

Concurso Público



Técnico de Laboratório Biomedicina

Laboratório
Microscopia Eletrônica
e Confocal

Caderno de Questões
Prova Objetiva

2015

SRH SUPERINTENDÊNCIA
DE RECURSOS
HUMANOS
DA UERJ

01|

A imunofluorescência é uma técnica que permite a visualização de espécimes por meio do seguinte tipo de microscopia:

- a) confocal
- b) de campo escuro
- c) eletrônica de varredura
- d) eletrônica de transmissão

02|

A técnica de imunocitoquímica ultraestrutural pós-inclusão é utilizada para detectar antígenos intracelulares. Nessa técnica deve-se realizar o seguinte procedimento:

- a) emblocar o material biológico em resina epóxi, como Epon 812
- b) emblocar o material biológico em resina hidrofílica, como LRWhite
- c) utilizar o fixador glutaraldeído a 2,5% para preservar sítios antigênicos
- d) utilizar o tetróxido de ósmio a 1%, na pós-fixação, para evidenciar a marcação

03|

O microscópio eletrônico de transmissão é utilizado para análise ultraestrutural de células e tecidos. Faz parte de sua composição a seguinte estrutura:

- a) sonda
- b) platina
- c) lentes polarizadoras
- d) filamento de tungstênio

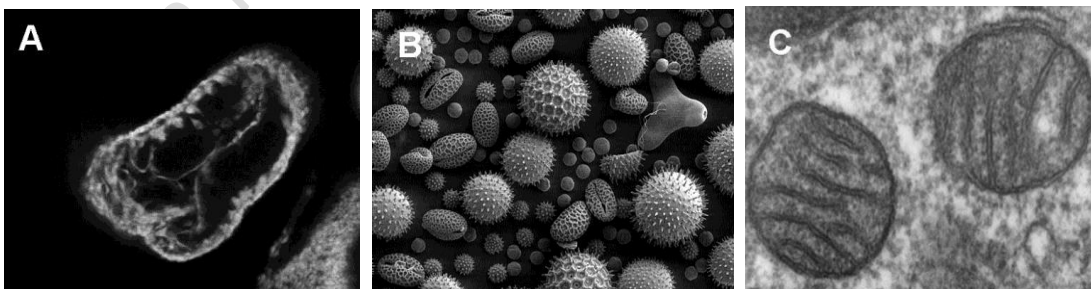
04|

No processamento de espécimes congelados, a sacarose evita a formação de:

- a) ácidos, equilibrando o pH das amostras
- b) dobras no corte, por torná-los mais cristalizados
- c) cristais de gelo, impedindo a perfuração dos cortes
- d) íons de cálcio, compensando a tamponação do meio

05|

Assinale a opção que apresenta o tipo de microscopia em que foram obtidas as imagens abaixo.



- a) A – Confocal; B – MEV; C – MET
- b) A – MET; B – Confocal; C – MEV
- c) A – MET; B – MEV; C – Confocal
- d) A – Confocal; B – MET; C – MEV



06|

O fixador que apresenta muita eficiência em preservar as macromoléculas da célula por realizar ligações cruzadas entre as proteínas celulares, possuir baixa taxa de penetração no material biológico e aumentar a permeabilidade do tecido à resina no processo de inclusão, é o:

- a) tetróxido de ósmio
- b) acetato de uranila
- c) paraformaldeído
- d) glutaraldeído

07|

Para melhor observação do material ao microscópio eletrônico de transmissão, é necessário que os cortes coletados nas grades sejam contrastados.

As soluções utilizadas na etapa de contrastação são:

- a) nitrato de prata e azul de toluidina
- b) acetato de uranila e nitrato de prata
- c) azul de toluidina e citrato de chumbo
- d) citrato de chumbo e acetato de uranila

08|

Um determinado fluoróforo usado na imunomarcagem de proteínas de um tecido é excitado em azul e observado em verde. Os valores de comprimento de onda para excitação e emissão são, em nm, respectivamente:

- a) 402 / 488
- b) 488 / 545
- c) 633 / 402
- d) 545 / 633

09|

O uso de *anti-fading* na montagem de lâminas para microscopia confocal tem como objetivo evitar:

- a) degeneração de epítomos usados pelos anticorpos primários
- b) formação de cristais capazes de mascarar a imunofluorescência
- c) decomposição das moléculas fluorescentes no seu estado excitado
- d) degeneração dos fluoróforos, causada pela exposição a temperaturas elevadas

10|

Aquisições de imagens em células vivas com o uso de um microscópio confocal requerem muito controle nas condições de tolerância da cultura. As condições que devem ser controladas são:

- a) tempo de exposição ao laser, temperatura e meio de montagem
- b) meio de montagem, ganho eletrônico de contraste e temperatura
- c) temperatura, abertura numérica das objetivas e tempo de exposição ao laser
- d) abertura numérica das objetivas, tempo de exposição ao laser e ganho eletrônico de contraste

11|

Na microscopia eletrônica de transmissão, é preciso incluir a amostra em uma resina que lhe dê consistência para passar pela etapa de ultramicrotomia.

