UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

 

Dissertação/Tese

**Biotecnologia: o curso do futuro**

**Escherino Coli**

Pelotas, 20xx

**Escherino Coli**

**Biotecnologia: o curso do futuro**

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre/Doutor em Ciências (áreado Conhecimento: ....................................).

**Orientador**: Frederick Sanger

**Coorientador(es)**: Marie Curie

James Watson

Pelotas, 20xx

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Pichiano Pastoris (Instituição, Unidade Acadêmica)

Prof. Dr. Leptospirano Ictero (Instituição, Unidade Acadêmica)

Prof. Dra. Micobacteriana Tuberculina (Instituição, Unidade Acadêmica)

Prof. Dr. Clostridiano Tetano (Orientador, Instituição, Unidade Acadêmica)

Para minha esposa, filhos e pais, com carinho e gratidão.

 Dedico.

**Agradecimentos**

“Science may set limits to knowledge, but should not set limits to imagination”

Bertrand Russell

**Resumo**

SKYWALKER, Luke. **Biotecnologia: o curso do futuro.** 20XX. 85f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A [prequela](http://pt.wikipedia.org/wiki/Prequela) da trilogia segue a juventude de [Anakin Skywalker.](http://pt.wikipedia.org/wiki/Anakin_Skywalker) Ele é descoberto no planeta Tatooine pelo Cavaleiro Jedi [Qui-](http://pt.wikipedia.org/wiki/Qui-Gon_Jinn)Gon Jin[n,](http://pt.wikipedia.org/wiki/Qui-Gon_Jinn) que acredita que ele seja o "Escolhido" previsto por uma profecia para trazer equilíbrio à Força, principalmente depois que descobre que Anakin foi concebido sem pai, somente pelo poder dos midi-clorians. O Conselho Jedi, liderado por [Yoda,](http://pt.wikipedia.org/wiki/Yoda) pressente que o futuro de Anakin está obscurecido pelo medo, mas, relutantemente, concorda que o aprendiz de QuiGon, [Obi-Wan Kenobi,](http://pt.wikipedia.org/wiki/Obi-Wan_Kenobi) treine Anakin após Qui-Gon ser morto pelo Lorde Sith [Darth Maul.](http://pt.wikipedia.org/wiki/Darth_Maul) Paralelamente, o planeta [Naboo](http://pt.wikipedia.org/wiki/Naboo) está sob ataque, e sua governante, a [Rainha](http://pt.wikipedia.org/wiki/Padm%C3%A9_Amidala) Padmé Amidal[a,](http://pt.wikipedia.org/wiki/Padm%C3%A9_Amidala) busca o auxílio dos Jedi para repelir o ataque. Lorde Sith[Darth Sidious](http://pt.wikipedia.org/wiki/Darth_Sidious) planejara secretamente o ataque para dar a seu [alter-ego,](http://pt.wikipedia.org/wiki/Alter-ego) o [Senador Palpatine,](http://pt.wikipedia.org/wiki/Senador_Palpatine) um pretexto para derrubar o Chanceler Supremo da República Galáctica e tomar seu lugar. O restante da sequela narra a queda gradual de Anakin para o lado negro da Força enquanto ele combate nasGuerras Clônica[s,](http://pt.wikipedia.org/wiki/Guerras_Cl%C3%B4nicas) que Palpatine planearia secretamente para destruir a República e atrair o Jedi para seu lado. Anakin e Padmé apaixonam-se e casam-se secretamente, e eventualmente Padmé fica grávida. O Jedi tem uma visão profética de sua mulher morrendo no parto, e Palpatine o convence que apenas o lado negro retém o poder para salvar sua vida; desesperado, Anakin submete-se ao lado negro, adotando o nome Sith [Darth Vader.](http://pt.wikipedia.org/wiki/Darth_Vader) Enquanto Palpatine transforma a República no tirânico Império Galáctico — apontando a si mesmo imperador vitalício — Vader participa doextermínio daOrdem Jed[i,](http://pt.wikipedia.org/wiki/Grande_Purga%C3%A7%C3%A3o_Jedi) que culmina numa batalha entre ele e Obi-Wan. O mestre acaba derrotando seu ex-discípulo e amigo, amputando suas pernas e abandonando-o à beira da morte na margem de um rio de [lava.](http://pt.wikipedia.org/wiki/Lava) Palpatine, no entanto, chega ao local pouco depois, salvando Vader e colocando-o em uma armadura mecânica que preserva a sua vida. Enquanto isso, Padmé morre ao dar a luz aos gêmeos [Luke](http://pt.wikipedia.org/wiki/Luke_Skywalker) e [Leia.](http://pt.wikipedia.org/wiki/Princesa_Leia) Eles são escondidos de Vader, e crescem sem saber quem são seus pais verdadeiros.

