

NAZIV PREDMETA		Molekularna biotehnologija				
Kod	PMB707	Godina studija	1.			
Nositelj/i predmeta	prof.dr.sc. Jasna Puizina	Bodovna vrijednost (ECTS)	7			
Suradnici	doc.dr.sc. Željana Fredotović, doc.dr.sc. Ivica Šamanić	Način izvođenja nastave (broj sati u semestru)	P	S	V	T
			30	15	45	
Status predmeta	Obvezni	Postotak primjene e-učenja	10%			
OPIS PREDMETA						
Ciljevi predmeta	<p>Na predavanjima studenti će se upoznati s glavnim tehnikama i metodama molekularne biotehnologije i nekim njezinim najčešćim primjenama.</p> <p>Na seminarima studenti će kroz rješavanje problemskih i numeričkih zadataka unaprijediti svoje razumijevanje usvojenih znanja i koncepata te će usmeno obrazložiti odabrani znanstveni članak samostalno ili u grupi. Raspravljati će o nekim etičkim dilemama u molekularnoj biotehnologiji.</p> <p>U okviru praktikuma studenti će samostalno, u paru ili grupi izvoditi praktične laboratorijske eksperimente i barem jedan manji istraživački projekt.</p>					
Uvjeti za upis predmeta i ulazne kompetencije potrebne za predmet	<p>Položeni predmeti Biologija stanice, Molekularna biologija, (alternativno Molekularna i stanična biologija), Genetika, Biokemija.</p>					
Očekivani ishodi učenja na razini predmeta (4-10 ishoda učenja)	<ul style="list-style-type: none"> • Kreirati rekombinantnu DNA primjenom ključnih tehnika i metoda rekombinantne DNA tehnologije (genetičkog inženjerstva). • Analizirati ekspresiju gena različitim tehnikama • Analizirati interakcije između proteina, proteina i nukleinskih kiselina • Dizajnirati i izvesti jednostavniji eksperiment mijenjanja gena tehnikom CRISPR/Cas9 • Razumjeti kako rekombinantna DNA metodologija može biti korisna u razumijevanju funkcija pojedinih gena • Objasniti kako manipulacijama nukleinskim kiselinama i proteinima možemo kreirati nova svojstva u transgeničnim organizmima • Argumentirati rizike i koristi uporabe tehnologije rekombinantne DNA i genetički modificiranih organizama. • Koristiti znanstvenu literaturu i on-line baze podataka. • Koristiti standardnu i specijaliziranu laboratorijsku opremu 					
Sadržaj predmeta detaljno razrađen prema satnici nastave	<p>Predavanja (30 sati):</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Uvod, razvoj molekularne biotehnologije, tehnologija rekombinantne DNA, komercijalizacija 2. Restriksijski enzimi: nomenklatura, načini prepoznavanja i rezanja DNA, restriksijska karta. Ostali enzimi u molekularnom kloniranju: DNA i RNA polimeraza, DNaza, RNaza, ligaza, kinaza, fosforilaza, topoizomeraza, reverzna transkriptaza, i dr. 3. Vektori koji se koriste za kloniranje DNA: plazmidi, viralni vektori, kozmidi, umjetni bakterijski kromosom, umjetni kvašičev kromosom, umjetni ljudski kromosom, 'shuttle' vektori. 					

