Wytyczne dotyczące prac dyplomowych na kierunkach *biotechnologia* i *biotechnologia molekularna* na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego (WBBiB UJ)

Co to jest biotechnologia

Biotechnologia według definicji OECD (ang. *Organisation for Economic Co-operation and Development,* tj. Organizacji Wzajemnej Współpracy Gospodarczej i Rozwoju) to: „Zastosowanie metod naukowych i inżynieryjnych do obróbki materiałów czynnikami biologicznymi w celu pozyskania dóbr i usług", a według definicji Europejskiej Federacji Biotechnologii (EFB) to „...integracja nauk przyrodniczych i inżynieryjnych w celu zastosowania organizmów, komórek i ich części oraz molekularnych analogów do pozyskania dóbr i usług..." (Bull i wsp. 1982; Kafarski, 2012).

Biotechnologia to wszechstronna, bardzo zróżnicowana, multidyscyplinarna dziedzina ludzkiej działalności. Produkty biotechnologiczne powstają dzięki **połączeniu badań podstawowych** z szerokiego zakresu nauk przyrodniczych (posługujących się wiedzą m.in. z biochemii, genetyki, mikrobiologii, immunologii, bioinformatyki) z rozwiązaniami **nauk inżynieryjnych**. Biotechnologia wykorzystuje biomateriały, biokatalizatory, procesy biochemiczne, systemy biologiczne, zdolności żywych organizmów w tym mikroorganizmów, a także kultur tkankowych, komórek roślin i zwierząt oraz ich elementów w celu przeprowadzenia procesów wytwarzania, modyfikacji i przetwarzania użytecznych związków. Podstawowymi procesami w biotechnologii są: fermentacja, biosynteza i biotransformacja, przebiegające z udziałem czynnika biologicznego przekształcającego surowce w produkty. Rozwój technik inżynierii genetycznej i osiągnięcia biologii molekularnej stanowią bazę dla nowoczesnej biotechnologii wykorzystującej możliwość ingerencji w zapis cech genetycznych organizmów i tym samym np. podwyższając i modyfikując ich zdolności produkcyjne.

Główne działy biotechnologii to: (i) **biotechnologia spożywcza** (m.in. wytwarzanie, przetwarzanie, wzbogacanie, utrwalanie żywności, żywność funkcjonalna, nutraceutyki, diagnostyka żywności, biosensory), (ii) **biotechnologia środowiskowa** (m.in. ochrona środowiska, przetwarzanie odpadów, bioremediacja), (iii) **biotechnologia przemysłowa** (m.in. procesy fermentacyjne, produkcja chemikaliów, enzymów, biomateriałów, nowe źródła energii, biorafinerie), (iv) **biotechnologia medyczna** (m.in. ochrona zdrowia, produkcja leków, szczepionek, hormonów, przeciwciał, badania nad chorobami, badania nad nowymi metodami i urządzeniami służącymi diagnostyce i terapiom, (v) **biotechnologia roślin i zwierząt** (m.in. wytwarzanie i hodowla transgenicznych ulepszonych roślin i zwierząt, zdrowie i żywienie zwierząt, biologiczna ochrona roślin, biofarmacja roślin (Keener i wsp., 2000; Ratledge, Kristiansen, 2006; Kafarski, 2012).

Działy biotechnologii rozwijane na WBBiB UJ znajdujące odzwierciedlenie w pracach dyplomowych

Główną ideą, która przyświeca kształceniu studentów na WBBiB UJ jest to, aby studenci uczestniczyli w autentycznych projektach naukowych realizowanych przez poszczególne grupy badawcze. Ponieważ na WBBiB UJ rozwijane są przede wszystkim biotechnologia medyczna, biotechnologia mikroorganizmów oraz biotechnologia roślin, tematyka prac dyplomowych będzie najczęściej dotyczyła tych właśnie działów biotechnologii. Prace dyplomowe wykorzystujące bioinformatykę do rozwiązywania zagadnień związanych z biotechnologią są także akceptowane, gdyż we współczesnym świecie bioinformatyka staje się kluczową nauką dla rozwoju wszystkich nauk „bio" w tym biotechnologii.

Zalecenia dotyczące prac dyplomowych na kierunkach biotechnologicznych
Badania biotechnologiczne prowadzone na uniwersytetach (w przeciwieństwie do badań prowadzonych na politechnikach) mają na ogół charakter badań poznawczych, odpowiadających na pytania naukowe, które w dalszej perspektywie mogą przynieść konkretny produkt biotechnologiczny np. w postaci leku, nowej terapii, organizmów o nowych, pożądanych gospodarczo cechach. Praca dyplomowa zatem może, ale nie musi, prowadzić do powstania produktu biotechnologicznego. Musi natomiast spełniać następujące warunki:

1. wskazywać biotechnologiczny cel projektu, w ramach którego jest realizowana oraz
2. wykorzystywać metody uznane za istotne dla rozwoju biotechnologii.

