



**Escola de Artes, Ciências e Humanidades
Curso de Biotecnologia
ACH5545 - Engenharia Genética**

2º Semestre de 2024

Docentes responsáveis:

Felipe Chamberg (fscha@usp.br) - <https://sites.usp.br/lbbp>

Monitores:

Augusto Roldan Gonçalves - augusto.roldan@usp.br

Henrique dos Santos Hernandes - hernandesrique@usp.br

Servidores não-docentes:

Tec. Pedro Manoel dos Santos - pedroms@usp.br

Créditos: 4

Período: Quinta-feira (14h00 -18h00), Laboratório de Biotecnologia – Edifício A2, 1º andar

Objetivos

- a) Contribuir para o desenvolvimento de habilidades técnicas, quali e quantitativas, relacionadas às básicas de Engenharia Genética para o estudo de biomoléculas: DNA, RNA e proteínas;
- b) Propiciar um ambiente de trabalho de ensino e pesquisa laboratorial;
- c) Despertar no aluno raciocínio científico e crítico, capacitando-o a integrar o conhecimento adquirido, para explorar o potencial fisiológico e molecular dos seres vivos em relação aos processos biotecnológicos.

Programa

Análise de Bioinformática. Análise de biomoléculas: DNA, RNA e Proteínas. Métodos de clonagem, expressão e purificação de proteínas.

Avaliação

Formas: Relatório de atividades de laboratório, Seminário grupo e Monografia. Todas as atividades devem ser realizadas em grupo, obrigatoriamente. Prova escrita teórica de laboratório, individual.

Critérios:

Médias das notas: i) Relatório de atividades de laboratório (10%) + ii) Seminário (10%) + iii) Prova de laboratório (80%)

A aprovação será obtida quando a nota for igual ou superior a 5,0; nota entre 3 e 4,9 habilita o aluno a fazer **prova** de recuperação; nota abaixo de 3, leva à reprovação.

Os alunos serão avaliados pela frequência em todas as atividades da disciplina.

Norma de Recuperação: Os alunos que tiverem média entre 3 e 4,9 e frequência acima de 75% terão o direito de fazer prova de recuperação. A soma da média final mais a nota da prova de recuperação deve ser igual a dez para o aluno ser aprovado.

Estratégias Didáticas

Atividades laboratoriais, aulas expositivo-dialogadas.

Obrigatório uso de jaleco de mangas compridas em bom estado. A não observação desse item implica em falta do estudante e impossibilidade de realização da atividade prática do período.

Relatório de atividades de laboratório: Cada grupo deverá entregar, no dia 07/12/2023 relatório correspondente a cada atividade prática desenvolvida, contendo: breve introdução sobre o tema, objetivos, resultados, discussão/conclusão e bibliografia conforme norma ABNT.

Seminário: O tema de seminário será artigo listado abaixo. O seminário será apresentado de forma oral (15 minutos + 5 de perguntas), e deve seguir a estrutura: título, introdução e justificativa, objetivos, material e métodos, resultados e discussão, perspectivas, **avaliação do grupo sobre a relevância, social, ética, econômica, de desenvolvimento da área da biotecnologia no país e atendimento aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS)**, do artigo apresentado e bibliografia segundo a norma ABNT. Apresentação em formato Power Point. Será avaliada a apresentação, desenvolvimento, participação de cada integrante, o conteúdo, o respeito ao tempo, e participação na fase de perguntas. O arquivo com o seminário apresentado deve ser entregue no dia da sua apresentação, juntamente com um documento contendo o título e o nome dos integrantes do grupo.

Alvarado-Cuevas ZD, Acevedo LG, Salas JT, De León-Rodríguez A. Nitrogen sources impact hydrogen production by *Escherichia coli* using cheese whey as substrate. *N Biotechnol.* 2013 Sep 25;30(6):585-90. doi: 10.1016/j.nbt.2013.03.002.

Zoppellari F, Bardi L. Production of bioethanol from effluents of the dairy industry by *Kluyveromyces marxianus*. *N Biotechnol.* 2013 Sep 25;30(6):607-13. doi: 10.1016/j.nbt.2012.11.017.

Philp JC, Bartsev A, Ritchie RJ, Baucher MA, Guy K. Bioplastics science from a policy vantage point. *N Biotechnol.* 2013 Sep 25;30(6):635-46. doi: 10.1016/j.nbt.2012.11.021.

Panno L, Bruno M, Voyron S, Anastasi A, Gnani G, Miserere L, Varese GC. Diversity, ecological role and potential biotechnological applications of marine fungi associated to the seagrass *Posidonia oceanica*. *N Biotechnol.* 2013 Sep 25;30(6):685-94. doi: 10.1016/j.nbt.2013.01.010.

Papaleo MC, Romoli R, Bartolucci G, Maida I, Perrin E, Fondi M, Orlandini V, Mengoni A, Emiliani G, Tutino ML, Parrilli E, de Pascale D, Michaud L, Lo Giudice A, Fani R. Bioactive volatile organic compounds from Antarctic (sponges) bacteria. *N Biotechnol.* 2013 Sep 25;30(6):824-38. doi: 10.1016/j.nbt.2013.03.011.