4. Različite metode kloniranja DNA: kloniranje pomoću restrikcijskih enzima, TA i TOPO-TA kloniranje, Hataway kloniranje.
5. Uvođenje rekombinantne DNA u stanice domaćina: transformacija, transfekcija, elektroporacija, transdukcija. Metode selekcije uspješno transformiranih stanica.
6. Biblioteke gena, izrada, umnožavanje. Metode otkrivanja rekombinantne DNA među klonovima ili u biblioteci gena (genetičke, hibridizacijske, imunološke i dr.)
7. Kloniranje eukariotskih gena, dobivanje cDNA od mRNA.
8. Analize genske ekspresije: hibridizacija po Northernu, reverzna transkripcija (RT-PCR) i PCR u stvarnom vremenu (real-time PCR ili qPCR).
9. Ekspresija rekombinantne DNA u prokariota i eukariota. Kombiniranje vektora i odgovarajućeg domaćina (bakterije, kvasci, animalne i biljne stanice). Regulirana ekspresija – inducibilna/reprimirajuća. Uporaba gena dojavljivača i fuzijskih gena. (2 sata)
10. Izolacija proteina (afinitetna kromatografija), detekcija proteina (SDS-PAGE, hibridizacija po Westernu, ELISA), lokalizacija protutijela u stanicama i tkivima.
11. Analiza interakcija među proteinima. Obaranje proteina GST-om, imunoprecipitacija. Sustav dvaju kasačevih hibrida, tandemska TAP pročišćavanje. (2 sata)
12. Imunološki sustav, protutijela i njihova najčešća primjena u bioznanostima i medicini. (2 sata)
13. Molekularna dijagnostika i proteinski terapeutici, nukleinske kiseline kao terapeutici, vakcine. (2 sata)
14. Rekombinantni mikroorganizmi. Primjena u industriji i okolišu.
15. Proizvodnja velikih količina proteina iz rekombinantnih mikroorganizama. Bakterijski rast, fermentacija, bioreaktori. (2 sata)
16. Transgenične životinje – metode. DNA mikroinjekcija, retrovirusni vektori, embrionske matične stanice, kondicionalne mutacije (Cre-loxP sistem), Crispr/Cas9 i genomska inženjerstvo, RNA interferencija. (2 sata)
17. Transgenične životinje - primjena: transgenični mišji modeli bolesti, test-sistemi, kontrola genske ekspresije i stanične smrti. Primjena u farmaciji, poljoprivredi, medicini. (2 sata)
18. Genska terapija: struktura virusa koji služe kao vektori gena: adenovirusi, retrovirusi i herpes-virusi, virusni vektori u genskoj terapiji tumora i cijepljenju, ne-virusni postupci unosa gena u stanicu, genska terapija raka, monogenetskih bolesti i u svrhu regenerativne medicine. (2 sata)
19. Transgenične biljke - metode: Ti plazmid, genska puška, inženjerstvo kloroplasta, geni-reporteri, manipulacije genskom ekspresijom, 'marker-free' transgenične biljke. (2 sata)
20. Transgenične biljke – primjena: rezistencija na herbicide, viruse, kukce, gljivice, modifikacije nutritivnog sastava, okusa i izgleda, jestive vakcine, urod i prinos. (2 sata)
21. Molekularna biotehnologija i društvo.

Seminar (15 sati):

1. Rješavanje problemskih i numeričkih zadataka. (5 sata)
2. Prezentiranje odabranih znanstvenih članak samostalno, u paru ili grupi. (6 sati)
3. Oxford debata o nekoliko odabranih etičkih dilema. (2 sata)
4. Prezentacija rezultata mini-projekata izvedenih na praktikumu ovog predmeta. (2 sata)

