

# 6.

## Základy dědičnosti

Mendelovská dědičnost (autozomálně recesivní, autozomálně dominantní a X-vázaný přenos mutací). Nemendelovská dědičnost (uniparentální disomie, mozaicismus, genomový imprinting, mitochondriální dědičnost a polygenní dědičnost). Genealogická analýza a její přínos pro molekulárně genetickou analýzu.

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

## Struktura nukleových kyselin

Primární až terciární struktura nukleových kyselin. Kondenzace chromatinu (hetero- a euchromatin, histony, "scaffold" proteiny), struktura chromozomu.

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

## Organizace genomu, struktura genu a jeho exprese, genetický kód

Charakterizace lidského genomu (haploidní a diploidní sada, velikost, kódující a nekódující sekvence a jejich členění). Gen je základní jednotkou dědičného materiálu (exon, intron, promótor, enhancer), který zachovává informaci o kódovaném proteinu z generace na generaci prostřednictvím genetického kódu (univerzálnost a degenerace genetického kódu). Genetická dogma, transkripce, translace a regulační mechanismy exprese genu.

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

## Mutace

Definice mutací a jejich dělení dle vzniku (spontánní, indukované), místa (somatické, gametické), typu (substituce, delece, inserce, duplikace, inverze, amplifikace, translokace) a podle účinku (missens, nonsense, silent, ...). Mutageny a karcinogeny (chemický základ mutageny). Xenobiotika a jejich metabolismus (fáze I a II). Vliv enzymů fáze I a II na mutageny a karcinogeny.

Počet hodin: 2  
Přednášející: Bóday

## Základy molekulárně genetické diagnostiky

Přímá a nepřímá molekulárně genetická diagnostika. Strategie využití přímé a nepřímé molekulárně genetické diagnostiky vzhledem k objektivním a subjektivním možnostem (velikost analyzovaného genu, místo exprese analyzovaného genu, frekvence známých mutací, časový faktor, dostupnost příbuzných probanda, vybavení pracoviště, ...). Polymorfizmy (RFLP, VNTR, STR, SNP) a vazebná analýza.

Počet hodin: 2  
Přednášející: Bóday

### **Přehled metod a technik molekulárně genetické diagnostiky**

Biologický materiál (kvalita, kvantita, dostupnost, uchování). Izolace NK, metody klonovací, separační, vizualizační, ... . Vybavení laboratoře (prostorové, přístrojové, personální).

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

### **Izolace nukleových kyselin**

Biologický materiál a manipulace s biologickým materiálem. Teoretické základy izolace DNA/RNA. Metody (fenol-chloroformová, vysolovací, ...). Kontrola kvality izolované DNA/RNA. Manipulace s izolovanou DNA/RNA a evidence.

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

### **Separace nukleových kyselin**

Přehled separačních metod. Teoretické základy gelové elektroforézy. Typy gelových elektroforéz (horizontální, vertikální; agaróza, PAGE, urea, formamid, glycerol, ...). Tlumivé roztoky (TBE, TAE, TPE), nanášecí barvičky a vizualizace separovaných nukleových kyselin.

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

### **Polymerázová řetězová reakce (PCR) - I**

Teoretické základy PCR a RT-PCR. Komponenty reakční směsi. Typy termostabilních polymeráz a možnosti jejich využití (frekvence chyb)

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

## **Restrikční endonukleázy**

Typy restrikčních endonukleáz a jejich využití v DNA diagnostice (palindromy - rozeznávané sekvence, komponenty reakčních pufrů, podmínky reakcí, separace fragmentů po restrikčním štěpení)

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

## **Blotovací metody**

Southern, Northern a Western blot (kapilární a elektrický přenos nukleových kyselin). Typy membrán a vazba nukleové kyseliny na membrány. Klonování a selekce sond, množení a selekce sond, izolace sond, značení sond, hybridizace a autoradiografie.

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

## **Polymerázová řetězová reakce (PCR) - II**

Hledání známých mutací (PCR/RFLP, ARMS, ASO, real-time PCR,...)

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

## **Polymerázová řetězová reakce (PCR) - III**

Hledání neznámých mutací (SSCP, DGGE, TGGE, heteroduplexová analýza, dHPLC, sekvenování)

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

## **Detekce cizího genomu**

Izolace dědičného materiálu cizího agens z biologického materiálu pacienta, potvrzení přítomnosti NK cizího agens, jeho kvantifikace a kontrola úspěšnosti léčby. Typizace a subtypizace cizího agens. Chlamydie, mycobakterie, mycoplasma, herpetické viry, papillomaviry, Borrelie burgdorferi sensu scripto a sensu lato, původce virové hepatitidy, ... . Podmínky reakcí a typy interních kontrol.

