

Metodologia Científica - PROJETOS

1. Giuseppe Palmisano palmisano.gp@usp.br

Título: Extração e análise de proteínas e peptídeos do soro

Resumo da proposta (3 a 5 linhas) O aluno acompanhará o passo a passo do processo de obtenção de proteínas, em especial, as proteínas do soro.

Referências para consulta do aluno (máximo de 3)

Cronograma de atividades (aulas são às segundas feiras das 8:00 às 12:00 hs, porém pode ser proposto o uso de horários alternativos – de 4 horas na segunda-feira ou quarta-feira de manhã, pois o aluno não tem outra aula neste dia).

Especifique cada dia o que o aluno deverá fazer junto com você (de 1 a 3 linhas) às segundas feiras/ou quartas-feiras:

29 de abril de 2019/
Proteômica
Extração de proteínas

06 de maio de 2019/8 de maio de 2019
Quantificação de proteínas
13 de maio de 2019/15 de maio de 2019
Digestão de Proteínas
20 de maio de 2019/22 de maio de 2019
Purificação de peptídeos
27 de maio de 2019. 29 de maio de 2019
Análise de dados

03 de junho de 2019/ 05 de junho de 2019
(neste dia o aluno que estagiar na segunda de manhã, poderá chegar um pouco atrasado, pois teremos uma conversa com eles sobre como preparar um relatório científico)

10 de junho de 2019/ 12 de junho de 2019
Peptidômica
Extração de peptídeos
17 de junho de 2019/ 19 de junho de 2019
Purificação de peptídeos
24 de junho de 2019/26 de junho de 2019
Análise de dados

01/07- data para entrega do relatório científico pelo aluno, corrigido e avaliado orientador e/ou docente responsável pelo laboratório (pediremos também para avaliar a frequência do aluno durante o estágio).

2. Mario Henrique Barros mariohb@usp.br

Uso de *Saccharomyces cerevisiae* como modelo para estudo de mutantes mitocondriais.

Introduzir ao aluno formas de cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* que auxiliam na identificação de mutantes com deficiência respiratória. Os estudos desses mutantes é iniciado com técnicas básicas de biologia molecular, genética e bioquímica. Os artigos abaixo descrevem o estudo de alguns mutantes recentemente caracterizados pelo laboratório. .

1- Guedes-Monteiro, Franco, L.V.R., Moda, B.S., Tzagoloff, A. Barros, M. H. (2019) 5' processing of *Saccharomyces cerevisiae* mitochondrial tRNAs requires expression of multiple genes. *Biochim Biophys Acta Mol. Cell Res.* 1866(5):806-818.

2- Franco, L.V.R., Moda, B. S., Soares, M. A. K., Barros, M. H. (2019) Msc6p is required for translation initiation in the absence of formylated Met-tRNA^{fmet}. *Febs J.* doi: 10.1111/febs.14785.

3. Gerhard Wunderlich <gwunder@usp.br>

Clonagem do gene Helicase RQ01, um fator que controla variação antigénica no parasita da malária *Plasmodium falciparum*

Plasmodium falciparum é o parasita mais virulento das espécies de *Plasmodium* que causam malária. Um dos fatores de virulência são proteínas translocadas para superfície da hemácia infectada e estas proteínas são expressas a partir da família multigênica de genes var de forma monoalélica onde dos 50-60 genes apenas um é transcrito e o restante é silenciado. Este fenótipo de transcrição é herdado durante múltiplas reinvasões (revisão em Deitsch & Dzikowski, 2017). Um dos fatores que participa nesta regulação parece ser a helicase RecQ1 do *Plasmodium* e um knockout leva a silenciamento total de todos os genes var. Nosso grupo estuda o complexo de fatores que regula a memória epigenética da transcrição por modificação de genes inserindo uma ribozima que depois permite degradar de forma controlada o transcrito do gene de interesse, configurando no caso um knockdown do gene. Por este knockdown por curto tempo verificaremos se a memória transcricional é perturbada ou não. Este projeto inclui as seguintes atividades experimentais:

- Amplificar o gene da PfRecQ1 por PCR
- Clonar em vetor plasmídeo, sequenciar
- Subclonar no vetor de transfecção de *P. falciparum*

No caso de sucesso rápido pode-se avançar para os próximos passos que seriam transfecção e assistir cultivo de *P. falciparum*.

