



ST3397

Proteômica

Tecnologista em Saúde Pública

Prova Objetiva e Discursiva

Conhecimentos Específicos na Área de Atuação

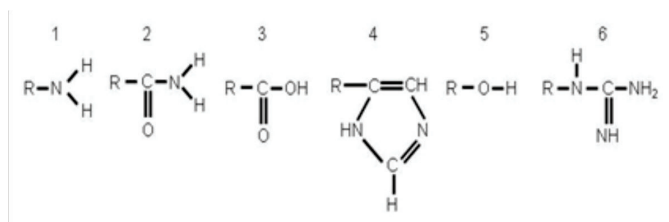
01. Observe as afirmativas abaixo referentes às proteínas

- I. São polímeros de aminoácidos, unidos por uma ligação covalente, chamada peptídica. A formação desta ligação é uma reação química de desidratação que envolve o grupo alfa-carboxila de um aminoácido e o grupo alfa-amino de um outro aminoácido. A cadeia peptídica formada apresenta características anfotéricas provenientes das propriedades físico-químicas das cadeias laterais dos aminoácidos.
- II. Apesar de a ligação peptídica ser rígida, por apresentar um caráter de dupla ligação, a cadeia peptídica é flexível e possui a capacidade de se enovelar culminando em estruturas definidas tais como as secundárias (exemplo: alfa-hélice e folha beta-preguada), terciária (enovelamento das estruturas secundárias) e até quaternárias (combinação de duas ou mais subunidades peptídicas).
- III. Em células, sua síntese depende de um molde de fita de RNA mensageiro, cujo códon iniciador em eucariotos é ATG que traduz uma metionina. Os aminoácidos adicionados um a um formam uma sequência linear que corresponde, então, a estrutura primária da proteína.

Sobre as afirmativas acima, pode-se dizer que:

- (A) apenas I está correta.
- (B) apenas II está correta.
- (C) I e II estão corretas.
- (D) II e III estão corretas
- (E) todas estão corretas.

02. Alguns dos grupos funcionais que ocorrem em proteínas estão representados abaixo. Considere R como um substituinte.



Cada grupo funcional está indicado por um número. A sequência 1, 2, 3, 4, 5 e 6 corresponde a:

- (A) 1-amino, 2-carboxila, 3-imino, 4-fenila, 5-hidroxila, 6-guanidina.
- (B) 1-imino, 2-guanidina, 3-hidroxila, 4-amido, 5-carboxila, 6-imidazol.
- (C) 1-imidazol, 2-amido, 3-carbonila, 4-guanidina, 5-metila, 6-amino.
- (D) 1-amino, 2-amido, 3-carboxila, 4-imidazol, 5-hidroxila, 6-guanidina.
- (E) 1-hidroxila, 2-imidazol, 3-carboxila, 4-guanidina, 5-tioéster, 6-amido.

03. Considerando-se ainda os grupos funcionais ilustrados na questão anterior, indique (usando-se a sequência 1, 2, 3, 4, 5 e 6) em qual aminoácido esses grupos ocorrem:

- (A) 1-lisina, 2-asparagina, 3-glutamato, 4-histidina, 5-serina, 6-arginina.
- (B) 1-leucina, 2-glicina, 3-asparagina, 4-prolina, 5-treonina, 6-tirosina.
- (C) 1-alanina, 2-treonina, 3-glutamato, 4-histidina, 5-tirosina, 6-arginina.
- (D) 1-lisina, 2-glutamina, 3-glutamato, 4-arginina, 5-serina, 6-histidina.
- (E) 1-leucina, 2-glutamina, 3-aspartato, 4-histidina, 5-fenilalanina, 6-valina.

04. Em relação às modificações pós-traducionais (MPT) que ocorrem em aminoácidos e proteínas, avalie se as afirmativas a seguir são verdadeiras (V) ou falsas (F):

- I. Carboidratos se ligam covalentemente a proteínas e originam dois tipos principais de categorias de glicosilação: (a) N-ligado (ou "N-linked") e (b) O-ligado (ou "O-linked"). No primeiro caso (a), o nitrogênio da cadeia lateral de resíduos de asparagina (Asn) está envolvido na ligação N-glicosil; e na segunda categoria (b), o grupo hidroxila da cadeia lateral de resíduos de serina (Ser) ou treonina (Thr) interage com um dos carbonos do açúcar formando a ligação glicosídica. Em células eucariotas, o processo de glicosilação de proteínas ocorre no retículo endoplasmático e no complexo de Golgi.
- II. Devido às suas características de hidrofília e de carga negativa, os carboidratos ao se conjugarem às proteínas, alteram as propriedades das cadeias peptídicas, tais como polaridade e solubilidade. Assim, glicoproteínas encontradas em organelas (como lisossomos), e aquelas secretadas (como as encontradas no sangue humano e urina) são raramente glicosiladas.
- III. Acetilação, glicosilfosfatidilinositol (GPI), metilação e ubiquitinação são alguns dos exemplos de MPT de proteínas observadas em células. Acetilação e metilação encontram-se, por exemplo, em histonas modificando lisinas e argininas. Participam de processos de acesso ao DNA e até mesmo de regulação da transcrição. GPI se liga a carboxila do aminoácido na posição C-terminal de proteínas para fixá-la (ancorá-la) na região externa da membrana plasmática. Por fim, ubiquitinação está envolvida com a degradação e "turnover" de proteínas em uma célula. Essa modificação ocorre pela formação de uma ligação covalente entre a ubiquitina e um resíduo de lisina da proteína.
- IV. Uma das MPT mais dinâmicas que ocorrem em sistemas vivos é a fosforilação. As enzimas cinases (ou quinases) e fosfatases são as responsáveis, respectivamente, pelas reações de fosforilação e defosforilação. Os resíduos de aminoácidos serina, treonina e tirosina são fosforilados na hidroxila da sua cadeia lateral formando uma ligação fosfoéster. De maneira geral, a fosforilação é mais comumente observada em serina e seguida, em menor número, em treonina. Entretanto, a ocorrência de fosfotirosina é relativamente mais rara. Atualmente, a identificação de proteínas fosforiladas tem aumentado devido ao uso de novas técnicas bioquímicas mais sensíveis.