**Palavras-chave**: Jedi, Yoda, [Darth Vader](http://pt.wikipedia.org/wiki/Darth_Vader), [Obi-](http://pt.wikipedia.org/wiki/Obi-Wan_Kenobi)Wan, [Kenobi.](http://pt.wikipedia.org/wiki/Obi-Wan_Kenobi)

**Abstract**

SKYWALKER, Luke. **Biotechnology: the course of the future**. 20XX. 85f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The prequel trilogy begins with the [Trade Federation](http://en.wikipedia.org/wiki/Trade_Federation) blockading the planet [Naboo,](http://en.wikipedia.org/wiki/Naboo) in response to theGalactic Republi[c'](http://en.wikipedia.org/wiki/Galactic_Republic_%28Star_Wars%29)s taxation of trade routes. The Sith Lord [Darth Sidious](http://en.wikipedia.org/wiki/Palpatine) had secretly planned the blockade to give his alter ego, Senator Palpatine, a pretense to overthrow and replace the Supreme Chancellor of the Republic. At the Chancellor's request, the Jedi Knight [Qui-](http://en.wikipedia.org/wiki/Qui-Gon_Jinn)Gon Jin[n](http://en.wikipedia.org/wiki/Qui-Gon_Jinn) and his apprentice [Obi-Wan Kenobi](http://en.wikipedia.org/wiki/Obi-Wan_Kenobi) are sent to Naboo to negotiate with the Federation, but are forced to instead help the planet's monarch, [Padmé Amidala,](http://en.wikipedia.org/wiki/Padm%C3%A9_Amidala) escape from the blockade and plea her case before theGalactic Senat[e](http://en.wikipedia.org/wiki/Galactic_Senate) on [Coruscant.](http://en.wikipedia.org/wiki/Coruscant) When their spaceship is damaged during the escape, they land on the desert planet [Tatooine](http://en.wikipedia.org/wiki/Tatooine) for repairs, where QuiGon discovers a young slave named [Anakin Skywalker.](http://en.wikipedia.org/wiki/Darth_Vader) Qui-Gon comes to believe that Anakin is the "Chosen One" foretold by Jedi [prophecy](http://en.wikipedia.org/wiki/Prophecy) to bring balance to [the Force,](http://en.wikipedia.org/wiki/Force_%28Star_Wars%29) and he helps liberate the boy. The Jedi Council, led by [Yoda,](http://en.wikipedia.org/wiki/Yoda) reluctantly allows Obi-Wan to train Anakin after Qui-Gon is killed by Palpatine's first apprentice,Darth Mau[l,](http://en.wikipedia.org/wiki/Darth_Maul) during the Battle of Naboo.The remainder of the prequel trilogy chronicles Anakin's gradual fall to the dark side of the Force as he fights in the [Clone Wars,](http://en.wikipedia.org/wiki/Clone_Wars_%28Star_Wars%29) which Palpatine secretly engineers to destroy the Republic and lure Anakin into his service. Anakin and Padmé fall in love and secretly wed, and eventually Padmé becomes pregnant. Anakin has a prophetic vision of Padmé dying in childbirth, and Palpatine convinces him that the dark side holds the power to save her life; desperate, Anakin submits to the dark side and takes the Sith name [Darth Vader.](http://en.wikipedia.org/wiki/Darth_Vader) While Palpatine re-organizes the Republic into the tyrannical [Galactic Empire—](http://en.wikipedia.org/wiki/Galactic_Empire_%28Star_Wars%29)appointing himself Emperor for life—Vader participates in the [extermination of the Jedi Order,](http://en.wikipedia.org/wiki/Great_Jedi_Purge) culminating in a [lightsaber](http://en.wikipedia.org/wiki/Lightsaber) battle between himself and Obi-Wan on the volcanic planet [Mustafar.](http://en.wikipedia.org/wiki/Mustafar) Obi-Wan defeat his former apprentice and friend, severing his limbs and leaving him for dead. Palpatine arrives shortly afterward and saves Vader, placing him into a mechanical suit of armor that keeps him alive. At the same time, Padmé dies while giving birth to twins [Luke](http://en.wikipedia.org/wiki/Luke_Skywalker) and [Leia.](http://en.wikipedia.org/wiki/Princess_Leia)

