

ATIVIDADES DE INVERNO. NOÇÕES BÁSICAS DE IMUNOFLUORESCÊNCIA E MICROSCOPIA CONFOCAL

*Elizabete Rosa Milani, Andréia Nogueira de Carvalho, Adriana de Andrade Batista
Murashima, Vani Maria Alves

Universidade de São Paulo

*E-mail: beterosa@fmrp.usp.br

Introdução

A imunofluorescência é uma técnica que permite marcar de forma específica estruturas ou moléculas de interesse e, portanto, é muito utilizada como ferramenta para estudos em diversas áreas do conhecimento. Associada à microscopia confocal, é possível visualizar com nitidez pequenos detalhes nas células, fazer reconstruções tridimensionais, estudos de colocalização, alterações de expressão ou movimentação de moléculas, dentre muitos outros estudos. Porém o bom resultado destes experimentos depende da qualidade com que são realizados. Assim, é essencial a compreensão da metodologia e a execução correta da técnica de imunofluorescência. Da mesma forma, entender o funcionamento de um microscópio confocal e aprender a manipulá-lo adequadamente é fundamental para se obter as melhores imagens dos experimentos realizados.

Objetivo

Fornecer conhecimentos sobre as técnicas de Imunofluorescência e Microscopia Confocal através de aulas teóricas e práticas.

Metodologia

O curso foi disponibilizado a funcionários com ensino médio completo, estudantes de iniciação científica e pós-graduação como parte das Atividades de Inverno realizadas pelo departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. As Atividades de Inverno foram inseridas como curso de difusão oferecido pela Universidade de São Paulo. Neste curso houve a participação de funcionários de mais de um departamento da Faculdade, permitindo a integração de diferentes áreas e conhecimentos. O curso foi dividido em 4 horas de aulas teóricas e 16 horas de aulas práticas ministradas durante uma semana.

Nas aulas teóricas foram abordados os fundamentos de imunofluorescência direta e indireta, transfeção de células, fluorescência e Microscopia Confocal. Nas aulas práticas, os inscritos aprenderam a fazer a técnica de imunofluorescência utilizando como amostras células transfectadas em lamínulas ou tecidos aderidos em lâminas, realizando a incubação com anticorpos primário e secundário e a montagem de lâminas para análise. A observação das amostras foi realizada em Microscópio Confocal compreendendo a aquisição e otimização das imagens, séries e reconstrução 3D, aquisição temporal e análise de colocalização.

Resultados

Através das perguntas durante as aulas teóricas e práticas, observamos as dificuldades encontradas e discutimos soluções para elas, considerando o que cada um precisava melhorar na metodologia de imunofluorescência a ser utilizada no seu laboratório e na aquisição das imagens. Ao término do curso, os participantes preencheram um questionário de avaliação, no qual as sugestões de melhoria do curso deixadas pelos participantes foram de grande valia para que pudéssemos aprimorá-lo.

Conclusão

Durante as aulas, acompanhamos a evolução dos alunos na aquisição do conhecimento que lhes foi passado, tanto teórico quanto prático, o que nos permitiu constatar que a proposta do curso de fornecer conhecimentos básicos sobre a execução correta da técnica de imunofluorescência e a aquisição adequada das imagens foi atingida. Como ministrantes, também nos beneficiamos muito com as dúvidas e sugestões que surgiram, aprofundando nosso aprendizado. Pensando na otimização dos recursos, o curso permite que os participantes aprendam o processo, identifiquem possíveis falhas, possam adquirir imagens de qualidade para publicações e difundir o conhecimento entre seus pares, otimizando tempo de experimentos, gastos com reagentes e melhorando a qualidade da pesquisa. Poder transmitir o conhecimento que adquirimos trabalhando na nossa Universidade foi o motivo principal para o surgimento deste e de todos os demais cursos que compõem as Atividades de Inverno, pois acreditamos no importante papel que a Universidade tem de difundir o conhecimento.

Palavras-chave: Educação. Difusão. Imunofluorescência. Microscopia Confocal.

Referências

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P.
Biologia Molecular da Célula. 4ª Edição, p. 586-593, 2002.

<http://www.leica-microsystems.com/science-lab/>

Agradecimentos

Aos professores Dr. Luis Lamberti Pinto da Silva, Dra. Maria Célia Jamur, Dra. Munira Muhammad Abdel Baqui e Dr. Roy Edward Larson pela disponibilização de material e laboratório para realização do curso. À Profa. Dra. Maria Cristina Roque Antunes Barreira pelo apoio e incentivo nesta atividade.