

NAZIV PREDMETA		Molekularna biologija				
Kod	PMB019	Godina studija	2			
Nositelj/i predmeta	prof. dr. sc. Jasna Puizina	Bodovna vrijednost (ECTS)	5,0			
Suradnici	doc. dr. sc. Ivica Šamanić doc. dr. sc. Željana Fredotović	Način izvođenja nastave (broj sati u semestru)	P	S	V	T
			30		30	
Status predmeta	obvezni	Postotak primjene e-učenja	10%			
OPIS PREDMETA						
Ciljevi predmeta	Stjecanje temeljnih spoznaja o strukturi i funkciji biološki važnih makromolekula, prvenstveno nukleinskih kiselina i proteina. Tijekom predavanja studenti će biti upoznati sa temeljnim molekularnim procesima u stanici kao što su: replikacija, transkripcija, translacija, mutacija, rekombinacija i popravak DNA. Studenti će se upoznati s glavnim tehnikama rada u molekularnoj biologiji. Poseban naglasak bit će na rekombinantnoj DNA tehnologiji i njenoj primjeni u medicini, biologiji i biotehnologiji. Na praktičnim vježbama studenti će razviti vještine samostalnog izvođenja osnovnih eksperimentalnih postupaka u molekularnoj biologiji.					
Uvjeti za upis predmeta i ulazne kompetencije potrebne za predmet	Nema ih.					
Očekivani ishodi učenja na razini predmeta (4-10 ishoda učenja)	<p>Nakon uspješno položenog ispita student će moći:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. opisati temeljna znanja o molekularnom ustroju prokariotske i eukariotske stanice 2. povezati organizaciju biomolekula i staničnih struktura s njihovom funkcijom 3. razumjeti važnosti i primjenu temeljnih modelnih organizama u molekularnoj biologiji 4. koristiti neke najjednostavnije bioinformatičke metode i online baze podataka 5. koristiti temeljne molekularno-biološke metode (izolacija i karakterizacija DNA, PCR, gel-elektroforeza) 6. koristiti temeljnu metodu kloniranja gena (rad s plazmidima, restrikcijskim enzimima, bakterijom E. coli). 7. objasniti i opisati temeljne procese DNA metabolizma: replikaciju, mutacije, popravak rekombinacije i preslagivanje 8. objasniti i opisati procese sinteze i dorade RNA i proteina 9. objasniti različite mehanizme regulacije genske aktivnosti u prokariota i eukariota 10. objasniti mehanizme kontrole staničnog ciklusa u eukariota i razlikovati različite načine stanične signalizacije 11. spoznati važnost molekularno–bioloških procesa u različitim bolestima 					
Sadržaj predmeta detaljno razrađen prema satnici nastave	<p>Predavanja</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Uvod, modelni organizmi, online baze podataka: Upoznati se sa značajkama temeljnih modelnih organizama u molekularnoj biologiji: bakterija, kvasca, oblića, vinske mušice uročnjaka, zebraste ribice, miša, ljudskih staničnih linija. Znati važnost bioinformatičkih metoda, online baza podataka i mogućnosti koje one nude (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/, http://google.scholar.com) i slične baze. (2 sata) 2. Kemijske veze, proteini DNA: Znati kemijsku i fizičku strukturu nukleotida, molekula DNA i RNA. Znati kemijsku strukturu aminokiselina, nastanak primarne strukture proteina te četiri razine smatanja proteina. Znati važnost vode i slabih nekovalentnih veza u molekularnim interakcijama. (2 sata) 					

3. Replikacija, transkripcija: Upoznati se sa semikonzervativnim modelom DNA replikacije, te znati ključne enzime i proteine koji sudjeluju ureplikaciji. Znati molekularni mehanizam i ključne enzime u transkripciji. (2 sata)
4. Genetička šifra, translacija: Razumjeti strukturu ribosoma, ribosomske i transportne RNA. Razumjeti karakteristike genetičkog koda ili šifre. Znati procese i faktore inicijacije, elongacije i terminacije translacije (sinteze proteina). Znati postranslacijske modifikacije proteina te razgradnju proteina (2 sata)
5. Tehnologija rekombinantne DNA: Znati svojstva i uloge restrikcijskih endonukleaze u stvaranju rekombinantnih DNA molekula. Znati ulogu i tip vektora koji se koriste u rekombinantnoj DNA tehnologiji: plazmidi, virusi, i drugi. Znati postupke selekcije uspješno transformiranih klonova. Znati postupke u izradi cDNA knjižnice. (2 sata)
