



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
ESCOLA DE QUÍMICA



Código Disciplina/Nome: EQB 071- Desenvolvimento de Células Animais Recombinantes e Bancos Celulares
Tipo: Disciplina Complementar de Escolha Condicionada
Carga Horária Teórica : 30 h Prática: 15 h
Cursos : Engenharia de Bioprocessos.
Pré-requisito: EQB 070- Biotecnologia farmacêutica: conceitos básicos
Créditos: 03
Objetivo: Capacitar o aluno a aplicar os conceitos básicos de genômica, biologia molecular, bioinformática e engenharia genética; habilitando-o a atuar nas diversas etapas da geração de células animais recombinantes e do estabelecimento de bancos celulares.
Ementa: Fundamentos, técnicas e aplicações de biologia molecular. Fundamentos básicos de bioinformática. Manipulação genética de células animais e obtenção de linhagens recombinantes. Bancos celulares.
Conteúdo Programático: <i>Teoria (30 horas):</i> Fundamentos: Estrutura do DNA e dos cromossomos. Os genes – estrutura e função. O genoma humano. O dogma central da biologia molecular: transcrição e tradução. As proteínas – estrutura e função. Regulação da expressão gênica. (3 horas) Genética e Medicina: Mutações. A variação genética e as doenças. Medicina personalizada. Testes genéticos. (2 horas) Manipulação genética de células: A tecnologia do DNA recombinante. Uso de ferramentas de bioinformática. Bancos de dados de genômica. Obtenção do inserto. Otimização de sequências. Construção de genes quiméricos. Humanização de anticorpos. Seleção de linhagens hospedeiras. (5 horas) Vetores de expressão: Vetores plasmidiais e virais. Promotores, <i>enhancers</i> , elementos IRES, elementos S/MARs, elementos remodeladores da cromatina UCOE. Sistema ACE de expressão por cromossomo artificial. Integração mediada por endonucleases ZFNs e TALENs. Integração pelo sistema <i>PiggyBac</i> transposon. (5 horas) Transferência de genes e pressão seletiva: Métodos físicos, químicos e biológicos para transferência de DNA heterólogo. Marcadores de seleção dominantes e recessivos. Técnicas de atenuação de marcadores seletivos. Transferência gênica e seleção múltiplas. (5 horas) Métodos e estratégias para obtenção de linhagens clonais de alta produtividade:

Isolamento de clones por diluição limitante. Isolamento e seleção de alto desempenho por citometria de fluxo com *sorting* (FACS). Plataformas comerciais de isolamento e seleção de alto desempenho (Clone Pix, LEAP/Cell Xpress, Cello e outros). Amplificação gênica: sistemas DHFR e GS. Integração sítio dirigida por troca de cassetes mediada por recombinases. Estratégias para geração e seleção de células produtoras de proteínas multiméricas, como anticorpos monoclonais. (5 horas)

Bancos celulares: Sistemas de bancos celulares. Banco mestre e banco de trabalho. Padronização e qualificação de bancos celulares. Requisitos de garantia de qualidade e regulatórios. (5 horas)

Prática (15 horas):

Técnicas e aplicações de biologia molecular: Gene repórter. Extração de DNA. Quantificação de DNA. Amplificação de DNA por reação em cadeia da polimerase (PCR). Seqüenciamento de DNA. Enzimas de restrição. Eletroforese de DNA. Purificação de DNA. Construção de vetores de expressão. Transformação em bactérias competentes. Transfecção de células animais. Quantificação de transcritos (PCR em tempo real). (15 horas)

Bibliografia Recomendada (no mínimo 3)

1. Hauser H, Wagner R. Mammalian Cell Biotechnology in Protein Production. Berlin: Walter de Gruyter; 1997.
2. Makrides SC. Gene Transfer and Expression in Mammalian Cells. Amsterdam: Elsevier Science BV; 2003.
3. Moraes AM, Augusto EFP, Castilho LR (Eds.) (2008), Tecnologia do Cultivo de Células Animais: de Biofármacos a Terapia Gênica. São Paulo: Editora Roca.

Bibliografia Complementar (no mínimo 5)

1. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. Molecular Biology of the Cell. 4^a ed. New York: Garland Science; 2002.
2. Al-Rubeai M. Antibody Expression and Production. Springer Science & Business Media; 2011.
3. Al-Rubeai M. Cell Line Development. Springer Science & Business Media; 2009.
4. Cooper GM. The Cell: A Molecular Approach. 2^a ed. Sunderland: Sinauer Associates; 2000.
5. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, et al. Molecular Cell Biology. 4^a ed. New York: W. H. Freeman; 2000.