Ad. 1.
Poniżej przedstawiono przykładową tematykę prac dyplomowych uznaną za odpowiadającą celom kształcenia na kierunkach biotechnologicznych:

1. Tworzenie oraz charakterystyka wektorów, szczepów mikroorganizmów, linii komórek roślin i zwierząt o nowych cechach, które mogą znaleźć praktyczne zastosowanie.
2. Charakterystyka i różnicowanie komórek macierzystych oraz hodowli tkankowych o potencjale terapeutycznym.
3. Tworzenie i optymalizacja wykorzystania modeli komórkowych i zwierzęcych do badań biomedycznych.
4. Optymalizacja produkcji pożądanych związków przez mikroorganizmy, hodowle komórkowe i tkankowe.
5. Badania nad wykorzystaniem mikroorganizmów i roślin w bioremediacji.
6. Badanie terapeutycznego potencjału związków pochodzenia bakteryjnego, roślinnego i zwierzęcego.
7. Opracowanie i optymalizacja metod syntezy i oczyszczania białek rekombinowanych oraz ich charakterystyka.
8. Badanie mechanizmów procesów zachodzących w komórkach i w organizmach istotnych dla projektowania leków, terapii, diagnostyki, ochrony środowiska,

wydajności fotosyntezy itp. np. analiza wpływu rozmaitych czynników na funkcjonowanie komórek i organizmów, badanie oddziaływań patogen-gospodarz, badanie wpływu potencjalnych leków lub materiałów terapeutycznych na komórki i organizmy, mechanizmy odpowiedzi autotrofów na czynniki abiotyczne itp.

9. Badanie funkcji konkretnych biocząsteczek w komórkach i organizmach pod kątem możliwości wykorzystania zdobytej wiedzy dla celów biotechnologicznych.

Ad. 2.

Ponieważ, zgodnie z podaną powyżej definicją, biotechnologia opiera się o podstawowe badania z szerokiego zakresu nauk przyrodniczych wiele metod badawczych, technik i procesów uważanych obecnie za biotechnologiczne, zostało zaczerpniętych z mikrobiologii, biochemii, genetyki, biofizyki i innych pokrewnych nauk. Tym samym trudno sklasyfikować metody badawcze jako biotechnologiczne lub niebiotechnologiczne. Na podstawie publikacji wyszczególniających metody biotechnologiczne w naukach podstawowych (Stanbury i wsp., 1995; Demain, Davies, 1999; Lee, 2013; Matyushenko i wsp., 2016) Rada Programowa kierunków b*iotechnologia* (studia I stopnia) i *biotechnologia molekularna* (studia II stopnia) proponuje przyjąć następujący zakres technik i metod, na których mogą opierać się prace dyplomowe studentów tych kierunków:

1. hodowle komórek mikroorganizmów, komórek roślinnych i ssaczych *in vitro*; izolacja komórek pierwotnych, różnicowanie komórek, modyfikacje komórek przez fuzję komórkową,transformację, transfekcję, transdukcję, izolacja komórek o pożądanych cechach (sortowanie komórek);
2. hodowle tkankowe;
3. analiza histochemiczna, cytochemiczna, immunohistochemiczna, immunocyto-chemiczna komórek i tkanek;
4. analiza procesów zachodzących w komórkach np. analiza proliferacji, apoptozy, metabolizmu komórkowego, migracji, syntezy wolnych rodników itp.;
5. metody *in vivo*: wykorzystanie modeli zwierzęcych do opracowywania terapii lub badania funkcji genów np. modele indukcji nowotworów i wzrostu nowotworów, modele do badania konkretnych chorób w tym infekcyjnych, modele zwierząt genetycznie modyfikowanych;
6. metody biologii molekularnej i inżynierii genetycznej, w tym: klonowanie molekularne, tworzenie konstruktów genetycznych, wektorów plazmidowych, wirusowych, transpozonowych, ukierunkowana mutageneza, amplifikacja i analiza kwasów nukleinowych oraz analiza modyfikacji epigenetycznych (PCR, RT-PCR, analiza restrykcyjna, Southern blotting, sekwencjonowanie DNA), analiza ekspresji genów (qPCR, mikromacierze DNA, NGS, EMSA, immunoprecypitacja chromatyny), inżynieria genetyczna komórek (nadekspresja i wyciszanie ekspresji genów w tym edycja genomu, analiza z pomiarem ekspresji genu reporterowego);
7. produkcja, oczyszczanie oraz analiza jakościowa i ilościowa białek i peptydów (ekspresja białek w układach prokariotycznych i eukariotycznych, chromatografie w tym chromatografia powinowactwa oraz chromatografia HPLC, techniki

elektroforetyczne, modyfikacje chemiczne białek, analiza Western blotting, ELISA, macierze proteomiczne, analiza sekwencji aminokwasowej białek i peptydów, badania proteomiczne z wykorzystaniem spektrometrii mas;

