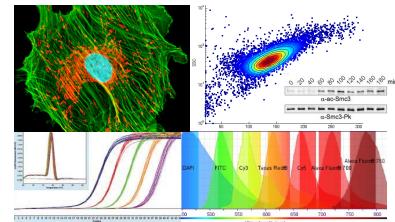


## Curso de formação avançada em Manipulação e análise de expressão génica



### 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:** 27/06/2018
- 1.4. Data limite de inscrição:** 26/06/2018
- 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

### 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 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 transfeção, extração 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.
- Fomentar a capacidade de discussão e interpretação 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.

Actualmente é investigador 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, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- **Cláudia Andrade, MSc** - Centro de Estudos de Doenças Crónicas (CEDOC), Administradora da Unidade de Citometria de Fluxo.

- **João Costa, PhD** - Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- **Nuno Saraiva, PhD** - Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- **Margarida Alves, PhD** – Faculdade de Medicina Veterinária, 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
<b>Técnicas de manipulação de expressão génica</b>	<b>6H</b> Teóricas: 2 H Práticas: 4H
<b>Coordenador: Nuno Saraiva</b>	
<b>Outros formadores: Ana Sofia Fernandes</b>	
Expressão génica <ul style="list-style-type: none"> <li>• Conceitos básicos</li> <li>• Pontos de regulação</li> <li>• Knock-down (KD) vs Knock-out (KO) vs sobre-expressão</li> </ul>	
Técnicas de introdução de ácidos nucleicos em células <ul style="list-style-type: none"> <li>• Transfecção (fosfato de cálcio, lipossomas, electroporação, polímeros catiônicos, microinjecção, etc.)</li> <li>• Transdução (lentivírus, retrovírus, adenovírus, etc.)</li> </ul>	
Técnicas de manipulação de expressão génica (sobre-expressão e knock-down) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Plasmídeos para sobre-expressão, KD ou KO de genes</li> <li>• siRNA e shRNA</li> <li>• Geração de linhas celulares vs expressão transiente</li> <li>• CRISPR-Cas9 – gene editing</li> </ul>	
Manipulação de expressão génica em: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Células de cultura de células (<i>in vitro</i>)</li> <li>• Animais</li> </ul>	
Recursos úteis	

**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

**Coordenador: Cláudia Bispo e Nuno Saraiva****A citometria de fluxo**

- Princípio da técnica
- Sistema óptico, sistema de fluidos, sistema de detecção de fluorescência
- FSC e SSC
- Aplicações da citometria de fluxo
- Marcação (anticorpos e sondas)
- *Cell sorting*

**Aquisição de dados e apresentação de resultados**

- *Threshold*
- *Gating*
- Compensação
- Representação, análise e interpretação de resultados
- Recursos úteis

**Hands on:**

- Recolha e tratamento das células para citometria de fluxo.
- Análise da expressão de proteínas fluorescentes por citometria de fluxo.

## 2.7. Propinas

180 €

A inscrição cobre todas as despesas de material laboratorial e reagentes.

**Descontos especiais:**

- Desconto para alunos da ECTS (MICF, LCN e PhD), para docentes de outras unidades orgânicas da ULHT e para alunos que tenham frequentado as edições anteriores do nosso curso de “Fundamentos de Cultura Celular” – 150 €

- Alunos que pretendam frequentar também o curso de “Fundamentos de Cultura Celular” terão uma propina global para os 2 cursos de 480 € (ou 380 €, no caso de alunos da ECTS e docentes de outras unidades orgânicas da ULHT).
  - Haverá um número limitado de vagas para investigadores do CBIOS e docentes da ECTS, com uma redução de 50%.

**2.8. Número máximo de participantes:** 20 participantes.

## 2.9. 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:

2016 9,5/10

### **3.2. Patrocinadores e colaboradores**



### 3.3. Programa (provisório)

27/06/2016, quarta

17:00 – 18:00 - Abertura do curso

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

20:00 – 20:30 - *Coffee break*

20:30 – 22:30 - **Preparação de células para transfecção.** (módulo prático – Nuno Saraiva e Ana Fernandes)

28/06/2016, quinta

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

20:00 – 20:30 - *Coffee break*

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

29/06/2016, sexta

18:00 – 19:30 - **Análise da expressão génica: RT-qPCR.** (módulo teórico-prático – Ana Casaca)

19:30 – 20:00 - *Coffee break*

20:00 – 21:30 - **Extracção e quantificação de RNA; síntese de cDNA.** (módulo prático – Margarida Alves)

30/06/2016, sábado

09:00 – 10:30 - **Citometria de fluxo** (módulo teórico – Cláudia Andrade)

10:30 – 11:00 - *Coffee break*

11:00 – 12:30 - **Recolha e preparação das células transfectadas para microscopia de fluorescência e para citometria de fluxo.** (módulo prático – Nuno Saraiva)

12:30 – 13:30 – **Quantificação de mRNAs por qPCR.** (módulo prático – Nuno Saraiva e Margarida Alves)

13:30 – 14:00 - Almoço

14:00 – 16:00 - **Análise da expressão de proteínas por citometria de fluxo e microscopia de fluorescência.** (módulo prático – Nuno Saraiva e João Costa)

16:00 – 17:00 - **Análise dos dados obtidos por qPCR.** (módulo prático – Margarida Alves)

17:00 – 18:00 - Avaliação

### 3.4. Contactos

Coordenação do curso: [nuno.saraiva@ulusofona.pt](mailto:nuno.saraiva@ulusofona.pt)

Secretariado ECTS-ULHT (inscrições): [secretariado.ects@ulusofona.pt](mailto:secretariado.ects@ulusofona.pt)