

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 ciljane 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 redoslijed 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 vrpce 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: • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (16:00 - 17:30) ^[192] ◦ OGI		
dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192]		
08.05.2023		
2. Enzimi u genetičkom inženjerstvu: • P07 (13:00 - 15:30) ^[192] ◦ OGI		
dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192]		
10.05.2023		
3. Vektori za kloniranje gena: • P07 (13:00 - 14:30) ^[192] ◦ OGI		
dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192]		
15.05.2023		
4. Lančana reakcija polimerazom (PCR): • P07 (13:00 - 14:30) ^[192] ◦ OGI		
dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192]		
18.05.2023		
5. Hibridizacijske tehnike za analizu nukleinskih kiselina: • P04 (13:00 - 13:45) ^[192] ◦ OGI		
6. Sekvenciranje gena i genoma: • P04 (14:00 - 15:30) ^[192] ◦ OGI		
7. Primjena genetičkog inženjerstva: • P06 (15:30 - 17:00) ^[192] ◦ OGI		
dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192]		
24.05.2023		
	1. Uvodna vježba: • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (13:00 - 13:45) ^[192] ◦ OGI 2. Priprema vektora i inserta: • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (13:45 - 16:00) ^[192] ◦ OGI	

dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192]	
31.05.2023	
	3. Pročišćavanje vektora i inserta: • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (13:00 - 14:30) ^[192] ◦ OGI
dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192]	
02.06.2023	
	4. Ligacija i transformacija: • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (16:00 - 17:30) ^[192] ◦ OGI
dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192]	
06.06.2023	
	5. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata: • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (09:00 - 10:30) ^[192] ◦ OGI
dr. sc. Lisnić Berislav, dipl. ing. ^[192]	
07.06.2023	
	6. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata II: • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (15:30 - 16:15) ^[192] ◦ OGI 7. Fenotipska i molekularna karakterizacija transformanata III: • Zavod za histologiju i embriologiju - Vježbaonica (16:15 - 17:00) ^[192] ◦ 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):
