

Informačný list predmetu

Akademický rok 2024/2025

Vysoká škola	Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave
Fakulta	FPV UCM
Kód predmetu	KBT/bd349/21
Názov predmetu	metódy a techniky génových manipulácií
Rozsah	2P
Počet kreditov	3
Vyučujúci	prof. Mgr. Daniel Mihálik, PhD. (prednášajúci)

Podmienky na absolvovanie predmetu

Úspešné absolvovanie predmetu je podmienené preskúšaním vedomostí formou 2 testov v priebehu semestra, pričom oba písomné testy musia byť ohodnotené minimálnym hodnotením E.

Výsledná evaluácia znalostí bude preverená formou ústnej skúšky, pre úspešné absolvovanie predmetu treba dosiahnuť minimálne hodnotenie na úrovni E.

Celkové hodnotenie predmetu:

A 1,0 výborne – vynikajúce výsledky len s minimálnymi chybami < 92-100 % >;

B 1,5 veľmi dobre – nadpriemerné výsledky s menšími chybami < 83-91 % >;

C 2,0 dobre – vcelku dobré, priemerné výsledky < 74-82 % >;

D 2,5 uspokojivo – dobré výsledky, ale vyskytujú sa významné chyby < 65-73 % >;

E 3,0 dostatočne – výsledky vyhovujú minimálnym kritériám < 56-64 % >;

FX* 4,0 nedostatočne – absolvovanie predmetu si vyžaduje vynaložiť ešte značné úsilie a množstvo práce zo strany študenta < 0-55 % >.

Záverečné hodnotenie

Celkové hodnotenie predmetu:

A 1,0 výborne – vynikajúce výsledky len s minimálnymi chybami < 92-100 % >; B 1,5 veľmi dobre – nadpriemerné výsledky s menšími chybami < 83-91 % >; C 2,0 dobre – vcelku dobré, priemerné výsledky < 74-82 % >; D 2,5 uspokojivo – dobré výsledky, ale vyskytujú sa významné chyby < 65-73 % >; E 3,0 dostatočne – výsledky vyhovujú minimálnym kritériám < 56-64 % >; FX* 4,0 nedostatočne – absolvovanie predmetu si vyžaduje vynaložiť ešte značné úsilie a množstvo práce zo strany študenta < 0-55 % >.

Výsledky vzdelávania

Absolventi získajú nasledovné vedomosti:

- dokážu definovať rekombinantnú DNA, teoreticky ju dokáže pripraviť a využiť ju v svojej budúcej laboratórnej praxi
- dosiahnu pokročilú úroveň znalostí z prístupov, metodík a poznatkov klonovania DNA, génových manipulácií pri všetkých úrovniach organizmov
- dokáže definovať pojmy, má prehľad vo využití molekulárno – biologických poznatkov v oblasti metód a techník génových manipulácií
- vie vysvetliť a správnym spôsobom využiť získané poznatky a príslušné postupy pri génových manipuláciách

- vie voliť správne a najjednoduchšie postupy pre dosiahnutie správneho výsledku
- vie konfrontovať svoje postupy a následne aj zistenia v súlade s vedeckými databázami zaoberajúcich sa relevantnou problematikou

Absolvent dosiahne kompetentnosť na vytvorenie hypotézy, dizajn experimentu a realizáciu experimentu v oblasti génových manipulácií

- vie konfrontovať získané vedomosti s rôznymi skupinami odborníkov
- vie vyjadriť kritiku v danej situácii
- získava zodpovednosť pri využití svojich poznatkov správnym smerom
- absolvent získava absolvovaním predmetu samostatnosť komunikovať v relevantnej odbornej sfére
- absolvent vie odolávať a zvládať nápor pri stresových situáciách spôsobom akceptovateľným širokou verejnosťou
- absolvent dokáže uvažovať na vlastných konaniach

Stručná osnova predmetu

Problematica štúdia predmetu obsahuje:

1. Oboznámenie participantov so základným vybavením laboratória génových manipulácií,
2. Rekombinantná DNA – definícia, Escherichia coli – charakteristika a využitie v gen. manipuláciách, stručný popis ataku E. coli prostredníctvom bakteriofágu (3 varianty), RM systém, stručne restriktčné endonukleázy (typy I-IV)
3. Úvod do gén. manipulácií – základná dogma, molekulárnej biológie, štruktúra nukleových kyselín, typy nukleových kyselín, organizácia génov – eukaryotický, prokaryotický,
4. Génová expresia, stručný popis transkripcie, translácie, popis genetického kódu, vysvetlenie pojmu codon usage, posttranslačné modifikácie
5. Plazmidy – E.coli ako nástroj pre gén. manipulácie, formy plazmidovej DNA, základná charakteristika plazmidu, vysvetlenie pojmu „high-copy plasmids“, rozdelenie plazmidov – konjugatívne, nekonjugatívne, typy (skupiny plazmidov), replikácia plazmidovej DNA-stručne, plazmidová kompatibilita (inkompatibilita), charakteristika plazmidu ako vektoru, plazmidy ako syntetické vektory, selekčné markery, popis plazmidu pBR322, popis rady plazmidov pUC, čo je to multiklonálne miesto?, modro biela selekcia – α -komplementácia, expresné plazmidy, vysvetlenie pojmu shuttle vector.
6. Bakteriálna infekcia – bakteriofágom λ , charakteristika bakteriofágu, životný cyklus bakteriofágu λ , charakterizácia DNA bakteriofágu λ , popis lytického a lyzogénneho stavu bakteriofágu λ . Vektory odvodené od bakteriofágu λ , kozmidy, artificálne chromozómy, transformácia, transfekcia, iné formy prenosu genetickej informácie.
7. Enzýmy využívané v molekulárnej biológii pri genetických manipuláciách, restriktčné endonukleázy – charakteristika (typ I-IV), podrobný popis enzýmov typu II, nomenklatúra RE, príklady RE typu II, typy štiepenia prostredníctvom RE, enzýmy modifikujúce DNA ich rozdelenie a popis ich aktivity a využitia pri génových manipuláciách, príklady – nukleázy, polymerázy, ligázy, terminálne transferázy, fosfatázy, kinázy
8. Polymerázová reťazová reakcia, všeobecná charakteristika polymeráz, fázy syntézy DNA, popis originality termostabilnej polymerázy, popis fáz a zložiek PCR, prístrojová technika pre PCR, navrhovanie primerov (popis primer dimer), charakteristika multiplex PCR, Hot Start DNA polymerase PCR, High-fidelity PCR (PCR s vysokou mierou presnosti), Nested PCR, Asymetrická PCR, Assembly PCR, Touch down PCR, Site directed mutagenesis PCR, TA klonovanie, klonovanie PCR produktov iné ako TAKlonovanie, RT – PCR – kombinácia reverznej transkripcie a PCR, in situ PCR, PCR-RACE, detekcia PCR produktov Real time PCR, Rekombinantné knižnice
9. Polymerázová reťazová reakcia, všeobecná charakteristika, real time PCR (RT-PCR, qPCR) – popis charakteristika, využitie, princípy detekcie real time PCR, rozdiel medzi jednotlivými princípmi, real time PCR – postupnosť krokov, rozdiel medzi klasickou PCR a real time PCR, rekombinantné DNA knižnice – základné typy a ich popis, charakteristika a popis genomickej knižnice a cDNA knižnice, klonovanie a skríning rekombinantných knižníc, restriktčné mapovanie, detekcia fragmentov.
10. Hybridizačné techniky – hybridizácia DNA, RNA, DNA sondy, RNA sondy, druhy značenia sód (prób),

príklady značenia prób, rádioaktívne a nerádioaktívne značenie, Southern hybridizácia, popis princípu, využitie, typy transferov, Northern hybridizácia, popis a využitie, colony blotting, in situ hybridizácia charakterizácia, western blotting – popis, vyvetenie princípu, detekcia imunokomplexov

11. Sekvenovanie DNA – popis a vysvetlenie princípu pre Sangerovo sekvenovania, popis a charakteristika sekvenovania podľa Maxam-Gilbert metódy, detekcia produktov, automatizácia sekvenovania, porovnanie metód sekvenovania.

12. Genetická transformácia eukaryontov a príprava transgénnych eukaryontov.

Odporúčaná literatúra

Laboratórne cvičenia z molekulárnej biológie a biotechnológií/ D. Mihálik, ISBN 978-80 8105-940-7, počet strán 124., vydavateľstvo UCM v Trnave, 124 strán, (2018).

Genetically Engineered Cereals for the Production of Polyunsaturated Fatty Acids / Milan Čertík ... [et al.]. In: Food Lipids : chemistry, nutrition, and biotechnology / Casimir C. Akoh. - Boca Raton : Taylor & Francis, 2017. - ISBN 9781498744850. - s. 997-1010. [Spoluautori: Tatiana Klempová - Daniel Mihálik - Katarína Ondreičková - Marcela Gubišová - Ján Kraic]

Nicholl, D.S.T. (2008): An Introduction to Genetic Engineering, ISBN -11:978-0-511-39858-2, Cambridge University Press.

Brown, T.A. (2007): Klonování genů a analýza DNA, ISBN-978-80-244-1719-6, Univerzita Palackého.

Linacre, A.M.T. and Tobe, S.T. (2013): Wildlife DNA Analysis, Application in Forensic Science, ISBN-978-0-470-66596-1, Wiley and Sons.

Jazyk, ktorého znalosť je potrebná na absolvovanie predmetu

1. slovenský jazyk

2. anglický jazyk

Poznámky

Povinný predmet. Profilový predmet.

2 hodiny prednášok týždenne.

Vzdelávacia činnosť sa uskutočňuje prezenčnou metódou.