6. Prijenos gena, elektroforeza nukleinskih kiselina i proteina: Znati metode unošenja strane DNA u bakterijske, biljne i animalne stanice. Razlikovati prolaznu i stabilnu gensku ekspresiju. Znati postupak izvođenja elektroforeza nukleinskih kiselina i proteina u agaroznim i poliakrilamidnim gelovima. (2 sata)
7. Umnožavanje fragmenta DNA lančanom reakcijom polimerazom, PCR, RT-PCR, RT-qPCR, sekvenciranje nukleinskih kiselina. (2 sata): Znati način i preduvjete izvođenja PCR reakcije te praktičnu primjenu. Upoznati se sa tehnikama RT-PCR i RT-qPCR. Razumjeti tehnike određivanja primarnog slijeda DNA (sekvenciranje). (2 sata)
8. Metode detekcija nukleinskih kiselina i proteina: Usvojiti principe detekcije nukleinskih kiselina putem hibridizacijskih metoda Southern i Northern blota, hibridizacije „in situ“ te DNA mikročipova. Znati osnove detekcije proteina metodom Western blot, imunoprecipitacija i imunofluoresc. (2 sata)
9. Proizvodnja transgeničnih životinja i biljaka: Znati principe proizvodnje transgeničnih miševa. Znati karakteristike Ti plazmida i proizvodnju transgeničnih biljaka. (2 sata)
10. Mutageneza, unošenje mutacija i ometanje genske ekspresije: Znati način unošenja mutacija putem mutageneze pomoću sintetičkih oligonukleotida i homologne rekombinacije. Znati tehnike protusmislene RNA, RNA interferencije, te izravne inhibicije proteina. (2 sata)
11. Mutacije DNA: Znati opisati mutacije, razlikovati mikro- i makromutacije, znati njihove posljedice na strukturu DNA i proteina. Znati mehanizme nastanka mutacija (spontanih i induciranih). Znati kako pušenje, toksini i razna zračenja uzrokuju mutacije. (2 sata)
12. Popravak DNA: Znati mehanizme popravka kojima stanice odgovaraju na oštećenja u DNA molekuli: fotoreaktivacija, djelovanje enzima alkil-transferaze, bazni i nukleotidni ekscizijski popravak, „mismatch repair“, popravak sklon greškama, SOS odgovor, postreplikacijski popravak, popravak dvolančanih lomova DNA. Odgovor stanice na oštećenje DNA. Znati bolesti koje nastaju kao posljedica deficitnog popravka DNA. (2 sata)
13. Rekombinacija i preslagivanje DNA: Znati opisati homolognu i nehomolognu rekombinaciju, gdje i kada se one javljaju. Znati proteine i molekularni mehanizama homologne rekombinacije u eukariota. Znati mehanizam rekombinacije imunoglobulinskih gena. Znati mogućnosti prijenosa genetičkog materijala i rekombinacije u bakterija: konjugacija, transdukcija i transformacija. (2 sata)
14. Kontrola genske ekspresije: Znati različite razine kontrole genske ekspresije u bakterija i eukariota. Znati kontrolu inicijacije transkripcije i procese dorade

	<p>i obrade krajeva ribosomskih, glasničkih i transportnih RNA molekula. Razlikovati doradu RNA kod prokariota i eukariota. Znati objasniti pojmove intron i egzon, „splicing“ i alternativno prekranje. (2 sata)</p> <p>15. Starenje, telomere, telomeraza: Znati temeljne molekularne karakteristike starenja. Struktura i funkcija telomera i telomeraze. Mogućnosti aktivacije telomeraze i produžavanje duljine telomera. (2 sata)</p> <p>Vježbe</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Priprema otopina, pufera i hranjivih podloga: Znati pripremiti otopine određene koncentracije i pH potrebne za izvođenje vježbi. Znati izračunati koncentracije i količine potrebnih sastojaka za pripremu otopina. Znati samostalno raditi s analitičkom vagom, pH-metrom, magnetskom miješalicom. Znati princip rada autoklava i važnost sterilnosti otopina i posuđa. • Pripremiti krutu Luria-Bertani podlogu s antibiotikom. (4 sata) 2. Izolacija genomske DNA iz biljnog tkiva. (4 sata): Znati principe, osnovne korake i ulogu pojedinih kemikalija u izolaciji DNA.. Shvatiti važnost maceracije biljnog tkiva radi oslobađanja DNA iz biljne stanice i očuvanje cjelovitosti kemijske strukture DNA u uvjetima in vitro (optimalni pH, inaktivacija nukleaza, izbjegavanje neželjenih