

Medicinski fakultet u Rijeci

## IZVEDBENI NASTAVNI PLAN 2023/2024

Za kolegij

# Osnove genetičkog inženjerstva

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

## 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 - 6<sup>th</sup> edition (2015)***

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

**b) *Gene cloning & DNA analysis - 7<sup>th</sup> edition (2016)***

Autor: T. A. Brown

c) *Molecular Cloning: A laboratory manual - 4<sup>th</sup> 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](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 2023/2024

Osnove genetičkog inženjerstva

Predavanja (mjesto i vrijeme / grupa)	Vježbe (mjesto i vrijeme / grupa)
--	--------------------------------------

### Popis predavanja, seminara i vježbi:

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

VJEŽBE (TEMA)	Broj sati	Mjesto održavanja
1. Uvodna vježba	1	
2. Priprema vektora i inserta	3	
3. Pročišćavanje vektora i inserta	2	
4. Ligacija i transformacija	2	
5. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata	2	
6. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata II	1	
7. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata III	1	

### ISPITNI TERMINI (završni ispit):

---