

Ao Prof. Dr. Givago da Silva Souza

Assunto: Proposta para curso Anual de Neurociências e Biologia Celular. (CANBC)

Eldra Carvalho da Silva, José Delfin de Figueiredo Filho, Miguel Ângelo de Oliveira Canto, alunos do curso de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular, encaminham, em anexo, para apreciação e posterior aprovação, junto ao programa de Pós-graduação em neurociências e biologia celular, proposta de programa para curso anual de Neurociências e Biologia Celular.

TEMA: METODOLOGIA DE PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISES LABORATÓRIAS EM MÚSCULO DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) JUVENIL.

Nº DE VAGAS: 15

PERÍODO: 31/05 a 02/06/2018

DIAS DA SEMANA: QUINTA, SEXTA E SÁBADO

HORÁRIO: 8 AS 12 HORAS (MANHA)/ 14 AS 18 HORAS (TARDE)

LOCAL DO CURSO: LABORATÓRIO MULTIDISCIPLINAR DE PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ – UFOPA – CAMPUS DE ORIXIMINÁ

LOCAL OU E-MAIL PARA INSCRIÇÃO: Secretaria do Campus

Após o término do curso, estamos cientes que será apresentado relatório final, e a frequência dos participantes, ao coordenador do CANBC, para integralização dos trâmites burocráticos, junto à coordenação do programa.

Atenciosamente,



Eldra Carvalho da Silva/ Matrícula: 201517480003



José Delfin de Figueiredo Filho/ Matrícula: 201717480028



Miguel Ângelo de Oliveira Canto/ Matrícula: 201517480023

ANEXO I

Informar e-mail e/ou local para inscrição:

TEMA:	METODOLOGIA DE PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISES LABORATÓRIAS EM MÚSCULO DE TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i>) JUVENIL
Nº DE VAGAS:	15
PERÍODO:	31/05 a 02/06/2018
DIAS DA SEMANA:	QUINTA, SEXTA E SÁBADO
HORÁRIO:	8 AS 12 HORAS (MANHA)/ 14 AS 18 HORAS (TARDE)
LOCAL DO CURSO:	UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ - UFOPA
DATA:	LABORATÓRIO MULTIDISCIPLINAR DE PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ - UFOPA - CAMPUS DE ORIXIMINÁ
MINISTRANTES:	Eldra Carvalho da Silva, José Delfin de Figueiredo Filho, Miguel Ângelo de Oliveira Canto

JUSTIFICATIVA DO TEMA:

O tema em questão está associado a Projetos de Doutorado do Programa de Pós Graduação em Neurociência e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará-UFPA, tendo em vista da necessidade de ofertar um curso para alunos de graduação e/ou mestrado, que proporcione suporte em atividades laboratoriais, e que alguns alunos terão em seus projetos, metodologias semelhantes, o que facilitará a compreensão das informações no decorrer do curso. Por tanto justificamos a importância do tema proposto que para além dos conhecimentos específicos inerentes a pesquisa, iremos instruir durante as atividades os devidos procedimentos no que diz respeito a importância dos alunos em aprender questões de segurança no ambiente laboratorial.

OBJETIVOS

- Compreender os procedimentos, ações técnicas, metodologias, equipamentos e dispositivos capazes de eliminar ou minimizar riscos inerentes as atividades de pesquisa, produção, ensino e desenvolvimento tecnológico;
- Estudar os procedimentos iniciais relacionados ao anabolismo muscular de proteínas e adenosina em função do crescimento do *Colossoma macropomum*;

- Estudar a participação do IGF1 no crescimento do *Colossoma macropomum*; submetido ao aumento de temperatura ambiente e ao nado sustentado.

CRONOGRAMA			
DIA	HORA	TURMA	ATIVIDADES
31/05/18	8:00 - 12:00	ÚNICA	<ul style="list-style-type: none"> • PALESTRA SOBRE PROCEDIMENTOS; LABORATORIAS USO DE EPIS; • PALESTRA SOBRE O PREPARO DE SOLUÇÕES
31/05/18	14:00 - 18:00	ÚNICA	<ul style="list-style-type: none"> • PRÁTICA DO PREPARO DE SOLUÇÕES • PREPARO DAS AMOSTRAS E HOMOGENEIZAÇÃO; • CENTRIFUGAÇÃO DAS AMOSTRAS PÓS HOMOGENEIZAÇÃO.
01/06/18	8:00 - 12:00		<ul style="list-style-type: none"> • AUALA TEÓRICA DO PREPARO DE SOLUÇÕES; • ORGANIZAÇÃO DO PROTOCOLO DE PREPARAÇÃO DAS AMOSTARS.
01/06/18	14:00 - 18:00		<ul style="list-style-type: none"> • PRÁTICA DE COLETA DE TECIDOS; • ANÁLISE DE GLICOSE SANGUÍNEA.
02/06/18	8:00 - 12:00		<ul style="list-style-type: none"> • AUALA TEÓRICA DO PREPARO DE SOLUÇÕES; • ORGANIZAÇÃO DO PROTOCOLO DE PREPARAÇÃO DAS AMOSTARS.
02/06/18	14:00 - 18:00		<ul style="list-style-type: none"> • PRÁTICA DE COLETA DE TECIDOS; • PRÁTICA COLETA DE SANGUE

