

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 Ferreira (CCP e Regente), José Prates, Graça Dias, Graça Pires, António Duarte, Manuela Oliveira, Solange Gil, Frederico Silva, 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 assepsia 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. Transfeções transientes e estáveis. Transformação e imortalização de linhas celulares. Imunofluorescência direta e indireta. 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 transfeção transiente e observação da respetiva proteína de fusão por microscopia fluorescente. Interpretação de titulações virais e visualização de protozoários intracelulares.

4. Bibliografia

Ferreira, F. & Martins, C. (2021). Apontamentos teóricos e práticos de suporte à Unidade Curricular.

Mani, S., Singh, M., Kumar, A. (2023). *Animal Cell Culture: Principles and Practice*. Springer Springer Eds. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-19485-6>

Capes-Davis, A., Freshney, R. I. (2021). *Freshney's Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications*. 8th ed., Wiley-Blackwell.

5. Avaliação

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