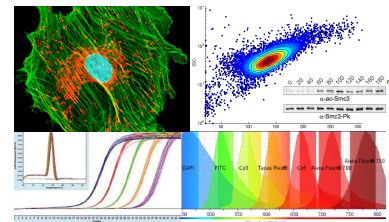


## Curso de formação avançada em Manipulação e análise de expressão génica



### 1. INFORMAÇÃO BASE:

- 1.1. **Nome do curso:** Manipulação e análise da expressão génica
- 1.2. **Tipo de curso:** Formação avançada com grande componente laboratorial
- 1.3. **Data de início:** 24/02/2021
- 1.4. **Data limite de inscrição:** 31/02/2021
- 1.5. **Local onde vai decorrer o curso:** Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias – Campo Grande, Lisboa
- 1.6. **Número de ECTS concedidos:** 1 ECTS
- 1.7. **Contactos:**
  - Coordenação do curso: [nuno.saraiva@ulusofona.pt](mailto:nuno.saraiva@ulusofona.pt)
  - Secretariado (inscrições): [secretaria.cbios@ulusofona.pt](mailto:secretaria.cbios@ulusofona.pt)

**Medidas COVID19** – Para garantir toda a segurança de alunos e formadores foram introduzidas medidas que em nada modificam quer o conteúdo que o tempo de execução e contacto com o laboratório. Estas medidas incluem: redução o número máximo de inscrições de 20 para 10 alunos, alunos e formadores terão que utilizar de máscara, aulas teóricas em salas que permitem distanciamento social com possível transmissão online (caso algum aluno assim o prefira), aulas laboratoriais em grupos pequenos, distribuídos por diferentes laboratórios.

### 2. DESCRIÇÃO DO CURSO

#### 2.1. Descrição e objectivos do curso:

As técnicas de análise e manipulação da expressão génica constituem hoje um dos mais essenciais conjuntos de ferramentas da biologia celular e molecular. A compreensão da função de um determinado gene, da sua importância em funções celulares e do organismo ou do seu envolvimento em patologias advém geralmente da análise das consequências da sua sobre-expressão ou do seu *knockdown/knockout*. As técnicas que permitem a manipulação (e análise) da expressão génica são por isso essenciais na investigação da função de um gene e da sua relevância para um determinado processo celular e/ou patologia. Com os recentes avanços na medicina personalizada torna-se cada vez mais relevante a análise da expressão de um conjunto de genes de forma a ajustar a terapêutica às características do indivíduo ou da sua patologia (ex: cancro).

A presente formação pretende conferir os fundamentos teóricos e práticos que permitem a um investigador ou técnico escolher as técnicas mais adequadas, executar e analisar adequadamente os resultados obtidos.

Esta formação tem uma forte componente laboratorial (13 horas de um total de 20), que permitirá aos alunos apreender e executar algumas técnicas fundamentais, como transfecção, extracção e manipulação de RNA, PCR quantitativo, citometria de fluxo e microscopia de fluorescência.

**São objectivos do presente programa de formação:**

- Transmitir aos participantes conhecimentos sólidos sobre os princípios, aplicações e técnicas de manipulação e análise de expressão génica.
- Dotar os participantes de conhecimentos práticos que são a base para a execução de algumas técnicas essenciais (como a transfecção, o PCR quantitativo, a citometria de fluxo e a microscopia de fluorescência).
- Fomentar a capacidade de discussão e interpretação crítica de resultados.

## 2.2. Público alvo

O curso destina-se a alunos de estudos pré e pós-graduados das áreas da saúde, bioquímica e biologia, jovens investigadores e técnicos com pouca ou nenhuma experiência em técnicas de manipulação de expressão génica em células animais, cuja actividade científica possa beneficiar deste tipo de conhecimentos técnicos.

## 2.3. Coordenador

**Nuno Saraiva**

Licenciado em Biologia Microbiana e Genética (FCUL), mestre em Biologia Molecular e Genética (FCUL) e doutorado em Biologia Celular e Virologia (Imperial College, London). Post-doc no departamento de patologia da Universidade de Cambridge, UK.

