

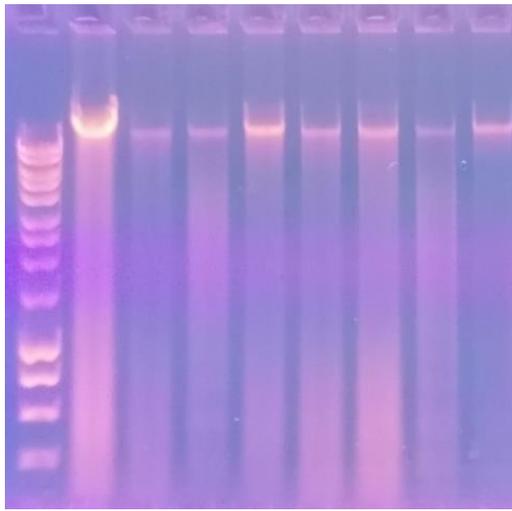
LM1_Virologia 2024/2025

Extração de DNA de partículas virais – visualização após eletroforese

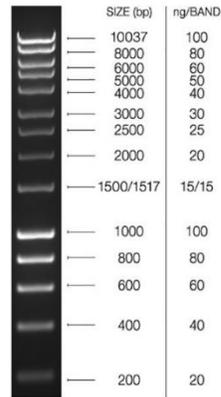
DNA eluído em amostras de 100 μL

10 μL (1/10 da amostra) / poço

Ladder 1 2 3 4 5 6 7 8



HyperLadder 1Kb (Bioline)

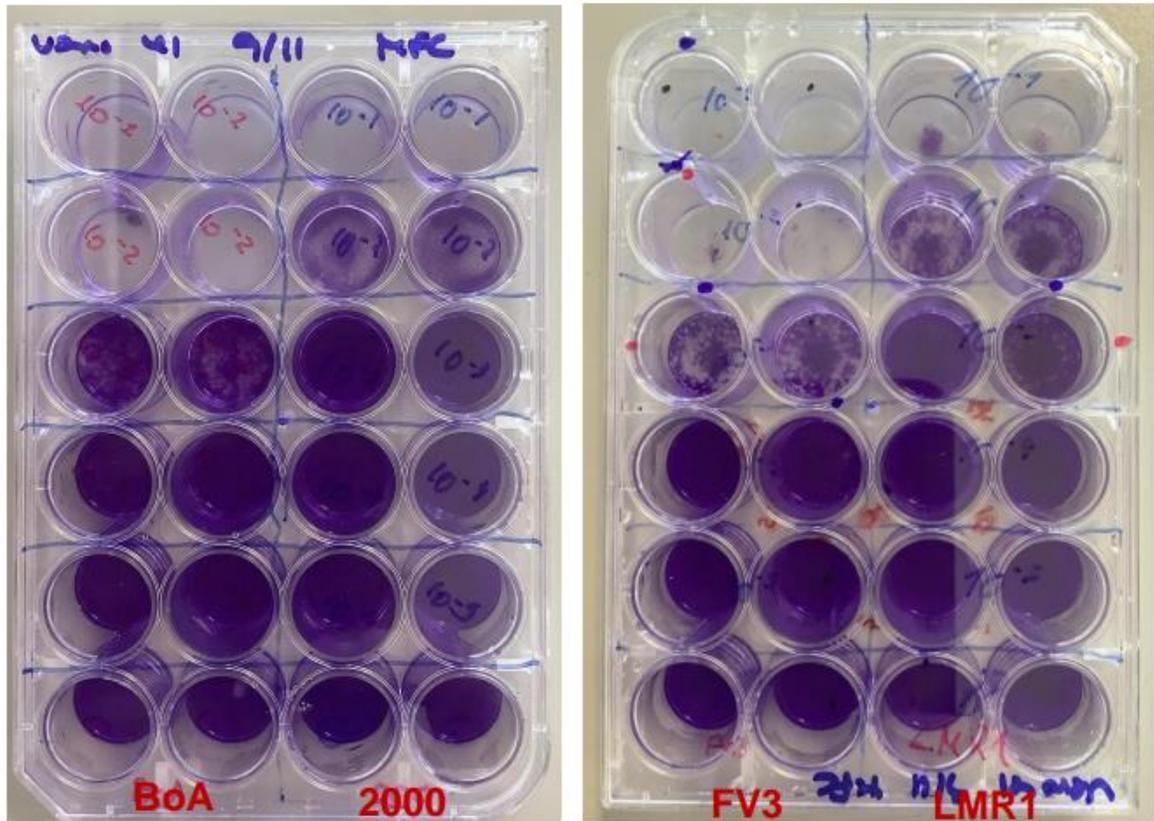


Cálculo da concentração das amostras de DNA (equipamento: Genova Nano spectrophotometer)