As afirmativas I, II, III e IV são respectivamente:

- (A) V, F, V e V
- (B) F, V, V e F
- (C) V, V, V e F
- (D) F, F, V e V
- (E) V, V, F e F

05. A localização e o direcionamento de proteínas em células eucarióticas dependem dos fatores abaixo relacionados, EXCETO:

- (A) Glicosilação de proteínas pode exercer um papel crucial ao direcioná-las para compartimentos subcelulares, como o aparelho de Golgi e lisossomos.
- (B) Sequencia de aminoácidos na região aminoterminal de proteínas recém-sintetizadas, chamada de sinalizadora, geralmente apresenta um cerne de aminoácidos hidrofóbicos, precedido por um ou mais aminoácidos básicos e um sítio de clivagem contendo resíduos de aminoácidos polares. Essas são características de proteínas, cujo destino é os lisossomos, ou que podem ser secretadas.
- (C) As proteínas direcionadas para as mitocôndrias possuem um peptídeo de sinal rico em resíduos de serina, treonina, ou ainda básico. Sua translocação através da membrana mitocondrial é assistida, entre outras proteínas, por uma chaperona.
- (D) Em seu modelo clássico de transporte, as proteínas transportadas para o núcleo possuem sequencia de aminoácidos básicos denominada de Sequencia de Localização Nuclear ("NLS"), e que são sítios de interação com proteínas chamadas importinas alfa. Juntamente com as importinas beta direcionam a proteína através dos poros nucleares.
- (E) A translocação das proteínas entre o citoplasma e o núcleo é um processo com gasto de energia, proveniente de, por exemplo, guanosina trifosfato (GTP), usado na clivagem de NLS quando a proteína chega a seu destino.

06. Os itens abaixo enumerados (I, II, III, IV e V) descrevem alguns fatos sobre a regulação da expressão gênica. Estabeleça a correta correspondência com os organismos (listados abaixo como A e B)

A - Eucariotos
B - Procariotos

- I. Os introns são removidos do RNA mensageiro (mRNA) e os exons são unidos para serem posteriormente traduzidos.
- II. Eficiência da passagem do mRNA através de canais (poros) na membrana nuclear pode ser um dos fatores que determinam a regulação gênica.
- III. Antes do término da transcrição, a tradução do mRNA pode ser iniciada.
- IV. A presença de sequências de sinais e sítios de trans-splicing no pré-mRNA policistrônico orientam a inserção de mini-exons na extremidade 5' e, após a inserção de cauda poli-A na extremidade 3', há formação de transcritos maduros de mRNA.
- V. A ativação (ou indução) do "Operon LAC" ocorre quando lactose se liga a proteína "lac repressor" impedindo que esta interaja com o "lac operator" (operador). Consequentemente permite que a RNA polimerase se ligue ao promotor e transcreva então um mRNA policistrônico que inclui lacZ, lacY e lacA.

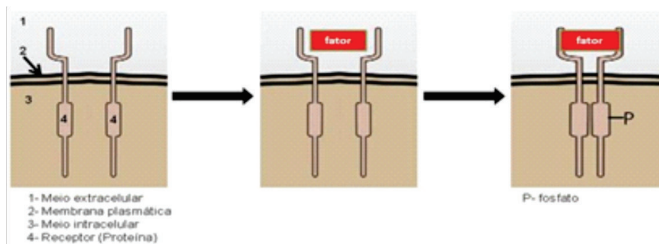
A correspondência correta é:

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

07. Das vias de sinalização celular abaixo relacionadas, aquela que está mais proximamente envolvida no mecanismo de indução da apoptose celular é a:

- (A) via da fosfatidilinositol 3 quinase / serina-treonina quinase ("phosphatidylinositol 3-kinase / serine/threonine kinase Akt" - PI3K / Akt)
- (B) via de sinalização do fator de crescimento transformante beta ("Transforming growth factor-beta" - TGF-beta)
- (C) ativação da cascata de sinalização das caspases
- (D) via de sinalização da insulina
- (E) via da proteína quinase ativada por AMP ("AMP-activated protein kinase" - AMPK)

08. As vias de sinalização celular dependem principalmente de fosforilação de proteínas e dos fatores que se ligam a receptores celulares. Observe a ilustração abaixo e as afirmativas a seguir



- I. Essa figura poderia representar o início da ativação da cascata de sinalização Akt/PKB, considerando-se que o fator poderia ser epidermal growth factor (EGF).
- II. O fator interage com o receptor causando a dimerização/oligomerização dessa molécula, e que por sua vez, catalisa a sua autofosforilação. Esse receptor poderia ser uma proteína quinase receptora ("receptor tyrosine kinase" - RTK).
- III. A figura acima poderia representar a ativação da via de sinalização de fator de crescimento transformante beta ou "transforming growth factor-beta" (TGF-beta), pois o seu receptor também sofre dimerização induzida pela ligação do fator.

Sobre as afirmativas acima, pode-se dizer que:

- (A) apenas I e II estão corretas
- (B) apenas II e III estão corretas
- (C) apenas II está correta
- (D) apenas III está correta
- (E) todas estão corretas

09. Listados como I, II, III, IV e V estão os precursores metabólicos provenientes de algumas vias - como glicólise, ácido cítrico e pentoses fosfato - e que estão envolvidos com a síntese de alguns dos aminoácidos (listados como a, b, c, d, e).

- I. Piruvato
 - II. Oxaloacetato
 - III. 3-fosfoglicerato
 - IV. Ribose-5-fosfato
 - V. Fosfoenolpiruvato e eritrose-4-fosfato
- a. Alanina, valina e leucina
 - b. Histidina
 - c. Serina, glicina e cisteína
 - d. Fenilalanina e triptofano
 - e. Aspartato

A correspondência correta é:

- (A) I - b, II - d, III - a, IV - e, V - c
- (B) I - a, II - e, III - c, IV - b, V - d
- (C) I - b, II - a, III - d, IV - e, V - c
- (D) I - e, II - b, III - c, IV - d, V - a
- (E) I - d, II - a, III - e, IV - b, V - c

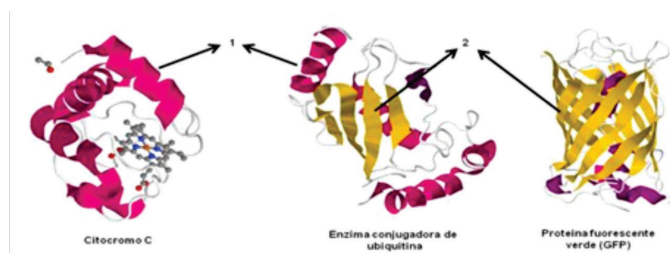
10. Sobre o metabolismo de proteínas e aminoácidos, avalie se as afirmativas a seguir são verdadeiras (V) ou falsas (F):

- I. Os aminoácidos triptofano e glutamato são, respectivamente, os precursores para a biossíntese de neurotransmissores como serotonina e γ -aminobutirato (GABA).
- II. Proteasoma é um complexo de enzimas proteolíticas presente em células eucarióticas cuja função principal é a degradação de proteínas resultando em pequenos peptídeos, que por sua vez serão degradados em aminoácidos para serem reciclados.
- III. A fenilcetonúria e o albinismo ocorrem por problemas genéticos que envolvem diferentes vias metabólicas relacionadas ao mesmo aminoácido, ou seja, a tirosina.
- IV. Glutamina pode ser convertida em glutamato em mitocôndrias de células hepáticas.

