

Unidade Curricular	Técnicas de Análise Molecular e Metabólica	Área Científica	Biologia e bioquímica
Mestrado em	Engenharia Biotecnológica	Escola	Escola Superior Agrária de Bragança
Ano Letivo	2023/2024	Ano Curricular	1
Nível	2-1	Créditos ECTS	5.0
Tipo	Semestral	Semestre	1
Código	5010-784-1105-00-23		
Horas totais de trabalho	135	Horas de Contacto	T - TP - PL - TC - S - E - OT - O -

T - Ensino Teórico; TP - Teórico Prático; PL - Prático e Laboratorial; TC - Trabalho de Campo; S - Seminário; E - Estágio; OT - Orientação Tutoria; O - Outra

Nome(s) do(s) docente(s) Maria Lurdes Antunes Jorge, Rui Miguel Vaz de Abreu

### Resultados da aprendizagem e competências

No fim da unidade curricular o aluno deve ser capaz de:

1. Possuir conhecimentos atualizados dos métodos utilizados em Diagnóstico Molecular, incluindo suas bases teóricas
2. Obter a capacidade de ler, compreender e criticar um texto científico
3. Adquirir independência na recolha de dados, informações e metodologias para a criação e validação de novos protocolos de diagnóstico
4. Desenvolver competências específicas práticas
5. Adquirir a capacidade de identificar e expressar informações relevantes
6. Desenvolver a capacidade de resumir e apresentar informações científicas
7. Adquirir competências a nível laboratorial

### Pré-requisitos

Antes da unidade curricular o aluno deve ser capaz de:

Ter conhecimentos básicos de genética e de biologia molecular

### Conteúdo da unidade curricular

DNA fingerprinting e DNA barcoding. PCR e RT-qPCR. Métodos de amplificação isotérmica de ácidos nucleicos. Técnicas in silico de modelação molecular: docking molecular, modelação QSAR e simulações de dinâmica molecular. Métodos de engenharia metabólica utilizados na simulação de condições de produção de metabolitos de interesse comercial.

### Conteúdo da unidade curricular (versão detalhada)

1. DNA "fingerprinting" e DNA "barcoding"
  - Conceito. Metodologias.
  - Core STR loci - a impressão digital genética em humanos
  - Marcadores de DNA mitocondrial: regiões hipervariáveis HVR1, HVR2 e HVR3.
  - Relação entre mutações no DNA mitocondrial e doença, em humanos.
  - rDNA e DNA "barcoding"
2. Reação em cadeia da Polimerase (PCR)
  - Etapas e condições físicas e químicas da PCR "standard"
  - Critérios de desenho de primers
  - Aditivos
3. PCR quantitativa em tempo real (Real-time qPCR ou qPCR)
  - Diferenças entre qPCR e PCR "standard"
  - Sistemas de produção de fluorescência utilizados na PCR em tempo real: SYBR-green e sondas Taqman
  - "One-step" e "two-step" RT-qPCR
  - Transcritases reversas
  - Controlos em qRT-PCR (NTC; NRT)
  - Análise de curvas de "melting"
  - Interpretação de resultados
  - Métodos de quantificação
4. Métodos de identificação baseados em amplificação isotérmica de ácidos nucleicos: LAMP
  - Utilização e vantagens
5. Métodos de análise, modelação e simulação de estruturas tridimensionais de diferentes biomoléculas
  - Ferramentas de visualização e manipulação de estruturas tridimensionais de biomoléculas
  - Aplicação no estudo do mecanismo molecular de ação de moléculas com propriedades bioativas
6. Técnicas in silico para a previsão do potencial de moléculas como inibidores de proteínas alvo
  - Docking molecular proteína-ligando e proteína-proteína
  - Simulações de dinâmica molecular e modelos QSAR
  - Integração destas técnicas no processo de desenvolvimento de novos fármacos
7. Estratégias para a simulação de condições de produção de metabolitos com interesse comercial
  - Ferramentas in silico para o estudo e manipulação do metabolismo de diferentes microrganismos
  - Análise de fluxos do metabolismo central: redes e vias metabólicas, conceito de fluxos metabólicos
  - Simulação de modificações genéticas para a produção de metabolitos de interesse comercial

### Bibliografia recomendada

1. Jordan, D & Mills, D. (2021). Past, Present, and Future of DNA Typing for Analyzing Human and Non-Human Forensic Samples. *Front. Ecol. Evol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.646130>
2. Aragona, M. (2022). New-Generation Sequencing Technology in Diagnosis of Fungal Plant Pathogens: A Dream Comes True? *J. Fungi*, 8, 737. <https://doi.org/10.3390/jof8070737>
3. Taylor, S. & Mrkusich, E. (2014). The State of RT-qPCR: Firsthand Observations of Implementation of MIQE. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 24: 46–52. <https://www.karger.com/Article/FullText/356189>
4. Temitope, Isaac et al (2021) Molecular modeling in drug discovery. *Informatics in Medicine Unlocked* 29 (2022)
5. Tafur, Rangel et al (2021) In silico Design for Systems-Based Metabolic Engineering for the Bioconversion of Valuable Compounds From Industrial By-Products. *Front. Genet.* 12: 633073

### Métodos de ensino e de aprendizagem

Aulas teóricas – Metodologia expositiva, com recurso a meios audiovisuais. Disponibilização de materiais de estudo por via dos recursos de e-learning. Aulas práticas – Realização de trabalhos práticos laboratoriais

**Alternativas de avaliação**

1. Alternativa 1 - (Ordinário, Trabalhador) (Final)
  - Prova Intercalar Escrita - 50% (Componentes teórica e prática: itens 1-4 do programa; classificação mínima de 8 em 20)
  - Exame Final Escrito - 30% (Componentes teórica e prática: itens 5-7 do programa; classificação mínima de 8 em 20)
  - Relatório e Guiões - 20% (Relatórios de trabalhos realizados sobre modelação molecular e engenharia metabólica in silico)
2. Alternativa 2 - (Ordinário, Trabalhador) (Recurso, Especial)
  - Exame Final Escrito - 100% (Componente teórica e prática (classificação mínima de 9, 5 em 20))

**Língua em que é ministrada**

Inglês

**Validação Eletrónica**

Maria Lurdes Antunes Jorge, Rui Miguel Vaz de Abreu	Altino Branco Choupina	Rui Miguel Vaz de Abreu	Paula Cristina Azevedo Rodrigues
24-01-2024	24-01-2024	24-01-2024	25-01-2024