Vírus	Amostra (DNA genómico)	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	DNA Total (μg em 100 μL)	DNA Total (μg por amostra de vírus)
BoA	1	137,57	13,7	13,7
FV3-1	2	43,82	4,4	
FV3-2	5	62,25	6,2	
FV3-3	6	133,81	13,4	24
LMR1	3	27,47	2,7	
LMR2	7	30,58	3,1	5,8
2000A	4	54,15	5,4	
2000B	8	23,32	2,3	7,7

Resultados da Titulação

Titulação das suspensões virais



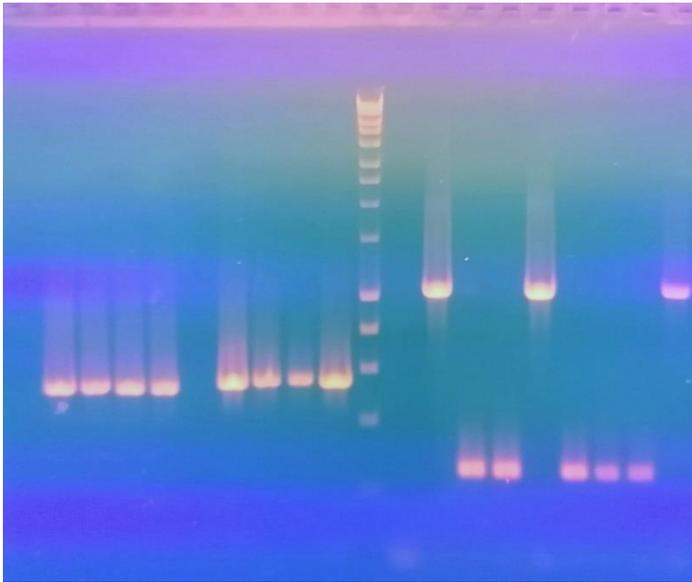
Expressão utilizada no cálculo do título: $T \text{ (pfu/mL)} = \frac{\text{número médio de placas} \times \text{fator de diluição}}{\text{volume inoculado (0,1 mL)}}$

Vírus	Diluição utilizada na contagem	Número de placas de lise	Título (pfu/mL)	Observações
BoA	10^{-4}	44 e 54 Média: 49	$4,9 \times 10^6$	Diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} incontáveis
2000	10^{-3}	6 e 2 Média: 4	4×10^4	Diluições 10^{-1} e 10^{-2} incontáveis *Resultado não concordante com a diluição anterior
FV3	10^{-4}	25 e 28 Média: 27	$2,7 \times 10^6$	Diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} incontáveis
LMR	10^{-4}	10 e 8 Média: 9	9×10^5	Diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} incontáveis

Resultados da amplificação por PCR

Ordem das amostras para cada região: Negativo, BoA, FV3, LMR, 2000; FV3₂, FV3₃, LMR₂, 2000_B (apenas região VIF)

Região MCP Região Pol Ladder Região VIF



Cálculo do número de células Vero numa suspensão celular (**3 mL**) obtida a partir de uma cultura confluenta crescida num frasco T25, em meio CO₂ independente

	Suspensão original	Suspensão em azul de tripano (1:3)			
		A	B	C	Média
Suspensão original	Nº células	300	300	300	300
Suspensão em azul de tripano (1:3)	Nº células viáveis	92	63	88	81
	Nº células inviáveis	7	4	?	
	TOTAL	99	67	88	86

1- Concentração de células viáveis (C_v) na amostra (se diluída 1:3 em azul de tripano)

$$C_v = 81 \times 10^4 \times 3 = 243 \times 10^4 = 2,43 \times 10^6$$

2 - Taxa de viabilidade (T_v)

$$T_v (\%) = (81 / 86) \times 100 = 94\%$$

3 - Número de células viáveis (N_v) existentes na suspensão celular (**3 mL**)

$$N_v = C \times V = 2,43 \times 10^6 \times 3 = 7,3 \times 10^6$$