

Kursa ceļvedis

Molekulārās metodes mikrobioloģijā (4 k.p.)

2012./2013. akadēmiskā gada pavasara semestris

Pasniedzējs: Mag.biol. Māris Lazdiņš, 136 telpa,
LU Bioloģijas fakultāte, Kronvalda 4, Rīga;
e-pasts: lazda@latnet.lv;
Konsultāciju laiks: trešdienas pl. 15⁰⁰ - 16⁰⁰, 137. telpa.

Kursa mērķis

Kurss mērķis ir pilnveidot studentu praktiskās iemaņas un teorētiskās zināšanas darbā ar mikrobioloģijā biežāk lietotajām molekulārās bioloģijas metodēm. Kurss ietver tādas metodes, kā nukleīnskābju izdalīšana, attīrīšana un raksturošana, DNS *in vitro* rekombinēšana, gēnu horizontālā pārnese mikroorganismos, gēnu ekspresijas regulācija un tās izsekošana, mikroorganismu noteikšanas metodes. Tāpat studenti gūst iemaņas darbā ar atbilstošu laboratorijas tehniku. Lekcijās tiek aplūkoti pielietoto metožu teorētiskā bāze, bet semināros studenti praktizējas eksperimentos gūto rezultātu analizē un interpretācijā, kā arī līdzīgu eksperimentu plānošanā.

Norises laiks un vieta

LU Bioloģijas fakultāte, Kronvalda 4, Rīga.

Lekcijas: 137. telpa
Piektdienās pl. 15³⁰ - 18⁰⁰

1.	15.02.2013.	Nukleīnskābju izdalīšanai plaši pielietotās metodes un risinājumi.
2.	22.02.2013.	Plaši izplatītas nukleīnskābju kvantitatīvo un kvalitatīvo analīžu metodes
3.	22.03.2013.	Transformācija, konjugācija, transdukcija un to pielietojums laboratorijā.
4.	12.04.2013.	Polimerāzes ķēdes reakcijas (PCR) un to pielietojums laboratorijā.
5.	26.04.2013.	Laboratorijās biežāk izmantotās nukleāzes un to pielietojums.
6.	10.05.2013.	Natīvā un denaturējošā elektroforēze poliakrilamīda gelā.
7.	24.05.2013.	Biežāk lietotās fenotipiskās izmaiņas transformēto mikroorganismu atlasē, lac operona ekspresijas regulācija un tā elementu pielietojums baktēriju fenotipisko izmaiņu radīšanai.

Individuālās studijas, noslēgumā rakstisks eksāmens (tests)

Praktiskie un laboratorijas darbi: 137. telpaTrešdienās pl. 8³⁰ - 10⁰⁰

1.	08.02.2013.	Izaudzētās mikroorganismu kultūras raksturošana.
2.	08.02.2013.	Genomiskās DNS izdalīšana izmantojot nātrija laurilsulfātu.
3.	15.02.2013.	Genomiskās DNS izdalīšana izmantojot cetil-trimetil-amonija bromīdu.
4.	22.02.2013.	Spektrofotometriskā nukleīnskābju kvantitātes un kvalitātes analīze.
5.	01.03.2013.	Nukleīnskābju kvantitātes un kvalitātes analīze ar elektroforēzi agarozes gelā.
6.	01.03.2013.	Izdalīto nukleīnskābju kvalitatīvie un kvantitatīvie rādītāji, izmantoto nukleīnskābju izdalīšanas metožu izvērtējums..
7.	08.03.2013.	Plazmīdu DNS izdalīšanas metodes.
8.	08.03.2013.	Plazmīdu DNS papildus attīrīšanas metodes.
9.	15.03.2013.	Kompetentu baktēriju šūnu iegūšana 1.
10.	15.03.2013.	Kompetentu baktēriju šūnu iegūšana 2.
11.	22.03.2013.	Baktēriju šūnu ģenētiskā transformēšana.
12.	05.04.2013.	RNS izdalīšana un attīrīšana.
13.	05.04.2013.	Iegūtās RNS raksturošana.
14.	12.04.2013.	Mikroorganismu raksturošana un saitspecifiskā mutāģenēze ar PCR palīdzību.
15.	19.04.2013.	PCR rezultātu izvērtējums ar agarozes gelelektroforēzes palīdzību.
16.	19.04.2013.	Saitspecifiskā mutāģenēze ar PCR palīdzību - 2. stadija.
17.	26.04.2013.	Plazmīdu DNS apstrāde ar dažādām nukleāzēm.
18.	03.05.2013.	Nukleāžu darbības izvērtējums ar agarozes gelelektroforēzes palīdzību.
19.	03.05.2013.	DNS fragmentu un vektoru (PCR produktu, genomiskās un plazmīdu DNS fragmentu) sagatavošana <i>in vitro</i> rekombinētu DNS molekulu veidošanai.
20.	10.05.2013.	DNS fragmentu un vektoru attīrīšana ar gelelektroforēzes palīdzību.
21.	17.05.2013.	DNS fragmentu analīze poliakrilamīda gelā.
22.	17.05.2013.	DNS fragmentu iekrāsošana ar sudraba nitrāta palīdzību.
23.	24.05.2013.	Baktēriju šūnu ģenētiskā transformēšana 2.
24.	31.05.2013.	Rekombinanto plazmīdu DNS izdalīšanas "ekspres" metodes ātram kultūru skrīningam.
25.	31.05.2013.	Iegūto plazmīdu DNS raksturošana.

