



E-27

CONCURSO PÚBLICO 2014 - EDITAL Nº 342/2013

TECNÓLOGO - FARMÁCIA
ANÁLISE DE PROTEÍNAS POR TÉCNICAS EM GEL

PROVA PRÁTICA/DISCURSIVA

Leia com atenção as Instruções

1. Você recebeu do fiscal um **caderno de respostas da prova prática/discursiva** e este **caderno de questões**.
2. É sua responsabilidade verificar se o nome do cargo informado neste **caderno de questões** corresponde ao nome do cargo informado em seu **caderno de respostas**.
3. Você dispõe de **4 (quatro)** horas para realizar a prova, incluindo a escrita no **caderno de respostas**.
4. Somente depois de decorrida uma hora do início da prova o candidato poderá entregar o seu **caderno de respostas** e retirar-se da sala de prova (Edital 342/2013).
5. Somente será permitido levar seu **caderno de questões** faltando uma hora para o término estabelecido para o fim da prova (Edital 342/2013).
6. Após o término de sua prova, entregue obrigatoriamente o seu **caderno de respostas** ao fiscal.
7. É terminantemente vedado copiar respostas, em qualquer fase do concurso público (Edital 342/2013).
8. Os 3 (três) últimos candidatos de cada sala somente poderão ser liberados juntos (Edital 342/2013).
9. Se você precisar de algum esclarecimento, consulte o fiscal.

Somente após autorização para o início da prova:

1. Verifique, neste **caderno de questões**, se a numeração das questões e a paginação estão corretas.
2. Verifique, no **caderno de respostas**, se existem espaços suficientes para a transcrição das respostas de todas as **questões** existentes neste **caderno de questões**.

Cronograma Previsto - Prova Prática/Discursiva

Divulgação do resultado preliminar da Prova Prática/Discursiva	14/04/2014
Disponibilização da imagem do caderno de respostas da Prova Prática/Discursiva	14/04/2014
Interposição de recurso contra as questões e o resultado preliminar da Prova Prática/Discursiva	05 e 06/05/2014
Divulgação do resultado do julgamento dos recursos contra as questões e o resultado preliminar da Prova Prática/Discursiva	16/05/2014
Divulgação do resultado final da Prova Prática/Discursiva	16/05/2014

QUESTÃO 1

Formas recombinantes da glicoproteína endógena eritropoietina (EPO) têm sido utilizadas como agentes dopantes por atletas de alto rendimento desde o início da década de 1990. Tais substâncias eram consideradas indetectáveis no controle de dopagem no esporte até o início do século XXI. Esse cenário foi modificado após pesquisadores do Laboratório de Controle de Dopagem de Paris desenvolverem um método de detecção por eletroforese em gel (focalização isoeletrica). Mais de uma década depois dessa contribuição, tal método ainda se constitui na base para a detecção de diferentes eritropoietinas recombinantes (rEPOs) e análogos.

Esse método sofreu poucas modificações quando implementado nos diferentes laboratórios. Mas o conceito e as etapas principais permanecem. O método é conhecido pelo nome genérico IEF-PAGE.

Uma variante do método desenvolvido pelo Laboratório de Paris pode ser didaticamente dividido em quatro etapas, como apresentado no Esquema 1.

