



Karta przedmiotu

Nazwa i kod przedmiotu	TECHNIKI AMPLIFIKACJI KWASÓW NUKLEINOWYCH, PG_00039061						
Kierunek studiów	Biotechnologia						
Data rozpoczęcia studiów	luty 2021 r.	Rok akademicki realizacji przedmiotu	2021/2022				
Poziom kształcenia	II stopnia	Grupa zajęć	Grupa zajęć fakultatywnych Grupa zajęć powiązanych z prowadzonymi badaniami naukowymi w dziedzinie nauki związanej z kierunkiem - profil ogólnoakademicki				
Forma studiów	stacjonarne	Sposób realizacji	na uczelni				
Rok studiów	1	Język wykładowy	polski				
Semestr studiów	2	Liczba punktów ECTS	5.0				
Profil kształcenia	ogólnoakademicki	Forma zaliczenia	egzamin				
Jednostka prowadząca	Wydział Chemiczny -> Katedra Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii						
Imię i nazwisko wykładowcy (wykładowców)	Odpowiedzialny za przedmiot	dr hab. Beata Krawczyk					
	Prowadzący zajęcia z przedmiotu	dr hab. Beata Krawczyk Magdalena Burzyńska					
Formy zajęć i metody nauczania	Forma zajęć	Wykład	Ćwiczenia	Laboratorium	Projekt	Seminarium	RAZEM
	Liczba godzin zajęć	30.0	0.0	45.0	0.0	0.0	75
	W tym liczba godzin zajęć na odległość: 0.0						
Techniki amplifikacji kwasów nukleinowych -2021-2022 - Moodle ID: 17385 https://enauczanie.pg.edu.pl/moodle/course/view.php?id=17385							
Aktywność studenta i liczba godzin pracy	Aktywność studenta	Udział w zajęciach dydaktycznych, objętych planem studiów	Udział w konsultacjach	Praca własna studenta	RAZEM		
	Liczba godzin pracy studenta	75	16.0	34.0	125		
Cel przedmiotu	Celem przedmiotu jest zapoznanie studenta z technikami amplifikacji kwasów nukleinowych, które mogą być zastosowane jako podstawowe narzędzia w diagnostyce medycznej, przemyśle spożywczym i biotechnologii.						

Efekty uczenia się przedmiotu	Efekt kierunkowy	Efekt z przedmiotu	Sposób weryfikacji i oceny efektu
	[K7_W12] ma poszerzoną i pogłębioną wiedzę dotyczącą metod diagnostycznych i analitycznych w zakresie swojej specjalności ze szczególnym uwzględnieniem diagnostyki molekularnej i mikrobiologicznej	<p>Student zna podstawy organizacji laboratorium amplifikacji kwasów nukleinowych. Student rozumie zasadę działania PCR, dyskutuje teorię i skład PCR (wyjaśnia: cykliczność, ekspotencjalność, profil temperaturowo-czasowy, mechanizm działania polimerazy DNA w procesie "in vitro" amplifikacji) oraz ogólne zastosowanie PCR. Student rozumie konieczność stosowania kontroli jakości w technikach amplifikacji kwasów nukleinowych w diagnostyce i niebezpieczeństwo kontaminacji. Student prezentuje alternatywne metody amplifikacji kwasów nukleinowych i rozumie ich zastosowanie. Student rozumie zasadę działania PCR, dyskutuje teorię i skład PCR (wyjaśnia: cykliczność, ekspotencjalność, profil temperaturowo-czasowy, mechanizm działania polimerazy DNA w procesie "in vitro" amplifikacji) oraz ogólne zastosowanie PCR. Student potrafi przygotować PCR - dodać odpowiednie składniki mieszaniny reakcyjnej. Student jest świadomy możliwości kontaminacji próbki. Student potrafi optymalizować reakcję PCR. Student rozumie problem i potrafi go rozwiązać, gdy nie pojawia się produkt PCR, pojawia się wiele niespecyficzných produktów, pojawiają się „smiry”, pojawiają się słabe (niewyraźne) produkty. Student potrafi zaprojektować startery. Student potrafi korzystać z programów i baz danych do projektowania starterów. Student potrafi zaprojektować i zoptymalizować multiplex PCR. Student nabywa umiejętności precyzyjnej pracy w skali mikro.</p>	[SU1] Ocena realizacji zadania [SK3] Ocena umiejętności organizacji pracy [SU2] Ocena umiejętności analizy informacji [SU4] Ocena umiejętności korzystania z metod i narzędzi
	[K7_U11] potrafi wybrać i zastosować metody diagnostyczne i analityczne w zakresie swojej specjalności ze szczególnym uwzględnieniem diagnostyki molekularnej i mikrobiologicznej	Znajomość różnych technik amplifikacji DNA i RNA w zależności od problemu badawczego.	[SU2] Ocena umiejętności analizy informacji