Literatura:

Deitsch KW, Dzikowski R.: Variant Gene Expression and Antigenic Variation by Malaria Parasites.

Annu Rev Microbiol. 2017 Sep 8;71:625-641. doi: 10.1146/annurev-micro-090816-093841. Epub 2017 Jul 11.

Li Z, Yin S, Sun M, Cheng X, Wei J, Gilbert N, Miao J, Cui L, Huang Z, Dai X, Jiang L.:

DNA helicase RecQ1 regulates mutually exclusive expression of virulence genes in *Plasmodium falciparum* via heterochromatin alteration. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019 Feb 19;116(8):3177-3182. doi: 10.1073/pnas.1811766116. Epub 2019 Feb 6.

4.5. Lisete Compagno Michelinini <michelin@usp.br>

Duas propostas de atividades para a Disciplina Metodologia Científica (calouros Biomedicina)

1. Título: Prejuízo do controle cardiovascular na insuficiência cardíaca: Efeitos do exercício aeróbio

Resumo da proposta: Avaliar em ratos infartados e controles submetidos ao treinamento aeróbio ou mantidos sedentários, a integridade da barreira hematoencefálica em áreas de controle autonômico da circulação e suas repercussões funcionais sobre a atividade simpática e parassimpática ao coração e vasos.

Referências para consulta do aluno:

- [Buttler, L et al. Maintenance of blood-brain barrier integrity in hypertension: A novel benefit of exercise training for autonomic control. Front Physiol, 12; 8:1048, 1048, eCollection 2017.](#)
- [Ichige, MH et al. Exercise training preserves vagal preganglionic neurones and restores parasympathetic tonus in heart failure. J Physiol, v. 594, n. 21, p. 6241-6254, 2016.](#)
- [Setiadi A et al. The role of the blood-brain barrier in hypertension. Exp Physiol. 1; 103 \(3\): 337-342, 2018.](#)

**Cronograma e participação dos alunos em experimentos:
(8:00h até 12:00h)**

- **29 de abril de 2019:** 1) Observação dos procedimentos cirúrgicos durante indução do infarto do miocárdio em ratos; 2) Discussão de um artigo científico junto à equipe do laboratório em reunião coletiva.
- **8 de maio de 2019:** 1) Acompanhamento e auxílio técnico durante a realização de protocolo de treinamento físico para ratos em esteira elétrica.
- **15 de maio de 2019:** 1) Observação simultânea de registros cardiovasculares em ratos não anestesiados; 2) Participação dos procedimentos para análise de permeabilidade da barreira hematoencefálica.
- **22 de maio de 2019:** 1) Orientações gerais para o uso de equipamento criostato; 2) Secções de encéfalos de ratos para identificação de áreas autonômicas e localização de estruturas cerebrais.
- **29 de maio de 2019:** 1) Montagem dos cortes em lâminas histológicas para reforçar conceitos de neuroanatomia e a organização de estruturas cerebrais.
- **05 de junho de 2019:** 1) Acompanhamento e auxílio técnico durante a realização de protocolo de imunohistoquímica em áreas cerebrais responsáveis pelo controle autonômico cardiovascular.
- **12 de junho de 2019:** 1) Acompanhamento das análises quantitativas das imagens de imunofluorescência adquiridas em microscópio.
- **19 de junho de 2019:** 1) Observação dos procedimentos para aquisição de imagens em microscópio eletrônico de transmissão.
- **26 de junho de 2019:** 1) Participação durante análises de integridade da barreira hematoencefálica: Identificação e avaliação (qualitativa e quantitativa) de estruturas capturadas na microscopia eletrônica de transmissão.
- **01 de julho de 2019:** Entrega do relatório científico pelo aluno, corrigido e avaliado pelo orientador e/ou docente responsável pelo laboratório. Será também avaliada a frequência do aluno no estágio

2. Título: Acúmulo de neutrófilos na medula óssea contribui para a mielopoiese durante a cicatrização miocárdial

Resumo da proposta

O objetivo principal deste projeto é testar a hipótese de que neutrófilos circulantes retornam à medula óssea e produzem espécies reativas de oxigênio, o que determina a liberação das células-tronco hematopoiéticas e contribui para mielopoiese esplênica. Para tanto, o modelo de infarto agudo do miocárdio (ligadura coronariana) é associado com técnicas de biologia molecular e celular.

