.
- D pulverização com carbono e, em seguida, revestimento com poli-L-lisina.
- E revestimento com anticorpos monoclonais e, em seguida, metalização.

**QUESTÃO 48**

Na MET, os reagentes utilizados na observação de partículas virais incluem

- A AC (ácido clorídrico), PP (proteinato de prata), VR (vermelho de rutênio), FC (ferritina cationizada).
- B AP (ácido pícrico), AOP (ácido ortofosfórico), NP (nitrato de prata), PL (poli-L-lisina).
- C DMSO (dimetil sulfóxido), EDTA (ácido etilenodiamino tetraacético), ASF (ácido sulfúrico filtrado), ACF (ácido carbônico fluorizado).
- D PTA (ácido fosfotúngstico), SST (silicotungstato de sódio), AM (molibdato de amônia), UA (acetato de uranila) e UC (citrato de uranila).
- E AF (ácido fluorídrico), SSK (silicotungstato de potássio), AC (ácido clorídrico), PP (proteinato de prata).

**QUESTÃO 49**

A técnica de *freeze-dry* corresponde

- A ao congelamento lento de uma substância, de forma que toda a água seja transformada em gelo, ficando o material seco. Esse congelamento é realizado em câmara própria com pressão atmosférica normal, com duração de 12 horas.
- B à secagem de uma substância por congelamento rápido mediado pela adição de nitrogênio líquido diretamente sobre o material; com a água no estado sólido, o material é considerado seco.
- C ao descongelamento rápido de um material qualquer em câmara de alta temperatura e pressão. Nessas condições, ocorre rápida evaporação da água, mantendo-se todas as características estruturais do material.
- D à secagem rápida de um material por resfriamento, seguido de um aquecimento lento; nessa situação o resfriamento condensa a água como gelo, e o aquecimento remove a água por evaporação, deixando o material completamente desidratado mas preservando sua estrutura.
- E à secagem de um material por congelamento rápido e remoção da proporção de qualquer solvente associado por direta sublimação no vácuo, a partir da fase sólida para a fase gasosa, sem passar pela fase líquida intermediária.

**QUESTÃO 50**

O processamento de material biológico por congelamento reúne diversas técnicas amplamente utilizadas. O principal obstáculo a ser evitado no congelamento de uma amostra biológica é

- A** a formação de cristais de gelo; o ideal é que a água, ao se congelar, atinja um estado amorfo, sem cristais, o que é denominado vitrificação.
- B** que a água seja congelada em etapas, para isso o resfriamento deverá ser seguido de sucessivos aquecimentos com um congelamento final a 40 °C por 8 horas.
- C** que o congelamento seja rápido; o ideal é um congelamento lento, que mantenha a amostra entre as temperaturas de -30 °C e -140 °C o maior tempo possível.
- D** a formação de cristais de gelo, fazendo-se um congelamento inicial brando, em torno de -4 °C, e; em seguida, submetendo-se a amostra à temperatura de -30 °C, de forma a homogeneizar o congelamento.
- E** o congelamento por tempo muito longo; o ideal é que a água se congele por poucos segundos à temperatura de -4 °C; em seguida, a temperatura deve ser lentamente elevada, para se promover a evaporação da água, preservando-se toda a estrutura do material.

**QUESTÃO 51**

Como o congelamento de materiais biológicos é importante para a preservação da morfologia, um aspecto crítico, na obtenção final de um bom congelamento de amostras biológicas, é

- A** a quantidade de pressão sobre o material biológico.
- B** a variação lenta de temperatura sobre o material biológico.
- C** a manutenção do estado de vácuo sobre o material biológico antes do congelamento.
- D** a rapidez no resfriamento do material biológico.
- E** o aquecimento lento do material biológico congelado antes da análise.

**QUESTÃO 52**

Os compostos químicos que interferem com as propriedades físicas da água, formando pontes de hidrogênio com ela e alterando o seu ponto de congelamento, pertencem à classe dos

- A** vitrificadores.
- B** cristalizadores.
- C** crioprotetores.
- D** acidificadores.
- E** criogênios.

**QUESTÃO 53**

Os reagentes mais comumente utilizados para evitar danos às amostras biológicas durante o processo do seu congelamento são

- A** ácido acético, sulfato de cobre e permanganato de potássio.
- B** glicerol, DMSO, dextran e sacarose.
- C** sulfato de cobre, óxido de enxofre, ácido fosfórico e cloreto de potássio.
- D** cloreto de sódio, EDTA, fluoreto de cálcio e amido.
- E** manitol, sulfato de alumínio, PVDA e ácido carbônico.

