

# Engenharia Genética Avançada

**Ocorrência:** 1.º Ano, 1.º Semestre

**Carga Horária:** TP: 30,0; PL: 22,5

**Área Científica:** Biotecnologia

## **Objetivos de aprendizagem (conhecimentos, aptidões e competências a desenvolver pelos estudantes):**

Pretende-se que os estudantes adquiram competências na área da engenharia genética aplicada à produção de proteínas recombinantes em procariontes e eucariontes, recorrendo a várias ferramentas e técnicas da tecnologia do DNA recombinante e de outras abordagens moleculares e análise in silico e suas aplicações. Pretende-se ainda que os estudantes desenvolvam conhecimentos que permitam a atualização e o progresso na área de aplicação científica da Biotecnologia Molecular.

## **Conteúdos programáticos:**

- Estratégias para o melhoramento da produção de proteínas recombinantes. Critérios para a escolha de um sistema de expressão de proteínas heterólogas: Sistemas de expressão em bactérias; Sistemas de expressão em eucariontes: levedura; insetos com baculovírus; mamíferos; vetores víricos para expressão em células de mamíferos; promotores utilizados na construção de vetores de células de mamíferos; sistemas de expressão em plantas (p.e., *Agrobacterium*).
- Metodologias para promover a fusão genética e interrupção genética: “one step disruption method” e “PCR-generated short and long flanking homology”. Desenho de primers para fusão, interrupção, mutagénese dirigida e gap repair. Estratégias de clonagem. Regulação genética por RNA de interferência.
- Análise de sequências in silico. Pesquisa de sequências nucleotídicas. Alinhamento de sequências de DNA ou proteína. Análise in silico da topologia de uma proteína. Análise filogenética de proteínas.
- Fundamentos sobre evolução microbiana.

**Demonstração da coerência dos conteúdos programáticos com os objetivos de aprendizagem da unidade curricular:**

O conteúdo desta UC visa aprofundar alguns dos temas abrangidos pela Engenharia Genética, nomeadamente as metodologias para a produção de proteínas heterólogas em vários tipos de células (procariontes e eucariontes). Para além disso, são lecionados conteúdos de regulação genética, de análises *in silico* e noções de evolução microbiana, de modo a melhor acompanhar as tendências nesta área multi-disciplinar tão abrangente.

**Metodologias de ensino (avaliação incluída):**

Esta UC compreende uma componente teórica/prática. Os conteúdos teóricos são lecionados via apresentações em suporte informático de PowerPoint e são acompanhados por exemplos de aplicação prática que incluem aulas de análise de case studies ou execução de mini-projetos que poderão ser testados em parte em ambiente laboratorial, recorrendo à componente de práticas laboratoriais da UC.

A avaliação da UC poderá ser contínua, através da realização de 2 frequências durante o semestre (1.º teste, 30%, 2.º teste 45%) e 2 relatórios no âmbito dos mini-projetos realizados (2x7,5%) com apresentação de um dos trabalhos oralmente em Inglês (10%), com suporte PowerPoint. Os trabalhos podem ser também realizados para diminuir a carga do exame (1.ª e 2.ª época) para 75%. Finalmente, a avaliação poderá ser totalmente composta pelo exame final em 1.ª ou 2.ª época (100%).

**Demonstração da coerência das metodologias de ensino com os objetivos de aprendizagem da unidade curricular:**

As metodologias de ensino incluem aulas teórico/práticas que recorrem a uma estratégia de exposição em sala de aula com o objetivo de passar conceitos, definições e mecanismos de interpretação de problemas de aplicação prática. As metodologias de ensino recorrem ainda a uma estratégia de resolução de exercícios com supervisão do docente. Com as aulas teórico/práticas é pretendido transmitir ao estudante o conhecimento necessário para a persecução dos objetivos da unidade curricular de tal modo que o estudante adquira competências para compreender, descrever e relacionar o conhecimento. As aulas laboratoriais permitem aplicar os conhecimentos numa situação real, consolidando os conhecimentos e melhorando a perceção dos conteúdos apresentados. O regime de avaliação por trabalhos e testes foi estabelecido para uma aferição acompanhada das competências adquiridas, ao longo do semestre. A avaliação por exame final permite também aferir se as competências de integração de conhecimentos foram alcançadas.

**Bibliografia:**

- Jeremy W. Dale, Simon F. Park, Molecular Genetics of Bacteria, 5.<sup>a</sup> Edição, Wiley Blackwell, 2010.
- T.A. Brown, Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction, 6.<sup>a</sup> Edição, Wiley Blackwell, 2010.
- G. Gibson, S.V. Muse, A Primer of Genome Science, 3.<sup>a</sup> Edição, Sinauer Associates, Inc. 2008.
- Carlos A. Rosa, Gábor Péter (Eds), The Yeast Handbook – Biodiversity and Ecophysiology of Yeast, Springer Verlag, 2006.
- Jocelyn E. Krebs, Benjamin Lewin, Elliott S. Goldstein, Stephen T. Kilpatrick, Lewin's Essential Genes, 2.<sup>a</sup> Edição, Jones and Bartlett, 2009.
- S.B. Primrose e R.M. Twyman, Principles of Gene Manipulation and Genomics, 8.<sup>a</sup> Edição, Blackwell Publishing, 2011.
- A.D. Baxevanis, B.F.F. Ouellette, Bioinformatics: a practical guide to the analysis of genes and proteins, John Wiley & Sons, 2005.
- B.G. Hall, Phylogenetic Trees Made Easy: a How-to Manual, 4.<sup>a</sup> Edição, Sinauer Associates, 2011.