Referências para consulta do aluno

Leukocytes Link Local and Systemic Inflammation in Ischemic Cardiovascular Disease: An Expanded "Cardiovascular Continuum". Libby P, Nahrendorf M, Swirski FK. J Am Coll Cardiol. 2016 Mar 8;67(9):1091-103.

Cronograma de atividades (8:00-12:00 h)

Especifique cada dia o que o aluno deverá fazer junto com você (de 1 a 3 linhas) às segundas feiras/ou quartas-feiras:

- **8 de maio de 2019:** os alunos acompanharão cirurgias de ligadura da artéria coronariana em camundongos ou ratos, bem como cirurgias de parabiose.
- **15 de maio de 2019:** os alunos acompanharão o preparo da amostra para a análise do conteúdo de espécies reativas de oxigênio ou nitrato/nitrito na medula óssea.
- **22 de maio de 2019:** os alunos acompanharão cirurgias de ligadura da artéria coronariana em camundongos ou ratos, bem como cirurgias de parabiose.
- **29 de maio de 2019:** os alunos acompanharão o preparo da amostra para a análise do conteúdo de espécies reativas de oxigênio ou nitrato/nitrito na medula óssea.
- **05 de junho de 2019:** os alunos acompanharão cirurgias de ligadura da artéria coronariana em camundongos ou ratos, bem como cirurgias de parabiose.
- **12 de junho de 2019:** os alunos acompanharão o preparo da amostra para a análise do conteúdo de espécies reativas de oxigênio ou nitrato/nitrito na medula óssea.
- **19 de junho de 2019:** os alunos acompanharão cirurgias de ligadura da artéria coronariana em camundongos ou ratos, bem como cirurgias de parabiose.
- **26 de junho de 2019:** os alunos acompanharão o preparo da amostra para a análise do conteúdo de neutrófilos na medula óssea através da citometria de fluxo.

- **01 de julho de 2109:** Entrega do relatório científico pelo aluno, corrigido e avaliado pelo orientador e/ou docente responsável pelo laboratório. Será também avaliada a frequência do aluno no estágio

6. Bruna Cunha de Alencar Bargieri <bruna.alencar@usp.br>

Professora responsável: Bruna Cunha de Alencar Bargieri

Departamento: Imunologia

Localização: ICB IV, sala 236

Silenciamento gênico usando RNAi em células do sistema imunológico

A tecnologia de RNA de interferência (RNAi) é bastante utilizada em experimentos de silenciamento gênico, principalmente quando se quer explorar a função de um gene ou da proteína resultante em determinado processo ou condição. O presente projeto visa apresentar ao aluno as técnicas necessárias para o silenciamento com RNAi em células de difícil manipulação, como células do sistema imunológico, usando shRNA e vetores lentivirais.

Cronograma

1º Período: Transformação bacteriana

2º Período: Midi prep de plasmídios

3º Período: Transfecção de DNA plasmidial em células de mamíferos usando PEI

4º Período: Purificação de vetores lentivirais

5º Período: Quantificação de lentivírus usando ensaio baseado em beads

6º Período: Análise de células transduzidas por citometria

7º Período: Extração de RNA de células

8º Período: Transcrição Reversa e qPCR

9º Período: Análise de resultados

As datas serão definidas dependendo da disponibilidade do aluno e do laboratório.

7. Luciana Venturini Rossoni <lrossoni@icb.usp.br>

Título: Avaliação do efeito anticontrátil do PVAT na aorta de ratos.

Local: Laboratório de Fisiologia Vascular_Departamento de Fisiologia e Biofísica_ICB-I.

Resumo da proposta: Vários são os mecanismos que controlam o tônus vascular, dentre esses recentemente importância tem sido dada ao tecido adiposo perivascular (PVAT).

Referências para consulta do aluno:

1) Capítulo 32 – Vasomotricidade e regulação local de fluxo – Livro Fisiologia, 5ª edição, Margarida de Melo Aires.

2) Victorio JA, Fontes MT, Rossoni LV, Davel AP. Different Anti-Contractile Function and Nitric Oxide Production of Thoracic and Abdominal Perivascular Adipose Tissues. *Front Physiol.* 2016 Jul 12;7:295. doi: 10.3389/fphys.2016.00295.