**QUESTÃO 54**

A criofratura é uma técnica baseada no congelamento das amostras biológicas, particularmente útil para a análise da estrutura das membranas celulares por MET. Com referência às características fundamentais desse tipo de análise, assinale a opção correta.

- A** Quando as células são congeladas e fraturadas, a fratura ocorre sempre abaixo das membranas. Dessa forma, observa-se o citoplasma da célula com todos os detalhes das organelas ali imersas.
- B** Ao se congelarem e se fraturarem as células, o seu material genético é exposto e por estar congelado, forma estruturas filamentosas de fácil identificação na MET.
- C** Quando células são congeladas e fraturadas, a fratura ocorre na região hidrofóbica das membranas biológicas, separando seus dois folhetos. Dessa forma, é possível identificar não apenas a presença como também a distribuição das proteínas contidas na membrana em questão.
- D** Células congeladas e fraturadas expõem seu conteúdo interno; em seguida, a amostra deve ser descongelada, fixada e incluída em resina. Dessa forma, as membranas poderão ser observadas com maior detalhamento.
- E** Células congeladas e fraturadas expõem apenas seus ribossomos com fitas de ácido nucleico (RNA) associadas. Esse material granuloso associado ao RNA filamentosos é particularmente útil para o estudo do transporte de vesículas pela membrana plasmática.

## QUESTÃO 55

O processo de sombreamento é a deposição

- A de ouro em camada de 20 nm sobre as faces da fratura, seguida de deposição direta de carbono para aumentar a resistência mecânica da amostra.
- B de platina em ângulo de 45° sobre as faces da fratura, seguida de deposição direta de carbono também sobre as faces da fratura para dar sustentação à camada de metal.
- C direta de platina sobre as faces da fratura, seguida de deposição de carbono em ângulo de 45° para aumentar a condutibilidade elétrica.
- D de platina em ângulo de 45° sobre as faces da fratura, seguida de deposição direta de ouro também sobre as faces da fratura para aumentar a resistência mecânica do material.
- E direta de tório sobre as faces da fratura, seguida de deposição direta de platina também sobre as faces da fratura para aumentar a resistência elétrica do material.

## QUESTÃO 56

Na técnica de criorrelevo (*etching* profundo), para o sucesso do preparo, a amostra deve ser submetida, sucessivamente a: fixação

- A ultrarrápida por impacto em superfície metálica resfriada; fratura em aparelho de criofratura; sublimação prolongada; revestimento com platina e carbono.
- B ultrarrápida por impacto em superfície metálica resfriada; fratura em aparelho de criofratura; revestimento com carbono.
- C ultrarrápida por impacto em superfície metálica resfriada; sublimação prolongada; revestimento com platina e ouro.
- D por imersão; sublimação prolongada; revestimento com platina.
- E ultrarrápida, com imersão em agente de resfriamento; fratura em aparelho de criofratura; sublimação; metalização com ouro.

## QUESTÃO 57

Um dos fenômenos observados com a água durante seu congelamento, que é reduzido pela técnica de congelamento por alta pressão, é

- A o aumento da cristalização.
- B o aumento do ponto de congelamento para  $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- C o aumento do ponto de congelamento para  $-220\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- D dissociação das ligações covalentes entre o hidrogênio e o oxigênio.
- E a redução da expansão do volume.

## QUESTÃO 58

A técnica de congelamento por *jet-freezing* apresenta algumas desvantagens, dependendo do tipo de amostra utilizada. Assinale a opção que apresenta duas dessas desvantagens.