Atualmente é investigador principal no CBIOS (Universidade Lusófona Research Center for Biosciences and Health Technologies) e Professor auxiliar na Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Para mais informações sobre o percurso de investigação e publicações científicas:  
<https://orcid.org/0000-0003-1333-9137>

## 2.4. Formadores

Todos os formadores são investigadores ou técnicos com uma vasta experiência nos temas e técnicas que irão abordar.

- **Ana Casaca, PhD** - Instituto Gulbenkian de Ciência (IGC).
- **Ana Sofia Fernandes, PhD** - Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde, CBIOS, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- **Marta Monteiro, PhD** - Instituto Gulbenkian de Ciência (IGC), Administradora da Unidade de Citometria de Fluxo.
- **Nuno Saraiva, PhD** - Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde, CBIOS, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

- **Margarida Alves, PhD** – Faculdade de Medicina Veterinária, CBIOS, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

## 2.5. Estrutura do curso

O programa desenvolve-se de quarta a sábado (ver programa – página 7). O programa inclui 20 horas presenciais, das quais 13 horas serão de carácter laboratorial.

## 2.6. Descrição breve das unidades curriculares

UNIDADES PROGRAMÁTICAS	HORAS
Técnicas de manipulação de expressão génica	6H Teóricas: 2 H Práticas: 4H
<b>Coordenador: Nuno Saraiva</b> <b>Outros formadores: Ana Sofia Fernandes</b>	
<p>Expressão génica</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Conceitos básicos</li> <li>• Pontos de regulação</li> <li>• <i>Knock-down (KD)</i> vs <i>Knock-out (KO)</i> vs sobre-expressão</li> </ul> <p>Técnicas de introdução de ácidos nucleico em células</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Transfecção (fosfato de cálcio, lipossomas, electroporação, polímeros catiónicos, microinjecção, etc.)</li> <li>• Transdução (lentivírus, retrovírus, adenovírus, etc.)</li> </ul> <p>Técnicas de manipulação de expressão génica (sobre-expressão e <i>knock-down</i>)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Plasmídeos para sobre-expressão, <i>KD</i> ou <i>KO</i> de genes</li> <li>• siRNA e shRNA</li> <li>• Geração de linhas celulares vs expressão transiente</li> <li>• CRISPR-Cas9 – <i>gene editing</i></li> </ul> <p>Manipulação de expressão génica em:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Células de cultura de células (<i>in vitro</i>)</li> <li>• Animais</li> </ul> <p>Recursos úteis</p>	

**Hands on:**

- Preparação de células animais para transfecção – inoculação de células para citometria de fluxo e para microscopia de fluorescência.
- Transfecção (lipossomas e fosfato de cálcio) de células com diferentes plasmídeos para sobre-expressão de proteínas fluorescentes (GFP e tdTomato).

**Técnicas de análise da expressão génica**

**6 H**

Teóricas: 2 H Práticas: 3H

**Coordenador: Ana Casaca e Nuno Saraiva**

**Outros formadores: Ana Sofia Fernandes**

Técnicas de análise da expressão génica – detecção de mRNA

- Sequenciação de segunda geração
- *Microarrays*
- *Gene reporter assays*
- (PCR quantitativo)
- Interpretação e análise de resultados

Técnicas de análise da expressão génica – detecção de proteína

- Microscopia de fluorescência (imunofluorescência e proteínas de fusão)
- *Western blot*
- (Citometria de fluxo)
- Interpretação e análise de resultados

Recursos úteis

**Hands on:**

- Recolha e tratamento das células transfectadas para microscopia de fluorescência.
- Análise da expressão dos genes (*gfp* e *tdTomato*) por microscopia de fluorescência.

