


Kod przedmiotu:	1400-216BKWN	Kod Erasmus:	
Nazwa przedmiotu:	Białka i kwasy nukleinowe		
Jednostka:	Wydział Biologii		
Grupy:	Kierunek: Biotechnologia Specjalność: Biotechnologia molekularna i biotechnologia medyczna		
Liczba godzin:	90 godzin		
Język prowadzenia:	polski		
Rodzaj przedmiotu:	fakultatywne		
Tryb prowadzenia:	w sali		
Zakres tematów:	<p>Tematyka poszczególnych ćwiczeń:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Oczyszczanie lizozymu z białka jaja kurzego. Ćwiczenie zawiera elementy klasycznej kilkietapowej procedury oczyszczania białek (uzyskanie materiału biologicznego i wyodrębnianie frakcji bogatej w oczyszczane białko, różnicowe wytrącanie, dializa, chromatografia jonowymienna, sączenie molekularne, elektroforeza białka w żelu). Porównanie wydajności czyszczenia między systemem zautomatyzowanym a ręcznym wykonaniem oczyszczania.</li><li>2. Oczyszczanie ludzkiego czynnika splicingowego z rodzin białek SR z komórek bakterii <i>Escherichia coli</i> oraz komórek owadzych. Ćwiczenie wykorzystuje nowoczesne złoża stosowane w chromatografii powinowactwa, umożliwiające oczyszczenie białka w jednoetapowej procedurze. Do oczyszczanego białka dodane są metodami inżynierii genetycznej znacznik: krótka sekwencja aminokwasowa (6xHis). Wiąże się ona swoiście do jonów niklu, zarówno podczas izolacji w warunkach denaturujących jak i natywnych. W ćwiczeniu wykonywane są oba rodzaje preparatyki. Różnice między białkiem wyrażanym w jednym i drugim systemie są pokazane przy pomocy detekcji immunologicznej z zastosowaniem przeciwciał rozpoznających ufosforylowaną formę białka.</li><li>3. Sporządzenie ekstraktu z komórek HeLa i oznaczenie aktywności topoizomerazy I <i>in vitro</i>. Ćwiczenie to przedstawia prostą metodę ekstrakcji białek z komórek człowieka pochodzących z hodowli komórek. Ilustruje także metodę badania aktywności enzymatycznej topoizomerazy I, która ma właściwości "relaksowania" superhelikalnego DNA. Wyniki elektroforezy DNA w żelu agarozowym pozwalają ocenić aktywność enzymatyczną tego enzymu w otrzymanym preparacie.</li><li>4. Oczyszczanie ludzkiej rekombinowanej topoizomerazy I, wyrażanej w systemie bakulowirusowym, z użyciem chromatografii jonowymiennej. Ćwiczenie jest przykładem oczyszczania w zautomatyzowanym systemie FPLC, a zarazem przykładem ekspresji w komórkach owadzych.</li><li>5. Sporządzenie lizatu komórek drożdżowych kilkoma metodami – porównanie wydajności ekstrakcji białka i aktywności enzymatycznej beta-galaktozydazy. Ćwiczenie umożliwia poznanie specyfiki izolacji białek z komórek drożdżowych.</li></ol>		

Literatura:

Hames, B.D. i Hooper, N.M. (2007) Krótkie wykłady: biochemia. PWN, Warszawa.

Kłyszajko-Stefanowicz, L., red. (1999) Ćwiczenia z biochemii. PWN, Warszawa.

Autor anonimowy (1998) Protein purification handbook. Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala. (do wglądu z Zakładzie Biologii Molekularnej lub na stronie [www.apbiotech.com](http://www.apbiotech.com))

## Efekty uczenia:

### Biotechnologia – Biotechnologia molekularna

Ma pogłębioną wiedzę w wybranych obszarach biotechnologii mikroorganizmów oraz inżynierii komórkowej na temat wyrażania i izolacji białek rekombinowanych, a także izolacji ze źródeł naturalnych. (S2\_W01)  
Zna zasady planowania badań oraz stosowania różnych narzędzi badawczych przy wyrażaniu i oczyszczaniu białek. (S2\_W02)

Ma wiedzę dotyczącą samodzielnego planowania i prowadzenia prac doświadczalnych, krytycznej analizy wyników i ich opracowywania w formie nadającej się do dyskusji z prowadzącym. (S2\_W04, S2\_K01)