	[K7_K04] potrafi samodzielnie rozwiązywać problemy i wykonywać zadania; potrafi samodzielnie formułować pytania służące rozwiązaniu postawionego problemu lub zadania; potrafi zaplanować wykonanie większego zadania przez podział na zadania cząstkowe i sporządzenie odpowiedniego harmonogramu	Student rozumie, że techniki amplifikacji kwasów nukleinowych wymagają optymalizacji. Student potrafi przeprowadzić ten proces.	[SK5] Ocena umiejętności rozwiązywania problemów występujących w praktyce

Treści przedmiotu	<p>Wykłady: Dodatek strony testów opartych o kwasy nukleinowe (NAT). Metody amplifikacji targetu. Organizacja laboratorium amplifikacji kwasów nukleinowych Historia techniki PCR. Zasada działania (pracy) PCR, kinetyka reakcji, pierwsze kroki w nastawianiu PCR, analiza produktów amplifikacji. Podstawy PCR – reagenty i urządzenia do PCR (termocyklery): matryce do PCR (kwasy nukleinowe), odczynniki (dNTP, Mg²⁺), bufony do PCR –skład, startery oligonukleotydowe, polimerazy do PCR (właściwości). Przygotowanie matrycy do PCR i inhibitory. Optymalizacja PCR. Rozwiązywanie problemów, substancje wpływające na efektywność PCR: inhibicja i wzmacnianie. HOT-start PCR. Touchdown PCR. Strony dodatnie stosowania PCR i ograniczenia (problemy z kontaminacją, zwalczanie i zapobieganie, kontrole w reakcji PCR). Poprawa specyficzności reakcji PCR. Wewnętrzny (zagnieżdżony) PCR (nested PCR) podnosi czułość reakcji. Złożony PCR (multiplex PCR). Asymetryczny PCR w przygotowywaniu ssDNA do sekwencjonowania. Analiza ekspresji genów w wykorzystaniem RT-PCR, semi-ilościowy i ilościowy PCR. Kompetytywny PCR. Allelo-specyficzna amplifikacja (ASA). Szybka amplifikacja końców cDNA (RACE). Metoda T-RFLP do badania mikroorganizmów środowiskowych. Podstawy Real-time PCR. Genotypowanie z zastosowaniem RAPD (przypadkowe amplifikowanie polimorficznego DNA). Metody oparte o ligację adaptorów oligonukleotydowych i PCR (LM PCR). Technika LAMP. Zróżnicowana liczba tandemowych powtórzeń w badaniach tożsamości. Zastosowanie PCR w diagnostyce molekularnej Alternatywne techniki amplifikacji kwasów nukleinowych (NASBA, TMA, SDA, MDA, OLA). Zastosowanie polimerazy Phi29. Metody amplifikacji sygnału (bdDNA, hybryd capture assay) i metody amplifikacji sondy.</p> <p>Laboratoria: Strategia optymalizacji reakcji PCR: optymalizacja temperatury przyłączania starterów, stężenia DNA - badanie czułości reakcji, optymalizacja dNTP i Mg²⁺, składu buforu do PCR. Badanie substancji wpływających na PCR: inhibitory i wzmacniacze. Inhibicja pochodząca od odczynników podczas izolacji DNA (proteinaza, fenol, SDS, EDTA, materiał biologiczny-krew). Efekt inhibicji określonego stężenia SDS na aktywność polimerazy i znoszenie działania hamującego SDS przez Tween20. Ocena efektywności działania wzmacniaczy (podnoszenie wydajności PCR z użyciem odpowiedniego panelu wzmacniaczy) Multiplex PCR - wykrywanie dwóch różnych regionów genomu w jednej próbówce - optymalizacja.</p>											
Wymagania wstępne i dodatkowe	Zaliczone przedmioty: Mikrobiologia, Biologia molekularna											
Sposoby i kryteria oceniania osiągniętych efektów uczenia się	<table border="1" data-bbox="448 844 1487 972"> <thead> <tr> <th data-bbox="448 844 794 880">Sposób oceniania (składowe)</th> <th data-bbox="794 844 1141 880">Próg zaliczeniowy</th> <th data-bbox="1141 844 1487 880">Składowa oceny końcowej</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="448 880 794 911">wykład</td> <td data-bbox="794 880 1141 911">60.0%</td> <td data-bbox="1141 880 1487 911">50.0%</td> </tr> <tr> <td data-bbox="448 911 794 972">laboratoria- sprawozdania, kolokwium</td> <td data-bbox="794 911 1141 972">60.0%</td> <td data-bbox="1141 911 1487 972">50.0%</td> </tr> </tbody> </table>			Sposób oceniania (składowe)	Próg zaliczeniowy	Składowa oceny końcowej	wykład	60.0%	50.0%	laboratoria- sprawozdania, kolokwium	60.0%	50.0%
Sposób oceniania (składowe)	Próg zaliczeniowy	Składowa oceny końcowej										
wykład	60.0%	50.0%										
laboratoria- sprawozdania, kolokwium	60.0%	50.0%										