3) Saxton SN, Withers SB, Heagerty AM. Emerging Roles of Sympathetic Nerves and Inflammation in Perivascular Adipose Tissue. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2019 Feb 12. doi: 10.1007/s10557-019-06862-4.

Cronograma de atividades (aulas são às segundas feiras das 8:00 às 12:00 hs, porém pode ser proposto o uso de horários alternativos – de 4 horas na segunda-feira ou quarta-feira de manhã, pois o aluno não tem outra aula neste dia).

29 de abril de 2019 – Acompanhar as atividades do laboratório, avaliação da precisão no método de pipetagem, preparo de soluções e calibração do sistema de reatividade vascular.

8 de maio de 2019 – Acompanhar experimentos de reatividade vascular.

15 de maio de 2019 – Acompanhar experimentos de reatividade vascular.

22 de maio de 2019 – Acompanhar experimentos de reatividade vascular.

29 de maio de 2019 – Acompanhar experimentos de reatividade vascular.

05 de junho de 2019 – Montagem do experimentos de reatividade vascular.

12 de junho de 2019 – Montagem do experimentos de reatividade vascular.

19 de junho de 2019 – Análise dos resultados obtidos.

26 de junho de 2019 – Finalização do relatório

01/07- data para entrega do relatório científico pelo aluno, corrigido e avaliado orientador e/ou docente responsável pelo laboratório (pediremos também para avaliar a frequência do aluno durante o estágio).

8. Nilton Barreto dos Santos

<niltonbsantos@gmail.com>

Proposta de Projeto para estágio em Metodologia Científica

Orientador: Dr. Nilton Barreto dos Santos

Supervisora: Profa. Dra. Carolina Demarchi Munhoz

Laboratório de Neuroendócrino-farmacologia e Imunomodulação

Título

Papel microglial na depressão induzida por estresse em camundongos C57BL6.

Os transtornos de humor, como a depressão, compreendem um problema de saúde no mundo moderno afetando 15% da população. Estudos em animais revelaram que a microglia pode ser ativada após o estresse de contenção, liberando moléculas pró-inflamatórias que modulam a atividade neuronal em estruturas como o hipocampo e o córtex pré-frontal, contribuindo para o aparecimento de comportamento depressivo.

Referências

Sorrells S et al. (2009) The Stressed Brain: When Glucocorticoids Aggravate Inflammation. *Neuron* 64, 33–39.

Frank MG (2007) Microglia serve as a neuroimmune substrate for stress-induced potentiation of CNS pro-inflammatory cytokine responses. *Brain Behav. Immun.* 21, 47–59.

Koo JW et al. (2010) Nuclear factor-kappa B is a critical mediator of stress-impaired neurogenesis and depressive behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107 (6), 2669–2674.

Seo J et al. (2012) NADPH Oxidase mediates depressive behavior induced by chronic stress in mice. *The Journal of Neuroscience.* 32, 9690-9699.

Cronograma

29 de abril de 2019

Apresentação do laboratório e do projeto de pesquisa no qual o aluno será inserido, além de embasamento teórico das técnicas realizadas durante o estágio.

8 de maio de 2019

Realização de protocolo de estresse de contenção em camundongos da linhagem C57BL/6 e retirada e preparação de sangue periférico para quantificação hormonal.

15 de maio de 2019

Realização de testes comportamentais para análise de comportamento do tipo depressivo em animais previamente estressados.

22 de maio de 2019

Confecção de protocolo para análise comportamental em software específico (ethovision).

29 de maio de 2019

Realização de testes de ELISA para quantificação de hormônios ou citocinas pró-inflamatórias no sangue periférico de animais C57BL/6.

05 de junho de 2019

Preparação de amostras de hipocampo de animais previamente estressados e eutanasiados, para ensaios de Western Blot.

12 de junho de 2019

Realização de Western Blot para a análise de expressão e atividade de proteínas envolvidas na ativação microglial e na inflamação no hipocampo de camundongos previamente estressados.