A resina mais indicada na técnica imunocitoquímica ultraestrutural pré-inclusão é:

- a) L. R. White
- b) Paraplast
- c) Lowicryl
- d) Epon



12|

Na microscopia eletrônica, necessitamos de uma solução fixadora que preserve bem a ultraestrutura do material observado. A solução fixadora de Karnovsky é comumente utilizada e é composta pelos seguintes fixadores, nas respectivas concentrações:

- a) paraformaldeído a 2% e formaldeído a 5%
- b) glutaraldeído a 2,5% e paraformaldeído a 1%
- c) tetróxido de ósmio a 2% e glutaraldeído a 3%
- d) formaldeído a 10% e tetróxido de ósmio a 1%

13|

Após a inclusão em uma resina resistente aos feixes de elétrons do microscópio eletrônico de transmissão, a amostra será seccionada em fatias ultrafinas. A espessura dos cortes ultrafinos pode ser avaliada pela cor que apresentam ao flutuar na água da cuba da navalha.

A opção que apresenta corretamente a relação entre cor e espessura é:

- a) dourada: 150 a 190 nm
- b) prateada: 60 a 90 nm
- c) púrpura: 50 a 60 nm
- d) azul: 90 a 150 nm

14|

Uma prática comum na obtenção de imagens para publicação é a associação de uma barra de calibração. O sistema operacional do microscópio confocal normalmente possui essas calibrações associadas a cada objetiva.

Para a calibração do sistema, usa-se um micrômetro-objeto, uma lâmina contendo uma escala micrometrada que, interpretada pelo sistema, estabelece a seguinte correlação com a escala capturada por cada objetiva:

- a) de bits
- b) de cores
- c) de pixels
- d) de intensidade de iluminação

15|

Para observação no microscópio eletrônico de varredura, um dos requisitos básicos é que a amostra apresente a seguinte característica:

- a) estar completamente desidratada e seca
- b) não ser condutora de cargas elétricas
- c) estar levemente apoiada ao suporte
- d) ter dimensões de 2 a 3 cm³

16|

O tetróxido de ósmio, utilizado em soluções fixadoras para microscopia eletrônica, é uma substância com elevado potencial tóxico e carcinogênico.

Para descartar essa substância após sua utilização, deve-se realizar o seguinte procedimento:

- a) colocar a solução fixadora em autoclave e depois descartá-la em lixo de resíduos biológicos
- b) acrescentar na solução utilizada hipoclorito de sódio a 2%, deixar na capela por três dias e depois verter o resíduo na terra
- c) dissolver a solução fixadora em etanol na proporção 1:1 para que ela seja polimerizada e então descartada em lixo comum
- d) despejar em um frasco contendo óleo mineral por dois dias para desativá-lo e depois dissolver a mistura com detergente e água



17|

A técnica de Contraste de Interferência Diferencial (DIC) é empregada em associação à microscopia confocal quando se deseja relacionar a imunofluorescência a determinados sítios celulares.

Isso é possível pela capacidade do DIC de:

- a) se associar a determinados fluoróforos
- b) revelar estruturas escuras no espécime
- c) revelar estruturas não coradas nas células
- d) acentuar o contraste de determinados fluoróforos

18|

Para detecção de cálcio e inclusões lipídicas intracelulares por meio da citoquímica ultraestrutural, pode-se utilizar, respectivamente, as seguintes técnicas:

- a) oxalato-glutaraldeído e ósmio-imidazol
- b) fosfatase alcalina e ácido fosfotúngstico
- c) acetato de uranila e vermelho de rutênio
- d) ferritina cationizada e piroantimoniato de potássio

19|

A principal característica das imagens de um microscópio confocal a laser é a nitidez de estruturas sutis no espécime.

O principal elemento que permite a nitidez é:

- a) iluminação a laser
- b) abertura do *pin hole*
- c) o conjunto de lentes e objetivas de baixa abertura numérica
- d) o conjunto de lentes e objetivas de contraste de interferência

20|

A autofluorescência ocorre em vários tipos de tecido e pode interferir na análise de imunomarcações específicas.

Para contornar esse tipo de interferência, deve-se:

- a) utilizar objetivas de baixa abertura numérica na aquisição das imagens
- b) realizar um estudo prévio de exposição ao laser na formação de *background*
- c) usar o controle negativo e o controle positivo sobre as imunomarcações realizadas
- d) utilizar os controles de brilho e contraste para a eliminação do *background* das imagens

21|

Após a secagem, para observar o espécime ao microscópio eletrônico de varredura, ele deve ser colocado em um suporte e ser recoberto por um material que melhore o nível de emissão de elétrons e que facilite a construção da imagem.

O material que recobre o espécime é:

- a) ouro
- b) ósmio
- c) mercúrio
- d) acetato de uranila

22|

Para observar materiais biológicos no microscópio eletrônico de varredura de alto vácuo, eles devem passar por várias etapas de processamento.

