

Medicinski fakultet u Rijeci

IZVEDBENI NASTAVNI PLAN 2022/2023

Za kolegij

Osnove genetičkog inženjerstva

| | |
|--------------------|--|
| Studij: | Medicina (R) (izborni) Sveučilišni integrirani prijediplomski i diplomski studij |
| Katedra: | Centar za proteomiku |
| Nositelj kolegija: | dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. |
| Godina studija: | 1 |
| ECTS: | 1.5 |
| Stimulativni ECTS: | 0 (0.00%) |
| Strani jezik: | Mogućnost izvođenja na stranom jeziku |

Podaci o kolegiju:

Osnovni cilj ovog kolegija jest upoznati studente s a) temeljnim pojmovima i konceptima u genetičkom inženjerstvu, b) modernim tehnikama genetičkog inženjerstva i c) njihovoj primjeni u modernoj medicini. Drugi cilj ovog kolegija jest da se kroz predavanja, a posebice praktični rad u laboratoriju, studentima prenesu nužna znanja koja će ubrzati i olakšati njihovo uključivanje u rad brojnih znanstveno-istraživačkih laboratorija u kojima se rutinski i svakodnevno koriste tehnike genetičkog inženjerstva. Treći cilj ovog kolegija jest omogućiti studentima da na temelju stečenih znanja samostalno formiraju informirano mišljenje o tehnologiji rekombinantne DNA. Po završetku kolegija, studenti će razumjeti osnovne principe genetičkog inženjerstva, savladati raznovrsnu metodologiju u genetičkom inženjerstvu i moći samostalno dizajnirati i konstruirati željeni rekombinantni plazmid.

Očekivani ishodi učenja uključuju poznavanje vektora koji se koriste u genetičkom inženjerstvu, uobičajenih metoda za analizu nukleinskih kiselina, poput lančane reakcije polimerazom (PCR) hibridizacijskih tehnika (Southern, northern slot/dot blots i FISH), metoda za sekvenciranje DNA/RNA, genetičko profiliranje i ciljne modifikacije genome pomoću tehnologije CRISPR/Cas9. Po uspješnom svladavanju gradiva studenti će razumjeti osnovne principe genetičkog inženjerstva, raznovrsnu metodologiju u genetičkom inženjerstvu, primjenu genetičkog inženjerstva u medicini i moći samostalno isplanirati, dizajnirati i konstruirati željeni rekombinantni plazmid.

Popis obvezne ispitne literature:

1) Zabilješke s predavanja i vježbi

2) Odabrana poglavlja iz **a) *Molecular Biology of the Cell - 6th edition (2015)***

Autori: Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, David Morgan, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter

b) *Gene cloning & DNA analysis - 7th edition (2016)*

Autor: T. A. Brown

c) *Molecular Cloning: A laboratory manual - 4th edition (2012)*

Autori: Michael R. Green and Joseph Sambrook

Popis dopunske literature:

1) Molecular Cloning – Technical Guide, New England Biolabs, slobodno dostupno na

https://www.neb.com/~media/NebUs/Files/Brochures/Cloning_Tech_Guide.pdf

Nastavni plan:

Predavanja popis (s naslovima i pojašnjenjem):

1. Uvod u genetičko inženjerstvo

OČEKIVANI ISHODI UČENJA:

Nakon odslušanog i savladanog prvog predavanja, studenti bi trebali moći:

Razumjeti definiciju genetičkog inženjerstva i znati nabrojati nekoliko primjera upotrebe genetičkog inženjerstva u svakodnevnici

Razumjeti i opisati osnovne elemente strukture DNA, replikacije, transkripcije i translacije

Riješiti osnovne problemske zadatke u vezi strukture DNA/RNA i procesa replikacije, transkripcije i translacije

2. Enzimi u genetičkom inženjerstvu

Nakon odslušanog i savladanog drugog predavanja, studenti bi trebali moći:

Objasniti pojmove endonukleaza, egzonukleaza, ligaza, polimeraza, konaza, fosfataza, rekombinaza, restrikcijski enzim, reverzna transkriptaza, ljepljivi krajevi, tupi krajevi, palindromske sekvencije

Opisati osnovne aktivnosti enzima za manipulaciju DNA

Opisati i objasniti princip gel elektroforeze molekula DNA

Riješiti osnovne probleme vezane uz aktivnosti enzima za manipulaciju DNA prema različitim nukleinskim kiselinama kao njihovim supstratima

3. Vektori za kloniranje gena

Nakon odslušanog i savladanog četvrtog predavanja, studenti bi trebali moći:

Razumjeti i objasniti osnovne tipove i svojstva uobičajenih vektora za kloniranje u E. coli

Razumjeti i objasniti razlike i sličnosti između genomskih i cDNA knjižnica

4. Lančana reakcija polimerazom (PCR)

Nakon odslušanog i savladanog četvrtog predavanja, studenti bi trebali moći:

Razumjeti i objasniti osnovne principe lančane reakcije polimerazom, dizajna početnica i odabira programa za PCR