- A Não é ideal para células livres, uma vez que o propano é altamente tóxico, promovendo profundas alterações morfológicas nas células. Sua temperatura máxima de resfriamento é inferior à do nitrogênio líquido, por isso, é menos eficiente para o congelamento do que o nitrogênio líquido.
- B É ideal apenas para tecidos, uma vez que a área maior das amostras cria uma superfície de contato maior, o que distribui de forma igual o resfriamento tanto na superfície como em profundidade. O propano é um gás altamente volátil e, para mantê-lo no estado líquido, é necessário um ambiente de alto vácuo, o que torna o equipamento grande e caro, e o processo excessivamente demorado.
- C Não é própria para tecidos, uma vez que as microgotas de propano devem espalhar-se uniformemente em torno do material biológico, o que só é conseguido perfeitamente com as células livres. O propano apresenta características inflamáveis que tornam seu uso cauteloso, requerendo locais apropriados para esse fim.
- D É ideal apenas para amostras já pré-fixadas quimicamente, uma vez que o jato utilizado para o congelamento é focal e de baixa dispersão, congelando lentamente as amostras. Aplica-se apenas para tecidos: como o congelamento é focal, o tecido transfere a baixa temperatura para todas as suas regiões, proporcionando congelamento homogêneo principalmente por meio de sua profundidade.
- E A técnica é ideal apenas para tecido vegetal com espessura mínima de  $50\text{ }\mu\text{m}$ : a parede celular presente nas células vegetais é um ótimo dispersante de temperatura. Dessa forma, o congelamento dá-se de forma homogênea em toda a profundidade do material. O propano é altamente tóxico para as células vivas; por isso, o material deverá ser fixado quimicamente antes de submetido a essa técnica de congelamento.

## QUESTÃO 59

Na técnica de congelamento conhecida como *spray-freezing*,

- A o criogênio líquido fica no interior de um recipiente de cobre ou latão, e o material biológico é lançado em forma de *spray* sobre ele. Em seguida, faz-se a evaporação do agente criogênico com o uso de uma bomba de vácuo rotatória, deixando, no recipiente, as pequenas gotas congeladas do espécime que deverão ser processadas imediatamente.
- B o material biológico fica no interior de um recipiente de cobre, e o agente criogênico é lançado em forma de *spray* sobre ele. Em seguida, faz-se a evaporação do agente criogênico, elevando-se a temperatura da câmara. No recipiente, ficarão pequenas gotas congeladas do espécime que poderão ser armazenadas à temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  por tempo indeterminado.
- C o material biológico fica no interior de um recipiente de latão, e o agente criogênico é gotejado sobre ele. Em seguida, faz-se a evaporação do agente criogênico, lançando-se um *spray* de ar à temperatura ambiente sobre a amostra. As amostras deverão ser recolhidas imediatamente e levadas para uma etapa de fixação química.
- D o material biológico fica no interior de uma câmara onde será criado vácuo, e o agente criogênico será lançado sobre ele em forma de *spray*. Em seguida, faz-se a redução do vácuo e a evaporação do agente por meio do preenchimento da câmara com acetona a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A temperatura na câmara deverá ser elevada para a evaporação total da acetona e o material deve seguir imediatamente para outras etapas de processamento.
- E o material biológico fica no interior de uma câmara onde haverá aumento de pressão, e, em seguida, o agente criogênico é lançado sobre ele em forma de *spray*. A pressão é reduzida, e a temperatura, elevada para  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  simultaneamente com a entrada na câmara do agente fixador glutaraldeído. Após 30 min, o material deverá ser removido e seguir imediatamente para outras etapas de processamento.

## QUESTÃO 60

A crioultramicrotomia dispensa que as amostras passem por determinadas etapas de processamento rotineiro para microscopia eletrônica. As principais etapas do processamento de rotina para microscopia eletrônica que são dispensadas ao se utilizar a crioultramicrotomia são

- A o congelamento, a fixação e a inclusão.
- B a fixação, a pós-fixação e o congelamento.
- C a desidratação, o congelamento e a inclusão.
- D o congelamento, a contrastação e a desidratação.
- E a pós-fixação, a desidratação e a inclusão.

## QUESTÃO 61

No processamento de amostras biológicas, a crioultramicrotomia

- A proporciona corte ultrafinos, de cerca de 1 nm de espessura, o que facilita de forma excepcional a interação da amostra com o feixe de elétrons na microscopia eletrônica.
- B promove a remoção das camadas de membranas dos espécimes encontrados na amostra biológica, expondo o conteúdo do citoplasma, tornando o material ideal para análise por MEV.
- C é ideal para o corte de suspensão de macromoléculas e partículas virais congeladas, devido à sua capacidade de corte proporcionar seções de 1 nm.
- D proporciona a preservação e a acessibilidade de sondas macromoleculares tais como anticorpos, lectinas e oligonucleotídeos às estruturas intracelulares das amostras.
- E proporciona a preservação das amostras, uma vez que a temperatura do material é elevada rapidamente para a temperatura ambiente, facilitando dessa forma a obtenções das seções que preservam a acessibilidade de sondas macromoleculares tais como anticorpos, lectinas e lipídios às estruturas intracelulares das amostras.