19 de junho de 2019

Realização de cortes histológicos para ensaios histoquímicos e imuno-histoquímicos

26 de junho de 2019

Imuno-histoquímica para marcadores de atividade neuronal

9. Leonardo Santana Novaes leonardo.s.novaes@gmail.com

Proposta de Projeto para estágio em Metodologia Científica

Orientador: Dr. Leonardo Santana Novaes

Supervisora: Profa. Dra. Carolina Demarchi Munhoz

Laboratório de Neuroendócrino-farmacologia e Imunomodulação

Título

Alterações plásticas no Sistema Nervoso Central (SNC) promovidas por hormônios glicocorticoides e suas implicações na ansiedade.

A relação entre eventos estressores e o surgimento de transtornos psiquiátricos associados à ansiedade, como o estresse pós-traumático, é bem conhecida. Utilizando técnicas de biologia molecular, trabalhos do grupo mostraram que o aumento da liberação do hormônio corticosterona (análogo ao Cortisol humano) em ratos no contexto do estresse é responsável, através de sua ação em receptores distribuídos no encéfalo, pelas alterações morfológicas e comportamentais associadas ao estresse.

Referências

Novaes et al., (2018). Environmental enrichment prevents acute restraint stress-induced anxiety-related behavior but not changes in basolateral amygdala spine density. *Psychoneuroendocrinology*. 98: 6-10.

Novaes et al., (2017). Environmental enrichment protects against stress-induced anxiety: Role of glucocorticoid receptor, ERK, and CREB signaling in the basolateral amygdala. *Neuropharmacology*. 113: 457-466.

Mitra et al. (2005). Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amygdala. Proc Natl Acad Sci U S A. 28;102(26):9371-6

Cronograma

29 de abril de 2019

Apresentação do laboratório e das principais linhas de pesquisa desenvolvida, bem como aprofundamento teórico do projeto.

8 de maio de 2019

Análise de vídeos comportamentais (labirinto em cruz elevado, campo aberto, condicionamento de medo ao contexto) obtidos previamente em ratos submetidos a estresse psicológico para mensurar comportamento ansioso. Utilizaremos o Software Ethovision.

15 de maio de 2019

Realização de corte histológico de encéfalos de ratos previamente obtidos para análises futuras, como imunistoquímica, imunofluorescência e coloração de Golgi.

22 de maio de 2019

Apresentação e discussão dos protocolos de imunistoquímica, imunofluorescência e coloração de Golgi, utilizados para analisar alterações plásticas e moleculares no SNC associadas ao estresse.

29 de maio de 2019

Apresentação da técnica de cirurgia estereotáxica para permitir acesso direto a estruturas do SNC. Essa técnica permite manipulações farmacológicas, genéticas e eletrofisiológicas, *in vivo*, de estruturas específicas do CNS e suas consequências comportamentais.

05 de junho de 2019

Preparação de amostras do SNC de animais previamente estressados para a realização do ensaio de Western Blot.

12 de junho de 2019

Realização do ensaio de Western Blot para a análise de expressão e atividade de proteínas envolvidas na sinalização de hormônios glicocorticoides e na plasticidade do SNC.

19 de junho de 2019

Análise e discussão dos resultados obtidos com o ensaio de Western Blot realizado.

26 de junho de 2019

Análise em microscópio de fluorescência e de campo claro de lâminas previamente preparadas do SNC de ratos previamente submetidos ao estresse.

10. Andre Uchimura Bastos uchibastos@yahoo.com.br

Título: Investigação do possível papel do nível de expressão de MGMT na resposta ao tratamento com temozolomida em células de glioma

Responsável: Dr. André Uchimura Bastos

Resumo da proposta: Temozolomida (TMZ) é um agente alquilante de DNA utilizado principalmente no tratamento de tumores de cérebro. O reparo dessas lesões é realizado pela proteína MGMT, uma enzima de reparo direto do DNA, cuja perda de expressão está associada a melhor prognóstico e sobrevida em pacientes. Recentemente, além de outros mecanismos de resistência, observamos que os níveis de expressão dessa enzima podem estar relacionados a resposta ao tratamento com TMZ.

Referências:

1. Rocha, C.R., et al., *NRF2 and glutathione are key resistance mediators to temozolomide in glioma and melanoma cells*. *Oncotarget*, 2016;7(30):48081-48092.