# Advanced Genetic Engineering

**Calendar:** 1<sup>st</sup> Year, 1<sup>st</sup> Semester

**Contact Hours:** TP: 30.0; PL: 22.5

**Scientific Area:** Biotechnology

## **Intended learning outcomes (knowledge, skills and competences to be developed by the students):**

It is intended that students acquire skills in genetic engineering for the production of recombinant proteins in prokaryotes and eukaryotes, using several types of cloning strategies and in silico analysis. It is also intended that students develop knowledge that allow the update and progress in the area of scientific application of Molecular Biotechnology.

## **Syllabus:**

- Strategies for improving production of recombinant proteins. Criteria for the choice of an expression system of heterologous proteins in bacteria, and using the pET and PQE vectors. Expression systems in eukaryotes: yeast (*Picchia pastoris*); insect (baculovirus); mammals; viral vectors for expression in mammalian cells; promoters used in the construction of vectors for mammalian cells; for plants with *Agrobacterium*.
- Methodologies to promote genetic fusion and genetic interruption: "one step disruption method" and "PCR-generated short and long flanking homology". Primer design for fusion, disruption, directed mutagenesis and gap repair. Cloning strategies. Gene regulation by RNA Interference.
- In silico analysis of sequences. Nucleotidic sequence searches. Alignment of DNA or protein sequences. In silico analysis of the topology of a protein. Phylogenetic analysis of proteins.
- Fundamentals of microbial evolution.

## **Evidence of the syllabus coherence with the curricular unit's intended learning outcomes:**

The content of this curricular unit seeks to deepen some of the topics of the Genetic Engineering, including methodologies for the production of heterologous proteins in several types of cells (prokaryotes and eukaryotes). In addition, students are taught the contents of gene regulation, in silico analysis and notions of microbial evolution, in order to better monitor trends in this very comprehensive multidisciplinary area.

**Teaching methodologies (including evaluation):**

This curricular unit comprises a theoretical / practical component. The theoretical contents are exposed via a computer readable presentations of PowerPoint and are accompanied by exercises of practical application that includes classes for the analysis of case studies and mini-projects that can be partially tested in the laboratory, in the Practical Laboratorial component of the CU.

The evaluation of the curricular unit may be continuous, by performing two tests during the semester (1<sup>st</sup> test, 30%, 45% 2<sup>nd</sup> test) and two reports for the mini-projects (2x7.5%) presented orally in English (10%), with PowerPoint support. Assignments can also be performed to reduce the burden of the final exam (1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> season) to 75%. Finally, the evaluation may be composed entirely of the final exam in 1<sup>st</sup> or 2<sup>nd</sup> season (100%).

**Evidence of the teaching methodologies coherence with the curricular unit's intended learning outcomes:**

The teaching methods include lectures with the goal of passing concepts, definitions and mechanisms for the problems/exercises interpretation. The lectures are intended to transmit to the student the knowledge to the pursuit of the aims of the curricular unit. The teaching methods in the theoretical/practical classes further include moments dedicated to apply exercise resolution strategies under the professor supervision, that are intended for the student to acquire competence to understand, describe and relate knowledge.

The CU further includes Laboratory classes that allow to apply the knowledge in a real context, consolidating knowledge and improving the perception of the presented contents. The evaluation with reports and tests was established for continuous evaluation throughout the semester of the acquired skills. The evaluation with a final exam also allows to assess whether the skills for knowledge integration were achieved.

**Bibliography:**

- Jeremy W. Dale, Simon F. Park, Molecular Genetics of Bacteria, 5<sup>th</sup> Edition, Wiley Blackwell, 2010.
- T.A. Brown, Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction, 6<sup>th</sup> Edition, Wiley Blackwell, 2010.
- G. Gibson, S.V. Muse, A Primer of Genome Science, 3<sup>rd</sup> Edition, Sinauer Associates, Inc. 2008.
- Carlos A. Rosa, Gábor Péter (Eds), The Yeast Handbook – Biodiversity and Ecophysiology of Yeast, Springer Verlag, 2006.
- Jocelyn E. Krebs, Benjamin Lewin, Elliott S. Goldstein, Stephen T. Kilpatrick, Lewin's Essential Genes, 2<sup>nd</sup> Edition, Jones and Bartlett, 2009.
- S.B. Primrose e R.M. Twyman, Principles of Gene Manipulation and Genomics, 8<sup>th</sup> Edition, Blackwell Publishing, 2011.
- A.D. Baxevanis, B.F.F. Ouellette, Bioinformatics: a practical guide to the analysis of genes and proteins, John Wiley & Sons, 2005.
- B.G. Hall, Phylogenetic Trees Made Easy: a How-to Manual, 4<sup>th</sup> Edition, Sinauer Associates, 2011.