Razumjeti i objasniti poteškoće kod amplifikacije ciljnih regija Taq polimerazom

Opisati i objasniti princip gel elektroforeze produkata PCR reakcije

Imenovati neke od izvedbi standardne PCR reakcije

Riješiti osnovne probleme vezane uz PCR i DNA elektroforezu produkata PCR reakcije

5. Hibridizacijske tehnike za analizu nukleinskih kiselina

Nakon odslušanog i savladanog petog predavanja, studenti bi trebali moći:

Razumjeti i objasniti proces denaturacije/renaturacije DNA i osnovne principe hibridizacijskih tehnika za analizu nukleinskih kiselina i njihovu primjenu

Riješiti osnovne probleme vezane uz hibridizacijskih tehnika za analizu nukleinskih kiselina

6. Sekvenciranje gena i genoma

Nakon odslušanog i savladanog šestog predavanja, studenti bi trebali moći:

Razumjeti i opisati sekvenciranje DNA Sangerovom metodom i metodom SBS (Illumina)

Odrediti redosljed nukleotida u nepoznatoj molekuli DNA na temelju rezultata sekvenciranja DNA Sangerovom metodom i metodom SBS (Illumina)

7. Primjena genetičkog inženjerstva

Nakon odslušanog i savladanog sedmog predavanja, studenti bi trebali moći:

Ukratko navesti i opisati nekoliko primjera uporabe genetičkog inženjerstva u medicini

Razumjeti i objasniti osnovne principe genetičkog profiliranja i krojenja genoma tehnologijom CRISPR/Cas9

Provesti osnovnu interpretaciju DNA profila dobivenih genetičkim profiliranjem

Vježbe popis (s naslovima i pojašnjenjem):

1. Uvodna vježba

Nakon odslušane i savladane prve laboratorijske vježbe, studenti bi trebali moći:
Samostalno, točno i reproducibilno pipetirati potrebne volumene otopina koristeći mikropipete
Razumjeti glavni cilj laboratorijskih vježbi

2. Priprema vektora i inserta

Nakon odslušane i savladane druge laboratorijske vježbe, studenti bi trebali moći samostalno:
Izolirati plazmidnu DNA iz E. coli
Postaviti PCR i reakciju cijepanja DNA restrikcijskim enzimima
Pripremiti uzorke DNA za gel elektroforezu u agaroznom gelu
Nanijeti uzorke DNA u jažice agaroznog gela
Provesti elektroforezu DNA u agaroznom gelu
Razumjeti potrebu za upotrebom etidij-bromida i drugih kemikalija za vizualizaciju DNA u agaroznom gelu
Interpretirati rezultate PCR-a i reakcije cijepanja DNA restrikcijskim enzimima na temelju opaženog položaja vrpca DNA na agaroznom gelu

3. Pročišćavanje vektora i inserta

Nakon odslušane i savladane treće laboratorijske vježbe, studenti bi trebali moći samostalno:
Pročistiti bilo koji fragment DNA iz agaroznog gela nakon provedene elektroforeze DNA
Procijeniti integritet, čistoću i količinu izoliranih i pročišćenih fragmenata DNA

4. Ligacija i transformacija

Nakon odslušane i savladane četvrte laboratorijske vježbe, studenti bi trebali moći samostalno:
Provesti reakciju ligacije molekula DNA
Provesti postupak transformacije kompetentnih stanica E. coli stranom DNA
Ravnomjerno nacijepiti bakterijske stanice iz suspenzije na krute hranjive podloge

5. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata

Nakon odslušane i savladane pete laboratorijske vježbe, studenti bi trebali moći samostalno:
Isplanirati i provesti gel-elektroforezu plazmidne DNA izolirane iz dobivenih transformanata
Identificirati potencijalne pozitivne klonove prikladne za daljnju analizu izolirane plazmidne DNA

6. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata II

Nakon odslušane i savladane šeste laboratorijske vježbe, studenti bi trebali moći samostalno:
Isplanirati i provesti restrikcijsku analizu izolirane plazmidne DNA s ciljem identifikacije klonova koji sadržavaju insert ugrađen u vektor u pravilnoj orijentaciji

7. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata III

Nakon odslušane i savladane šeste laboratorijske vježbe, studenti bi trebali moći samostalno:
Isplanirati i provesti konstrukciju rekombinantnog plazmida

Obveze studenata:

Pohađanje nastave i aktivno sudjelovanje u predavanjima i vježbama.

Ispit (način polaganja ispita, opis pisanog/usmenog/praktičnog dijela ispita, način bodovanja, kriterij ocjenjivanja):

Ocjenjivanje studenata provodi se prema važećem Pravilniku o studijima Sveučilišta u Rijeci, te prema Pravilniku o ocjenjivanju studenata na Medicinskom fakultetu u Rijeci (usvojenom na Fakultetskom vijeću Medicinskog fakulteta u Rijeci). Ocjenjivanje studenata vrši se primjenom ECTS (A-E) i brojčanog sustava (1-5). Ocjenjivanje u ECTS sustavu izvodi se apsolutnom raspodjelom, te prema dodiplomskim kriterijima ocjenjivanja. Studenti tijekom nastave mogu prikupiti 70%, a na završnom ispitu 30% od konačne ocjene.