2. Aasland D et al., 2018. *Repair gene O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase is controlled by SP1 and up-regulated by glucocorticoids, but not by temozolomide and radiation.* J Neurochem. 2018;144(2):139-151.
3. Fu D et al., 2012. *Balancing repair and tolerance of DNA damage caused by alkylating agents.* Nat Rev Cancer. 2012;12(2):104-20.

Cronograma de atividades:

Data	Atividade
29/04/19	Plaqueamento das células <i>wild-type</i> e clones para extração de RNA
06/05/19	Extração de RNA
13/05/19	Síntese de cDNA
20/05/19	Análise do nível de expressão de MGMT por qPCR
27/05/19	Plaqueamento das células para ensaio de sobrevivência (XTT)
03/06/19	Coleta e análise dos dados do ensaio de XTT
10/06/19	Plaqueamento das células para ensaio de sobrevivência (clonogênica)
17/06/19	Coleta e análise dos dados do ensaio clonogênico
24/06/19	Discussão e elaboração do relatório científico
01/07/19	Entrega do relatório científico

11. Isabella Bordon isabella.bordon@gmail.com

Laboratório de Histofisiologia Evolutiva
 Título: Noções técnicas de histologia.

Resumo da proposta: Aprendizado em técnicas laboratoriais, bem como noções práticas do estudo em histologia, desde a coleta e fixação das amostras, até colorações e análises de alterações histopatológicas em animais marinhos.
 Referências para consulta do aluno: JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. Histologia básica. Guanabara. 12^o ed 2013. OVALLE, W. Bases da histologia. Elsevier. 2^o ed. 2014.

Cronograma de atividades 29/abr Bons hábitos laboratoriais, preparação de fixadores e reagentes. 06/mai Inclusão em parafina parte 1 (desidratação de amostras). 13/mai Inclusão em parafina parte 2 (inclusão e montagem de amostras em blocos de parafina). 20/mai Inclusão em historesina (inclusão e montagem de amostras em blocos de historesina). 27/mai Secções de amostras em parafina utilizando micrótomo. 03/jun Secções de amostras em historesina utilizando micrótomo. 10/jun

Diferentes colorações e suas aplicações no estudo de histologia. 17/jun Técnicas de histoquímica 24/jun Análises de dados em histologia

12. Fabiele Baldino Russo fabielorusso@usp.br

Título: Modelagem celular de pacientes com Transtorno do Espectro do Autismo através de células-tronco pluripotentes induzidas (*iPSC*)

Resumo da proposta (3 a 5 linhas):

O Transtorno do Espectro do Autismo (TEA) é um transtorno do neurodesenvolvimento que afeta as pessoas de diferentes formas na área da comunicação, sociabilização e comportamento. Neste projeto temos como objetivo produzir organóides cerebrais derivados de iPSC produzidas a partir de células-tronco de dente decíduo esfoliado de pacientes com autismo idiopático e assim estudar os mecanismos biológicos envolvidos neste transtorno.

Referências para consulta do aluno (máximo de 3):

Lancaster M.A., Knoblich, J.A. Generation of Cerebral Organoids from Human Pluripotent Stem Cells. *Nat Protoc.* 2014 October ; 9(10): 2329–2340. doi:10.1038/nprot.2014.158

Russo FB, Freitas BC, Pignatari GC, Fernandes IR, Sebat J, Muotri AR, Beltrão-Braga PCB. Modeling the Interplay Between Neurons and Astrocytes in Autism Using Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Biol Psychiatry.* 2017 Oct 3. pii: S0006-3223(17)32009-7. doi: 10.1016/j.biopsych.2017.09.021.

Qian X, Jacob F, Song MM, Nguyen HN, Song H, Ming GL. Generation of human brain region-specific organoids using a miniaturized spinning bioreactor. [Nat Protoc.](#) 2018 Mar;13(3):565-580. doi: 10.1038/nprot.2017.152. Epub 2018 Feb 22.

Cronograma de atividades (aulas são às segundas feiras das 8:00 às 12:00 hs, porém pode ser proposto o uso de horários alternativos – de 4 horas na segunda-feira ou quarta-feira de manhã, pois o aluno não tem outra aula neste dia).

