

Unidade Curricular/Curricular Unit

Técnicas Laboratoriais/ Laboratory Techniques

ECTS

7,5

Objetivos de Aprendizagem e competências a desenvolver / Objectives of the curricular unit and competencies to be developed

PT

Pretende-se apresentar, discutir e treinar os estudantes em diferentes técnicas laboratoriais comumente utilizadas num laboratório de Biologia. Pretende-se dotar os estudantes com as capacidades necessárias para serem capazes de trabalhar autonomamente num laboratório, assim como adquirir pensamento crítico através de fontes primárias nesta área. Para cumprir estes objetivos a UC encontra-se organizada em módulos temáticos em que a componente teórica e o trabalho prático de laboratório são estreitamente articulados.

EN

The aim of this course is to present, discuss and train students in various laboratory techniques commonly used in a biology laboratory. It is intended to give the necessary skills to allow the students to work autonomously in a laboratory, as well as acquire critical thinking through primary sources in the field. To meet these objectives the course is organized into closely articulated thematic theoretical and practical modules.

Conteúdos programáticos / Syllabus

PT

1. Organização geral e funcionamento de um laboratório.
 - 1.1. Pessoal de laboratório
 - 1.2. Rotinas laboratoriais: trabalho de bancada e o livro de laboratório pessoal.
 - 1.3. Segurança no laboratório.
 - 1.4. Equipamento de laboratório.
 - 1.5. Gestão funcional de um laboratório.
2. Reagentes e soluções tampão
 - 2.1. Medidas, cálculos e quantificação.
 - 2.2. Pesagem e mistura de reagentes
 - 2.3. Medição de pH
 - 2.4. Esterilizar soluções
 - 2.5. Armazenar soluções tampão e soluções
 - 2.6. Gestão de espaço de frio: frigoríficos e arcas congeladoras
 - 2.7. Procedimento dos resíduos laboratoriais
3. Imagiologia Celular: Histologia e Microscopia
 - 3.1. Fixação e processamento de tecidos
 - 3.2 Principais corantes
 - 3.3. Imunocitoquímica
 - 3.4. Histoquímica enzimática
 - 3.5. Fundamentos de microscopia ótica
 - 3.6. Microscopia de contraste de fase, de campo escuro
 - 3.7. Microscopia de luz polarizada, de Nomarski (DIC)

- 3.8. Microscopia de fluorescência
- 3.9. Microscopia confocal e multi-fotão
- 3.10. Microscopia eletrónica
- 4. Centrifugação
 - 4.1. Princípio físico
 - 4.2. Tipos de centrífugas
 - 4.3. Separação de diferentes fases
 - 4.4. Centrifugação diferencial e fracionamento do conteúdo celular
 - 4.5. Ultracentrifugação
- 5. Electroforese
 - 5.1. Princípio físico-químico
 - 5.2. Electroforese em gel de agarose
 - 5.3. Electroforese em gel de poliacrilamida
 - 5.4. Focagem isoelectrica
- 6. Cromatografia
 - 6.1. Teoria da cromatografia
 - 6.2. Principais técnicas cromatográficas: cromatografia de adsorção, cromatografia em coluna, cromatografia planar, cromatografia em camada fina (TLC), cromatografia líquida de alta eficácia (HPLC).
- 7. Radioatividade
 - 7.1. Propriedades de elementos radioativos
 - 7.2. Radioisótopos
 - 7.3. Ensaio radiométricos e deteção experimental de radiação.
 - 7.4. Princípio e funcionamento de um contador de cintilações.
- 8. Imunoensaios
 - 8.1. Anticorpos monoclonais e policlonais.
 - 8.2. Ensaio competitivo e não competitivo
 - 8.3. Principais tipos de imunoensaios: Radio-imuno-ensaio (RIA), ensaio enzimático (EIA, ELISA), e ensaio por luminescência (LIA).
- 9. Genómica, transcriptómica e proteómica.
 - 9.1. Extração e quantificação de RNA e DNA.
 - 9.2. Técnicas de PCR; purificação e visualização de bandas.
 - 9.3. Quantificação de expressão génica: northern blots, RT-PCR, hibridação *in situ*, PCR quantitativo
 - 9.4. Isolar e clonar um gene: *southern* blots, escolha de tecidos e isolamento do RNA, desenho de primers, plasmídeos, sequenciação dos presumíveis clones.
 - 9.5. Alteração da expressão génica: transgénicos, *knockouts*, oligonucleótidos *antisense* e vectores virais.
 - 9.6. Transcriptómica: *microarrays* de oligonucleotidos e de cDNA.