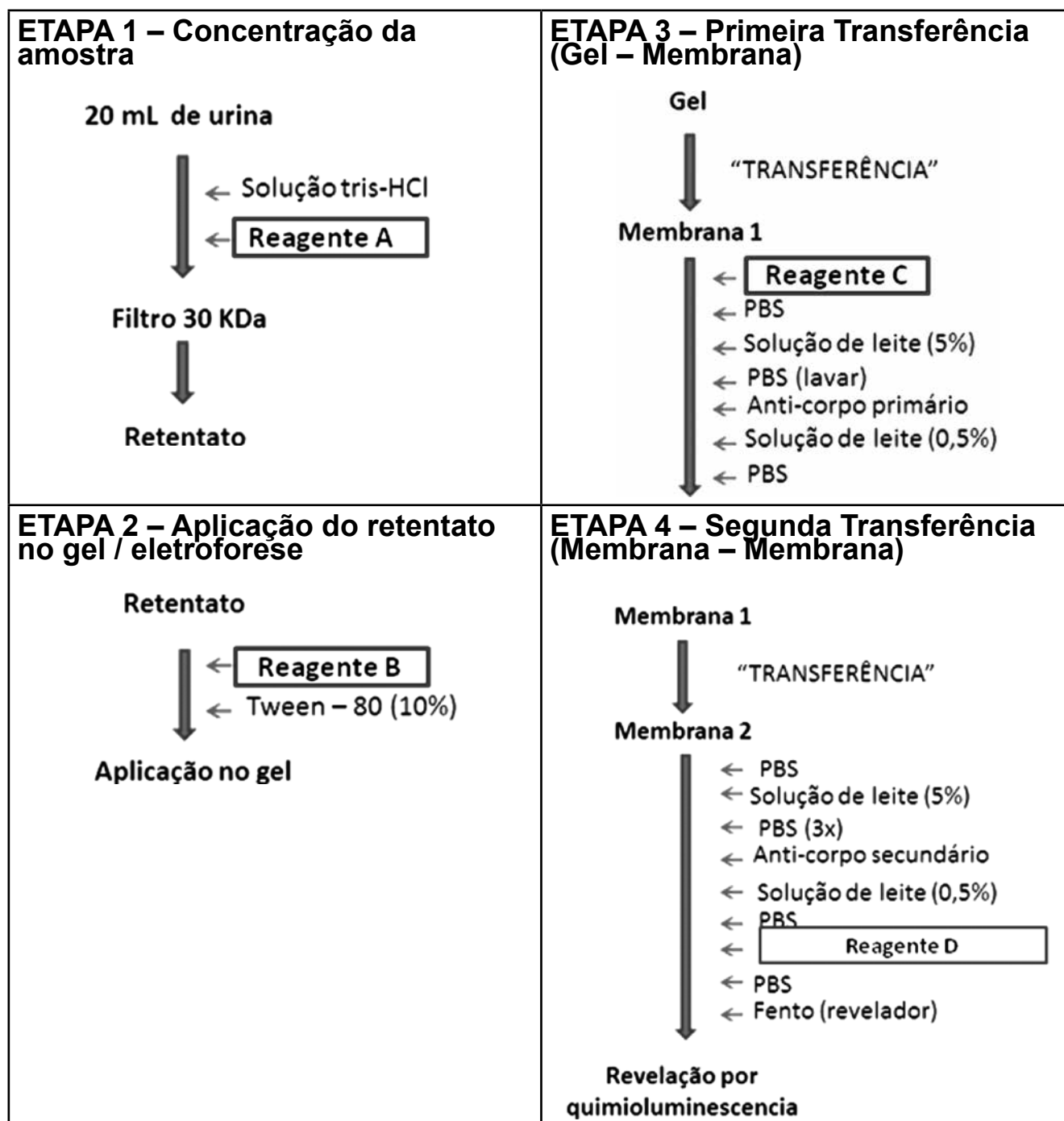
Etapa 1: Concentração da amostra / obtenção do retentato.

Etapa 2: Aplicação do retentato / eletroforese.

Etapa 3: Primeira transferência.

Etapa 4: Segunda transferência / revelação.

Esquema 1. Esquema resumido do método de análise de eritropoietina por focalização isoeletrica apresentado didaticamente dividido em quatro etapas.



Observação:

Anticorpo primário: anticorpo monoclonal de camundongo anti EPO humana.

Anticorpo secundário: anticorpo policlonal biotilado de cabra anti IgG de camundongo.

Observando o Esquema 1:

Item A) Proponha quais seriam os reagentes A, B, C e D.

Item B) Detalhe a função destes reagentes no contexto da detecção de rEPO via gel de IEF.

Item C) A etapa de confirmação para a análise de rEPO preconiza, além do IEF-PAGE, o método também conhecido pelo nome genérico SDS-PAGE. A respeito da necessidade de aplicação de dois métodos distintos na etapa confirmação, responda:

No caso dos resultados serem divergentes, como o analista deve classificar a amostra? Adversa, atípica, presumível ou negativa?

QUESTÃO 2

A interpretação dos resultados do método de detecção de eritropoietina recombinante (rEPO) por focalização isoeletrica (IEF-PAGE) está baseada na análise do densitograma obtido a partir da revelação da membrana de transferência, após aplicação de um anticorpo secundário e posterior revelação por quimio-luminescência. A Figura 1 apresenta um exemplo dos resultados de um lote analítico de triagem (procedimentos iniciais de análise), composto por controles de qualidade positivos para rEPO e NESP (ex: Lanes 1, 8 e 15), controles de qualidade negativos (ex: Lane 2, 5 e 19), e amostras.