**Keywords**: Jedi, Yoda, Darth Vade[r](http://pt.wikipedia.org/wiki/Darth_Vader), [Obi-](http://pt.wikipedia.org/wiki/Obi-Wan_Kenobi)Wan, [Kenobi.](http://pt.wikipedia.org/wiki/Obi-Wan_Kenobi)

**Lista de Figuras**

[**Figura 1**. Título da figura 1. 17](#_Toc384124204)

[**Figura 2**. SDS-PAGE e *Western blot* das frações obtidas de proteína X30. 17](#_Toc384124205)

**Lista de Tabelas**

[**Tabela 1**. Resumo das formulações vacinais de Proteína 1 e Proteína 2 inoculadas nos camundongos. 18](#_Toc384124211)

[**Tabela 2**. Resultado dos plaqueamentos feitos das células eletrocompetentes transformadas por eletroporação e choque-térmico. 18](#_Toc384124212)

**Lista de Abreviaturas**

DMF – Dimetilformamida

DTAs – Doenças Transmitidas por Alimentos

FDA – *Food and Drug Administration* (Gestão de alimentos e drogas)

GC – *Gas chromatography* (Cromatografia gasosa)

GC/MS – *Gas chromatography/Mass spectrometry* (Cromatografia gasosa com espectro de massa)

GRAS – *Generally Recognized as Safe* (Geralmente reconhecidos como seguros)

ISO – *International Standard Organization* (Organização internacional de padrões)

MO – Micro-ondas

OHA – Octahidroacridinas

**Sumário**

[1 INTRODUÇÃO GERAL 13](#_Toc384238483)

[2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 14](#_Toc384238484)

[2.1 Primeiro assunto 14](#_Toc384238485)

[2.2 Segundo assunto 14](#_Toc384238486)

[3 HIPÓTESE E OBJETIVOS 15](#_Toc384238487)

[3.1 Hipótese 15](#_Toc384238488)

[3.2 Objetivo Geral 15](#_Toc384238489)

[3.3 Objetivos Específicos 15](#_Toc384238490)

[4 CAPÍTULOS 16](#_Toc384238491)

[4.1 Relatório de Atividades 16](#_Toc384238492)

[4.1.1 Material e Métodos 16](#_Toc384238493)

[4.1.1.1 Método 1 16](#_Toc384238494)

[4.1.1.2 Método 2 16](#_Toc384238495)

[4.1.2 Resultados 16](#_Toc384238496)

[4.1.2.1 Resultado 1 16](#_Toc384238497)

[4.1.2.2 Resultado 2 16](#_Toc384238498)

[4.1.3 Discussão 16](#_Toc384238499)

[4.1.4 Conclusão 16](#_Toc384238500)

[5 DISCUSSÃO GERAL E PERSPECTIVAS 19](#_Toc384238501)

[6 CONCLUSÃO GERAL 20](#_Toc384238502)

[7 REFERÊNCIAS 21](#_Toc384238503)

[8 ANEXOS 22](#_Toc384238504)

[Anexo A – Manual sobre o uso de laboratórios 22](#_Toc384238505)

# 1 INTRODUÇÃO GERAL

# 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 2.1 Primeiro assunto

## 2.2 Segundo assunto

# 3 HIPÓTESE E OBJETIVOS

## 3.1 Hipótese

## 3.2 Objetivo Geral

## 3.3 Objetivos Específicos

* Objetivo específico 1;
* Objetivo específico 2;
* Objetivo específico 3.

# 4 CAPÍTULOS

## 4.1 Relatório de Atividades

### 4.1.1 Material e Métodos

#### 4.1.1.1 Método 1

#### 4.1.1.2 Método 2

### 4.1.2 Resultados

#### 4.1.2.1 Resultado 1

#### 4.1.2.2 Resultado 2

### 4.1.3 Discussão

### 4.1.4 Conclusão

A figura 1 demonstra a relação entre as atividades da vida.

****

**Figura 1**. Título da figura 1. Descrição da figura 1.

 As amostras ficaram muito boas e a eletroforese foi perfeita (Figura 2).



**Figura 2**. SDS-PAGE e *Western blot* das frações obtidas de proteína X30. **(A)** SDS-PAGE 12% das suspensões resultantes da solubilização. **M**- Marcador (*BenchMark*, Invitrogen); **1**- fração 1;**2**- fração 2;**3**- fração 3. **(B)** *Western blot* anti-His das frações contendo a proteína X30. **1**- Controle negativo; **2**- fração 1;**3**- fração 2;**4**- fração 3; **M**- marcador pré-corado (*Spectra Multicolor Broad Range*, Thermo Scientific).