As afirmativas I, II, III e IV são respectivamente:

- (A) F, V, F e F
- (B) F, V, F e V
- (C) V, F, F e F
- (D) V, V, V e V
- (E) F, F, F e V

11. As cadeias de peptídeos apresentam diversas estruturas conformacionais esquematizadas abaixo.



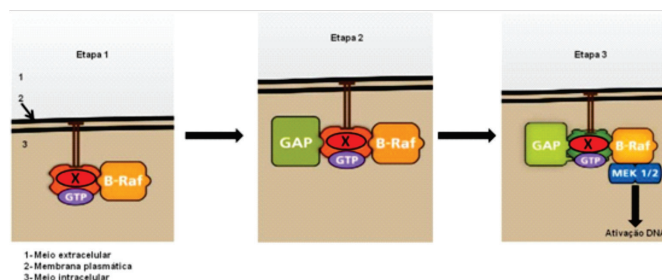
Verifique se as afirmativas a seguir são verdadeiras (V) ou falsas (F):

- I. A presença de resíduos de prolina em uma cadeia peptídica favorece o surgimento da estrutura chamada volta β (" β -turn").
- II. As estruturas (em amarelo) indicadas pelo número 2 são conformações do tipo β . Folhas β são encontradas em proteínas fibrosas como a α -queratina.
- III. As α -hélices indicadas pelo número 1 (cor rosa) são mantidas estabilizadas principalmente por interações do tipo pontes de hidrogênio.
- IV. Uma das técnicas usadas para se investigar e determinar a estrutura de proteínas é o dicróismo circular, o qual se pode estimar a percentagem de α -hélice, estruturas β ou ainda estruturas irregulares (ou desordenadas).

As afirmativas I, II, III e IV são respectivamente:

- (A) F, V, V e V
- (B) V, V, V e V
- (C) F, F, V e V
- (D) F, V, V e F
- (E) V, F, V e V

12. Uma das causas do surgimento de alguns tipos de células tumorais é a ativação constante da via de sinalização da proteína quinase ativada por mitógeno ou "mitogen-activated protein kinase" (MAPK) (esquema ilustrado abaixo), que pode ser devido à mutação da proteína X. Ainda assim, ela é capaz de interagir com a quinase B-Raf ("serine/threonine-protein kinase B-Raf") (Etapa 1), mas perde a capacidade de ser desativada pela "GTPase activated protein" (GAP) (Etapa 2). Como consequência, a proteína X permanece complexada com a quinase B-Raf, a qual fosforila e ativa uma grande quantidade de MEK (ou "Mitogen-activated Protein/ Extracellular Signal-regulated Kinase Kinase") (Etapa 3), causando, enfim, proliferação celular desordenada.



A proteína X citada no texto acima é:

- (A) PI3K
- (B) Proteína da família sarcoma de rato ou "Rat Sarcoma" (RAS)
- (C) Proteína da família BCL-2 ou "BCL2-associated protein" (BAX)
- (D) Caspase 9
- (E) Akt

13. Duas das abordagens metodológicas clássicas usadas em estudos de interação proteína-proteína consistem em:

Estratégia 1: construir plasmídeos contendo insertos de uma proteína-isca ("bait") (fusionada a um fator de transcrição com domínio de ligação a DNA) e de uma proteína-alvo ("target") (fusionada a um fator de transcrição com domínio de ativação da transcrição), seguida de coexpressão na mesma célula.

Estratégia 2: Unir proteínas covalentemente através de moléculas capazes de interagir com aminoácidos específicos, tal como lisina.

Os textos que descrevem resumidamente as estratégias 1 e 2 são, respectivamente:

- (A) 1-Ligação cruzada ("chemical crosslinking"), 2-Cromatografia de afinidade.
- (B) 1-Marcção isotópica estável por aminoácidos em cultura de células ("Stable isotope labeling by amino acids in cell culture" – SILAC), 2-Ligação cruzada ("chemical crosslinking")
- (C) 1-Ressonância plasmonica de superfície, 2-Sistema de duplo-híbrido ("Two-hybrid system")
- (D) 1-Sistema de duplo-híbrido ("Two-hybrid system"), 2-Ligação cruzada ("chemical crosslinking")
- (E) 1-Cromatografia de afinidade, 2-Marcção isotópica estável por aminoácidos em cultura de células ("Stable isotope labeling by amino acids in cell culture" – SILAC)

14. Sobre a regulação gênica, avalie se as afirmativas a seguir são verdadeiras (V) ou falsas (F):

- I. A adição de radicais metil às bases citosinas do DNA produz 5-metilcitosina, e inibe, portanto, a transcrição.
- II. Diversos genes são controlados por pequenas sequências de RNA chamadas de RNA de interferência (siRNA) e microRNA (miRNA) encontradas em organismos eucariotos.
- III. siRNA são sequências de fita dupla e atuam inibindo a tradução do mRNA, enquanto que microRNA são sequências de fita simples que agem a nível de transcrição, clivando o mRNA
- IV. O controle dos operons em *Escherichia coli* pode ser do tipo negativo (quando um elemento repressor se liga ao DNA e inibe a transcrição), e positivo (quando o elemento ativador induz a transcrição). A regulação do Operon trp apresentaria características do tipo negativo.

As afirmativas I, II, III e IV são respectivamente:

- (A) V, V, V e V
- (B) F, V, F e V
- (C) V, V, F e V
- (D) F, F, V e V
- (E) V, F, F e F

15. A comunicação celular pode envolver pequenas vesículas, os exossomos, que são liberadas/secretadas das células. Sobre exossomos NÃO é correto afirmar que:

- (A) São encontrados em diversos tipos de fluidos corporais como sangue, urina e amniótico.
- (B) Podem conter miRNA, RNA e proteínas.
- (C) Apesar de estarem envolvidos em várias situações fisiológicas e patológicas, ainda não se observou se exercem funções como imunomoduladores.
- (D) Desempenham papel crucial na evolução de processos patológicos como o câncer.
- (E) Ainda não se conhece inteiramente o mecanismo de interação entre os exossomos e a célula alvo. Em um dos processos, acredita-se que fibronectina esteja envolvida.

16. O estudo de vias de sinalização em alta demanda ("high throughput"), muitas vezes implica na preservação da fosforilação de proteínas a serem investigadas. As técnicas usadas para esse fim requerem determinados cuidados especiais, além de metodologias de detecção mais específicas e sensíveis. Dentre os itens listados abaixo, selecione aquela, cujo uso NÃO é apropriado:

- (A) Adição de compostos, tais como ortovanadato de sódio, caliculina A e fluoreto de fenilmetanosulfonil (ou "phenylmethanesulfonyl fluoride" - PMSF), na preparação do extrato proteico.
- (B) Realização da etapa de preparação da amostra/extrato proteico a baixa temperatura, em torno de 4°C.
- (C) Uso de dióxido de titânio como fase estacionária em cromatografia.
- (D) Uso de espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida (LCMS)
- (E) Uso de sephadexTM como fase estacionária em cromatografia

