



**Ciências
ULisboa**

Fundamentos de Biologia Molecular

Código: 62836

Ano Letivo: 2015/16

Departamento: Biologia Vegetal

ECTS: 6

Carga horária: T: 2:00 h; TP: 1:00 h; PL: 1:00 h; OT: 1:00 h;

Área Científica: Biologia;

Objetivos da Unidade Curricular

A disciplina centra-se essencialmente no estudo da estrutura e função dos genes e seus produtos, dos mecanismos responsáveis pela sua expressão e controlo de expressão, quer em organismos procarióticos como eucarióticos. Não se pretende que os conhecimentos transmitidos atinjam uma profundidade excessiva. Os principais objectivos são:

T-Aquisição dos conhecimentos básicos e essenciais sobre a síntese, estrutura e função das moléculas da biologia molecular; entendimento do que é a expressão genética e a importância da sua regulação; transmissão de algumas noções e técnicas de Engenharia Genética para compreensão dos conteúdos teóricos; sensibilização para aplicações da biologia molecular na investigação básica e aplicada.

TP-Transmissão de bases de Genética acompanhados da realização de numerosos exercícios. (exclusivamente em 2014/15).

PL-Estabelecimento de relação entre técnicas básicas de biologia molecular e alguns conceitos leccionados nas teóricas.

Pré-requisitos

Sem pré-requisitos

Conteúdos

As moléculas da biologia molecular: DNA, RNA e proteínas. O dogma central da biologia molecular. Genoma. Replicação do DNA. Recombinação molecular. Mutação génica, mutagenese e reparação. Expressão génica: transcrição, tradução, processamento de RNAs ribossomais, RNAs de transferência e RNAs mensageiros; os outros RNAs. Regulação da expressão génica. Aspectos gerais de engenharia genética: enzimas de restrição, clonagem molecular, reacção de PCR e sequenciação do DNA, hibridação de ácidos nucleicos. Aplicações da biologia molecular.

Descrição detalhada dos conteúdos programáticos

Componente Teórica

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

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

2. O Dogma Central da Biologia Molecular

O fluxo da informação genética intracelular: etapas da expressão génica e primeiras referências sobre a importância da regulação génica. Actualização do dogma central.

3. Genoma

Simplicidade do genoma procariótico e complexidade do genoma eucariótico. Estrutura global dos cromossomas; cromossoma procariótico e eucariótico. Condensação da cromatina e expressão génica. Distribuição, organização e estrutura dos genes nos genomas procariótico e eucariótico. Noção de polimorfismos genómicos. Outros elementos genéticos dos procariotas e eucariotas. DNA plasmídico e suas principais características. Genomas virais: composição, estrutura, características e organização dos seus genes. Transposões: características gerais, modos de transposição, exemplos de transposões procarióticos e eucarióticos. Retrotransposões virais e não virais. Consequências e efeitos da transposição. DNA mitocondrial e cloroplastidial. Hereditariedade citoplasmática.

4. Replicação do DNA

Enzimologia da replicação do DNA cromossomal em *Escherichia coli* e paralelismo com a dos eucariotas. Origens de replicação e replicões. Modelos de replicação do DNA plasmídico e de moléculas de DNA lineares. Replicação de telómeros.

EG- Clonagem molecular para amplificação do DNA: vectores e hospedeiros de clonagem. Técnica de PCR e algumas aplicações. Sequenciação do DNA pela técnica dos terminadores de cadeia. Genomas sequenciados: uma nova forma de estudar e manipular os organismos.

5. Recombinação molecular

Recombinação mendeliana vs recombinação molecular. Recombinação homóloga: modelo de Holliday. Enzimologia da recombinação homóloga em *E. coli*. Recombinação sítio-específica: particularidades e enzimologia. O modelo do fago lambda. Mecanismos de transferência de DNA em bactérias (transformação, conjugação e transdução) e suas consequências.