A tabela 1 o esquema de injeção de vacinas nos 3 camundongos utilizados.

**Tabela 1**. Resumo das formulações vacinais de Proteína 1 e Proteína 2 inoculadas nos camundongos.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Injeção (dia) | Antígeno | Adjuvante | Via | Camundongos |
| 1ª (zero) | Proteína 1 | AFC | i.p. | C1, C2 e C3 |
| 2ª (14) | Proteína 1 | AFI | i.p. | C1, C2 e C3 |
| 3ª (21) | Proteína 1 | AFI | i.p. | C1, C2 e C3 |
| 4ª (28) | Proteína 1 | AFI | i.p. | C1 e C2 |
|  | Proteína 2 | AFI | i.p. | C3 |
| 5ª (35) | Proteína 1/Proteína 2 | AFI/sem | i.p./i.v. | C1 |

Os resultados foram muito bons (Tabela 2).

**Tabela 2**. Resultado dos plaqueamentos feitos das células eletrocompetentes transformadas por eletroporação e choque-térmico.

|  |  |
| --- | --- |
| Placa | Resultado |
| **Com ampicilina** |  |
|  | Células eletrocompetentes a | Não cresceu |
|  | Eletroporação com 1 pg de pAE | Cresceu (3 UFC) |
|  | 100 µL da eletroporação de 2 µL de ligação | Cresceu (> 100 UFC) |
|  | ≈ 900 µL da eletroporação de 2 µL de ligação | Cresceu (> 250 UFC) |
|  | Choque-térmico com 2 µL de ligação | Cresceu (≈ 15 UFC) |
|  | Choque-térmico com 4 µL de ligação | Cresceu (> 100 UFC) |
| **Sem ampicilina** |  |
|  | Células eletrocompetentes a | Cresceu |

a Estas placas foram feitas por esgotamento; as demais foram feitas por espalhamento.

# 5 DISCUSSÃO GERAL E PERSPECTIVAS

# 6 CONCLUSÃO GERAL

# 7 REFERÊNCIAS

Betts, M.J. & Russell, R.B. (2003). Amino acid properties and consequences of subsitutions. In M. R. Barnes & I. C. Gray (eds.). *Bioinfomatics for geneticists*. 1st ed., Chichester: Wliley.

Bierne, H., Sabet, C., Personnic, N. & Cossart, P. (2007). Internalins: a complex family of leucine-rich repeat-containing proteins in Listeria monocytogenes. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 9(10). p. 1156–66.

Cabral, J., Nunes, S. & Mendes, G. (2011). *Utilização de baterias de celulares como dispositivo de armazenamento de energia solar*, Brasil INPI BR107016073826.

Harlow, E. & Lane, D. (1998). *Antibodies: A Laboratory Manual.* 1st ed., New York: Cold Spring Harbor.

Lis, H. & Sharon, N. (1998). Lectins: Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition. *Chemical reviews*. 98(2). p. 637–674.

Salvarani, F.M., Lobato, Z.I.P., Assis, R.A., Lima, C.G.R.D., Silva, R.O.S., Pires, P.S. & Lobato, F.C.F. (2010). In vitro evaluation of Clostridium septicum alpha toxoid. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 62(4). p. 778–783.

Sambrook, J. & Russel, D.W. (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual.* 3rd ed., New York: Cold Spring Harbor.

Silva, G. (2010). *Uma nova estratégia para eliminar a concentração de pessoas perto de cavernas.* Departmento de Ciências Humanas. Dissertação - Programa de Pós-graduação em Antropologia e Comportamento, Universidade de Montes Sagrados.

Smith, L. (2009). Botulism and vaccines for its prevention. *Vaccine*. 27(4). p. D33–9.

Teixeira, E.H., Napimoga, M.H., Carneiro, V.A., de Oliveira, T.M., Nascimento, K.S., Nagano, C.S., Souza, J.B., Havt, A., Pinto, V.P.T., Gonçalves, R.B., Farias, W.R.L., Saker-Sampaio, S., Sampaio, A.H. & Cavada, B.S. (2007). In vitro inhibition of oral streptococci binding to the acquired pellicle by algal lectins. *Journal of applied microbiology*. 103(4). p. 1001–6.

# 8 ANEXOS

## Anexo A – Manual sobre o uso de laboratórios