Studentu iegūtās zināšanas un prasmes:

Pēc studiju kursa apguves studenti spēj:

- praktiski pielietot mikrobioloģijā biežāk izmantotās molekulārās bioloģijas metodes,
- pareizi izmantot atbilstošo laboratorijas tehniku,
- analizēt un interpretēt ar aplūkoto metožu palīdzību gūtos rezultātus,
- labāk orientēties eksperimentu plānošanā,
- savos eksperimentos veiksmīgi iesaistīt molekulārās bioloģijas metodes.

Kursa norises forma

Kursa "Molekulārās metodes mikrobioloģijā" norises gaitā laboratorijas darbi mijas ar lekcijām un semināriem, lai pēc iespējas racionālāk izmantotu laiku, kurā notiek eksperimentam sagatavotā materiāla inkubācijas process.

Nedēļā notiek 2 nodarbības (katra 2 ak.st.), kuru savstarpējais izkārtojums norādīts iepriekš dotajās tabulās.

Studiju kursa vērtējums

Studentu semestra vērtējumu veido:

- 1 kontroldarbs (50%),
- rakstveida eksāmens (50%),

Lai students saņemtu testos nopelnīto vērtējumu, jābūt apmeklētām visām laboratorijas darbu nodarbībām un semināriem, kā arī veiksmīgi izpildītiem (ieskaitītiem) visiem patstāvīgajiem darbiem (mājas darbiem), sekmīgi jāuzraksta starptests, jābūt sekmīgi nokārtotam rakstiskajam noslēguma testam. Rakstiskais tests un starptests tiek organizēts visiem studentiem vienlaicīgi.

Testa individuāla kārtošana vai individuālas praktisko darbu un semināru nodarbības saskaņojama ar pasniedzēju un apmaksājama LU noteiktajā kārtībā.

Lekciju apmeklējums nav obligāts, tomēr ieteicams.

Neattaisnojama iemesla dēļ nenostādāta laboratorijas darba, kopīgā laikā nekārtota noslēguma testa vai starptesta gadījumā katram studentam individuāli jāvienojas ar pasniedzēju par laboratorijas darba nostrādāšanu, starptesta vai noslēguma testa kārtošanu.

Pamatliteratūra

1. Rostoks Nils, Baktēriju ģenētika. Laboratorijas darbu apraksts lielā praktikuma nodarbībām. Rīga, Bioloģijas fakultāte, 1998, 67 lpp; pieejams Bioloģijas fakultātes serverī
2. Sambrook Joseph, Russell David W., The condensed protocols from Molecular cloning : a laboratory manual., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2006, 800 lpp., ISBN 9780879697725; vai šīs grāmatas citi izdevumi, (pieejams arī "books.google")
3. Berzins Valdis. (ed.), Basic Cloning Procedures. Lab.Manual, Springer, Berlin, 163 lpp., ISBN 3540635394
4. Lazdiņš Māris, Atbalsta materiāli kursa "Molekulārās mikrobioloģijas metodes" apguvei.; LU Bioloģijas fakultātes serverī:
http://priede.bf.lu.lv/grozs/Mikrobiologijas/Maris/Mikrob_mol_met/

Papildliteratūra

1. Watson James D. (et al.), Molecular biology of the gene (6th ed.) Pearson / Benjamin Cummings; Cold Spring Harbor Laboratory Press, San Francisco 2008, 841 lpp., ISBN 9780805395921; vai šīs grāmatas agrāki izdevumi / tulkojumi citās valodās
2. Watson James D. (et al.), Recombinant DNA: Genes and Genomes - A Short Course (3th ed) WH Freeman and company and Cold spring harbor Laboratory, New York

- 2006, 474 lpp., ISBN 9780716728665; vai šīs grāmatas agrāki izdevumi / tulkojumi citās valodās
3. Lewin Benjamin, Genes (VII ed.). Oxford University Press, Oxford, New York 2000, 990 lpp., ISBN 9780198792765; vai šīs grāmatas citi izdevumi / tulkojumi citās valodās (pieejams arī "books.google")
 4. Щелкунов С. 2004. Генетическая инженерия. Сибирское университетское издательство, Новосибирск 2004, 496 с., ISBN 5940870988

Iegūto zināšanu pielietojums

Kursā iegūtās zināšanas paplašinās studentu redzesloku molekulārās mikrobioloģijas apakšnozarē, sniegs priekšstatu par gēnu inženierijas eksperimentu praktiskas veikšanas shēmu, kā arī iemaņas darbam ar molekulārās bioloģijas un molekulārās ģenētikas metodēm, tādām kā dažāda veida nukleīnskābju izdalīšanas, attīrīšanas un raksturošanas metodes; dažādas gelelektroforēzes metodes, uz polimerāzes ķēdes reakcijas principu balstītas metodes.