

Orientador(es): Ana Filipa Rodrigues / Ana Sofia Coroadinha

Endereço de Email do Orientador anafr@itqb.unl.pt / avalente@itqb.unl.pt

Laboratório e Instituição de Acolhimento: Laboratório de Desenvolvimento de Linhas Celulares e Biologia Molecular – Unidade de Tecnologia de Células Animais – iBET/ITQB-NOVA

Título: Novos sistemas moleculares para selecção eficiente e dirigida de células animais: aplicação no contexto da produção de vírus e vectores virais de terapia

Sumário do Plano de Trabalho

A selecção de células é um passo fundamental no desenvolvimento de plataformas de produção estável de biofármacos complexos como vacinas, vectores virais ou proteínas recombinantes. Sistemas de selecção são também amplamente utilizados em investigação fundamental para estudar mecanismos biológicos complexos e prologados no tempo. Porém, os sistemas moleculares de selecção actualmente disponíveis são poucos, limitados na eficiência de selecção em situações de multiplicidade de fenótipos e independentes do fenótipo de interesse resultando numa selecção pouco dirigida.

Neste projecto de mestrado pretendem-se criar novos sistemas moleculares para a selecção eficiente e dirigida de células animais, em particular células humanas, e sua utilização no contexto da produção de vírus e vectores virais de terapia génica. Utilizando metodologias de clonagem molecular e engenharia genética, dois tipos de sistema serão desenvolvidos. No primeiro sistema, marcadores de selecção tipicamente utilizados em células de mamífero serão engenheirados para permitir uma selecção combinada de múltiplos fenótipos num único passo aumentando a eficiência da selecção. No segundo sistema, o mecanismo de selecção será baseado em módulos de biologia sintética capazes de sensorizar eventos celulares que ocorrem durante o ciclo de vida viral providenciando uma forma altamente dirigida de selecção de células produtoras de biofármacos baseados em vírus. A conjugação dos dois sistemas aumentará exponencialmente as possibilidades actualmente existentes para o desenvolvimento de novas e melhores plataformas de produção estável de biofármacos complexos, podendo ainda encontrar uma multitude de aplicações noutros contextos de investigação fundamental e aplicada.

Sumário do Plano de Trabalho (cont.)

Tarefa 1 – Aprendizagem de técnicas de cultura de células animais: trabalhar em condições de esterilidade numa câmara de fluxo laminar, propagação de células, contagem de células, congelamento de células. Leitura de bibliografia. Metodologias: cultura de células animais

Tarefa 2 – Aprendizagem de técnicas para a manipulação de vírus recombinantes: cultura de células produtoras, produção de lentivírus e vírus da hepatite C; quantificação de partículas infecciosas e de partículas totais; caracterização do crescimento celular e produção viral. Métodos: cultura de células animais, citometria de fluxo, RT-qPCR.

Tarefa 3 – Aprendizagem de técnicas de biologia molecular. Metodologias: clonagem molecular produção de plasmídeos.

Tarefa 4 – Construção dos sistemas moleculares de selecção. Metodologias: clonagem molecular, engenharia genética.

Tarefa 5 – Implementação, validação e caracterização dos sistemas moleculares de selecção em contexto de produção de vírus recombinantes para vacinação e terapia génica. Metodologias: cultura de células animais; transfecção de células animais, análise de células por citometria de fluxo, microscopia de fluorescência, métodos de selecção; produção de vírus e titulação de vírus.

Tese – Escrita da tese de mestrado.

	Meses											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tarefa 1	■	■										
Tarefa 2		■	■	■								
Tarefa 3			■	■	■							
Tarefa 4				■	■	■	■					
Tarefa 5						■	■	■	■	■	■	
Escrita tese										■	■	■