



Concurso Público Fiocruz 2023

Pesquisador em Saúde Pública

Prova Discursiva

PE02

Terapias Avançadas

Espelho de Resposta

Pontuação de cada Questão Discursiva conforme Anexo II do Edital nº 3, de acordo com a Unidade detentora da vaga.

Espera-se que o candidato, no desenvolvimento do tema, tenha feito considerações técnicas adequadas sobre os seguintes pontos:

Questão 01

- a) A caracterização do produto para avaliação pela agência reguladora (ANVISA) deve conter aspectos que envolvem: esterilidade do produto, ausência de contaminantes, tais como como *beads* (magnéticas ou não), caracterização do número médio de cópias do transgene por célula, o percentual de células expressando o CAR, a caracterização imunofenotípica das células, caracterização morfológica das células, caracterização cariotípicas, viabilidade celular, avaliação da presença de endotoxinas e de vírus competentes de replicação (RCRs). Evidência de potência através de ensaios de lise celular de células alvo in vitro e evidências e ação antitumoral em ensaios em modelos animais relevantes, tais como camundongos imunodeficientes enxertados com tumores humanos. Em produtos congelados, avaliação da viabilidade celular ao descongelamento, dados de estabilidade do produto congelado. É desejável também análise do padrão de integração do transgene.
- b) Caracterização molecular do número de cópias do transgene, caracterização imunofenotípica das células, caracterização do percentual de células expressando o CAR, avaliação de esterilidade e da presença de endotoxinas e de vírus competentes de replicação (RCRs), caracterização da viabilidade celular.

Questão 02

- a) O método de escolha neste caso, em geral será, o vetor adenoassociado (AAV). Este vetor pode ser encontrado em diferentes sorotipos, que possuem tropismos diferentes, e pode ser produzido com altíssimos títulos sendo utilizado, inclusive, para transferências gênicas sistêmicas. A expressão do transgene pode ser limitada com o uso de promotores específicos de cada tecido. Em tecidos ou células com baixa taxa de replicação, este vetor pode atingir altas taxas de transdução e manter a expressão do transgene por longos períodos. Considerado não integrativo, há evidências de baixas taxas de integração. Uma desvantagem deste vetor é sua pequena capacidade de carga genética, limitando o tamanho dos transgenes a serem utilizados.

Outra opção a ser considerada compreende os vetores adenovirais. Também produzidos em altos títulos, podem atingir altas taxas de transdução, com taxas desprezíveis de integração no genoma. São considerados muito mais imunogênicos e potencialmente tóxicos do que os AAV. Dependendo do tecido alvo, herpesvírus também podem ser considerados boas opções devido ao seu tropismo, especialmente para tecidos e células do sistema nervoso central. Estes vetores, não integrativos, podem promover a expressão do transgene por longos períodos em tecidos com baixa taxa de replicação.

- b) Nestas situações, os vetores retrovirais e lentivirais são as ferramentas de escolha. Com capacidade intermediária de carreamento de transgenes, a natureza integrativa destes vetores permite que o transgene seja inserido no genoma da célula, garantindo sua expressão a longo prazo ainda que as células proliferem intensamente. Sua produção gera produtos com títulos bem menores que os dos AAV.
- c) Nesta categoria as escolhas mais indicadas seriam:
- Sistemas baseados em transposons, com a entrega do DNA alvo com sítios de reconhecimento por parte da transposase. Para um funcionamento eficiente, tanto a transposase (em forma de plasmídeo, RNAm ou proteína) deve ser entregue à célula através de carreadores como nanopartículas lipídicas, ou mesmo métodos como a eletroporação. Diferentes sistemas de transposons possuem diferentes capacidades de carga genética (de intermediária a grande) e padrões semi-aleatórios diversos de integração do transgene.
 - Sistemas baseados em CRISPR associados a DNA doador de forma a efetuar o processo de recombinação homóloga, promovendo a integração sítio-dirigida do transgene. Também neste sistema, a entrega da Cas9, do RNA guia (RNAg) e do DNA doador podem ser realizados através de vetores adeno-associados carreando o DNA doador e codificando para a Cas9 e o RNAg, através de nanopartículas lipídicas ou através da co-eletroporação da ribonucleoproteína e do DNA doador.