



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:** 21/06/2023
- 1.4. **Data limite de inscrição:** 01/06/2023
- 1.5. **Local onde vai decorrer o curso:** Universidade Lusófona – Campo Grande, Lisboa
- 1.6. **Número de ECTS concedidos:** 2 ECTS
- 1.7. **Contactos:**
 - Coordenação do curso: nuno.saraiva@ulusofona.pt
 - Secretariado (inscrições): secretaria.cbios@ulusofona.pt

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.

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). <https://orcid.org/0000-0002-0706-8038>

Marta Monteiro, PhD - Instituto Gulbenkian de Ciência (IGC), Administradora da Unidade de Citometria de Fluxo. <https://orcid.org/0000-0002-0327-0917>

Karina Marangoni, PhD - CBIOS, Universidade Lusófona. <https://orcid.org/0000-0002-9761-3668>

Regina Menezes, PhD - CBIOS, Universidade Lusófona. <https://orcid.org/0000-0003-0552-8480>

Tiago Granja, PhD - CBIOS, Universidade Lusófona. <https://orcid.org/0000-0002-8137-1449>

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: 2,5 H Práticas: 4H
<p>Coordenador: Nuno Saraiva Outros formadores: Regina Menezes</p>	
<p>Expressão génica</p> <ul style="list-style-type: none"> • Conceitos básicos • Pontos de regulação • <i>Knock-down (KD)</i> vs <i>Knock-out (KO)</i> vs sobre-expressão <p>Técnicas de introdução de ácidos nucleico em células</p> <ul style="list-style-type: none"> • Transfecção (fosfato de cálcio, lipossomas, electroporação, polímeros catiónicos, microinjecção, etc.) • Transdução (lentivírus, retrovírus, adenovírus, etc.) <p>Técnicas de manipulação de expressão génica (sobre-expressão e <i>knock-down</i>)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Plasmídeos para sobre-expressão, <i>KD</i> ou <i>KO</i> de genes • siRNA e shRNA • Geração de linhas celulares vs expressão transiente • CRISPR-Cas9 – <i>gene editing</i> <p>Manipulação de expressão génica em:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Células de cultura de células (<i>in vitro</i>) • Animais <p>Recursos úteis</p> <p>Hands on:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 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
<p>Coordenador: Ana Casaca e Nuno Saraiva</p>	
<p>Técnicas de análise da expressão génica – detecção de mRNA</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sequenciação de segunda geração (RNAseq) • <i>Microarrays</i> • <i>Gene reporter assays</i> • (PCR quantitativo) • Interpretação e análise de resultados <p>Técnicas de análise da expressão génica – detecção de proteína</p> <ul style="list-style-type: none"> • Microscopia de fluorescência (imunofluorescência e proteínas de fusão) • <i>Western blot</i> • (Citometria de fluxo) • Interpretação e análise de resultados <p>Recursos úteis</p>	

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 Karina Marangoni

Outros formadores: Nuno Saraiva

Técnicas de análise da expressão génica – quantificação 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
- PCR quantitativo com SYBR green
- Análise de resultados

Citometria de fluxo

6 H

Teóricas: 2H Práticas: 2H

Coordenador: Marta Monteiro e Nuno Saraiva

Outros formadores: Tiago Granja

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. 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 e subsequente atribuição de ECTS. 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:



Manipulação e Análise da Expressão Génica (4ª edição)

PROGRAMA 2023

21/06/2023, quarta

17:00 – 19:30 - **Módulo teórico: Introdução às técnicas de manipulação de expressão génica.** (N. Saraiva)

19:30 – 20:00 - *Coffee break*

20:00 – 22:00 - **Módulo prático: Preparação de células para transfeção.** (N. Saraiva e R. Menezes)

22/06/2023, quinta

17:00 – 19:00 - **Módulo teórico: Técnicas de análise da expressão génica: microscopia de fluorescência e *Western blot*.** (A. Casaca)

19:00 – 19:30 - *Coffee break*

19:30 – 22:00 - **Módulo prático: Transfeção de células com DNA plasmídico.** (N. Saraiva e R. Menezes)

23/06/2023, sexta

17:00 – 19:00 - **Módulo teórico: Técnicas de análise da expressão génica: qPCR e sequenciação de segunda geração.** (A. Casaca)

19:00 – 19:30 - *Coffee break*

19:30 – 20:30 - **Módulo prático: Extracção e quantificação de RNA.** (K. Marangoni e N. Saraiva)

24/06/2023, sábado

09:00 – 11:00 - **Módulo teórico: Citometria de fluxo** (M. Monteiro)

11:00 – 11:30 - *Coffee break*

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

13:00 – 14:00 - Almoço

14:00 – 15:30 - **Módulo prático: Quantificação de mRNAs por qPCR.** (K. Marangoni e N. Saraiva)

15:30 – 18:00 - **Módulo prático: Análise da expressão de proteínas por citometria de fluxo e microscopia de fluorescência.** (N. Saraiva e T. Granja)

18:00 – 18:30 - *Coffee break*

18:30 – 19:00 - **Módulo prático: Análise dos dados obtidos por qPCR.** (K. Marangoni)

19:00 – 20:00 - Avaliação