17. Avalie se as afirmativas abaixo, sobre tradução de proteínas, são verdadeiras (V) ou falsas (F)

- I. Tanto em eucariotos como procaritos, a tradução de proteínas secretadas, de membrana e todas as outras ocorrem no citosol da célula.
- II. Em eucariotos, os ribossomos são compostos pelas subunidades 40S e 60S, e em procariotos pelas subunidades 30S e 50S. Em ambos os organismos, a direção da tradução ocorre com o deslocamento do ribossoma sobre a fita de mRNA na direção da extremidade 5' para 3'. Já a cadeia peptídica é formada na direção da extremidade aminoterminal para a carboxiterminal, ou seja, novos resíduos de aminoácidos são adicionados sucessivamente até a extremidade carboxila.
- III. A adição de cada aminoácido é um processo cíclico de três estágios onde há a participação de três sítios, chamados E, P e A, localizados no ribossoma. O tRNA se liga ao sítio A (onde o códon e anti-codon se pareiam), o tRNA é deslocado para o sítio P (onde o aminoácido se liga a cadeia peptídica em formação) e o sítio E, onde o tRNA já sem o aminoácido, é ejetado do ribossoma.
- IV. As cadeias peptídicas recém-formadas sofrem, então, processamentos que incluem modificações químicas em seus aminoácidos. Um dos processamentos comumente observados é a clivagem do primeiro aminoácido que é metionina ou formil metionina. Em eucariotos, essa clivagem é frequentemente acompanhada de acetilação do grupo amino do resíduo aminoterminal.

As afirmativas I, II, III e IV são respectivamente:

- (A) F, V, V e V
- (B) V, V, F e V
- (C) V, F, F e F
- (D) V, V, V e V
- (E) F, V, F e V

18. Principalmente, segundo as características físico-químicas das cadeias laterais, os aminoácidos (listados abaixo como I, II, III, IV e V) podem ser agrupados em diferentes classes (listados como a, b, c, d, e).

- I. Leucina, valina, alanina.
 - II. Aspartato
 - III. Tirosina
 - IV. Serina, cisteína
 - V. Arginina
- a. Aromáticos
 - b. Polares
 - c. Positivos (Básicos)
 - d. Negativos (Ácidos)
 - e. Alifáticos

A correspondência correta é:

- (A) I - b, II - c, III - a, IV - e, V - d
- (B) I - a, II - e, III - c, IV - b, V - d
- (C) I - b, II - c, III - d, IV - e, V - a
- (D) I - e, II - d, III - a, IV - b, V - c
- (E) I - d, II - a, III - e, IV - b, V - c

19. Os produtos finais da conversão de alanina (1) pela alanina aminotransferase, e aspartato (2) pela aspartato aminotransferase são respectivamente:

- (A) 1-Glutamato e piruvato, 2-glutamato e oxaloacetato
- (B) 1-Asparagina e piruvato, 2-asparagina e acetil-CoA
- (C) 1-Fenilalanina e lactato, 2-glutamato e lactato
- (D) 1-Serina e acetil-CoA, 2- Fenilalanina e lactato
- (E) 1-Tirosina e fumarato, 2-Leucina e citrato

20. Fosforilação e glicosilação de proteínas exercem diferentes papéis em processos fisiológicos e mecanismos de sinalização celular. Com relação a essas duas MPT, avalie as afirmativas abaixo:

- I. Em alguns tipos de proteínas, a glicosilação, especialmente, por N-acetilglucosamina (ou O-GlcNAc) está intimamente associada com fosforilação, em que, às vezes, a adição de fosfato a uma proteína pode ser regulada pela presença deste tipo de glicosilação.
- II. Devido às suas características físico-químicas, uma das metodologias preferencialmente usadas em estudos de proteoma para investigar essas duas MPTs seria o enriquecimento prévio (de uma mistura de peptídeos) através de cromatografia líquida de interação hidrofílica (ou "HILIC"), cromatografia com grafite, e cromatografia com dióxido de titânio. No entanto, o uso dessas técnicas pode resultar na co-purificação de peptídeos – que não apresentam essas MPT - ricos em aminoácidos "carregados" tais como glutamato e aspartato.
- III. Asn-Xxx-Ser/Thr/Cys (Xxx≠Pro) é o motivo (ou sítio) de reconhecimento para a glicosilação do tipo N-ligado. Por outro lado, não há uma sequência consenso que determine a glicosilação do tipo O-ligado, apesar de ocorrer em resíduos de serina e treonina, e menos frequentemente, em hidroxiprolina e hidroxilisina

Sobre as afirmativas acima, pode-se dizer que

- (A) apenas I e II estão corretas
- (B) apenas I e III estão corretas
- (C) apenas II está correta
- (D) apenas III está correta
- (E) todas estão corretas

**Conhecimentos
Específicos no Perfil**

21. Por décadas, pesquisadores tem almejado realizar análises confiáveis e em larga escala das proteínas totais de um sistema biológico. De fato, as tentativas para mapear as proteínas totais de um sistema biológico datam de tempos muito anteriores àquelas para mapear os genomas (O'Farrell, 1975). A técnica de eletroforese bidimensional (2D) descrita por O'Farrell tem sido bem estudada desde então, a tal ponto que hoje se conhecem bem suas características, vantagens e limitações. Das afirmativas a seguir, avalie quais são verdadeiras (V) e quais são falsas (F):

- I – A amostra a ser analisada por 2D deve estar solubilizada em uma solução contendo um detergente aniônico, um sal caotrópico e um agente redutor.
- II – Durante a 2D, as proteínas são separadas, na primeira e na segunda dimensão, pelas suas características de pI e massa respectivamente. Estas características permitem uma tal resolução, de modo que um “spot” corresponde a uma única proteína.
- III – Para uma correta focalização isoelétrica a amostra a ser analisada deve estar solubilizada em uma solução contendo um detergente zwitteriônico ou não iônico, um agente caotrópico e um agente redutor.
- IV – Proteínas diferentes provenientes de genes diferentes podem co-migrar no gel 2D, o que dificulta sua posterior quantificação.
- V – Durante a 2D, especificamente na primeira dimensão, a presença de sais fornecidos por detergentes iônicos favorece a migração de proteínas básicas e proteínas de baixa abundância.
- VI – A co-migração de proteínas no gel 2D facilita sua identificação e quantificação, aumentando o número de proteínas resolvidas numa única análise.

As afirmativas I, II, III, IV, V e VI são respectivamente:

- (A) V, F, V, F, F, V
- (B) V, V, F, F, V, V
- (C) V, V, F, V, V, F
- (D) F, V, F, F, F, V
- (E) F, F, V, V, F, F

22. Considere o íon precursor hipotético de massa neutra 1517,769 Da. Após ionização por electrospray, o valor do íon dupla carga é:

- (A) 759,8845 Da.
- (B) 3035,538 Da.
- (C) 758,8845 Da.
- (D) 757,8845 Da.
- (E) 3033,538 Da.

23. As potenciais aplicações da proteômica baseada em espectrometria de massas na clínica são inúmeras. Contudo, essas aplicações dependem de fluxos de trabalho otimizados para lidar com as limitações que as amostras de pacientes impõem. Neste contexto, um pesquisador interessado em observar a expressão global de proteínas-receptores de membrana de um tipo celular, associado a uma patologia específica, obteve uma fração enriquecida em proteínas de membrana a partir de amostras de pacientes. Com base no exposto, o método recomendado para identificar essas proteínas é:

- (A) DIGE-MS/MS.
- (B) Western-blot 2D-MS/MS.
- (C) Sequenciamento de Edman.
- (D) LC-MS/MS.
- (E) 2D-MS/MS.