interakcija DNA u netopljive komplekse). Znati izdvojiti DNA od ostalih staničnih sastojaka, metodom ekstrakcije u smjesi organskih otapala (znati koristiti se mikropipetama i centrifugom). Znati istaložiti DNA u smjesi soli i alkohola, primjenom centrifugiranja. Ispiranjem u otopinama alkohola pročistiti DNA, znati je pohraniti i čuvati duži vremenski period. (4 sata) 3. Elektroforeza nukleinskih kiselina na gelu agaroze: Razumjeti princip agarozne gel elektroforeze (pokretljivost nukleinskih kiselina u električnom polju), te postupak na koji se ona izvodi. • Znati pripremiti 1% agarozni gel u 1 X TAE puferu s etidijevim bromidom. • Znati pripremiti uzorke za nanošenje na gel, pravilno nanijeti uzorke na gel, znati spojiti aparaturu (elektrode kadice s izvorom napajanja). Znati vizualizirati rezultate gel elektroforeze na UV transiluminatoru, znati slikati gel i razviti sliku. Znati interpretirati rezultate. (4 sata) 4. Umnožavanje fragmenata DNA lančanom reakcijom polimerazom (PCR): Znati princip izvođenja PCR reakcije i sve komponente od kojih se sastoji reakcijska smjesa. • Izračunati i pripremiti reakcijsku smjesu (master mix) za umnožavanje dijela ribosomske DNA regije u genomskoj DNA iz biljnog materijala izoliranog u prvoj vježbi. Razumjeti princip rada termociklera i način njegovog podešavanja. i izvesti reakciju u termocikleru. • Uspješnost reakcije provjeriti gel elektroforezom u 1% gelu agaroze. • Uspješne produkte izrezati iz gela, izvagati i pohraniti na -20°C. • Zabilježiti rezultate. (4 sata) 5. Pročišćavanje molekula DNA iz fragmenta gela agaroze. (1 sat): Upoznati se sa principom pročišćavanja DNA otopine putem kolona sa silika gelom, koji se temelji na povezivanju DNA s aktivnom tvari, dok nečistoće prolaze kroz kolonu. • Otopiti izrezani komadić agaroznog gela s umnoženim DNA fragmentom, te smjesu pročistiti ispiranjem i eluiranjem preko kolona sa silika matriksom. (1 sat) 6. Ugradnja PCR fragmenta u plazmidni vektor: Znati osnove kloniranja fragmenta DNA u plazmidnom vektoru (ugradnja fragmenta DNA i njegova ligacija pomoću DNA ligaze • Pomiješati pročišćeni DNA fragment iz prethodne vježbe s TOPO plazmidom i inkubirati 30 min na sobnoj temperaturi. (1 sat) 7. Transformacija kemijski kompetentnih stanica Escherichie coli: Znati principe unošenja strane DNA u stanicu domaćina te postizanja
--	--

	<p>kompetentnog stanja u bakterija. • Transformirati kompetentne bakterijske stanice plazmidom pripremljenim u prethodnoj vježbi uz pomoć „heat shock“ metode i oporaviti bakterijske stanice u tekućem LB mediju. (1 sat)</p> <p>8. Selekcija uspješno transformiranih bakterijskih klonova: Razumjeti selekciju bakterijskih klonova uspješno transformiranih rekombinantnim plazmidom putem bijelo-plave selekcije - rezultata „inercijske inaktivacije Razumjeti važnost antibiotika, X-gala i IPTG-a. • Na krute podloge s antibiotikom pripremljene u prvoj vježbi dodati X-gal i transformirane bakterijske stanice te inkubirati na 37°C preko noći. (1 sat)</p> <p>9. Izolacija plazmidne DNA iz bakterijskih stanica: Znati karakteristike dobrih vektora. Bioinformatičkim metodama rekonstruirati restrikcijsku kartu plazmida i odabrati restrikcijskuendonukleazu. Znati principe izolacije plazmidne DNA uz pomoć lužnatog SDS-a i kalijevog acetata. • Izolirati plazmidnu DNA iz prethodno transformiranih i odabranih te preko noći namnoženih bakterijskih klonova uz pomoć lužnatog SDS-a i kalijevog acetata. (2 sata)</p> <p>10. Razgradnja DNA restrikcijskim enzimima: Znati karakteristike restrikcijskih endonukleaza. Razumjeti elektroforetsku pokretljivost DNA molekula različitoih konformacija. • Prethodno izoliranu plazmidnu DNA razgraditi enzimom EcoRI. • Rezultate analizirati gel elektroforezom u 1% gelu agaroze. • Usporediti elektroforetsku pokretljivost DNA molekula različitog oblika. (2 sata)</p> <p>11. Sekvenciranje DNA: Znati princip određivanja primarne strukture DNA Sangerovom dideoksi metodom. • Primijeniti usvojeno znanje na rješavanje zadataka i analiziranje autoradiograma i kromatograma. (3 sata)</p> <p>12. Zadaci iz područja rekombinantne DNA tehnologije. (3 sata): Steći spoznaje o primjeni restrikcijskih enzima i plazmida u rekombinantnoj DNA tehnologiji. • Riješiti zadatke iz rekombinantne DNA tehnologije. • Izraditi jednostavne restrikcijske karte.(3 sata)</p>					
