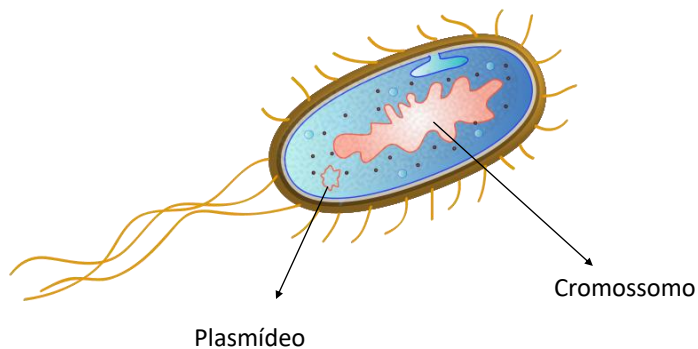


Aula de Hoje:

Atividade teórico-prática sobre transformação bacteriana

1

Escherichia coli – bactéria mais usada para experimentos de biologia molecular

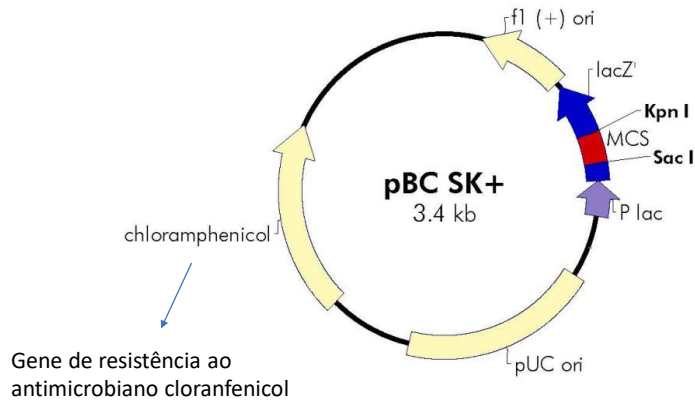


- Pequenas moléculas de DNA
- Podem ser facilmente purificados e manipulados in vitro
- Podem ser introduzidos em laboratório na bactéria por conjugação ou **transformação**

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:201208_Escherichia_coli.svg

2

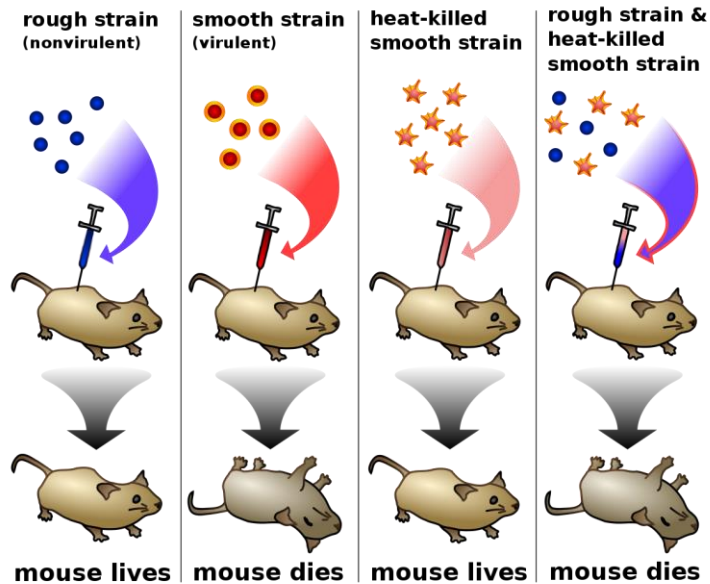
Plasmídeo pBC: um vetor de clonagem modificado em laboratório



Possibilita selecionar as bactérias que **receberam** o plasmídeo.

3

Transformação bacteriana – fenômeno natural em poucas espécies



https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Griffith_experiment-FR.svg