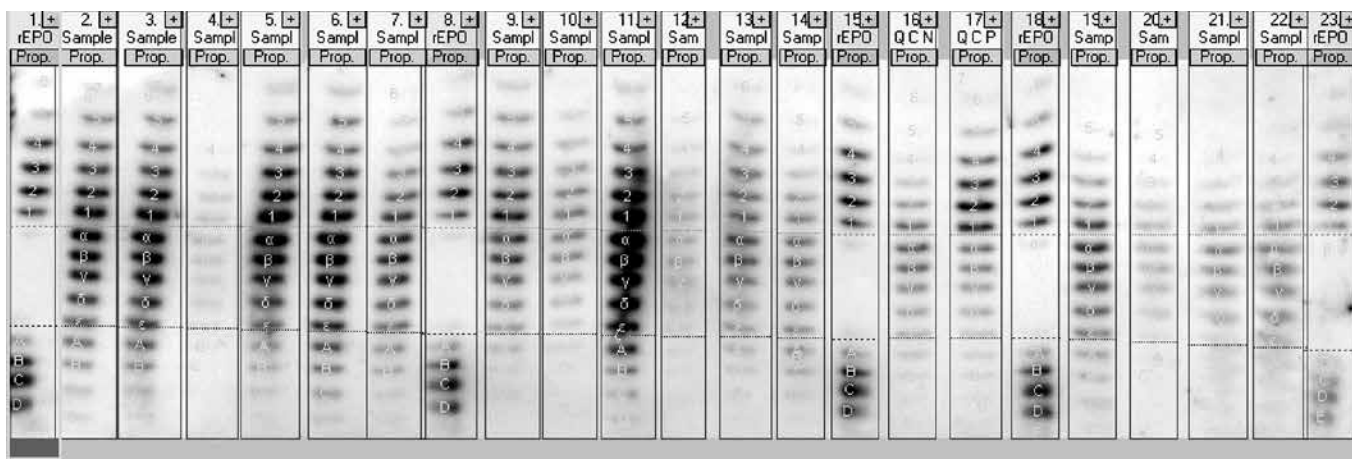


Figura 1. Imagem de um lote analítico de confirmação para análise de rEPO e análogos por focalização isoeletrica (IEF-PAGE).

A Tabela 1 apresenta os resultados dos densitogramas obtidos para as amostras 7, 9 e 10.

	Amostra 7		Amostra 9		Amostra 10	
	Volume Absoluto	Volume Normalizado	Volume Absoluto	Volume Normalizado	Volume Absoluto	Volume Normalizado
7	87,35	0,02	526,68	0,23	709,3	0,22
6	53677,94	13,55	14682,08	6,42	10575,6	3,28
5	141123,30	35,61	7606,71	3,32	32307,3	10,02
4	191386,70	48,30	25753,94	11,25	71450,1	22,16
3	323554,20	81,65	62640,35	27,37	225699,7	70,00
2	329018,70	83,03	118522,60	51,80	264874,8	82,15
1	396278,00	100,00	203139,20	88,78	322428,2	100,00
α	333808,70	84,24	228824,70	100,00	264358,9	81,99
β	300874,90	75,93	203006,10	88,72	245754,8	76,22
γ	216956,70	54,75	137440,10	60,06	192747,6	59,78
δ	163989,60	41,38	101898,70	44,53	132163,3	40,99
ε	107888,40	27,23	76891,67	33,60	81477,6	25,27
A	55669,85	14,05	39412,58	17,22	48847,9	15,15
B	15350,61	3,87	24007,36	10,49	26729,3	8,29
C	27874,28	7,03	11043,11	4,83	20055,0	6,22
D	3318,27	0,84	2694,14	1,18	3288,8	1,02

Responda:

Item A) À luz dos critérios de interpretação de resultados para a técnica de IEF, estabelecidos pela Agência Mundial Anti-Dopagem para análise de rEPO, classifique as amostras 7, 9 e 10 como: negativas, atípicas, presumíveis ou adversas. Justifique sua resposta.

