

## 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 #4: Estrutura da **núcleo** usando microscopia confocal**

**Tipo celular:** célula HEK 293T

**Objetivo:** Estudar a estrutura do **núcleo** durante a divisão celular (**mitosis**) e **apoptose** usando microscopia confocal

**Explicação:** existem três métodos Molecular Probes para imagens núcleo em células vivas ou fixas;

**1.** Corantes nucleares fornecem o método de coloração fluorescente para ácidos nucleicos. E.x; **Hoechst 33342 dye** para células vivas e **DAPI dye** para células fixas

**2.** Coloração do nucléolo usando SYTO RNASelect (o corante fluorescente verde) que é uma coloração de ácido nucleico seletiva para o RNA.

**3.** Os corantes de triagem de alto conteúdo (HCS) podem ser usados para medir o conteúdo de DNA e realizar demarcação de células com células vivas ou fixas em plataformas de geração de imagens e análise de alto conteúdo (HCS).

### Tarefas do grupo:

- Determinar um protocolo para fixação celular para observação em microscopia confocal (levar em conta o substrato utilizado)
- **Para o método 1:** Determinar o intervalo da concentração de DAPI Dye para o experimento (baseado na literatura). Determinar as condições experimentais; tempo e condições de cultivo, tratamento do substrato, etc.
- **Para o método 1:** Determinar o intervalo da concentração de **Hoechst 33342 dye** para células vivas (baseado na literatura). Determinar as condições experimentais; tempo e condições de cultivo, tratamento do substrato, etc.
- **Configuração do microscópio:** Para cada método, determine o filtro adequado, o rótulo (label, ex. GFP, Alexa,...), a excitação / o comprimento de onda da emissão (EX/Em).