24. A cromatografia líquida de alta eficiência, CLAE (HPLC em inglês), é um tipo de cromatografia em coluna comumente utilizado em bioquímica e química analítica. A CLAE é utilizada para separar os componentes de uma mistura com base nas características químicas e moleculares das substâncias analisadas bem como das características da fase estacionária. Neste contexto, a cromatografia de afinidade é aplicada quando se deseja:

- (A) separar moléculas com base em suas diferenças em peso molecular.
- (B) fazer purificação de compostos a partir de interações altamente específicas.
- (C) separar e purificar proteínas com base em suas diferenças em hidrofobicidade.
- (D) fazer uma separação por meio de interações eletrostáticas fracas.
- (E) fazer uma separação de peptídeos com base em suas diferenças em carga líquida.

25. A ionização de peptídeos por MALDI e por ESI produz íons, respectivamente:

- (A) monofosforilados e multifosforilados.
- (B) monoisotópicos e principalmente neutros.
- (C) principalmente monocarregados e principalmente multicarregados.
- (D) exclusivamente dupla carga e principalmente multicarregados.
- (E) principalmente tripla carga e dupla carga.

26. Na proteômica “bottom-up” a preparação da amostra é uma etapa crítica do fluxo de trabalho, pois determina a sensibilidade, precisão e confiabilidade da análise e, por conseguinte, as conclusões biológicas que dela possam ser extraídas. Em geral, os protocolos de preparação de amostra consistem de múltiplos passos que começam com a extração, solubilização e desnaturação das proteínas, seguido por redução e alquilação de cisteínas e digestão enzimática. Os peptídeos são então concentrados e desalinizados antes de serem analisados por espectrometria de massas. Estes protocolos com múltiplos passos podem acarretar perdas de amostra e, devido à manipulação excessiva, podem introduzir modificações ou contaminações indesejadas. Recentemente foi descrito um “protocolo mínimo de preparação de amostra”, denominado “in-StageTip sample-processing method” (Kulak et al., 2014), que descreve um procedimento que pode contornar esses problemas. A respeito desse método, analise se as afirmativas seguintes são verdadeiras (V) ou falsas (F):

- I – A mudança dos agentes redutores e alquilantes tradicionalmente usados (ditiotretol e iodoacetamida) por tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP) e cloroacetamida permite que a redução e alquilação de cisteínas sejam feitas em um único passo.
- II – A mudança dos agentes redutores e alquilantes tradicionalmente usados (ditiotretol e iodoacetamida) por tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP) e cloroacetamida aumenta 5 vezes o número de cisteínas reduzidas e alquiladas.
- III – O protocolo usa uma ponteira ou “tip” (StageTip) como “reator proteômico”. O StageTip é um “tip” comum, com um disco de C18 inserido na ponta, e nele ocorrem os passos de lise, digestão e concentração. Estes “tips” podem ser montados de forma caseira pelo usuário.
- IV – O uso de StageTips também permite fracionar os peptídeos por troca catiônica forte.
- V – O uso de StageTips não permite fracionar os peptídeos por troca catiônica forte.

As afirmativas I, II, III, IV e V são respectivamente:

- (A) F, V, V, F, F
- (B) V, F, F, V, V
- (C) V, V, F, F, V
- (D) F, V, F, F, F
- (E) V, F, V, V, F

27. Durante o processamento da amostra para posterior análise por espectrometria de massas, as modificações mais comuns que uma proteína sofre são:

- (A) fosforilação de serina e carbamidometilação de cisteína.
- (B) acetilação do N-terminal e oxidação de metionina.
- (C) perda da metionina N-terminal seguida por acetilação.
- (D) piroglutamilização N-terminal e desamidação.
- (E) carbamidometilação de cisteína e oxidação de metionina.

28. A tripsina é uma protease comumente usada em experimentos de proteômica baseada em espectrometria de massas. Em relação à digestão triptica de proteínas, avalie se as seguintes afirmativas são verdadeiras (V) ou falsas (F):

- I – Clivagem com tripsina gera peptídeos com um resíduo básico na extremidade C-terminal.
- II – A presença de um resíduo básico na extremidade C-terminal de peptídeos tripticos favorece a protonação.
- III – A tripsina é ativa em solução contendo altas concentrações de agentes caótopos.
- IV – As tripsinas comerciais modificadas apresentam maior atividade autocatalítica.
- V – Em ensaios quantitativos comparativos, erros na clivagem com tripsina (“miscleavages”) causam superestimação na quantificação das proteínas.

As afirmativas I, II, III, IV e V são respectivamente:

- (A) V, F, V, V, F
- (B) F, V, F, V, V
- (C) F, V, V, F, V
- (D) V, V, F, F, F
- (E) V, F, V, F, V

29. Em relação ao uso de agentes redutores antes da digestão com tripsina, avalie se as seguintes afirmativas são verdadeiras (V) ou falsas (F):

- I – Evitam a atividade autocatalítica da tripsina.
- II – Favorecem a acessibilidade da tripsina ao substrato proteico.
- III – Protegem as cisteínas contra a ação de proteases.
- IV – Quebram as ligações dissulfeto das proteínas.
- V – Favorecem a formação de ligações dissulfeto entre proteínas.

As afirmativas I, II, III, IV e V são respectivamente:

- (A) V, F, V, V, F
- (B) F, V, F, V, F
- (C) F, V, V, V, V
- (D) V, V, F, V, F
- (E) F, V, V, F, V

30. A fim de se melhorar a resolução de uma mistura complexa de moléculas previamente analisadas por cromatografia de fase reversa (RP) e modo isocrático, sem aumentar demasiado o tempo de análise, a escolha apropriada é:

- (A) trocar a coluna por uma com menor comprimento e maior tamanho de partícula.
- (B) fazer um gradiente de fase móvel cuja polaridade seja alta no começo e a mesma diminua gradualmente.
- (C) fazer um gradiente de fase móvel cuja polaridade seja baixa no começo e a mesma aumente gradualmente.
- (D) trocar a fase móvel por uma cujo componente polar esteja significativamente aumentado.
- (E) diminuir o fluxo da corrida cromatográfica.

31. Para separar por cromatografia uma mistura de proteínas que se encontra com carga negativa em um pH de 8,6, a fase estacionária mais apropriada é:

- (A) um trocador catiônico forte.
- (B) um trocador de fase reversa C18 com suporte de sílica.
- (C) um trocador aniônico fraco.
- (D) um trocador com grupos ácidos fracos.
- (E) um trocador aniônico com grupos ácidos fortes.