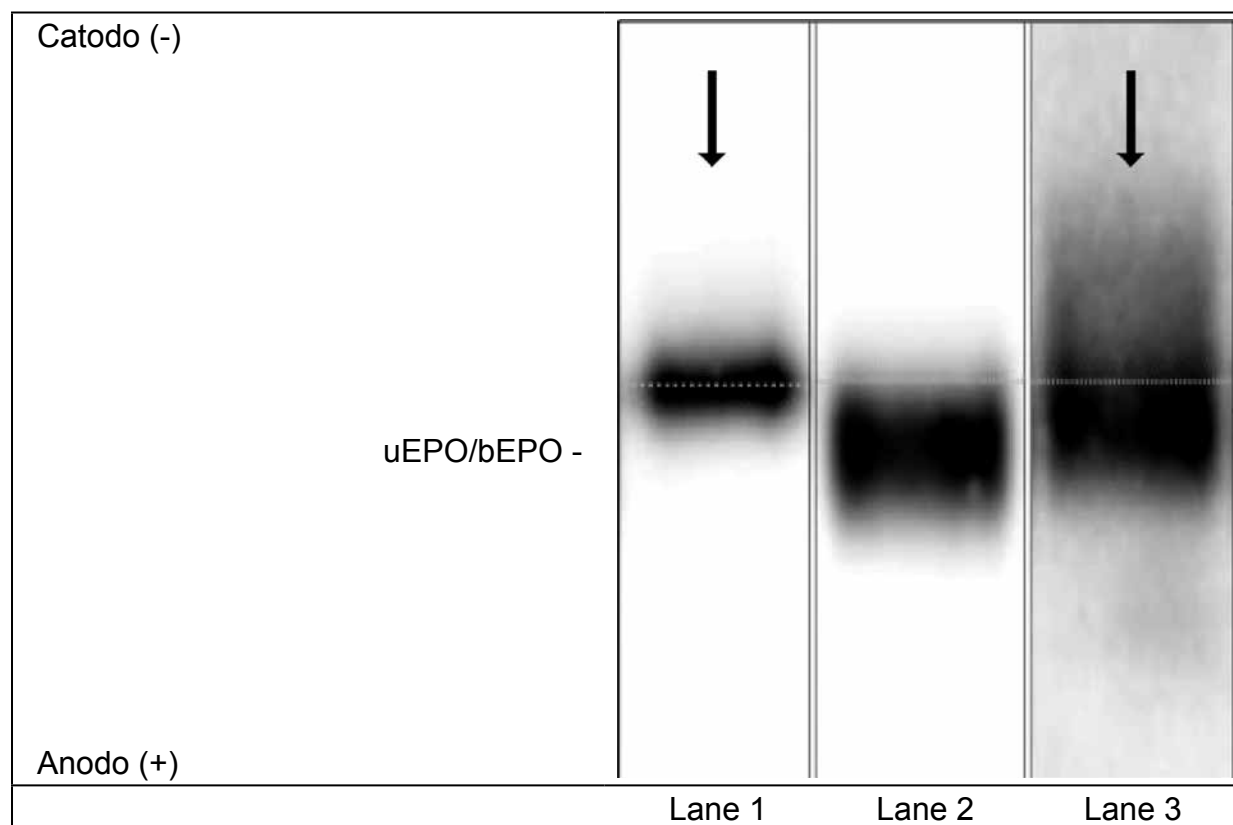
Item B) Utilizando os conhecimentos a respeito do tema **Análise de Proteínas**, cite duas metodologias utilizadas para o enriquecimento de proteínas (isolamento e concentração em fluidos biológicos).

Item C) Ainda baseando-se nos conhecimentos a respeito do tema **Análise de Proteínas**, descreva os fundamentos da técnica de focalização isoeétrica.

QUESTÃO 3

A técnica conhecida como SDS-PAGE é extremamente útil na monitoração/identificação do uso de eritropoietina recombinante (rEPO) ou análogos. Urina e sangue podem ser utilizados como matriz de análise. Através da técnica de SDS-PAGE, as rEPOs podem ser diferenciados do hormônio endógeno (uEPO / bEPO) através do formato característico das bandas e diferentes massas moleculares. Usualmente a interpretação considera a migração relativa em cada *lane*, em relação a migração da uEPO / bEPO.

A figura a seguir apresenta a imagem de um gel de SDS-PAGE. O *lane* 2 representa uma amostra fortificada com uEPO/bEPO.



De acordo com os critérios de identificação da Agência Mundial Anti-Dopagem para análise de SDS-PAGE:

Item A) Interprete os resultados obtidos nos *lanes* 1 e 3 (marcados pelas setas).

Item B) Descreva a diferença entre as técnicas SDS-PAGE e SAR-PAGE.

Em que situação sugere-se a utilização da segunda?