**Técnicas de análise da expressão génica - qPCR**

**5 H**

Teóricas: 1 H Práticas: 4H

**Coordenador: Ana Casaca e Margarida Alves**

**Outros formadores: Nuno Saraiva**

Técnicas de análise da expressão génica – detecção de mRNA

- PCR quantitativo
- Síntese de cDNA
- Utilização de SYBR green vs sondas
- Variações do PCR quantitativo
- Design experimental
- Interpretação e análise de resultados

**Hands on:**

- Extracção e quantificação de RNA de células de mamífero
- Síntese de cDNA de mRNAs
- PCR quantitativo com SYBR green
- Análise de resultados

Citometria de fluxo	6 H Teóricas: 2H Práticas: 2H
<b>Coordenador: Marta Monteiro e Nuno Saraiva</b>	
<p>A citometria de fluxo</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Princípio da técnica</li> <li>• Sistema óptico, sistema de fluidos, sistema de detecção de fluorescência</li> <li>• FSC e SSC</li> <li>• Aplicações da citometria de fluxo</li> <li>• Marcação (anticorpos e sondas)</li> <li>• <i>Cell sorting</i></li> </ul> <p>Aquisição de dados e apresentação de resultados</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Threshold</i></li> <li>• <i>Gating</i></li> <li>• Compensação</li> <li>• Representação, análise e interpretação de resultados</li> <li>• Recursos úteis</li> </ul> <p><b>Hands on:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Recolha e tratamento das células para citometria de fluxo.</li> </ul>	

- Análise da expressão de proteínas fluorescentes por citometria de fluxo.

**2.7. Número máximo de participantes:** 10 participantes.

### **2.8. Aprovação e sistema de avaliação**

A presença em pelo menos 2/3 das sessões de cada unidade curricular é obrigatória. A avaliação é opcional para a obtenção do Diploma de curso, sendo obrigatória para a obtenção do Diploma de Formação Avançada. Neste caso, a avaliação consistirá num exame final escrito. A formação será certificada através de diploma oficial no âmbito do Regulamento de Formação de Alto-nível da Universidade Lusófona.

## **3. OUTRAS INFORMAÇÕES ÚTEIS:**

### **3.1. Nota atribuída ao curso pelos alunos da edição anterior:**



## Programa (provisório)

### 24/02/2021, quarta

18:00 – 18:10 - Abertura do curso

18:10 – 20:00 - **Técnicas de manipulação de expressão génica.** (módulo teórico – N. Saraiva)

20:00 – 20:30 - *Coffee break*

20:30 – 22:30 - **Preparação de células para transfecção.** (módulo prático – N. Saraiva, M. Martins e A. Fernandes)

### 25/02/2021, quinta

18:00 – 20:00 - **Técnicas de análise da expressão génica: microscopia de fluorescência, sequenciação de segunda geração e *Western blot*.** (módulo teórico – A. Casaca)

20:00 – 20:30 - *Coffee break*

20:30 – 22:00 - **Transfecção de células com DNA plasmídico.** (módulo prático – N. Saraiva e M. Martins)

### 26/02/2021, sexta

18:00 – 19:30 - **Técnicas de análise da expressão génica: qPCR e *Microarrays*.** (módulo teórico – A. Casaca)

19:30 – 20:00 - *Coffee break*

20:00 – 21:30 - **Extracção e quantificação de RNA** (módulo prático – M. Alves)

### 27/02/2021, sábado

09:00 – 10:30 - **Citometria de fluxo** (módulo teórico – M. Monteiro)

10:30 – 11:00 - *Coffee break*

11:00 – 13:00 - **Recolha e preparação das células transfectadas para microscopia de fluorescência e para citometria de fluxo.** (módulo prático – N. Saraiva)

13:00 – 13:30 - Almoço

13:30 – 14:30 – **Quantificação de mRNAs por qPCR.** (módulo prático – N. Saraiva e M. Alves)

14:30 – 16:30 - **Análise da expressão de proteínas por citometria de fluxo e microscopia de fluorescência.** (módulo prático – N. Saraiva e A. Fernandes)

16:30 – 17:00 - *Coffee break*

17:00 – 17:30 - **Análise dos dados obtidos por qPCR.** (módulo prático – M. Alves)

17:30 – 18:30 - Avaliação