6. Mutação génica, mutagénese e reparação

Tipos de mutações génicas e causas. Base molecular da mutação. Mutações espontâneas, mutagénicos e sua acção. Mecanismos de reparação do DNA. Sistemas de reparação em *E. coli*. Doenças humanas relacionadas com alterações nos mecanismos de reparação.

7. Expressão génica

Propriedades das proteínas de ligação a DNA. Transcrição em procariotas e eucariotas: polimerases de RNA e factores de transcrição, sequências promotoras e terminadores da transcrição. Tradução em procariotas e eucariotas. Código genético, processamento de tRNAs, rRNAs e mRNAs. Os outros RNAs (miRNAs, snRNAs, snoRNA, ncRNA). Noções muito gerais sobre: tráfego de proteínas dentro das células. Sequências sinal.

8. Regulação da expressão génica

Controlo positivo e negativo da expressão genética. Expressão induzível e repressível. O operão *lac* como paradigma de regulação de expressão em procariotas; outros tipos de regulação de operações nas bactérias; visão geral e exemplos de mecanismos de controlo global (sistema SOS, repressão catabólica, factores sigma e exemplo da esporulação em *Bacillus subtilis*). Regulação da expressão dos genes envolvidos no metabolismo da galactose em *Saccharomyces cerevisiae*. Outros exemplos de regulação transcricional em eucariotas. Regulação pós-transcricional: estabilidade e degradação do mRNA, interferência do RNA, RNA editing. Modificações pós-traducionais: folding das proteínas, processamento químico e enzimático de proteínas. Proteólise. Regulação por feedback.

9. Aplicações da Biologia Molecular.

Componente Teórica-Prática

Mecanismos básicos de formação de gâmetas. Análise genética em haplontes, diplontes e haplodiplontes. Mendelismo e linkage.

Genes localizados em cromossomas sexuais e influência do sexo na hereditariedade

Análise de pedigrees. Frequência de alelos. Penetrância incompleta e expressividade variável.

Polimorfismos de DNA. Haplótipos. Relações de linkage de loci polimórficos com doenças autossómicas dominantes. Haplótipos gerados por polimorfismos na dimensão de fragmentos de restrição (RFLPs) e sua análise por Southern blotting com sondas específicas.

Componente Prática

Noções e princípios básicos de visualização dos ácidos nucleicos.

Execução dos seguintes protocolos experimentais:

- Extração de DNA plasmídico (miniprep) e quantificação por espectrofotometria.
- Amplificação de um fragmento de DNA por PCR.
- Digestão de DNA plasmídico com enzimas de restrição específicos.
- Electroforese em gel de agarose para análise de moléculas de DNA obtidas por restrição enzimática e por PCR.

Bibliografia

Recomendada

Weaver RF. (2012) **Molecular Biology**. 5th ed. McGraw-Hill Companies, Inc., NY

Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Scott, Bretscher A, Ploegh H, Amon A, Scott MP. (2012) **Molecular Cell Biology**. 7th ed. WH Freeman, New York

Alternativas:

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2002) **Molecular Biology of the Cell**. 4th ed. Garland Science, New York

Hartl DL, Jones E (2005) **Genetics**, Analysis of genes and genomes. 6th ed. Jones and Bartlett Publishers, London

Outros elementos de estudo

Thompson Jr JN, Hellack JJ, Braver G, Durica DS (2007) **Primer of Genetic Analysis. A Problems Approach**. 3rd Edition, Cambridge University Press

Artigos que oportunamente sejam publicados em revistas gerais de divulgação científica, no ano em que decorre a disciplina, e acerca das diferentes matérias leccionadas.

Métodos de Avaliação

A avaliação da 1ª época poderá ser feita num único exame final ou poderá ser realizada por três testes individuais intercalares, T (15 val), TP (3 val), PL (2 val). A entrega de um teste parcial compromete o aluno a fazer a primeira época em testes parciais. Não há nota mínima em qualquer teste parcial. Os exames finais incluem questões relativas a todas as componentes. Não há melhorias das componentes separadamente. Os alunos do ano anterior só podem fazer melhoria em exame final. Não há orais.

Língua de ensino

Português