4

Transformação bacteriana – fundamentos e aplicações em biologia molecular

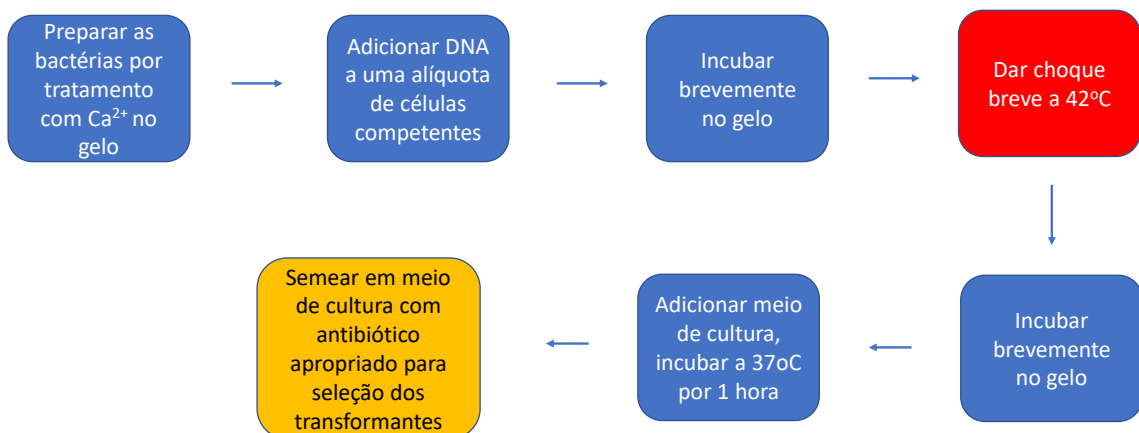
<https://dnlc.cshl.edu/resources/animations/transformation1.html>

<https://dnlc.cshl.edu/resources/animations/transformation2.html>

5

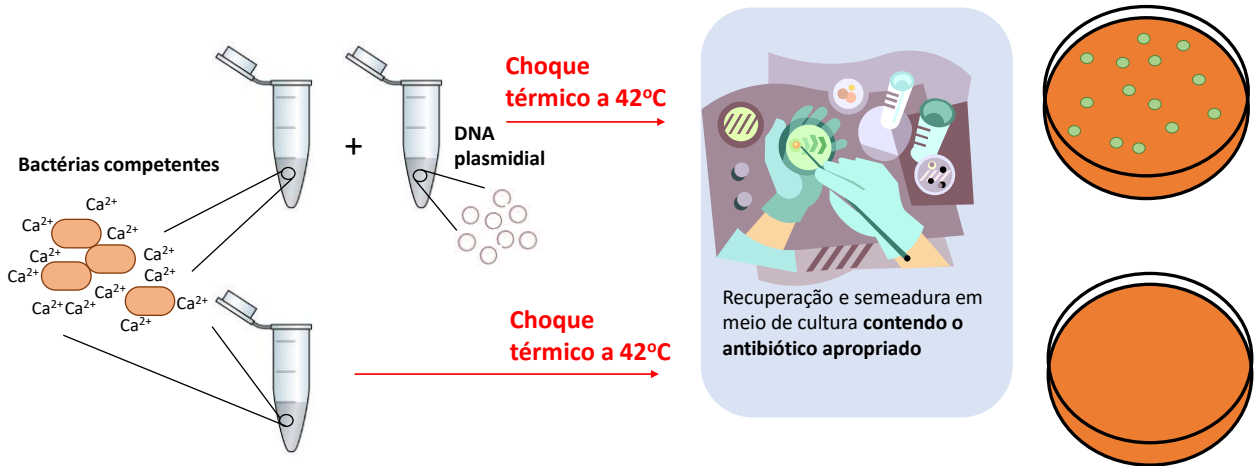
Transformação bacteriana – fundamentos e aplicações em biologia molecular

Fazendo a transformação no laboratório: <https://www.youtube.com/watch?v=2ligY8VOzz4>



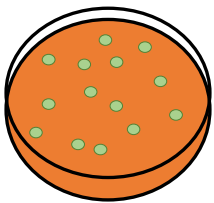
6

Interpretação do resultado da transformação e cálculo da eficiência de transformação.



7

Interpretação do resultado da transformação e cálculo da eficiência de transformação.



Neste exemplo, o volume total da reação de transformação é de **500 µL**. Você semeou somente **100 µL**, obtendo 14 colônias. Logo, o total de transformantes é $14 \times 5 = 70$ transformantes.

Para cálculo da eficiência, devemos normalizar este número de transformantes pela quantidade de DNA usada. Normalmente usamos **transformantes/µg DNA**.

Neste exemplo, imagine que usamos 1 µL de uma solução de DNA cuja concentração é de 2 ng/µL. Logo, 2 ng foram usados na transformação.

Sendo assim obtivemos 70 transformantes/2 ng de DNA, ou seja **35 transformantes/ng DNA**.

1ng DNA equivale a 0,001 µg (1000 X menos). Logo, temos:

$$35 \text{ transf} / 0,001 \mu\text{g DNA} = 35.000 \text{ transf}/\mu\text{g DNA} = 3,5 \times 10^4 \text{ transf}/\mu\text{g}$$

8

Exercício para resolver em grupo e entregar até o começo da aula que vem.

Ver apostila de aula prática no e-disciplinas!