A etapa em que ocorre a conversão do estado líquido para o estado gasoso do CO₂, por meio do aumento de temperatura e pressão, anulando a tensão superficial sobre o material, é:

- a) impregnação metálica
- b) pressurização
- c) desidratação
- d) ponto crítico

23|

A interação feixe-amostra para formação de imagem no microscópio eletrônico de varredura ocorre pelo seguinte efeito:

- a) o feixe de elétrons transmitidos atravessa a amostra e gera a imagem do material na tela de écran
- b) o feixe primário de elétrons acelerados interage sobre as amostras e diminui a resolução da imagem
- c) o feixe primário de elétrons interage com a amostra e gera elétrons secundários que formam as imagens da superfície da amostra
- d) os elétrons retroespalhados, que são gerados a partir da incidência de feixes secundários na amostra, são inelásticos e, por isso, formam imagem em campo claro

24|

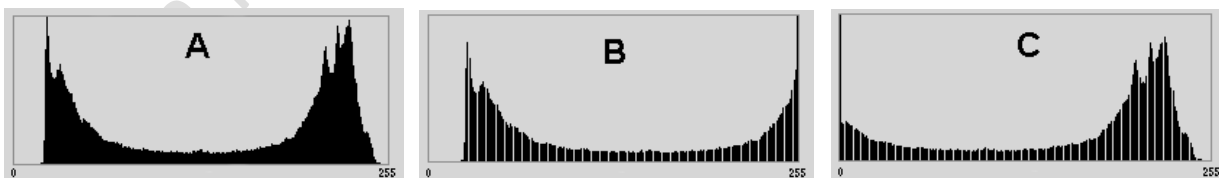
Um requisito básico para a boa fixação de material biológico é a manutenção do pH da solução fixadora. Para isso, podem ser utilizados diferentes tipos de tampão.

O tampão vantajoso para estudos citoquímicos pela ausência de íons fosfato é o seguinte:

- a) tampão TRIS
- b) tampão Helly
- c) tampão PIPES
- d) tampão cacodilato de sódio

25|

Os três histogramas abaixo representam a distribuição de *pixels* por intensidade em uma imagem monocromática obtida em um microscópio confocal.



Em **A** temos o histograma da imagem original, e em **B** e **C**, as imagens processadas.

Com base nessas imagens, pode-se afirmar que:

- a) Em **C** houve perda de informação nos semitons mais claros
- b) Em **B** houve perda de informação nos semitons mais claros
- c) Em **B** houve perda de informação nos semitons mais escuros
- d) Não houve perda de semitons em nenhum dos dois processamentos



26|

A análise de colocalização em microscopia confocal permite afirmar se determinadas proteínas ocorrem em regiões semelhantes na célula.

Para esse tipo de análise, é um dos fatores determinantes de precisão:

- a) o ganho e o contraste
- b) a intensidade do laser
- c) a espessura dos espécimes
- d) a calibração da mesa pneumática antivibratória

27|

O paraformaldeído é um fixador indicado para a observação de ultraestruturas celulares por ser:

- a) livre de metanol
- b) menos eletrondenso que o formaldeído
- c) mais eletrondenso que o tetróxido de ósmio
- d) mais facilmente associado a moléculas orgânicas que o formaldeído

28|

A técnica de FISH (*fluorescent in-situ hybridization*) envolve o uso de imunomarcações múltiplas, reveladas em diferentes comprimentos de onda, que formam imagens multicoloridas.

A obtenção de imagens multicoloridas no microscópio confocal é possível pelo seguinte fator:

- a) aplicação de pseudocores em diferentes canais e superposição de frames
- b) formação de cores obtidas a partir de lasers de diferentes comprimentos de onda no fotodetector
- c) superposição de frames obtidos por varredura a laser com imagens de fluorescência convencional
- d) transposição de cores obtidas na fluorescência convencional à imagem montada a partir da superposição dos frames obtidos no confocal

29|

Analise as afirmativas abaixo em relação às navalhas de vidro confeccionadas no *knife maker*:

- I. Retiram o excesso de resina, construindo um trapézio na região selecionada da amostra.
- II. Realizam cortes semifinos que serão corados com azul de toluidina para análise na microscopia de luz.
- III. Realizam a criofatura de amostras que serão metalizadas para análise no microscópio eletrônico de transmissão.

Assinale a opção que apresenta a(s) afirmativa(s) correta(s):

- a) II
- b) III
- c) I e II
- d) I e III

30|

No início de uma seção do microscópio confocal, uma preocupação do operador é a detecção do sinal fluorescente. Uma ferramenta importante para a obtenção de imagens de qualidade é o *range indicator*. Ele redistribui o histograma de intensidade e a frequência de *pixels* entre os menos intensos e os mais intensos e aponta na tela regiões de exclusão de alta e baixa intensidade.

Uma imagem de boa qualidade teria a seguinte representação:

- a) muitos *pixels* de alta e baixa intensidade
- b) poucos *pixels* excluídos de baixa ou alta intensidade
- c) vários *pixels* de baixa intensidade se a imagem possuir *background* claro
- d) vários *pixels* de alta intensidade se a imagem possuir *background* escuro