

APLICAÇÕES DA MANIPULAÇÃO DE CÉLULAS DE MAMÍFERO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Ciclo de estudos: MIMV **Ano Curricular:** 3º **Semestre:** 1º **Opcional** **Créditos:** 2,5 ECTS

Docente(s): Fernando A. C. Ferreira (CCP e Regente), José A. M. Prates, Graça M. L. F. Dias, António J. F. Duarte, Graça Alexandre-Pires, Alexandre Leitão

1. Horas de contacto: Teóricas - 20h, Práticas – 8h

2. Objetivos: Aprofundamento de conhecimentos e competências sobre técnicas de cultura celular e de análise celular e, das suas aplicações em Medicina Veterinária.

3. Programa: Teórico - Vantagens e limitações do uso de culturas de células; culturas primárias versus linhas contínuas; ciclo celular e metabolismo in vitro. Composição de meios de cultura, suplementos, soluções salinas e de matrizes de crescimento celular. Técnicas de cultura de rotina: sementeira, subcultura e criopreservação. Estratégias de sincronização e de indução de senescência. Identificação e eliminação de contaminações bacterianas e de Mycoplasma spp.. Equipamento e ambiente da sala de cultura. Técnicas de assépsia e de esterilização de material. Criação e manutenção de um banco de células. Ensaio de viabilidade celular, de adesividade, de invasão, de motilidade e de angiogénese. Transfecções transientes e estáveis. Transformação e imortalização de linhas celulares. Imunofluorescência directa e indirecta. Princípios e aplicações da Hibridação *in situ*, silenciamento por RNAi e de Citometria de fluxo. Técnicas de immunoblotting (Western blot e ELISA). Aplicações da biologia celular na investigação veterinária e no diagnóstico/prognóstico de doenças. Prático - Descongelamento, criopreservação e subcultura de linhas celulares contínuas. Contagens celulares e cálculo de diluições. Doseamento da viabilidade celular pelo MTT assay. Realização de uma transfecção transiente e observação da respectiva proteína de fusão por microscopia fluorescente. Interpretação de titulações virais e visualização de protozoários intracelulares.

4. Bibliografia

Ferreira, F. & Martins, C. (2016). Theoretical and Practical Notebooks - curricular unit lessons support.
Sinha, B.K. et al. (2008). *Principles of Animal Cell Culture*. International Book Distributing Co.
Freshney, R. I. (2010). *Culture of Animal Cells*. 6th ed., Wiley-Blackwell.

5. Avaliação

Exame escrito com 40 perguntas de escolha múltipla/resposta curta.