8. izolacja i analiza różnych związków z wykorzystaniem rozmaitych technik, w tym technik chromatograficznych;
9. analiza lokalizacji i oddziaływań cząsteczek i komórek (cytometria przepływowa, mikroskopia fluorescencyjna i konfokalna, mikroskopia wysokorozdzielcza (dSTORM, SMLM, STED), mikroskopowe metody badania dynamiki i oddziaływań między białkami *in situ* i w żywych komórkach, jak FRAP, FRET, FCS, BiFc, PLA, mikroskopia sił atomowych;
10. analiza oddziaływań międzycząsteczkowych w tym tworzenie kompleksów białkowych, śledzenie procesów, którym towarzyszy zmiana rozmiarów cząsteczek np. analiza dynamicznego rozpraszania światła (DLS), powierzchniowy rezonans plazmonowy (SPR) itp. oraz metody modelowania molekularnego np. badania własności układu biocząsteczek czy badania mechanizmów reakcji enzymatycznych;
11. poszukiwanie (screening) naturalnie występujących organizmów o pożądanych przemysłowo cechach;
12. konstruowanie układów modelowych i naturalnych zawierających cząsteczki biologicznie ważne (np. liposomy i inne sztuczne systemy błonowe, izolowane frakcje komórkowe modyfikowane i niemodyfikowane) i ich analiza dostępnymi na WBBiB UJ metodami (np. mikrokalorymetria, spektroskopia w tym dichroizmu kołowego i EPR, metody chromatograficzne), w celu weryfikacji potencjału biotechnologicznego w aspektach strukturalnych i funkcjonalnych opracowanych modeli;
13. metody bioinformatyczne (np. analiza sekwencji nukleotydowych i aminokwasowych, metody nauczania maszynowego, techniki molekularnej analizy filogenetycznej, modelowanie homologiczne struktury białka, techniki masowego przetwarzania danych).

Jak biotechnologiczne aspekty pracy nad projektem dyplomowym powinny zostać przedstawione w rozprawie dyplomowej

Szczegółowe informacje dotyczące wszystkich wymogów stawianych pracom dyplomowym znajdują się na stronie Wydziału w zakładce „Dla studentów”. W tym opracowaniu zwracamy jedynie uwagę na konieczność przedstawienia w pracy jej biotechnologicznych aspektów.

Tak więc **praca licencjacka musi zawierać jasno sformułowany cel badań a także krótki, kilkuzdaniowy podrozdział wskazujący wszystkie biotechnologiczne aspekty pracy** np. jaki jest dalekosiężny, biotechnologiczny cel, do którego osiągnięcia może przyczynić się dana praca, jakie techniki badawcze istotne dla biotechnologii były w pracy stosowane. **Praca magisterska powinna zawierać krótki podrozdział przedstawiający biotechnologiczne**

aspekty pracy, ale także powinna zawierać odniesienia do biotechnologii we Wstępie i w Dyskusji pracy.

Tematyka prac licencjackich i magisterskich proponowana studentom kierunków *biotechnologia* i *biotechnologia molekularna* przez poszczególne Zakłady/Pracownie WBBiB UJ jest uaktualniana przed rozpoczęciem każdego roku akademickiego.

Wykaz cytowanej literatury

Bull, A. T., Holt, G., Lilly, M. (1982). Biotechnology: International Trends and Perspectives. OECD.

Demain, A. L., Davies, J. E.(1999). Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology, Second Edition. Washington, D.C. : ASM Press, ISBN 1555811280.

Kafarski, P. (2012). Tęczowy kod biotechnologii. Chemik 66, 8, 811-816.

Keener, K., Hoban, T., Balasubramanian, R. (2000). Biotechnology and its applications. North Carolina Coop. Ext. Serv., 1-13.

Lee Y. K. (2013).Microbial Biotechnology, Principles and Applications, Third Edition, Word Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., ISBN 978-981-4366-81-6.

Matyushenko, I., Sviatukha, I., Grigorova-Berenda, L. (2016). Modern Approaches to Classification of Biotechnology as a Part of NBIC-Technologies for Bioeconomy. Br. J. Econ. Manag. Trade 14, 1–14. doi:10.9734/BJEMT/2016/28151.

Ratledge C., Kristiansen B. (2006). Basic biotechnology: Third edition. Cambridge University Press, ISBN: 978-0-521-54958-5.

Stanbury, P. F., Whitaker, A., Hall, S. J., (1995). Principles of Fermentation Technology, Second Edition, Butterworth – Heinemann, ISBN 0-7506-4501-6.