## QUESTÃO 62

A citoquímica ultraestrutural

- A se baseia no uso de lecitinas acopladas a ouro coloidal, o que permite a marcação e a localização da maioria das moléculas biológicas presentes nas amostras. Essa técnica é restrita a análise pelo microscópio eletrônico de transmissão.
- B explora as similaridades entre as propriedades químicas das moléculas biológicas por meio do uso de marcadores *eletrondensos*. Essa abordagem é capaz de detectar simultaneamente diversos grupos de moléculas nas amostras analisadas; no entanto, essa técnica restringe a análise do material à MEV.
- C explora as diferentes propriedades químicas das moléculas biológicas, ou suas particulares atividades, por meio do uso de marcadores *eletrondensos* ou granulosos que podem se associar às próprias moléculas ou aos seus produtos, de forma a revelar a sua localização na amostra analisada. Essa técnica é visível na microscopia eletrônica.
- D utiliza a afinidade entre as moléculas de biotina e avidina para a identificação exclusiva de material genético. Nessa técnica, é possível marcar tanto moléculas de DNA quanto moléculas de RNA mensageiro; no entanto, não é possível identificar moléculas de RNA transportador devido a seu dobramento específico.
- E explora as semelhanças entre as moléculas de lipídios, ou seja, sua hidrofobicidade, para, dessa forma, localizá-la na amostra. A técnica produz um precipitado insolúvel e eletrolucente, de forma a facilitar a observação e a localização dos lipídios nas amostras biológicas.



## QUESTÃO 63

Os princípios usados para a detecção de enzimas ou seus substratos pela citoquímica ultraestrutural incluem

- A a precipitação de metal pesado no sítio de atividade enzimática e a conjugação da enzima a ouro coloidal para a localização de diversos substratos celulares.
- B a conjugação de oligonucleotídeos a ouro coloidal e a utilização de peróxido de hidrogênio radioativo, de modo que o microscópio detecta a emissão da partícula e localiza a atividade enzimática.
- C a incubação da amostra em solução de ouro coloidal que revela exclusivamente a localização das proteínas e a conjugação de acetato de uranila a substratos específicos, de forma a promover a localização da atividade enzimática.
- D a conjugação de peroxidase a ouro coloidal, que revela os sítios antigênicos presentes nas amostras biológicas, e a precipitação de prata sobre a amostra devido a sua alta afinidade por enzimas.
- E a precipitação de componentes insolúveis nas membranas celulares e a utilização de substratos radioativos que, ao serem degradados pelas enzimas, liberaram partículas que serão captadas e terão sua localização definida pelo microscópio.

## QUESTÃO 64

A filipina é um antibiótico poliênico utilizado nas técnicas de citoquímica devido a sua capacidade de ligação específica com determinado grupo de moléculas. Assinale a opção que apresenta o grupo de moléculas de ligação da filipina.

- A monossacarídeos e polissacarídeos de cadeias ramificadas
- B colesterol e outros b-hidroxi-esteróis
- C fosfolipídios saturados e hidroxilas livres
- D proteínas e fragmentos de peptídios
- E DNA e RNA

## QUESTÃO 65

Carboidratos desempenham importante papel nos sistemas biológicos. Nesse sentido, as metodologias de detecção de carboidratos em amostras biológicas contemplam o uso alternativo de

- A fosfatase alcalina, tetróxido de ósmio ou glicerina.
- B tampão imidazol, proteinato de prata ou dinitrofenol.
- C solução de inosina-5-difosfato, tampão maleato ou tampão acetato.
- D solução de ferro coloidal, ferritina cationizada ou vermelho de rutênio.
- E solução de  $\beta$ -glicerofosfato, e p-nitrocatecol sulfato ou trimetafosfato de sódio.