RECURSOS GERIAS	
Materiais de Consumo	Materiais Permanente
Luvas cirúrgicas	Centrifuga c/ capacidade p/ 24 microtubos
Tocas descartáveis	Homogeneizador de tecido
Máscaras descartáveis	Agitador magnético
Óculos de proteção	Pipetado monocanal
Jalecos descartáveis	Estante para eppendorf
Álcool 70%	Balança analítica
Reagentes para solução (PBS)	Projeter de vídeo
Ácido acético pureza 99%	
Soda caustica	
Placas de petri	
Tubos de ensaio	

Bastões de vidro	
Papel toalha	
Papel manteiga	
Tubos de eppendorf	
Bisturi	
Estojo com ferramentas para dessecação	
Ponteiras para pipetado	
Copo beaker de 100 ml	
Copo beaker de 10 ml	
Planilhas de anotações	
Frasco de vidro de 1 litro com tampa (2)	

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

PREPARO DE SOLUÇÕES

SOLUÇÃO DE ÁCIDO ACÉTICO (CH₃COOH) A 0,1 N OU 0,1 M

Preparar 1 L de solução estoque de (CH₃COOH) a 0,1 N ou 0,1 M (N= Normal / M = Molaridade):

Concentração Molar ou Molaridade (M):

Formula:

$$M = \frac{m_{\text{soluta}}}{PM_{\text{soluta}} \cdot V_{\text{solução}}(\text{litros})}$$

M= Molaridade = 0,1

m_{soluta} = massa do soluto

PM = peso molecular = 60g / mol

V_{solução} = 1 litro

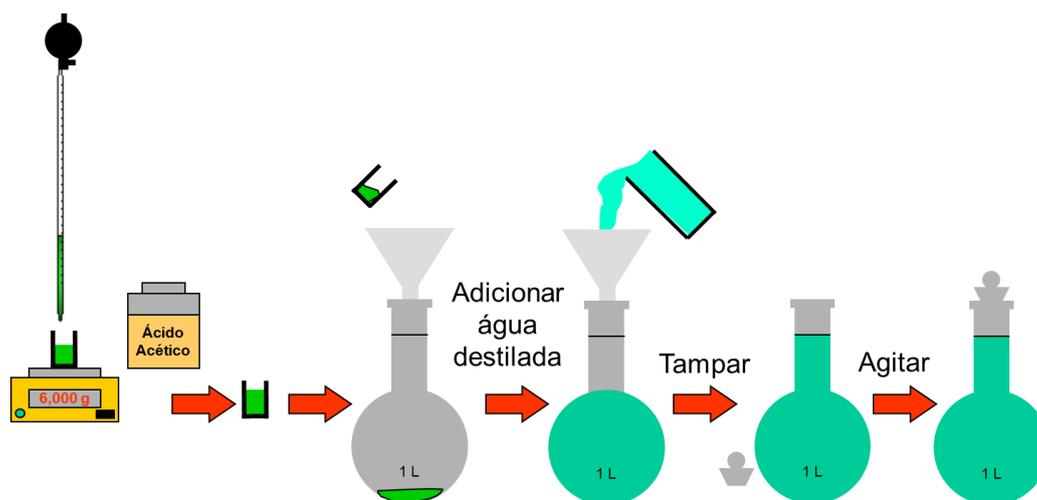
$$m_{\text{soluta}} = PM_{\text{soluta}} \cdot V_{\text{solução}}(\text{litros}) \cdot M$$

$$m_{\text{soluta}} = 60 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \cdot 1\text{L} \cdot 0,1 \frac{\text{mol}}{\text{L}} = 6\text{g}$$

$$m_{\text{soluta}} = 6 \text{ g}$$

V_{solução} = 1 litro

Esquema representativo



OBS: Após adicionar 6 g em 1 litro de água destilada, levar ao agitador magnético para misturar a solução em seguida estocar. Esta solução é usada para conservar o tecido, quando no ato da coleta.

SOLUÇÃO DE NaOH

Preparar 1 L de solução estoque de Soda (NaOH) a 0,1 N ou 0,1 M (N= Normal / M = Molaridade):

Concentração Molar ou Molaridade (M):

Formula:

$$M = \frac{m_{\text{solute}}}{PM_{\text{solute}} \cdot V_{\text{solução}}(\text{litros})}$$

