

Genetyka z inżynierią genetyczną D 2016/2017

Wymagania na wejściówki dla działu inżynieria genetyczna:

Ćwiczenia 1 (zajęcia nr 8)

1. Budowa genu eukariotycznego transkrybowanego przez polimerazę RNA II i etapy ekspresji mRNA: struktura genu (promotor, sekwencje transkrybowane, terminator – miejsce cięcia i poliadenylacji), etapy dojrzewania mRNA (różnice w strukturze prekursora i dojrzałej cząsteczki mRNA, 5' i 3' UTR, introny, egzony, składanie RNA, CDS, poliadenylacja).
2. Technika PCR: zasada łańcuchowej reakcji polimerazy DNA, kierunek syntezy DNA, komplementarność do matrycy starterów do reakcji PCR.
3. Podstawowe narzędzia inżynierii genetycznej: pojęcie plazmidu, funkcja enzymów restrykcyjnych i ligazy.

Ćwiczenia 2 (zajęcia nr 9)

1. Materiał z poprzednich zajęć.
2. Klonowanie DNA: wektory bakteryjne i bifunkcyjne wektory np. drożdżowo-bakteryjne, pojęcie markera selekcyjnego, sposoby selekcji pozytywnych klonów (alpha-komplementacja LacZ, selekcja „biało-niebieskie” z wykorzystaniem X-gal i IPTG), pojęcie ori replikacji, enzymy restrykcyjne klasy II.
3. Wykorzystanie techniki PCR do kierowanej mutagenyzy.

Ćwiczenia 3 (zajęcia nr 10)

1. Materiał z poprzednich zajęć.
2. Zjawisko rekombinacji homologicznej i nie homologicznej, crossing-over.
3. Sposoby dysrupcji genów u drożdży i roślin.
4. Pojęcie hybrydyzacji kwasów nukleinowych i immunodetekcji, techniki wykrywania ilościowego i jakościowego makrocząsteczek w biologii molekularnej: Southern-blot (DNA-DNA), northern-blot (RNA-DNA lub RNA-RNA) i western-blot (immunodetekcja białek na filtrach).
5. Pojęcie genów reporterowych i sposoby ich wykorzystania.

Ćwiczenia 4 (zajęcia nr 11)

1. Materiał z poprzednich zajęć.
2. Klasyczne i metody sekwencjonowania DNA nowej generacji (NGS): metoda Sanger, pojęcie masowego, równoległego sekwencjonowania (bez wnikania w techniczne detale poszczególnych metod NGS). Strategie sekwencjonowania genomów, różnice między pojęciami banku genów i komputerowej bazy sekwencji DNA.
3. Pojęcie odwrotnej transkrypcji i RT-PCR, cDNA.
4. Ekspresja heterologiczna białek: wektory ekspresyjne, promotory regulowane, chromatografia powinowactwa (np. znacznik 6xHIS – złoże z jonami niklu).