32. Em eucariotos, a modificação pós-traducional fisiológica de proteínas que pode ser identificada de forma rotineira por espectrometria de massas, sem prévio enriquecimento durante a preparação da amostra, é:

- (A) acetilação N-terminal
- (B) fosforilação de serina
- (C) O-glicosilação
- (D) SUMOilação
- (E) piroglutamilacção N-terminal

33. Durante um gradiente linear para eluição de peptídeos tripticos se usa como componente A ácido trifluoroacético (TFA) 0,1 % em água. O componente B que eluirá a maioria dos peptídeos e produzirá uma melhor resolução em RP-HPLC é:

- (A) isopropanol.
- (B) acetonitrila.
- (C) hexano.
- (D) cloroformo.
- (E) metanol.

34. Após uma digestão enzimática consecutiva da sequencia protéica apresentada abaixo, usando LysC e tripsina, nessa ordem, o número de peptídeos gerados é:

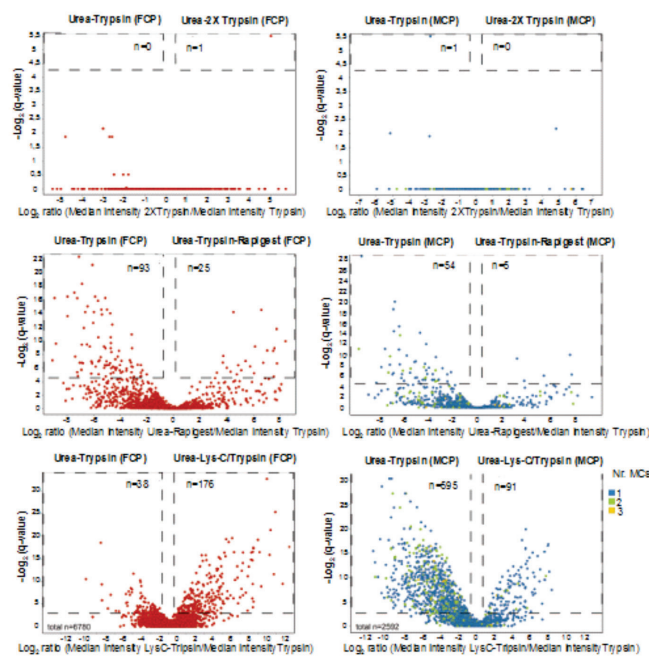
MSDSNKEFADMVSKRGDDQRDQTDLSHLRRAVANEVKPIMQSDK

- (A) 8
- (B) 7
- (C) 9
- (D) 6
- (E) 5

35. A forma apropriada para eluir proteínas retidas em uma coluna de troca catiônica é:

- (A) diminuir progressivamente a proporção de um modificador orgânico tal como acetonitrila.
- (B) aumentar a força iônica da fase móvel mediante o aumento da concentração de um tampão de Tris-Cl.
- (C) diminuir a força iônica da fase móvel mediante a diminuição da concentração de um tampão de fosfato de sódio.
- (D) aumentar a força iônica da fase móvel mediante o aumento da concentração de um tampão de acetato de sódio.
- (E) diminuir progressivamente a concentração de um aditivo não carregado.

36. Glatter e colaboradores (2012) avaliaram diferentes protocolos de digestão de proteínas em solução. Observe os resultados mostrados na figura abaixo:



O protocolo que gerou melhores resultados em termos de aumento de peptídeos completamente clivados ("fully cleaved peptides", FCP) e diminuição da quantidade de peptídeos clivados de forma incompleta ("missed cleaved peptides" MCP), foi:

- (A) ureia-tripsina.
- (B) ureia-tripsina-rapigest™.
- (C) ureia.
- (D) ureia-LysC-tripsina.
- (E) ureia-2X tripsina.

37. A função do ácido trifluoroacético (TFA) como aditivo para a fase móvel na cromatografia de fase reversa (RP) é:

- (A) competir com os grupos hidrofóbicos da fase estacionária fazendo com que os peptídeos não sejam retidos.
- (B) ajustar o pH da fase móvel, suprimindo a ionização dos peptídeos.
- (C) melhorar a forma e resolução dos sinais, por ser um reagente de pareamento iônico.
- (D) aumentar a força iônica da fase móvel, ajudando a retenção e separação de peptídeos.
- (E) evitar que peptídeos altamente hidrofóbicos fiquem retidos irreversivelmente na coluna.

38. A 2D-DIGE, (sigla em inglês para “two-dimensional fluorescence difference gel electrophoresis”) é uma técnica de eletroforese bidimensional quantitativa que usa corantes fluorescentes que marcam lisina ou cisteína. Em relação à marcação mínima, avalie se as seguintes afirmativas são verdadeiras (V) ou falsas (F):

- I – Os corantes fluorescentes mínimos Cy[™]2, Cy3 e Cy5 se ligam de forma covalente às lisinas das proteínas.
- II – A ligação covalente do corante é mediada por um grupo reativo éster de N-hidroxisuccinimida.
- III – A carga +1 do corante fluorescente substitui a carga +1 da lisina a pH neutro e ácido.
- IV – A marcação com o corante fluorescente adiciona uma massa de aproximadamente 450 Da à proteína.
- V – Uma mistura de proteínas, diferente da amostra a ser analisada, é usada como padrão interno para normalização.

As afirmativas I, II, III, IV e V são respectivamente:

- (A) V, V, V, V, F
- (B) F, V, F, V, V
- (C) V, V, V, F, V
- (D) V, V, F, F, F
- (E) F, F, V, F, V

39. Em relação aos corantes fluorescentes usados em 2D-DIGE, é correto afirmar que:

- (A) quando reconstituídos em dimetilformamida são muito estáveis e resistentes à água.
- (B) compartilham os mesmos comprimentos de onda de excitação/emissão.
- (C) Cy5 apresenta um maior coeficiente de extinção que Cy3.
- (D) os coeficientes de extinção de Cy2, Cy3 e Cy5 são iguais.
- (E) Cy3 apresenta um maior coeficiente de extinção que Cy5.

40. Para purificar e recuperar seletivamente uma enzima, sem que perca sua atividade específica, o método indicado é a cromatografia de:

- (A) troca iônica.
- (B) fase reversa.
- (C) fase normal.
- (D) exclusão por tamanho.
- (E) interações hidrofóbicas.

41. Para favorecer a retenção de uma proteína de pI igual a 5,5 em uma coluna de troca aniônica, o pH da solução do extrato no qual esta proteína se encontra deverá ser ajustado para:

- (A) 2,5.
- (B) 5,5.
- (C) 5,8.
- (D) 8,0.
- (E) 4,5.

42. A cromatografia de fase reversa (RP) geralmente, pelas suas condições, NÃO é apropriada para:

- (A) isolar uma proteína em sua forma biologicamente ativa.
- (B) separar misturas de peptídeos tripticos.
- (C) separar proteínas de baixo peso molecular.
- (D) isolar peptídeos sintéticos.
- (E) purificar proteínas desnaturadas.