9.7. Detecção e quantificação de proteínas: electroforese em gel, *western blots*, imunocitoquímica, autoradiografia.

9.8. Proteómica: espectrometria de massa e *fingerprinting* de peptídeos.

10. Experimentação Animal

10.1. Modelos animais em biologia experimental: *C. elegans*, *Drosophila*, peixe-zebra, murganho e rato.

10.2. Questões éticas na experimentação animal.

10.3. OS 3 R's: *replacement, reduction, refinement*

EN

1. General organization and operation of a laboratory.

1.1. Laboratory staff

1.2. Laboratory routines: work bench and the book of laboratory staff.

1.3. Laboratory Safety.

1.4. Lab equipment.

1.5. Functional management of a laboratory.

2. Reagents and buffers

2.1. Measurements, calculations and quantification.

2.2. Weighing and mixing of reagents

2.3. Measurement of pH

2.4. Sterilize solutions

2.5. Solutions storage

2.6. Cold space management: fridges and freezers

2.7. Laboratory waste

3. Cellular Imaging: Microscopy and Histology

3.1. Fixation and tissue processing

3.2. Main dyes

3.3. immunocytochemistry

3.4. enzyme histochemistry

3.5. Fundamentals of optical microscopy

3.6. Phase contrast microscopy, darkfield

3.7. Polarized light microscopy, Nomarski (DIC)

3.8. Fluorescence microscopy

3.9. Confocal and multi-photon

3.10. Electron Microscopy

4. Spin

4.1. physical principle

4.2. Types of centrifugal

4.3. Separation of different phases

4.4. Differential centrifugation and fractionation of the cellular content

4.5. Ultracentrifugation

5. Electrophoresis

5.1. Physic-chemical principle

5.2. Agarose gel

5.3. Polyacrylamide gel electrophoresis

5.4. Isoelectric focusing

6. Chromatography

6.1. Theory chromatography

6.2. Top chromatographic techniques, adsorption chromatography, column chromatography, planar chromatography, thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC).

7. Radioactivity

7.1. Properties of radioactive elements

7.2. Radioisotopes

7.3. Radiometric assays and experimental radiation detection.

7.4. Principle and operation of a scintillation counter.

8. Immuno-assay

8.1. Monoclonal and polyclonal antibodies.

8.2. Competitive and noncompetitive assays

8.3. Main types of immunoassays: Radio-immunoassay (RIA), enzyme assays (EIA, ELISA), and luminescence assays (LIA).

9. Genomics, transcriptomics and proteomics.

9.1. Extraction and quantification of RNA and DNA.

9.2. PCR techniques; purification and visualization of bands.

9.3. Quantification of gene expression: Northern blots, RT-PCR, in situ hybridization, quantitative PCR

9.4. Isolating and cloning a gene, Southern blots, choice of fabrics and RNA isolation, primer design, plasmids, sequencing of the suspected clones.

9.5. Alteration of gene expression: transgenic knockouts, antisense oligonucleotides, and viral vectors.

9.6. Transcriptomics, microarrays and cDNA oligonucleotidos.

9.7. Detection and quantification of proteins, gel electrophoresis, Western blots, immunocytochemistry, autoradiography.

9.8. Proteomics: mass spectrometry and peptide fingerprinting.

10. Animal Experimentation

10.1. Animal models in experimental biology: *C. elegans*, *Drosophila*, zebrafish, mouse and rat.

10.2. Ethical issues in animal experimentation.

10.3. The 3 R's: replacement, reduction, refinement

