

Disciplina 7600078 - Biologia Celular

Docente responsável: profa. Ana Paula Ulian de Araujo (anapaula@ifsc.usp.br) e Cristina Kurachi (cristina@ifsc.usp.br) e Rafael Guido (rvcguido@ifsc.usp.br)

Laboratório: Mohammad Sadraeian (msadraeian@usp.br)

Tarefas gerais:

• Planejar o experimento:

1. **Elaborar um roteiro contendo objetivo, materiais e métodos do experimento com no máximo 1000 palavras. Deve-se manter o padrão e a estrutura de escrita científica. Muito importante explicar como será realizado o experimento e com que propósito.**
2. **Os materiais necessários para a realização do experimento deverão ser listados contendo informações de concentração, quantidade, pH, etc a fim de auxiliar o pré-preparo e a obtenção dos mesmos.**
3. **O protocolo para preparo de amostras biológicas deve vir de (ou ser baseado em) artigos científicos ou teses.**

Tema #1: Estrutura da Mitocôndria usando microscopia confocal

Tipo celular: célula HEK 293T

Objetivo: Estudar a Estrutura e localização da **Mitocôndria** usando microscopia confocal

Explicação: existem três métodos usando sondas moleculares para imagens de **Mitocôndria** em células vivas ou fixadas;

1. *Mito-Tracker Dye*, para células vivas ;
2. Usando as construções (plasmídeos) que expressam proteínas fluorescentes com sinais de localização na mitocôndria;
3. Usando anticorpos primários para Mitocôndrias (conjugados com fluoróforos) para coloração de células fixadas.

Tarefas do grupo:

- Determinar um protocolo para fixação celular para observação em microscopia confocal (levar em conta o substrato utilizado)
- **Para o método 1:** Determine o intervalo da concentração de Mito-Tracker Dye para o experimento (baseado na literatura). Determinar as condições experimentais; tempo e condições de cultivo, tratamento do substrato, etc.
- **Para o método 2:** Planeje uma construção para expressão de proteínas fluorescentes na mitocôndria. Determine o plasmídeo de expressão apropriado. Além disso, determine os sinais necessários na construção.
- **Para o método 3:** Determine os anticorpos (conjugados com os fluoróforos) apropriados para a marcação da mitocôndria.
- **Configuração do microscópio:** Para cada método, determine o filtro adequado, a marcação (label, ex. GFP, Alexa,...), a excitação / o comprimento de onda da emissão (EX/Em).