## QUESTÃO 66

A imunocitoquímica é o processo de detecção de uma molécula-alvo

- A por meio da utilização de um lipídio específico, que se encontrará marcado com compostos que forneçam *eletrodensidade* para MET ou para a formação de elétrons secundários ou retroespalhados em MEV.
- B por meio da utilização de uma lecitina que se encontrará marcada com compostos que forneçam *eletrodensidade* para MET ou formação de elétrons secundários ou retroespalhados em MEV.
- C com *eletrodensidade* suficiente para ser identificada pela MET ou para a formação de elétrons secundários ou retroespalhados em MEV.
- D por meio da utilização de um feixe de íons detectado por MEV ou pela emissão de raios X para a MET.
- E por meio da utilização de um anticorpo que se encontrará marcado com compostos que forneçam *eletrodensidade* para MET ou para a formação de elétrons secundários ou retroespalhados MEV.

**QUESTÃO 67**

As técnicas de imunocitoquímica utilizadas na MET estão divididas em dois grandes grupos. Esses grupos são compostos pelas técnicas

- A de congelamento e de inclusão.
- B de fixação química e de fixação física.
- C com resinas hidrofílicas e com resinas hidrofóbicas.
- D de pré-fixação e de pós-desidratação.
- E de pré-inclusão e de pós-inclusão.

**QUESTÃO 68**

O fixador glutaraldeído é o fixador de escolha para o preparo de amostras para microscopia eletrônica de rotina. Assinale a opção que indica a desvantagem em utilizar esse fixador para as reações de imunocitoquímica.

- A Por se tratar de um fixador forte (di-aldeído,) a fixação com glutaraldeído cria ligações cruzadas inter e intramoleculares. Embora essas ligações sejam boas para a preservação estrutural, elas modificam a estrutura molecular de determinadas moléculas, mascarando os seus sítios antigênicos.
- B Por se tratar de um fixador fraco, a fixação com glutaraldeído não preserva de forma adequada as amostras biológicas, devendo ser usado em seu lugar o citrato de chumbo; caso contrário, o glutaraldeído promoverá a degradação das moléculas contidas na amostra, inviabilizando a sua detecção.
- C Por se tratar de um agente desidratante, o glutaraldeído não pode ser usado como fixador. As amostras deverão ser fixadas em cacodilato de sódio, que mantém íntegras as propriedades antigênicas das amostras biológicas.
- D Por se tratar de um agente de captura, o glutaraldeído é utilizado apenas nas reações de revelação de atividade enzimática, não podendo ser utilizado nas reações de imunocitoquímica.
- E Por se tratar de um tampão, o glutaraldeído é utilizado apenas para lavar a amostras, não sendo utilizado na fixação. No entanto, ele é o tampão adequado para lavar as amostras nas técnicas de imunocitoquímica.

**QUESTÃO 69**

Embora não seja usual, é possível detectar antígenos em amostras processadas rotineiramente para MET e incluídas em resina hidrofóbica. As soluções mais utilizadas para se preparar a amostra para esse procedimento são

- A peróxido de enxofre entre 1% e 4%, solução aquosa de ácido clorídrico a 1%, solução saturada de bicarbonato de sódio e solução saturada de NaOH em acetona.
- B peróxido de hidrogênio entre 1% e 4%, solução aquosa de ácido periódico a 1%, solução saturada de metaperiodado de sódio e solução saturada de NaOH em etanol.
- C sulfeto de hidrogênio a 10%, solução aquosa de ácido fosfórico a 1%, solução saturada de oxalato de cálcio e solução saturada de ácido carbônico em etanol.
- D peróxido de enxofre a 4%, solução aquosa de ácido fluorídrico a 25%, solução saturada de carbonato de potássio e solução saturada de ácido acético em etanol.
- E peróxido de hidrogênio a 50%, solução aquosa de ácido láctico a 10%, solução saturada de fluoreto de sódio e solução saturada de ácido fórmico em etanol.

**QUESTÃO 70**

No método de contrastação utilizado para amostras submetidas às técnicas de imunocitoquímica, faz-se a incubação das amostras

- A por cerca de 12 horas em citrato de chumbo em atmosfera de CO<sub>2</sub> e, em seguida, em acetato de uranila (15% em etanol) por 5 min.
- B por cerca de 1 hora em tampão citrato e, em seguida, em acetato de cobre (5% em água) por 20 min.
- C por cerca de 20 min a 30 min em acetato de uranila (5% em água) e 5 min em citrato de chumbo.
- D por cerca de 20 min a 30 min em cloreto de magnésio (5% em água) e 5 min em nitrato de prata a 10% em água.
- E por 2 horas em solução aquosa de ácido hipofosfórico a 10% e 5 min em carbonato de cálcio.