Medicinski fakultet u Rijeci

IZVEDBENI NASTAVNI PLAN
2023/2024

Za kolegij

Basics of Genetic Engineering

Studij:	**Medical Studies in English (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, norhtern slot/dot blots i FISH), metoda za sekvenciranje DNA/RNA, genetičko profiliranje i ciljane modifikacije genome pomoću tehnologije CRIPSR/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 Clonong – 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 PR 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 CRIPSR/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 vrpci 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

Basics of Genetic Engineering

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):