

Unidade curricular: Técnicas de Genética Molecular

Objetivos:

No final desta UC pretende-se que o estudante: - compreenda o papel dos genes como a base molecular dos mecanismos de alteração genética e da sua importância fundamental para o estabelecimento da tecnologia do ADN recombinante; - domine metodologias de Biologia Molecular e Engenharia Genética que são a base para análises genéticas e na investigação genética a nível molecular, nomeadamente identificação de serótipos, genótipos, etc.; - que aplique as técnicas de ADN recombinante para clonagem em microrganismos.

Conteúdos programáticos:

Componente teórica:

1. Introdução à Engenharia Genética.
2. Tecnologia de ADN Recombinante, papel das enzimas de restrição e vetores.
3. Métodos de visualização e quantificação de ácidos nucleicos: eletroforese em gel de agarose, Southern e Northern Blot.
4. Clonagem de genes.
5. Sistemas de expressão.
6. Bibliotecas de ADN.
7. Amplificação de ácidos nucleicos por PCR (técnicas qualitativas e quantitativas: qPCR, RT-PCR, Real Time-PCR).
8. Métodos de sequenciação
9. Terapia génica

Componente de Aplicação Laboratorial:

1. Extração de ácidos nucleicos (ADN genómico, ADN plasmídico e ARN)
2. Eletroforese em gel de agarose analítico e quantitativo;
3. Digestão de ADN com enzimas específicos – padrão de restrição;
4. Amplificação de amostras de ADN por PCR;
5. Clonagem de genes em vetores de expressão;
6. Recuperação de amostras de ADN de gel de agarose.
7. Identificação de sequências específicas de ADN por Southern Blot ou ARN por Northern Blot.
8. Transferências genéticas - Transferência de plasmídeos, com diferentes marcas de resistência a antibióticos, por conjugação entre estirpes de E. coli.

Bibliografia e recursos didáticos recomendados:

- Maniatis, T.; Fritsch, F. e Sambrook, J. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory (CSH). (1998)
- Keith Wilson & John Walker. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology. Sixth edition. Cambridge University Press. New York. USA. (2005)
- Nichol, D. An Introduction to Genetic Engineering. 3rd Edition. Cambridge University Press. (2008).
- Nair, A.J. Introduction to Biotechnology and Genetic Engineering. Infinity Science Press. (2008)
- Genes VII, 7th ed, Oxford University Press - Heldt HW (2000)