

## **Podstawy biotechnologii - wprowadzenie Metodologia (M01\_B1) Wybrane organizmy modelowe i ich zastosowania w nauce - Opis zajęć**

### **(I) Bakteryjne organizmy modelowe (*Escherichia coli* i *Bacillus subtilis*)**

- przygotowanie i podstawy pracy w laboratorium mikrobiologicznym (praca jałowa, sterylizacja, zasady BHP),
- podstawy pracy z *E. coli* i *B. subtilis*,
- wzrost bakterii na podłożu stałym (pokaz),
- podłoża i pożywki mikrobiologiczne wykorzystywane do pracy z *E. coli* i *B. subtilis*,
- podział na bakterie Gram(+) i Gram(-) i barwienie komórek *E. coli* i *B. subtilis*, barwienie przetrwalników *B. subtilis*,
- morfologia bakterii *E. coli* (pałeczki) i *B. subtilis* (laseczki) na różnych podłożach mikrobiologicznych i z uwzględnieniem przetrwalników,
- przeżywalność bakterii i wrażliwość *E. coli* i *B. subtilis* na chemioterapeutyki (pokaz)

### **(II) Komórki ssacze – linie HEK293, nowotworowe (np. HeLa, zawieszinowe MOLT-4), linie rekombinowane z białkami fluorescencyjnymi (GFP, mCherry):**

- zapoznanie się z materiałami, odczynnikami i aparaturą stosowaną podczas hodowli komórek (komora laminarna, plastik hodowlane, pożywki, dewar). Nauka pracy w warunkach jałowych. BHP w pracy z komórkami ssaczymi,
- obserwacje mikroskopowe komórek ssaczyc w hodowli *in vitro*: porównywanie morfologii komórek; obserwacja fluorescencji (GFP, mCherry); barwienie fluorescencyjne przyżyciowe (mitotracker, lysotracker, barwnik DNA) i obserwacje wybarwionych organelli komórkowych; barwienie cytoszkieletu aktynowego komórki,
- trypsynizacja i pasażowanie komórek, liczenie komórek z oceną ich żywotności w obecności błękitu trypanu i czerwieni obojętnej, wysianie komórek,
- krioprezewacja i bankowanie komórek, rozmrażanie komórek.

### **(III) Rośliny:**

- obserwacja i omówienie typów roślinnych kultur *in vitro* (kultury roślin, kultury transformowanych korzeni, kultury kalusa, zawieszina komórkowa),
- otoczkowanie eksplantatów roślinnych – „pseudo-sztuczne nasiona”,
- obserwacja związków biologicznie czynnych zawartych w tkankach roślinnych z wykorzystaniem chromatografii cienkowarstwowej,
- mutanty *Arabidopsis thaliana* – porównanie hodowli hydroponicznej, w ziemi i *in vitro*,
- badanie wpływu ekstraktów z roślin na wzrost *Escherichia coli*, - izolacja kompleksów chlorofilowo-białkowych z błon tylakoidów.

### **(IV) Nicień *Caenorabditis elegans*:**

- omówienie zasady prowadzenia kultur nicieni z gatunku *Caenorabditis elegans*,
- izolacja jaj nicieni z hodowli,
- obserwacja hodowli nicieni na podłożu stałym z wykorzystaniem stereomikroskopu,
- ustalanie przeżywalności nicieni w hodowli płynnej.

### **(V) Drożdże *S. cerevisiae* i *P. pastoris*:**

- w trakcie zajęć realizowane będą prace laboratoryjne wykonywane przez studentów oraz pokazy przeprowadzone przez prowadzącego. Studenci samodzielnie przygotowują preparaty mikroskopowe drożdży i przeprowadzą ich obserwację (komórki diploidalne, worki sporulacyjne, wybarwione fluorescencyjnie organella). Ponadto, studenci dokonają pomiaru aktywności enzymatycznej w zawieszinie komórek. Przeprowadzony zostanie również pokaz rozdziału tetrad z wykorzystaniem mikromanipulatora.

### **(VI) Bakulowirusowy i pierwotniakowy system ekspresyjny – pierwotniak LEXSY-Leishmania tarentolae, komórki owadzie/system bakulowirusowy:**

- obserwacje mikroskopowe komórek owadzie i pierwotniakowych,
- nauka pracy w warunkach jałowych, BHP pracy z wirusami,
- liczenie komórek i pasaż, infekcja fluorescencyjnym bakulowirusem; obserwacja fluorescencyjnych markerów ekspresji rekombinowanych genów,
- omówienie różnic w prokariotycznych i eukariotycznych systemach ekspresji genów.