Vrste izvođenja nastave:	<input checked="" type="checkbox"/> predavanja <input type="checkbox"/> seminari i radionice <input checked="" type="checkbox"/> vježbe <input type="checkbox"/> on line u cijelosti <input checked="" type="checkbox"/> mješovito e-učenje <input type="checkbox"/> terenska nastava		<input checked="" type="checkbox"/> samostalni zadaci <input checked="" type="checkbox"/> multimedija <input checked="" type="checkbox"/> laboratorij <input type="checkbox"/> mentorski rad <input type="checkbox"/> (ostalo upisati)			
Obveze studenata	<p>Student je dužan redovito pohađati sve oblike nastave (predavanja i praktične vježbe), čime ostvaruje pravo potpisa da je odslušao kolegij, te položiti pismene ispite iz oba dijela. Prisutnost na nastavi će se evidentirati svaki sat putem Obrasca „Evidencija održane nastave“. Obveza studenata je 100% pohađanja nastave iz praktikuma i 70% iz predavanja. Studenti su dužni ponijeti laboratorijsku kutu, skriptu, bilježnicu, pišaći pribor i kalkulator na praktičnu nastavu.</p>					
Praćenje rada studenata (upisati udio u ECTS bodovima za svaku aktivnost tako da ukupni broj ECTS bodova odgovara bodovnoj vrijednosti predmeta):	Pohađanje nastave	2,0	Istraživanje		Praktični rad	1,0
	Eksperimentalni rad		Referat		(Ostalo upisati)	
	Esej		Seminarski rad		(Ostalo upisati)	
	Kolokviji		Usmeni ispit		(Ostalo upisati)	
	Pismeni ispit	2,0	Projekt		(Ostalo upisati)	
Ocjenjivanje i vrjednovanje rada studenata tijekom	<p>Način vrednovanja ukupno prikupljenih bodova: Max.100 bodova = 70 bodova (predavanja) + 30 bodova (vježbe) 90% - 100% ocjena 5 (izvrstan) 78% - 89% ocjena 4 (vrlo dobar) 66% - 77% ocjena 3 (dobar) 55% - 65% ocjena 2 (dovoljan) < 55% ocjena 1 (nedovoljan). Provjera znanja gradiva iz predavanja se vrši putem</p>					

nastave i na završnom ispitu	pismenog ispita koji se sastoji od zadataka na zaokruživanje, nadopunjavanje, opisivanje i označavanje na slici. Postotak uspješno riješenih zadataka se koristi za izračunavanje ostvarenih bodova na ispitu iz predavanja (max = 70). Student je dužan riješiti minimalno 55% ispita. Provjera praktičnog znanja usvojenog na vježbama se odvija pismenim putem. Ispit se sastoji od zadataka na zaokruživanje, nadopunjavanje, opisivanje i označavanje na slici te s računskim operacijama. Postotak uspješno riješenih zadataka se koristi za izračunavanje ostvarenih bodova na ispitu iz praktičnih vježbi (max = 30). Student je dužan riješiti minimalno 60% ispita. Stopostotno pohađanje praktične nastave će se vrednovati s 3 dodatna boda.		
Obvezna literatura (dostupna u knjižnici i putem ostalih medija)	Naslov	Broj primjeraka u knjižnici	Dostupnost putem ostalih medija
	Cooper, G.M., Hausman, R.E., 2015: Stanica-molekularni pristup. Šesto izdanje, Medicinska naklada, Zagreb 2013.		
	Puizina, J. 2015: Uvod u molekularnu biologiju		web nastavni materijali
	Puizina, J. 2005: Praktikum iz molekularne biologije		Interna skripta
Dopunska literatura	<p>Metode u molekularnoj biologiji. 2007. Andreja Ambriovič Ristov (ur). Institut Ruđer Bošković.</p> <p>Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts & J. Watson: Molecular Biology of the Cell. Četvrto izdanje.. Garland Publishing, New York, 2004.</p> <p>Lodish, H., Baltimore, D., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Darnell, J: Molecular Cell Biology. (Peto izdanje). Scientific American Books, W.H.Freeman & Co. New York, 2003.</p>		
Načini praćenja kvalitete koji osiguravaju stjecanje utvrđenih ishoda učenja	Studentska anketa		
Ostalo (prema mišljenju predlagatelja)			