

Padrão Resposta Preliminar às Questões Discursivas
Biólogo – Citometria de Fluxo

Questão 1

- a) Os resultados mostram diminuição da população T CD8⁺ no paciente com anemia de Fanconi em relação ao paciente sadio.
- b) Os resultados mostram uma leve diminuição da população T CD4⁺ no paciente com anemia de Fanconi em relação ao paciente sadio. Essa diminuição não deve ser significativa.
- c) CD8⁺ CD4⁻.
- d) Não se pode obter nenhum esclarecimento sobre os linfócitos T regulatórios. Seria necessário realizar marcações com anticorpos anti-CD25 e anti-FoxP3, além do anti-CD4.

Questão 2

- a) Na população de linfócitos ou na população representada em R3 no gráfico CD56/CD16 ou na população CD56⁺/CD16⁺.
- b) Marcação direta com o anticorpo anti-CD16-PE e marcação indireta com um anticorpo primário anti-CD56 humano purificado, seguido de um secundário contra o anticorpo primário conjugado a FITC, já que foi apresentado um *dotplot* do secundário para essa marcação.
- c) FL1 para a marcação contra CD56 e FL2 para a marcação contra CD16. Sim, precisou de compensação porque os canais de captura da fluorescência são adjacentes, e a compensação elimina a mútua interferência nos respectivos canais de leitura da fluorescência.
- d) Sim, a população em questão representa linfócitos NK, que são células que expressam os antígenos CD56 e CD16. Essas células não apresentam antígenos CD3 e podem ser isoladas das outras células do sangue como células CD3⁻ CD56⁺. Logo, poderíamos marcá-las com os anticorpos anti-CD3 e anti-CD56, separando a população NK desejada.

Questão 3

- a) A amostra marcada com FITC (FL1) está sendo lida pelo canal FL2. A quantidade de FL1 que é captada pelo fotomultiplicador (PMT) de FL2 deve ser corrigida através da subtração (compensação) do percentual de FL1 captado pelo PMT de FL2.
- b) O corante PE está sendo lido apenas pelo fotomultiplicador de FL2, não demonstrando nenhuma interferência em FL1, por isso não é necessário realizar nenhuma compensação.

- c) O melhor procedimento para compensar as fluorescências requer amostras (células ou *beads*) que sejam individualmente marcadas com um único fluorocromo separadamente, ou seja, uma marcada com o fluorocromo que emite em FL1 e outra marcada com o fluorocromo que emite em FL2.

Questão 4

- a) Quadrante I; pois no quadrante I observa-se baixa fluorescência do CFSE, o que indica que o mesmo foi diluído conforme as células proliferaram.
- b) Quadrante II, pois observamos o CFSE com elevada fluorescência, ou seja, as células não proliferaram.
- c) O CFSE se liga covalentemente a proteínas intracelulares e, após a divisão celular, o CFSE da célula mãe é dividido de forma equivalente entre as células-filhas, fazendo com que as células-filhas tenham a metade da intensidade de fluorescência da célula-mãe, e assim sucessivamente.

Questão 5

- a) Na citometria de fluxo, combinações adequadas de corantes fluorescentes permitem a estimativa de múltiplos determinantes em cada célula, possibilitando distinguir diferentes tipos celulares em populações de células mistas. Por ter alta velocidade de análise, permite a separação de células.
- b)
- 1 – Alto custo;
 - 2 – Curto período de viabilidade celular;
 - 3 – Não é útil para um pequeno número celular;
 - 4 – Complexidade.
- c) Pode contribuir para a detecção ou identificação de subtipos celulares na imunidade, nas doenças autoimunes, nas imunodeficiências, nos estudos de histocompatibilidade e na imunofenotipagem.