Não tenho como saber exatamente o que estarei fazendo no período, uma vez que quando trabalhamos com cultura celular e principalmente produção de organóides cerebrais dependemos de muitas variáveis. Pretendo iniciar uma nova produção dos organóides em Abril e por isso provavelmente estarei cultivando e caracterizando essas células no período que o estagiário estará aqui.

Especifique cada dia o que o aluno deverá fazer junto com você (de 1 a 3 linhas) às segundas feiras/ou quartas-feiras:

29 de abril de 2019/ - Rotinas de cultura, cultivo de iPSC, produção de EBs e organóides cerebrais.

06 de maio de 2019/8 de maio de 2019 - Rotinas de cultura, cultivo de iPSC e organóides cerebrais.

13 de maio de 2019/15 de maio de 2019 Rotinas de cultura, cultivo dos organóides cerebrais.

20 de maio de 2019/22 de maio de 2019 Rotinas de cultura, cultivo dos organóides cerebrais.

27 de maio de 2019. 29 de maio de 2019 Rotinas de cultura, cultivo dos organóides cerebrais.

03 de junho de 2019/ 05 de junho de 2019 Rotinas de cultura, cultivo de iPSC e organóides cerebrais.

(neste dia o aluno que estagiar na segunda de manhã, poderá chegar um pouco atrasado, pois teremos uma conversa com eles sobre como preparar um relatório científico)

10 de junho de 2019/ 12 de junho de 2019 - Caracterização dos organóides cerebrais

17 de junho de 2019/ 19 de junho de 2019 - Caracterização dos organóides cerebrais

24 de junho de 2019/26 de junho de 2019 - Caracterização dos organóides cerebrais

01/07- data para entrega do relatório científico pelo aluno, corrigido e avaliado orientador e/ou docente responsável pelo laboratório (pediremos também para avaliar a frequência do aluno durante o estágio).

13. Daniel Pavanelo srpavanelo@gmail.com

Título: Biologia molecular aplicada à bactéria causadora da febre maculosa brasileira (*Rickettsia rickettsii*)

Resumo da proposta

O projeto visa identificar, por meio de técnicas de biologia molecular, efetores do sistema de secreção do tipo 4 (T4SS) em *R. rickettsii*. Sistemas de secreção são maquinarias proteicas ancoradas na membrana de bactérias para transferir proteínas (efetores) para as células hospedeiras, onde desempenham diferentes funções.

Referências para consulta do aluno (máximo de 3)

- https://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012800?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed (Sahni et al, 2019)
- <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0077388> (Galletti et al, 2013)
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5505475/> (Gillespie et al, 2016)

Cronograma de atividades

Horário mais apropriado: segundas das 13h às 17h (ou 13h30 às 17h30)

Especifique cada dia o que o aluno deverá fazer junto com você (de 1 a 3 linhas) às segundas feiras/ou quartas-feiras:

O cronograma abaixo pode sofrer variações.

29 de abril de 2019: introdução teórica ao projeto

06 de maio de 2019: apresentação do laboratório e demonstração do funcionamento de alguns equipamentos

13 de maio de 2019: teoria e prática da PCR

20 de maio de 2019: eletroforese em gel de agarose

27 de maio de 2019: teoria e prática da qPCR (PCR quantitativa)

03 de junho de 2019: cultivo de células in vitro

10 de junho de 2019: preparação de meio de cultura para crescimento bacteriano

17 de junho de 2019: teoria de técnicas em biologia molecular

14. Pila Veras (pilar.veras@gmail.com)

Uso de ferramentas de moleculares para a manipulação da expressão gênica.

Orientadores: Pilar Veras e Davi Mendes (lab Menck)

Durante o estágio o aluno (a) aprenderá as metodologias implicadas na modificação da expressão gênica utilizando RNAi via shRNA (*short hairpin* RNA). O aluno (a) realizará desde as etapas de extração do plasmídeo, produção de lentivírus, assim como transdução de células HeLa. Em seguida, será avaliado tanto o nível de expressão gênica quanto o fenótipo celular destas linhagens estabelecidas. Das sequências testadas, serão identificadas àquelas com maior redução de expressão de 8-Oxoguanine glycosylase (OGG-1) e Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)-1. Estas duas proteínas são fundamentais para a via de reparo por excisão de base (BER), e atuam em respostas aos danos causados pelo desequilíbrio nas espécies reativas de oxigênio (ROS).