43. Existem diferentes métodos para conduzir análises proteômicas quantitativas de amostras biológicas usando espectrometria de massas. Contudo, o método de escolha dependerá da natureza da amostra e dos recursos econômicos disponíveis. Em relação aos métodos para análises proteômicas quantitativas, avalie se as seguintes afirmativas são verdadeiras (V) ou falsas (F):

- I - A marcação com isótopos estáveis por aminoácidos em cultivo celular, SILAC (sigla em inglês para “stable isotope labelling by amino acids in cell culture”), é uma marcação metabólica muito eficiente que substitui aminoácidos naturais do meio de cultivo por aminoácidos marcados com isótopos estáveis. Esta marcação está limitada a amostras biológicas cultiváveis em meios definidos.
- II - A quantificação “label free” é uma metodologia que não implica nenhuma marcação química ou metabólica da amostra e pode ser aplicada a todo tipo de amostra biológica.
- III - A eletroforese bidimensional diferencial com corantes fluorescentes, 2D-DIGE, (sigla em inglês para “two-dimensional fluorescence difference gel electrophoresis”) é uma técnica quantitativa que usa corantes fluorescentes para marcar lisina ou cisteína nas proteínas. Esta marcação está limitada a amostras cultiváveis em meios definidos.
- IV - “Selected reaction monitoring”, SRM, é uma metodologia muito especializada para quantificação de proteínas em larga escala na qual é usado um triplo-quadrupolo que garante uma alta sensibilidade e especificidade. Pode ser aplicada a todo tipo de amostra biológica.
- V - A quantificação através da marcação química com isótopos estáveis permite analisar múltiplas amostras por vez (marcações multiplex). A quantificação pode ser feita no MS1 ou no MS2, dependendo do reagente de marcação usado, e pode ser aplicada a todo tipo de amostra biológica.

As afirmativas I, II, III, IV e V são respectivamente:

- (A) V, V, V, V, V
- (B) V, V, F, F, V
- (C) F, F, V, V, F
- (D) F, V, F, F, F
- (E) F, F, V, F, F

44. Em relação à interpretação de espectros de massas em tandem (MS/MS), avalie se as seguintes afirmativas são verdadeiras (V) ou falsas (F):

- I – Espectros de fragmentação por CID são ricos em íons b e íons y, de tal forma que $m(b) + m(y'') = M + 2$.
- II – Íons imônio são íons que aparecem na região de baixa m/z e fornecem informação sobre a composição de aminoácidos do peptídeo fragmentado.
- III – A perda do grupo metilsulfóxido, como consequência da oxidação da metionina, gera uma perda de 64 Da, ou seja, b - 64 e y - 64, visível no espectro. Além disso, uma modificação da extremidade N-terminal, por acetilação, gera uma diferença de massa de 42 Da.
- IV – Em espectros de fragmentação por CID, os íons y'' são mais intensos do que os íons z e x.

As afirmativas I, II, III e IV são respectivamente:

- (A) F, F, V, V.
- (B) F, V, V, F.
- (C) V, V, V, F.
- (D) V, V, F, V.
- (E) V, V, V, V.

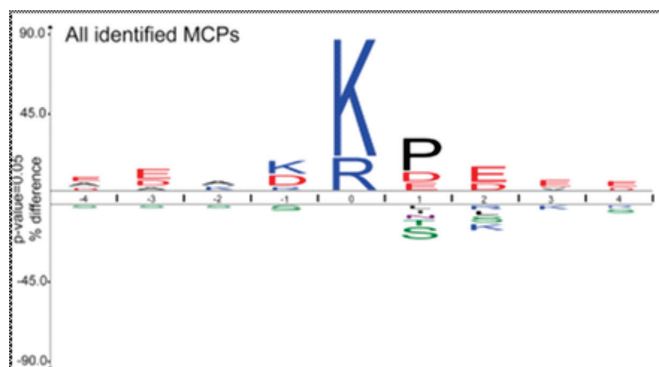
45. A proteômica baseada em espectrometria de massas de alta resolução progrediu consideravelmente ao longo dos anos. Para organismos modelo, tal como leveduras, agora é possível quantificar o proteoma predito (~4,000 proteínas) em apenas uma hora (Hebert et al., 2014). A respeito das melhorias tecnológicas que permitiram este importante avanço, avalie se as seguintes afirmativas são verdadeiras (V) ou falsas (F):

- I – O desenvolvimento de triplo-quadrupolos com alta resolução e sensibilidade cuja velocidade de aquisição no Q3 permite adquirir mais de 20 MS2 por segundo.
- II – O desenvolvimento de um espectrômetro de massas híbrido (Fusion™) que combina três analisadores de massa, quadropolo-orbitrap-ion trap, permite aquisição de ~20 MS2 por segundo.
- III – Cromatografia de fase reversa nanoUPLC com uma coluna de 35 cm de comprimento, 75 µm de diâmetro interno, empacotada com partículas de C18 de 1,7 µm de diâmetro e gradiente de 90 min a 60°C, melhora a resolução e sensibilidade da análise.
- IV – Em quadrupolo-ion traps, o aumento na pressão do gás de colisão no Q1 e a fragmentação HCD no Q2 melhoram a sensibilidade da aquisição, aumentando o número de peptídeos identificados.
- V – O orbitrap é um analisador de massa no qual os íons oscilam ao redor e ao longo de um cilindro central.

As afirmativas I, II, III, IV e V são respectivamente:

- (A) F, F, V, V, V.
- (B) V, V, V, F, F.
- (C) V, V, V, F, V.
- (D) F, V, V, F, V.
- (E) V, V, V, V, V.

46. Observe o gráfico IceLogo (Glatter et al., 2012) que trata de uma análise de sequências de peptídeos apresentando clivagens incompletas pela tripsina ("miscleaved peptides", MCPs).



Considerando as "regras de Keil" é correto afirmar que:

- (A) o resíduo na posição ± 1 não interfere com a digestão.
- (B) resíduos de prolina na posição +1 e resíduos ácidos na posição +2 aumentam as chances de clivagens incompletas da tripsina.
- (C) a tripsina cliva igualmente arginina e lisina.
- (D) as clivagens foram completas apesar da prolina.
- (E) a presença de aspartato flanqueando o sítio de clivagem aumenta a probabilidade de clivagem.

47. Sobre o método de preparação de amostra FASP ("filter-aided sample preparation") descrito por Wisniewski e colaboradores (2009), é correto afirmar que:

- (A) combina as vantagens da solubilização da amostra, usando 30% de SDS, com as vantagens de digestão em solução, usando uréia.
- (B) os quatro passos críticos do método são: depleção dos componentes de baixo peso molecular em tampão contendo uréia, carbamidometilação de tióis, digestão de proteínas e eluição de peptídeos.
- (C) uma diferença desse método, em comparação com os métodos de digestão em solução, é que usa baixas concentrações de uréia.
- (D) o filtro usado retém peptídeos de baixo peso molecular, ao passo que deixa passar moléculas de alto peso molecular, como DNA e proteínas.
- (E) o SDS que fica retido no filtro não afeta a análise por MS/MS.