	<p>Praktikum (45 sati): Zamišljen je kao 4 manja projektna zadatka.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Identifikacija nepoznatog biljnog i animalnog uzorka pomoću kloniranja gena (<i>in vitro</i> i <i>in vivo</i>). Izolacija DNA, umnožavanje barr-coding sekvenci DNA: ITS regije u biljnom genomu i gena za citokrom oksidaza I (COI) u životinjskom genomu. Gel-elektroforeza, izolacija fragmenta s gela agaroze. TOPO-TA kloniranje dobivenog PCR produkta (rad s restrikcijskim enzimima i vektorima), transformacija E. coli, bijelo-plava selekcija, prekonocna kultura, izolacija plazmida. Sekvenciranje dobivenih klonova, bioinformatička analiza sekvenci, identifikacija sekvenci pomoću sličnih/identičnih u Genbank-u (on-line blastn potraga). Interpretacija rezultata. (10 sati) 2. Ekspresija rekombiniranog proteina. Rad s ekspresijskim vektorima, odabranim genima i stanicama domaćinima. Proizvodnja rekombinantnog proteina. Izolacija proteina. Detekcija i vizualizacija proteina. (10 sati) 3. Analiza genske ekspresije. Samostalni odabir gena čija se ekspresija prati i stanica (organizma). Dizajn početnica. Tretman eksperimentalnog materijala, pozitivna i negativna kontrola. Izolacija ukupne RNA, elektroforeza u denaturirajućim uvjetima, sinteza cDNA, kvantifikacija transkripcije metodom PCR-a u stvarnom vremenu (Real-time PCR). (12 sati) 4. Primjena tehnologije CRISPR/Cas9. Dizajn sgRNA za odabrani gen. Izrada rekombinantnog vektora, provjera umetka (inserta) u vektoru, transformacija (ili transfekcija) stanica domaćina, interpretacija rezultata (13 sati) 					
Vrste izvođenja nastave:	<input checked="" type="checkbox"/> predavanja <input checked="" type="checkbox"/> seminari i radionice <input checked="" type="checkbox"/> vježbe <input type="checkbox"/> <i>on line</i> u cijelosti <input type="checkbox"/> mješovito e-učenje <input type="checkbox"/> terenska nastava		<input checked="" type="checkbox"/> samostalni zadaci <input type="checkbox"/> multimedija <input checked="" type="checkbox"/> laboratorij <input type="checkbox"/> mentorski rad <input type="checkbox"/> (ostalo upisati)			
Obveze studenata	Studenti su dužni prisustvovati najmanje 70% od predviđenih predavanja. Također su dužni održati seminar, izvesti sve laboratorijske vježbe i napisati pisano izvješće.					
Praćenje rada studenata (<i>upisati udio u ECTS bodovima za svaku aktivnost tako da ukupni broj ECTS bodova odgovara bodovnoj vrijednosti predmeta</i>):	Pohađanje nastave	1	Istraživanje		Praktični rad	2
	Eksperimentalni rad	1	Referat		(Ostalo upisati)	
	Esej		Seminarski rad	1	(Ostalo upisati)	
	Kolokviji		Usmeni ispit		(upisati)	
	Pismeni ispit	2	Projekt		Ostalo (Ostalo upisati)	
Ocjenjivanje i vrjednovanje rada studenata tijekom nastave i na završnom ispitu	Aktivno sudjelovanje studenata u nastavi boduje se na sljedeći način: nedovoljan (1) student uopće aktivno ne sudjeluje nastavi; dovoljan (2) student sudjeluje aktivno u nastavi tek nakon što mu se postavi pitanje, dobar (3) student povremeno aktivno sudjeluje u nastavi ali teško donosi samostalne zaključke; vrlo dobar (4) student često aktivno sudjeluje u nastavi i često donosi samostalne zaključke; odličan (5) student gotovo uvijek aktivno sudjeluje u nastavi, kritički razmišlja i samostalno donosi zaključke.					

	<p>Pismeni ispit se smatra položenim ukoliko studenti postignu najmanje 55% od ukupnog broja bodova. Bodovanje: <55% student nije zadovoljio; 55-67% dovoljan (2); 68-78% dobar (3); 79-89% vrlo dobar (4); 90-100% izvrstan (5). Konačna ocjena predstavlja kombinaciju pojedinih ocjena 1) aktivnog sudjelovanja u nastavi, 2) praktičnog rada, 3) seminarskog rada, 4) pismenog ispita.</p>		
Obvezna literatura (dostupna u knjižnici i putem ostalih medija)	<p style="text-align: center;">Naslov</p>	<p style="text-align: center;">Broj primjeraka u knjižnici</p>	<p style="text-align: center;">Dostupnost putem ostalih medija</p>
	<ul style="list-style-type: none"> B.R., Glick, C.L., Patten: Molecular biotechnology – Principles and Applications of Recombinant DNA. 2017. American Society of Microbiology. 	1	-
	<ul style="list-style-type: none"> A. Ambriović Ristov (ur): Metode u molekularnoj biologiji, Institut Ruđer Bošković, 2007. 	2	-
	<ul style="list-style-type: none"> Power point prezentacije s predavanja u formi PDF-a Interna skripta s uputama i protokolima za praktikume 	-	
	<ul style="list-style-type: none"> Odabrani originalni i pregledni znanstveni članci 	-	Da
Dopunska literatura	<ul style="list-style-type: none"> Renneberg, Biotechnology for Beginners, Academic Press, 2008. Clark, Pazdernik, Biotechnology, Academic Press, 2012. Thieman, Palladino, Introduction to Biotechnology, Pearson, 2014. 		
Načini praćenja kvalitete koji osiguravaju stjecanje utvrđenih ishoda učenja	<p>Praćenje kvalitete i uspješnosti obavljat će se na tri razine: (1) sveučilišnoj, (2) fakultetskoj, pomoću Povjerenstva za kontrolu kvalitete nastave, (3) nastavničkoj razini.</p>		
Ostalo (prema mišljenju predlagatelja)			