M= Molaridade = 0,1

m_{solute} = massa do soluto

PM = peso molecular = 40g / mol

$V_{\text{solução}}$ = 1 litro

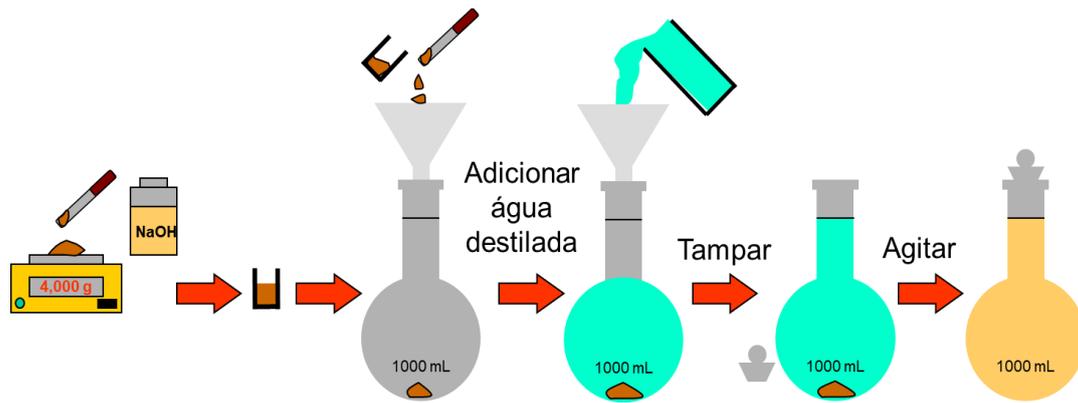
$$m_{\text{solute}} = PM_{\text{solute}} \cdot V_{\text{solução}}(\text{litros}) \cdot M$$

$$m_{\text{solute}} = 40 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \cdot 1\text{L} \cdot 0,1 \frac{\text{mol}}{\text{L}} = 4\text{g}$$

$$m_{\text{solute}} = 4\text{g}$$

$V_{\text{solução}}$ = 1 litro

Esquema representativo



OBS: Após adicionar 4 g em 1 litro de água destilada, levar ao agitador magnético para misturar a solução em seguida estocar. Esta solução é usada para uso na homogeneização tecido destinado a análise de proteína.

PREPARO DE PHOSPHATE BUFFERED SALINE - PBS

MATERIAL:

- Duas garrafas (1 litro);
- Um magneto

Reagentes:

- 8,0 g de NaCl (Cloreto de Sódio);
- 0,2013 g de KCl (Cloreto de Potássio);
- 2,14 g de $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (Fosfato de Sódio);
- 0,1905 g de KH_2PO_4 (Fosfato de Potássio) ou 0,2438 g de K_2HPO_4
- 1 litro de água (mili-Q).

Procedimento:

- Pesar os reagentes;
- Em uma garrafa esterilizada (1L), colocar o magneto e os reagentes; misturar a solução por alguns minutos ajustando o pH entre 7.2 – 7.4.

OBS: Após o preparo da solução estocar, esta solução é utilizada juntamente com as amostras na homogeneização do tecido, para análise de Adenosina e IGF1, elem de ter a propriedade de conserva o tecido extraído.

PREPARO DAS AMOSTRAS E HOMOGENEIZAÇÃO

Serão utilizadas amostras de tecido muscular epaxial de tambaqui, previamente coletadas, oriundas do Projeto Peixe Novo. Essas amostras estão armazenadas em um freezer a uma temperatura de -20 °C. Antes de dar início ao procedimento os materiais de uso, deverão estar organizados.

O procedimento será executado da seguinte forma: Cada amostra de tecido, devidamente identificada, será retirada do ambiente congelado e deixada em temperatura ambiente do laboratório, em seguida, a amostra será transferida (uma de cada vez) para uma placa de petri, sendo retirada uma porção da amostra e pesar (500 mg) em uma balança analítica. Posteriormente a amostra pesada inicialmente, será macerada em tubo de ensaio, extraindo após este processo uma alíquota de 100 mg, o peso da amostra, será anotado em uma planilha, em seguida colocar a amostra em um eppendorf com 1ml de solução de soda a 0,1N para as amostras destinadas as análises de proteína, pesando também o conteúdo (amostra e mais o volume). Para as amostras destinadas análise de IGF1 e Adenosina, a solução a ser utilizada será o PBS (1 ml) em cada eppendorf. Após o peso do eppendorf (amostra + volume) a amostra deverá ser homogeneizada com tempo mínimo de 2 minutos, em seguida o eppendorf será pesado e seu valor anotado na tabela no seu respectivo código.

CENTRIFUGAÇÃO DAS AMOSTRAS PÓS HOMOGENEIZAÇÃO

Após a pesagem do homogeneizado o conteúdo será centrifugado a uma rotação de 10.000 RPM por dez minutos a 4 °C em uma centrífuga (Excelsa modelo 280 R). Após este procedimento o material (sobrenadante) será retirado (uso de um pipetado) e repassado para um eppendorf estéril e identificado, em seguida imediatamente congelado.

AValiação (Não obrigatória)

ANEXO II

FICHA DE INSCRIÇÃO	
Nome:	_____
Matrícula:	_____Área de Concentração:_____
Orientador:	_____
e-mail:	_____
Telefone p/ contato:	_____
Interesse/justificativa para inscrição no curso	
DATA:	_____Assinatura do Aluno:_____

ANEXO III