Murray PM, Moane S, Collins C, Beletskaya T, Thomas OP, Duarte AW, Nobre FS, Owoyemi IO, Pagnocca FC, Sette LD, McHugh E, Causse E, Pérez-López P, Feijoo G, Moreira MT, Rubiolo J, Leirós M, Botana LM, Pinteus S, Alves C, Horta A, Pedrosa R, Jeffryes C, Agathos SN, Allewaert C, Verween A, Vyverman W, Laptev I, Sineoky S, Bisio A, Manconi R, Ledda F, Marchi M, Pronzato R, Walsh DJ. Sustainable production of biologically active molecules of marine based origin. *N Biotechnol.* 2013 Sep 25;30(6):839-50. doi: 10.1016/j.nbt.2013.03.006.

Nowakowski A, Andrzejewska A, Janowski M, Walczak P, Lukomska B. Genetic engineering of stem cells for enhanced therapy. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2013;73(1):1-18. doi: 10.55782/ane-2013-1918. PMID: 23595280.

Nimjee SM, White RR, Becker RC, Sullenger BA. Aptamers as Therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2017 Jan 6;57:61-79. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010716-104558. PMID: 28061688; PMCID: PMC6035745.

Prova escrita teórica de laboratório: Prova geral sobre conceitos e fundamentos de técnicas comumente utilizadas na engenharia genética.

Bibliografia básica

1. Ausubel, Frederick M, Roger Brent, Robert E. Kingston, David D. Moore, J.G. Seidman, John A. Smith. *Current Protocols in Molecular Biology.* 2003. Kevin Struhl (eds.) John Wiley & Sons, Inc.
 2. Dixit, R; Bisen, K; Kumar, A; Borah, A e Keswani, C. *LAB MANUAL ON MOLECULAR BIOLOGY*, First Edition: 2016. ISBN : 978-81-909182-7-5, Published by : Media Associates J-281/86, Kartar Nagar, Delhi-110053, India.
 3. Green, Michael R., Howard Hughes Medical Institute, University of Massachusetts Medical School; Joseph Sambrook, Peter MacCallum Cancer Institute, Melbourne, Australia. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition).* 2012 • 2,028 pp., ISBN 978-1-936113-42-2
 4. Wilson, K and John Walker (Eds). *Principles and techniques of biochemistry and molecular biology.* 2010. 7th ed. Cambridge University Press The Edinburgh Building, Cambridge CB2 8RU, UK. ISBN 978-0-521-51635-8 (hardback)
 5. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 4th Edition, www.molecularcloning.org. Cold Spring Harbor Protocols, www.cshprotocols.org (WEBSITE).
- Leituras de artigos.
 - Protocolos fornecidos pelos fabricantes dos kits e reagentes utilizados nas atividades práticas.

MATERIAL DE APOIO

Páginas no site de empresas do setor de Biotecnologia que fornecem materiais e equipamentos de uso comum em Biologia Molecular e Engenharia Genética, apresentando informações gerais sobre diversas técnicas de interesse.

Cronograma de Atividades

DATA	Atividade	Docentes
08/08	Apresentação da disciplina e do laboratório. Regras e conduta no laboratório. Organização dos grupos Instruções para as atividades: Relatório, Seminários, Prova. Treino de manuseio de pipetas e pipetagem (exercício)	Felipe
15/08	Análise de Bioinformática: ferramentas computacionais (sequência de aminoácidos, cDNA e desenho de primers)	Felipe
22/08	Extração de DNA genômico (células eucarióticas e procarióticas), plasmidial e Proteínas	Felipe
29/08	Amplificação de Ácidos Nucleicos: PCR (DNA polimerase) e RT-PCR (Transcriptase reversa). Quantificação espectrofotométrica de biomoléculas	Felipe
02-07/09	Recesso Escolar - Semana da Pátria	
12/09	Separação de biomoléculas por eletroforese: Análise em gel de agarose/poliacrilamida	Felipe
19/09	DNA recombinante: Sistemas Procarióticos: Vetores de Clonagem e Expressão. Enzimas utilizadas em Clonagem molecular. Transformação de células competentes	Felipe
26/09	Seleção de clones recombinantes (Resistência à antibióticos) Confirmação dos clones positivos (PCR) Eletroforese em gel de agarose	Felipe
03/10	Proteína Recombinante: Crescimento bacteriano e indução para expressão de proteína recombinante	Felipe
10/10	Proteína Recombinante: Lise bacteriana e Análise das proteínas por SDS-PAGE Determinação de atividade enzimática	Felipe
17/10	Purificação de Proteína Recombinante e Determinação de atividade enzimática: Enzima Acetil Esterase: Purificação e atividade	Felipe
24/10	Determinação de atividade da enzima fosfatase alcalina Determinação de atividade da enzima acetil esterase	Felipe
31/10	Determinação de atividade enzimática por Zimograma Atividade Enzima Catalase Aplicação Biotecnologia	Felipe
07/11	BioLinker	Felipe
14/11	Seminários	Felipe
21/11	Imunodeteção de proteínas I (Western Blotting)	Felipe
28/11	Imunodeteção de proteínas II (Western Blotting)	Felipe
05/12	Prova Escrita de laboratório Entrega do relatório de laboratório - Grupo	Felipe