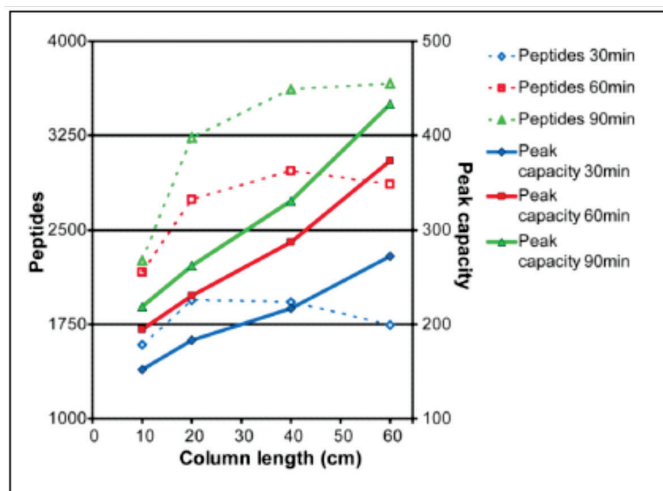
48. Sobre os métodos de fragmentação em MS/MS analise se as seguintes afirmativas são verdadeiras (V) ou falsas (F):

- I - O HCD está disponível em triplo-quadrupolos e quadrupolo ion traps.
- II - Em HCD os fragmentos são medidos com alta resolução e facilitam o sequenciamento de novo.
- III - Os principais íons observados em ETD são os z e os c.
- IV - O ETD é muito eficiente e pode substituir os outros métodos de fragmentação.
- V - Em CID observam-se fragmentações das cadeias laterais que podem diferenciar entre leucina e isoleucina.
- VI - HCD e ETD são complementares e seu uso conjunto facilita a identificação de modificações pós-traducionais.

As afirmativas I, II, III, IV, V e VI são, respectivamente:

- (A) V, F, V, V, F, V.
- (B) V, V, V, V, F, V.
- (C) F, V, V, F, F, V.
- (D) F, F, V, F, V, F.
- (E) V, F, V, V, F, F.

49. Hsieh e colaboradores (2013) analisaram o efeito do comprimento da coluna e do tempo do gradiente de uma cromatografia de fase reversa (RP) sobre o número de peptídeos identificados por MS/MS. Considere os resultados na figura abaixo:



Nesse caso, é correto afirmar que o número de peptídeos identificados é:

- (A) inversamente proporcional ao tamanho da coluna.
- (B) inversamente proporcional ao tempo do gradiente.
- (C) independente do tempo do gradiente.
- (D) diretamente proporcional ao tamanho da coluna e independente do tempo do gradiente.
- (E) diretamente proporcional ao tamanho da coluna e diretamente proporcional ao tempo do gradiente.

50. Os estudos proteômicos são cada vez mais indissociáveis das análises quantitativas dos níveis de expressão das proteínas. Um pesquisador deseja analisar quantitativamente o efeito de um fármaco na sinalização de células de uma linhagem cancerosa. Para tal, será analisado o fosfoproteoma dessa linhagem na presença e na ausência do fármaco. Dentre as opções de fluxos de trabalho descritos a seguir, selecione aquele que permitirá uma CORRETA (não tendenciosa) interpretação das mudanças na expressão de fosfoproteínas:

- (A) enriquecimento de peptídeos fosforilados por TiO_2 e IMAC, LC-MS/MS de peptídeos fosforilados, fragmentação com CID e ETD, quantificação "label free".
- (B) quantificação por marcação metabólica, enriquecimento de peptídeos fosforilados por TiO_2 e IMAC, LC-MS/MS de peptídeos fosforilados e de peptídeos não fosforilados, fragmentação com CID e ETD.
- (C) enriquecimento de peptídeos fosforilados com TiO_2 , marcação química isotópica de peptídeos fosforilados, LC-MS/MS de peptídeos fosforilados, fragmentação com CID e ETD.
- (D) enriquecimento de proteínas fosforiladas usando anticorpos anti-fosfotirosina, 2D-DIGE, análise sequencial de imagens por DIA ("differential in-gel analysis") e BVA ("biological variation analysis"), quantificação e análise estatística usando DeCyder, digestão de spots com tripsina, LC-MS/MS fragmentando com ETD.
- (E) quantificação por marcação metabólica, enriquecimento de peptídeos fosforilados usando anticorpos anti-fosfotirosina, fracionamento de peptídeos com cromatografia de troca iônica, LC-MS/MS de peptídeos fosforilados, fragmentação com CID e ETD.

Questão Discursiva

INSTRUÇÕES:

A questão discursiva deverá ter um máximo de 30 linhas.

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

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

QUESTÃO:

A essência das novas abordagens em biologia dos sistemas é o estudo do sistema biológico por meio da análise sistemática e quantitativa de todos os seus componentes. Visto que as proteínas estão envolvidas essencialmente em todas as atividades biológicas, a análise proteômica torna-se uma fonte rica em informações que contribuem para o entendimento da dinâmica do sistema em estudo. Assim, um dos objetivos das análises proteômicas (usando espectrometria de massas) é a rápida identificação das proteínas expressas por uma célula ou tecido, direcionando a pesquisa para a caracterização de diversos aspectos e propriedades das proteínas: sequência, quantidade, modificações, interações, atividades, distribuição e estrutura.

Redija um texto que descreva, de forma analítica, um procedimento experimental para desenvolver um estudo proteômico quantitativo global para um organismo eucarioto.

Para o desenvolvimento do texto, aborde os seguintes temas:

1. Métodos para análise proteômica quantitativa
2. Preparação de amostra
3. Opções de fracionamento
4. Métodos de ionização em espectrometria de massas
5. Métodos de fragmentação em espectrometria de massas
6. Ferramentas bioinformáticas para a interpretação funcional de dados proteômicos quantitativos

RASCUNHO

1. Por motivo de segurança a Fundação Dom Cintra solicita que o candidato transcreva em letra cursiva, em espaço próprio no Cartão de Respostas, a frase abaixo apresentada:

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

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

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

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

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

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

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

- . não haverá substituição por erro do candidato;
- . não deixar de assinar no campo próprio;
- . não pode ser dobrado, amassado, rasurado, manchado ou conter qualquer registro fora dos locais destinados às respostas;
- . a maneira correta de marcação das respostas é cobrir, fortemente, com esferográfica de tinta azul ou preta, o espaço correspondente à letra a ser assinalada;
- . outras formas de marcação diferentes da que foi determinada acima implicarão a rejeição do **Cartão de Respostas**;

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

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

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

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

13. Os três últimos candidatos deverão permanecer na sala até que o último candidato entregue o **Cartão de Respostas**.

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

Boa Prova!

Ao término de sua prova, anote aqui seu gabarito e destaque na linha pontilhada.

01		11		21		31		41	
02		12		22		32		42	
03		13		23		33		43	
04		14		24		34		44	
05		15		25		35		45	
06		16		26		36		46	
07		17		27		37		47	
08		18		28		38		48	
09		19		29		39		49	
10		20		30		40		50	