

**UENF**

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Secretaria
Acadêmica

PROGRAMA ANALÍTICO DE DISCIPLINA

Disciplina: LFM2714 - Métodos Modernos de Clonagem Molecular e Montagem de Dna - Princípios e Aplicações

CBB/LFBM - Labor. de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos

Início: 2022/2

Pré-requisito(s): não tem

Co-requisito(s): não tem

Equivalência(s): não tem

Carga horária: 34 (34 teóricas, 0 práticas, 0 extraclasse)

Créditos: 2

Tipo de aprovação: Média/Frequência

EMENTA

Durante o curso, serão apresentados métodos tradicionais baseados no uso de enzimas de restrição seguida de ligação e métodos de clonagem direta de produtos da PCR ("TA cloning"). Também discutiremos clonagem baseada no uso de enzimas de restrição do tipo IIS (Golden Gate). O objetivo principal do curso será apresentar técnicas alternativas de clonagem independentes do uso de ligases e suas aplicações. Serão abordados a técnica BioBrick, na montagem de partes biológicas e outras técnicas baseadas em recombinases ("Gateway cloning") ou baseadas na homologia de sequências ("SLIC", Stitching, GIBSON Assembly").

CONTEÚDO PROGRAMÁTICO

Clonagem clássica - enzimas de restrição - visão histórica e aplicações
'Clonagem de TA' - Sistemas TOPO e pGEM
Tecnologia de clonagem por recombinação - sistema Gateway;
Introdução aos BioBricks - partes biológicas da biologia sintética
Metodologias de clonagem do tipo 'seamless' (sem cicatriz):
1- Montagem Golden Gate;
2- Clonagem de múltiplos fragmentos - Uso da T4 DNA polimerase (SLIC);
3- Clonagem de múltiplos fragmentos - Uso da T5 exonuclease (TEDA);
4- Clonagem de múltiplos fragmentos - Montagem GIBSON;
6- Clonagem 'in vivo' (IVA cloning);
Mutagênese sítio-dirigida e síntese de Genes - vantagens e limitações;
Ferramentas de bioinformática na rotina de clonagem (design de primer usando
NebBuilder e QuickChange para mutação sítio-dirigida) - teórico-prático - sala
computação

BIBLIOGRAFIA

1. Annual Review of Biochemistry. (1969) 38: 467-500.
2. J. Biol. Chem. (1994) 269, 32678-32684.
3. Genome Res. (2000) 10 (11): 1788-95.
4. Tom Knight (2003). Idempotent Vector Design for Standard Assembly of Biobricks" MIT Artificial Intelligence Laboratory; MIT Synthetic Biology Working Group.
5. Nature Methods (2007), 4 (3), 251-256
6. PLoS One (2009) 4, e5553.
7. Nucleic Acids Research. (1991) 19 (5): 1156.