Zna słownictwo fachowe w języku angielskim w stopniu umożliwiającym korzystanie z literatury naukowej. (S2\_U02)

Wykorzystuje zaawansowane techniki badawcze, właściwe dla kierunku biotechnologia zakładające oczyszczanie aktywnych preparatów białkowych. (S2\_W04, S2\_W05)

Potrafi zastosować właściwą technikę frakcjonowania materiału biologicznego i odpowiednie techniki chromatograficzne. (S2\_W05)

Umie ocenić stopień czystości preparatu, jego potencjalne zastosowania, a w przypadku białek enzymatycznych umie oznaczyć aktywność. (S2\_W05)

Wyciąga wnioski co do powodzenia wykonanego eksperymentu. (S2\_W02, S2\_K01)

Pracując w dwuosobowych zespołach samodzielnie planuje i przeprowadza zadania badawcze a następnie omawia wyniki. (S2\_K03)

Jest odpowiedzialny za powierzony zakres prac badawczych, za pracę własną i innych. (S2\_K04)

Wykazuje odpowiedzialność za ocenę zagrożeń wynikających ze stosowanych technik badawczych i tworzenie warunków bezpiecznej pracy. (S2\_K04)

### Biotechnologia – Biotechnologia medyczna

Ma pogłębioną wiedzę w wybranych obszarach biotechnologii mikroorganizmów oraz inżynierii komórkowej na temat wyrażania i izolacji białek rekombinowanych, a także izolacji ze źródeł naturalnych. (S3\_W01)  
Zna zasady planowania badań oraz stosowania różnych narzędzi badawczych przy wyrażaniu i oczyszczaniu białek. (S3\_W02)

Ma wiedzę dotyczącą samodzielnego planowania i prowadzenia prac doświadczalnych, krytycznej analizy wyników i ich opracowywania w formie nadającej się do dyskusji z prowadzącym. (S3\_W04, S3\_K01)

Zna słownictwo fachowe w języku angielskim w stopniu umożliwiającym korzystanie z literatury naukowej. (S3\_U02)

Wykorzystuje zaawansowane techniki badawcze, właściwe dla kierunku biotechnologia zakładające oczyszczanie aktywnych preparatów białkowych. (S3\_W04, S3\_W05)

Potrafi zastosować właściwą technikę frakcjonowania materiału biologicznego i odpowiednie techniki chromatograficzne. (S3\_W05)

Umie ocenić stopień czystości preparatu, jego potencjalne zastosowania, a w przypadku białek enzymatycznych umie oznaczyć aktywność. (S3\_W05)

Kryteria oceniania:

Student ma obowiązek wykonać cztery ćwiczenia opisane w części "pełny opis". Po przeprowadzeniu każdego ćwiczenia student powinien przedstawić wyniki prowadzącemu zajęcia, streścić przebieg ćwiczenia i zinterpretować wyniki. Prowadzący może zadać dodatkowe pytania, jednak nie wykraczające poza zakres omawianego ćwiczenia. Poprawne ustosunkowanie się do wyżej wymienionych punktów umożliwia zaliczenie ćwiczenia. Zaliczenie wszystkich ćwiczeń jest warunkiem umożliwiającym przystąpienie do sprawdzianu końcowego z przedmiotu (na prawach egzaminu).

Sprawdzian końcowy składa się z jednego pytania opisowego, w którym oczekuje się rozwiązania problemu (najczęściej pytania dotyczą zaproponowania procedury, która doprowadziłaby np. do oczyszczenia jakiegoś białka). Od studenta nie wymaga się znajomości szczegółów procedur doświadczeń, natomiast przy ocenie udzielonych odpowiedzi bierze się szczególnie pod uwagę znajomość najważniejszych etapów proponowanego rozwiązania problemu. Ponadto student powinien odpowiedzieć na kilka pytań zamkniętych i krótkich pytań otwartych. Pytania na sprawdzianie końcowym mogą wykraczać poza materiał przedstawiony na zajęciach i obejmować znajomość technik stosowanych w biochemii i biologii molekularnej ze szczególnym naciskiem na techniki chromatograficzne oraz elektroforetyczne.