**QUESTÃO 1**

O Monitoramento de Reações Selecionadas (SRM) realizado em espectrômetros de massa de configuração triplo quadrupolo tem sido uma técnica quantitativa de referência para análise de pequenas moléculas por várias décadas. Recentemente, esta técnica tem sido utilizada como ferramenta em proteômica para complementar os estudos qualitativos de *shotgun*, bem como análises quantitativas oferecendo alta seletividade, sensibilidade e uma ampla faixa dinâmica. No entanto, esta técnica aplicada à proteômica apresenta singularidades que a distinguem das análises de pequenas moléculas. Descreva em linhas gerais, as particularidades da técnica de SRM para a quantificação de peptídeos e proteínas, as etapas e os critérios necessários para utilização dessa abordagem, considerando características físico-químicas das moléculas envolvidas para sua utilização como alvos específicos.

**QUESTÃO 2**

A extensa faixa dinâmica intrínseca das proteínas do plasma torna a sua análise muito difícil, porque sem a utilização de técnicas de enriquecimento, a detecção de proteínas de baixa abundância torna-se geralmente comprometida. Com base nessa afirmativa, descreva e discuta em linhas gerais os métodos para a detecção de uma proteína pouco abundante no plasma sanguíneo.

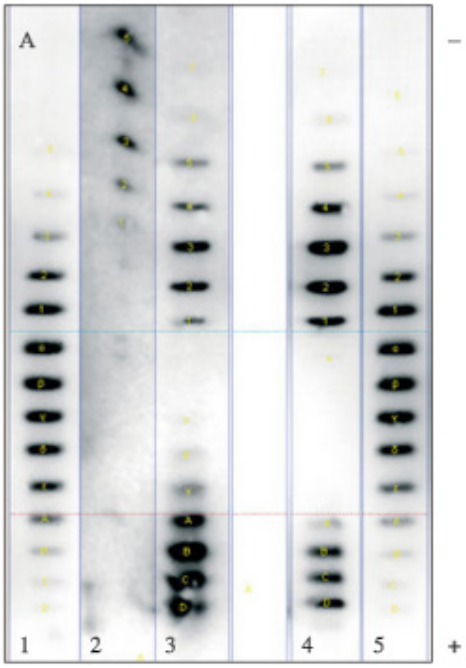
**QUESTÃO 3**

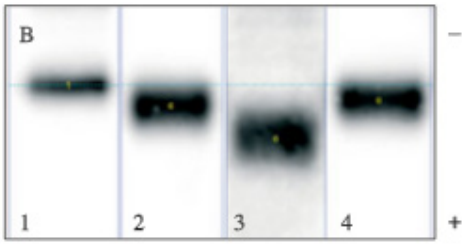
Proteínas e peptídeos são espécies polares, não voláteis e termicamente instáveis que requerem técnicas de ionização que transfiram o analito para a fase gasosa, sem sofrer degradação extensiva. Devido à ausência ou mínima fragmentação do analito durante a ionização por eletrospray (ElectroSpray Ionization, *ESI)* ou ionização por dessorção a laser assistida por matriz (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, MALDI), esses processos ficaram conhecidos como métodos de ionização “suave”.

Explique os processos de ionização citados no texto.

**QUESTÃO 4**

The Figures below represent the comparison of an instable urine on IEF-PAGE and SDS-PAGE. IEF-PAGE (Fig. A): 1. uhEPO (NIBSC), 2. active urine, 3. stability test, 4. BRP-EPO/NESP,5. uhEPO (NIBSC). SDS-PAGE (Fig. B): 1. Dynepo, 2. uhEPO (NIBSC), 3. Active urine, 4. rhEPO-negative control urine.



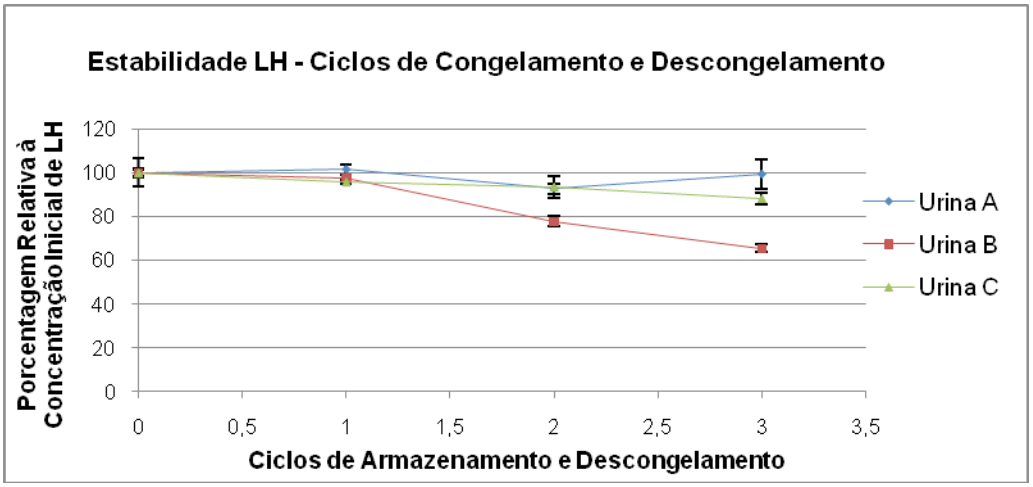




The EPO IEF-profile was shifted towards the basic side of the gel (lane 2, Fig. A); the stability test indicates an instable urine (lane 3, Fig. A). The same urine was also analysed by SDS-PAGE (lane3, Fig. B). A significant decrease in apparent molecular mass was observed when the sample was compared to the uhEPO standard (lane 2, Fig. B) or anrhEPO-negative control urine (lane 4, Fig. B).

Describe briefly the diferences between the electrophoresis technique: IEF-PAGE and SDS-PAGE.

**QUESTÃO 5**

Observe a figura abaixo produzida através do programa Microsoft Excel.




Descreva o procedimento para a construção de um gráfico de linhas, contendo todos os elementos da figura apresentada, através do *software* Microsoft Excel.

UFRJ