Ispitna razdoblja i prijava ispita

Prvi ispitni termin za završni test biti će odmah po završetku nastave.

Ispiti se prijavljuju u ISVU sustavu.

Ostali ispitni termini će biti navedeni u na mrežnim stranicama Centra.

Ostale napomene (vezane uz kolegij) važne za studente:

-

SATNICA IZVOĐENJA NASTAVE 2022/2023

Osnove genetičkog inženjerstva

| Predavanja (mjesto i vrijeme / grupa) | Vježbe (mjesto i vrijeme / grupa) |
|---|--|
| 04.05.2023 | |
| 1. Uvod u genetičko inženjerstvo: <ul style="list-style-type: none">• Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (16:00 - 17:30) ^[192]<ul style="list-style-type: none">◦ OGI | |
| dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192] | |
| 08.05.2023 | |
| 2. Enzimi u genetičkom inženjerstvu: <ul style="list-style-type: none">• P07 (13:00 - 15:30) ^[192]<ul style="list-style-type: none">◦ OGI | |
| dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192] | |
| 10.05.2023 | |
| 3. Vektori za kloniranje gena: <ul style="list-style-type: none">• P07 (13:00 - 14:30) ^[192]<ul style="list-style-type: none">◦ OGI | |
| dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192] | |
| 15.05.2023 | |
| 4. Lančana reakcija polimerazom (PCR): <ul style="list-style-type: none">• P07 (13:00 - 14:30) ^[192]<ul style="list-style-type: none">◦ OGI | |
| dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192] | |
| 18.05.2023 | |
| 5. Hibridizacijske tehnike za analizu nukleinskih kiselina: <ul style="list-style-type: none">• P04 (13:00 - 13:45) ^[192]<ul style="list-style-type: none">◦ OGI | |
| 6. Sekvenciranje gena i genoma: <ul style="list-style-type: none">• P04 (14:00 - 15:30) ^[192]<ul style="list-style-type: none">◦ OGI | |
| 7. Primjena genetičkog inženjerstva: <ul style="list-style-type: none">• P06 (15:30 - 17:00) ^[192]<ul style="list-style-type: none">◦ OGI | |
| dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192] | |
| 24.05.2023 | |
| | 1. Uvodna vježba: <ul style="list-style-type: none">• Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (13:00 - 13:45) ^[192]<ul style="list-style-type: none">◦ OGI |
| | 2. Priprema vektora i inserta: <ul style="list-style-type: none">• Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (13:45 - 16:00) ^[192]<ul style="list-style-type: none">◦ OGI |

| | |
|--|--|
| dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192] | |
| 31.05.2023 | |
| | <p>3. Pročišćavanje vektora i inserta:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (13:00 - 14:30) ^[192] <ul style="list-style-type: none"> ◦ OGI |
| dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192] | |
| 02.06.2023 | |
| | <p>4. Ligacija i transformacija:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (16:00 - 17:30) ^[192] <ul style="list-style-type: none"> ◦ OGI |
| dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192] | |
| 06.06.2023 | |
| | <p>5. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (09:00 - 10:30) ^[192] <ul style="list-style-type: none"> ◦ OGI |
| dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192] | |
| 07.06.2023 | |
| | <p>6. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata II:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (15:30 - 16:15) ^[192] <ul style="list-style-type: none"> ◦ OGI <p>7. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata III:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (16:15 - 17:00) ^[192] <ul style="list-style-type: none"> ◦ OGI |
| dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192] | |

Popis predavanja, seminara i vježbi:

| PREDAVANJA (TEMA) | Broj sati | Mjesto održavanja |
|--|-----------|---|
| 1. Uvod u genetičko inženjerstvo | 2 | Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica |
| 2. Enzimi u genetičkom inženjerstvu | 2 | P07 |
| 3. Vektori za kloniranje gena | 2 | P07 |
| 4. Lančana reakcija polimerazom (PCR) | 2 | P07 |
| 5. Hibridizacijske tehnike za analizu nukleinskih kiselina | 1 | P04 |
| 6. Sekvenciranje gena i genoma | 2 | P04 |
| 7. Primjena genetičkog inženjerstva | 2 | P06 |

| VJEŽBE (TEMA) | Broj sati | Mjesto održavanja |
|------------------|-----------|---|
| 1. Uvodna vježba | 1 | Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica |

| | | |
|--|---|--|
| 2. Priprema vektora i inserta | 3 | Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica |
| 3. Pročišćavanje vektora i inserta | 2 | Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica |
| 4. Ligacija i transformacija | 2 | Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica |
| 5. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata | 2 | Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica |
| 6. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata II | 1 | Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica |
| 7. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata III | 1 | Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica |

ISPITNI TERMINI (završni ispit):
