

PROGRAMA TEÓRICO

1. As moléculas da Biologia Molecular: DNA, RNA e proteínas

- Aspectos particulares da composição e estrutura do DNA, RNA e proteínas.
- **EG-** Características bioquímicas dos ácidos nucleicos, importantes no estudo e análise destas moléculas em laboratório

2. O Dogma Central da Biologia Molecular

3. Genoma

- Simplicidade e complexidade dos genomas procarióticos e eucarióticos
- Estrutura global dos cromossomas; cromossoma procariótico e eucariótico
- Distribuição, organização e estrutura dos genes e sequências nos genomas procariótico e eucariótico.
- Outros elementos genéticos dos procariotas e eucariotas. DNA plasmídico e transposões. DNA mitocondrial e cloroplastidial. Hereditariedade citoplásmica.
- Os diferentes genomas virais: características, estrutura e organização dos genes.
- **EG-** Construção de moléculas de DNA recombinante. Clonagem molecular: vectores e hospedeiros de clonagem. Construção de bibliotecas genómicas e de cDNA. Sondas moleculares. Técnicas de hibridação. Técnica de “Southern blot” e “DNA fingerprinting”.

4. Replicação do material genético

- Enzimologia da replicação do DNA cromossomal em *Escherichia coli* e paralelismo com a dos eucariotas
- **EG-** Técnica de PCR e algumas aplicações. Técnica dos terminadores de cadeia na sequenciação do DNA.

5. Mutação génica, mutagénese e reparação

- Tipos de mutações génicas e causas.
- Base molecular da mutação
- Mecanismos de reparação do DNA
- **EG-** Alguns processos de mutagénese ao acaso e dirigida e sua finalidade.

6. Expressão génica

- Transcrição em procariotas e eucariotas: polimerases de RNA, RNAs mensageiros, sequências promotor, terminadores e factores de transcrição
- Tradução em procariotas e eucariotas : código genético, RNAs de transferência, RNAs ribossomais e síntese proteica
- **EG-** Análise da expressão de genes. *Northern blot* e *Western blot*. Técnicas de *band shift* e de *DNA footprinting*.

7. Regulação da expressão génica

- O operão *lac* como paradigma de regulação da expressão génica a nível da transcrição, em procariotas
- Degradação do mRNA
- Interferência do RNA
- Regulação a nível da tradução
- Modificação de proteínas.

8. Recombinação molecular do material genético

- Enzimologia da recombinação homóloga em *E. coli*
- Recombinação sítio-específica.
- Recombinação genética e transferência de genes: transformação, transdução, e conjugação bacteriana.

9. Aplicações da Biologia Molecular

- Genomas sequenciados: uma nova forma de estudar e manipular os organismos.
- Técnicas utilizadas em medicina forense.
- Construção de organismos transgénicos. Processos e aplicações

Bibliografia

- Cooper, G. M., Hausman, R. E. (2007) **The Cell, a molecular approach**. 4th ed. ASM Press, Washington, D.C.
- Lodish, H., Berk, A., Matsudaira, P., Kaiser, C., Krieger, M., Scott, M., Zipursky, S. L., Darnell, J. (2003) **Molecular Cell Biology**. 5th ed. Freeman, New York
- Hartl, D. L. (2005) **Genetics**, Analysis of genes and genomes. Jones and Bartlett Publishers, London
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J. (2003) **Brock Biology of Microorganisms** 10th ed. Prentice Hall Pearson Education, NJ
- Griffiths, A., Wessler, S., Lewontin, R., Gelbart, W. (2005) **Introduction to Genetic Analysis**. W. H. Freeman and Company. New York

Objectivos da componente teórica de Fundamentos de Biologia Molecular:

- Conhecimentos básicos sobre:
 - Síntese, estrutura e função

Moléculas Biológicas

{
DNA
RNA
Proteínas

- Expressão génica; diferenças e semelhanças entre procariotas e eucariotas
- Técnicas de Engenharia Genética e Moleculares que ajudam à compreensão das aplicações da Biologia Molecular, na investigação fundamental e aplicada

PROGRAMA PRÁTICO

I- Noções básicas e gerais sobre “Observação das Moléculas da Biologia Molecular”.

II- Mapa físico do plasmídio pBR322.

III- “Sub-clonagem do gene *murB* de *Bacillus subtilis* no vector de expressão pMal-p2”. Uma experiência de clonagem.

III.1- Digestão e purificação do vector de clonagem pMal-p2 e do plasmídio recombinante pGR28 contendo o gene *murB* (inserto).

III.2- Ligação do DNA vector/inserto

III.3- Preparação de meios de cultura e selecção

III.4- Preparação de células competentes e transformação bacteriana

III.5- Extracção de DNA plasmídico em pequena escala (*minipreps*) e análise dos clones recombinantes

III.6- Indução da expressão do gene *murB* e observação da proteína MurB em gel SDS/PAGE

Objectivos da componente prática de Fundamentos de Biologia Molecular:

- Técnicas de manipulação do DNA. Relação com a teoria

AVALIAÇÃO

- A avaliação constará de um **teste teórico** e de um **questionário prático** individual. A classificação máxima do teste é de **15** valores e a cotação do questionário prático será de **5** valores. A nota final corresponde à soma aritmética da nota do teste com a do questionário prático. Os alunos com nota final igual ou superior a 9,5 obtêm aprovação e com nota final inferior a 9,4 valores estão reprovados, podendo repetir o exame na 2ª chamada. Os alunos com nota final entre 8,5 e 9,4 valores poderão requerer prova oral. Caso não o façam, ficarão reprovados. Não serão aprovados, em caso nenhum, os alunos que obtenham nota inferior a 7 na componente teórica, independentemente do resultado da soma das duas componentes. Os alunos podem fazer exame de melhoria na 2º chamada, mas só da componente teórica. **Não há melhorias da componente prática.**
- Os alunos que não realizarem o questionário prático na última aula prática do semestre poderão ainda realizar esta avaliação, mas só na 2ª época de exames da época normal.

- **DATAS DE AVALIAÇÃO** (Proposta)
- **DURAÇÃO DOS TESTES**
 - 2h 30 min