Zalecana lista lektur	<table border="1" data-bbox="448 978 1487 1648"> <tbody> <tr> <td data-bbox="448 978 794 1182">Podstawowa lista lektur</td> <td colspan="2" data-bbox="794 978 1487 1182"> 1. Krawczyk B., Kur J. Diagnostyka molekularna w mikrobiologii. Podręcznik, Wyd. Politechnika Gdańska, ISBN 978-83-7348-237-1. 2. Krawczyk B., Kotłowski R., Stojowska K., Szemiako K. Podstawy Techniki PCR - ćwiczenia laboratoryjne. </td> </tr> <tr> <td data-bbox="448 1182 794 1339">Uzupełniająca lista lektur</td> <td colspan="2" data-bbox="794 1182 1487 1339"> 1. PCR: M.McPherson & S.Moller; 2006; 2.PCR: Clinical Diagnostics and Research. A. Rolfs, I. Schuller, U. Finckh, I. Weber-Rolfs; 3.Roche Applied Science; 4. Kalkulacja Tm dla starterów: http://www.roche-applied-science.com/blenchmate; 5. http://www.invitrogen.com; 6. http://blast.ncbi.nlm.nih.gov; 7. http://insilico.ehu.es/ 8. http://molbiol-tools.ca/PCR.htm </td> </tr> <tr> <td data-bbox="448 1339 794 1648">Adresy eZasobów</td> <td colspan="2" data-bbox="794 1339 1487 1648"> Uzupełniające http://blast.ncbi.nlm.nih.gov - projektowanie starterów https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5243913/ - doi: 10.1007/s13353-016-0371-4; J Appl Genet. 2017; 58(1): 133–142. Modified DNA polymerases for PCR troubleshooting Marta Špibida, Beata Krawczyk, corresponding author Marcin Olszewski, and Józef Kur http://insilico.ehu.es - analiza filogenetyczna - program PyElph1.3 wersia http://www.roche-applied-science.com/blenchmate - Rozwiązywanie problemów związanych z PCR </td> </tr> </tbody> </table>			Podstawowa lista lektur	1. Krawczyk B., Kur J. Diagnostyka molekularna w mikrobiologii. Podręcznik, Wyd. Politechnika Gdańska, ISBN 978-83-7348-237-1. 2. Krawczyk B., Kotłowski R., Stojowska K., Szemiako K. Podstawy Techniki PCR - ćwiczenia laboratoryjne.		Uzupełniająca lista lektur	1. PCR: M.McPherson & S.Moller; 2006; 2.PCR: Clinical Diagnostics and Research. A. Rolfs, I. Schuller, U. Finckh, I. Weber-Rolfs; 3.Roche Applied Science; 4. Kalkulacja Tm dla starterów: http://www.roche-applied-science.com/blenchmate ; 5. http://www.invitrogen.com ; 6. http://blast.ncbi.nlm.nih.gov ; 7. http://insilico.ehu.es/ 8. http://molbiol-tools.ca/PCR.htm		Adresy eZasobów	Uzupełniające http://blast.ncbi.nlm.nih.gov - projektowanie starterów https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5243913/ - doi: 10.1007/s13353-016-0371-4; J Appl Genet. 2017; 58(1): 133–142. Modified DNA polymerases for PCR troubleshooting Marta Špibida, Beata Krawczyk, corresponding author Marcin Olszewski, and Józef Kur http://insilico.ehu.es - analiza filogenetyczna - program PyElph1.3 wersia http://www.roche-applied-science.com/blenchmate - Rozwiązywanie problemów związanych z PCR	
Podstawowa lista lektur	1. Krawczyk B., Kur J. Diagnostyka molekularna w mikrobiologii. Podręcznik, Wyd. Politechnika Gdańska, ISBN 978-83-7348-237-1. 2. Krawczyk B., Kotłowski R., Stojowska K., Szemiako K. Podstawy Techniki PCR - ćwiczenia laboratoryjne.											
Uzupełniająca lista lektur	1. PCR: M.McPherson & S.Moller; 2006; 2.PCR: Clinical Diagnostics and Research. A. Rolfs, I. Schuller, U. Finckh, I. Weber-Rolfs; 3.Roche Applied Science; 4. Kalkulacja Tm dla starterów: http://www.roche-applied-science.com/blenchmate ; 5. http://www.invitrogen.com ; 6. http://blast.ncbi.nlm.nih.gov ; 7. http://insilico.ehu.es/ 8. http://molbiol-tools.ca/PCR.htm											
Adresy eZasobów	Uzupełniające http://blast.ncbi.nlm.nih.gov - projektowanie starterów https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5243913/ - doi: 10.1007/s13353-016-0371-4; J Appl Genet. 2017; 58(1): 133–142. Modified DNA polymerases for PCR troubleshooting Marta Špibida, Beata Krawczyk, corresponding author Marcin Olszewski, and Józef Kur http://insilico.ehu.es - analiza filogenetyczna - program PyElph1.3 wersia http://www.roche-applied-science.com/blenchmate - Rozwiązywanie problemów związanych z PCR											
Przykładowe zagadnienia/ przykładowe pytania/ realizowane zadania	1. Od czego zależy wydajność reakcji amplifikacji techniką PCR? 2. Rozwiązywanie problemów związanych z PCR.											
Praktyki zawodowe w ramach przedmiotu	Nie dotyczy											