

# Memorando

Memorando nº 01

Em 19/05/2018

Ao Prof. Dr. Givago da Silva Souza

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

**Henrique Fonseca Sousa Nascimento e Susanne Suely Santos da Fonseca**, 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: Isolamento e aplicação de produtos naturais para utilização em cultura celular

Nº DE VAGAS: 8 pessoas

PERÍODO: 18 a 21 de junho de 2018

DIAS DA SEMANA: terça, quarta e quinta

HORÁRIO: 9h as 11h, 14h as 16h e 16h as 18h

LOCAL DO CURSO: Salas de aula do Instituto de Ciências Biológicas

LOCAL OU E-MAIL PARA INSCRIÇÃO: Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular

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

Atenciosamente,

---

**Susanne Suely Santos da Fonseca**

---

**Henrique Fonseca Sousa Nascimento**

# ANEXO I

**Informar e-mail e/ou local para inscrição:**

TEMA:	Isolamento e aplicação de produtos naturais para utilização em cultura de células
Nº DE VAGAS:	8
PERÍODO:	Junho de 2018
DIAS DA SEMANA:	Terça, quarta e quinta
HORÁRIO:	Terça pela tarde, quarta manhã e tarde, quinta a tarde
LOCAL DO CURSO:	ICB/UFPA
DATA:	18, 19, 20 e 21 de junho
MINISTRANTE:	Henrique Fonseca e Susanne Fonseca

## JUSTIFICATIVA DO TEMA:

Apresentar para a comunidade acadêmica da pós-graduação do programa de neurociências e biologia celular as principais técnicas utilizadas em culturas celulares com ênfase em culturas de linfócitos humanos e em isolamento de produtos naturais, agregando conhecimento aos participantes do curso possibilitando que os alunos possam utilizar as técnicas em seus respectivos projetos.

## OBJETIVOS

1. Apresentar técnicas de isolamento de produtos naturais
2. Expor técnicas de isolamento de linfócitos humanos
3. Aplicar experimentalmente produtos naturais em culturas de linfócitos humanos

## CRONOGRAMA

DIA	HORA	CR	ATIVIDADES
18/06/2018	14h as 18h	4h	Aula expositiva: cromatografia <b>Susanne Santos</b>
19/06/2018	14h as 18h	4h	Aula expositiva: cultura de células <b>Henrique Fonseca</b>
20/06/2018	9h as 13h	4h	Aula Prática Culturas de Linfócitos <b>Henrique Fonseca</b>
21/06/2018	14h as 18h	4h	Aula Prática: cromatografia e

#### RECURSOS

**Isolamento de linfócitos:** Pipetas, placa de 6 poços, tubo falcon, meio de cultura, câmara de Neubauer, seringa, agulha, heparina, becker, invertoscópio, centrífuga, fluxo laminar.

**Aula Expositiva:** Na aula expositiva serão utilizados quadro branco, data-show, computador, pincel e apagador

**Métodos cromatográficos:** sílica grau HPLC, coluna de vidro, Becker, papel filtro, hexano, acetona, metanol, gral pistilo, tubos de 25 ml de vidro, capilar de vidro, placa de sílica

#### PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

**Isolamento de linfócitos:** O sangue periférico será coletado e em seguida realizada uma diluição na proporção de 1:1 em solução salina estéril (NaCl) 0,9%. A amostra será homogeneizada por inversão e submetida a uma nova diluição em Histopaque<sup>®</sup> 1077 na proporção de 3:1 (1 parte de Histopaque<sup>®</sup> 1077: 3 partes de sangue diluído), sendo primeiramente acrescentado o Histopaque e posteriormente o sangue, tomando bastante cuidado para que não ocorresse a mistura. Após este processo, os tubos com a amostra serão centrifugados a 2000rpm por 20 minutos para a separação dos linfócitos de outros elementos sanguíneos. Também realizaremos o isolamento por decantação para comparação com o método descrito acima.

**Técnicas de isolamento de produtos naturais:** Para análise e separação de produtos naturais será utilizada a técnica de cromatografia em coluna e em camada delgada. No qual os alunos irão aprender sobre os métodos cromatográficos de separação de amostras conhecendo os princípios das técnicas. O produto obtido da separação será utilizado em culturas de linfócitos. Para esta técnica será utilizado como material uma coluna de vidro, sílica grau HPLC, placa de sílica, solventes (metanol, diclorometano, acetona e hexano) e o composto bioativo de interesse. A coluna será preparada com uma fase móvel contendo sílica e uma fase estacionária com uma mistura de solventes (acetona/hexano) as amostras serão coletadas em tubos de vidro e logo em seguida será feita a varredura das substâncias coletadas na coluna de camada delgada. Uma amostra

do material já previamente isolado será usado nas culturas.

**Viabilidade Celular:** Os compostos bioativos serão testados nas culturas. As culturas tratadas serão submetidas a análise colorimétrica com o corante *Thiazolil Blue Tretazolium* (MTT) para avaliar a viabilidade celular. Esta técnica baseia-se na capacidade que células viáveis apresentam de reduzir a forma oxidada do MTT a um composto de cor azulada, A análise desta redução é feita com auxílio de um aparelho de espectrofotometria em um comprimento de onda de 570nm, segundo Mosman (1983).

#### AVALIAÇÃO (Não obrigatória)

Os alunos serão avaliados pela entrega de relatórios das atividades práticas que serão realizadas.