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

## **Farmakogenetika**

Návaznost na kapitolu „Mutace“. Přehled a krátká charakterizace genů a genových klastřů, zúčastňující se v detoxikační fáze I a II (NAT, UGT, CYP, ALOX5, TPMT, GSTM, beta-2-adrenoreceptor, glykoproteid III subjednotka, ...). Individualizovaná péče (astma, nádorové onemocnění, deprese, koagulopatie, ...).

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

## **Využití molekulárně genetických metod mimo oblast medicíny**

Identifikace osob (kriminalistika, paternitní spory), zemědělství (nové odrůdy, pozitivní a negativní selekce, GMO), potravinářský průmysl (kontrola kvality produktů, přítomnost příměsů a jejich kvantifikace)

Počet hodin: 1  
Přednášející: Bóday

## **Interpretace výsledků molekulárně-genetických vyšetření – shrnutí výsledků**

Konkrétní příklady - demonstrace důležitosti a nezbytnosti komplexních znalostí molekulární genetiky, klasické a populační genetiky při hodnocení výsledků a stanovení rizik v rodině probanda.

**Počet hodin: 2**  
Přednášející: Bóday

## **Imunitní systém jako informační soustava**

Definice pojmů, členění imunitních mechanismů, komunikace v imunitním systému, membránové interakce; adhezní, kostimulační interakce, humorální interakce.

Cytokiny, mediátory, receptory pro cytokiny, nitrobuněčné signální dráhy, transkripční faktory, přirozená imunita, identifikace nebezpečných vzorů, specifická imunita, prezentace, „self“, „non-self“ rozpoznávání, klonální expanze, vícesignálový model rozpoznávání, úloha přirozené imunity, obranný zánět, kooperace s neuroendokrinní soustavou.

Počet hodin: 4  
Přednášející: Krejsek

## **Úvod do laboratorní imunologie**

Vymezení pojmů a jejich obsahu: imunologie jako vědní disciplína a jako medicínský obor.

Imunitní systém, jeho funkce a možnosti monitorování, laboratorní metody používané v tomto monitoringu; „imunologická“ metoda a imunologické vyšetření, multiplexové analýzy a jejich význam v imunologii

**Počet hodin: 1**

Přednášející: Lochman

### **Standardizace imunologických vyšetření, kontrolní systémy**

Typy laboratorních metod používaných v imunologii a možnosti jejich standardizace, dostupnost kontrolních systémů.

Parametry používané a použitelné pro hodnocení laboratorních testů, diagnostické hodnoty testu, požadavky na přesnost, citlivost, reprodukovatelnost a návaznost vyšetření.

Interpretace výsledků imunologických laboratorních vyšetření, obtíže při hodnocení vybraných typů testů (RF, nefelometrie/turbidimetrie, matricové efekty, diagnostika autoprotilátek, funkční testy v buněčné imunologii aj.)

Počet hodin: 1

Přednášející: Lochman

### **Charakterizace interakce antigen-protilátka**

Definice a charakteristika epitopu, protilátka jako imunosensor, definice vazebného místa protilátky, tvorba imunitních komplexů, asociační konstanta, termodynamická charakteristika interakce epitop-vazebné místo, afinita a avidita protilátek, způsoby měření interakce antigen-protilátka.

Příklady vybraných imunoanalytických systémů.

Počet hodin: 1

Přednášející: Rozprimová

### **Autoimunita a imunopatologie, stavy imunitní nedostatečnosti**

Specifické rozpoznávání, vícesignálový model rozpoznávání, vznik repertoáru TcR, selekční procesy, indukce tolerance vlastního, autoimunita jako fyziologický fenomén, prezentace, kostimulace, podíl přirozené imunity, indukční mechanismy autoimunitních imunopatologických stavů, autoantigeny.

Infekce a imunopatologie, poškozující záněť, T lymfocyty a autoimunitní imunopatologická reakce, B lymfocyty a autoimunitní imunopatologická reakce.

Členění imunopatologických reakcí, modulace.

Stavy imunitní nedostatečnosti, členění, molekulový podklad primárních imunodeficiencí, příčiny

sekundárních imunodeficiencí, imunomodulace.

Počet hodin: 3

Přednášející: Krejsek

## **Metody detekce antigenů a protilátek**

Reakce antigen-protilátka, základní pojmy (epitop, paratop, afinita, avidita, primární a sekundární fáze reakce).

Aglutinační (přímá, nepřímá reakce, reakce na nosičích) a precipitační reakce (kvalitativní, kvantitativní, automatizace), hemolytické reakce (inhibice hemolýzy, KFR).

Imunofluorescence (přímá, nepřímá, antiinfekční imunita, autoimunita, imunohistologie), detekce pomocí následné reakce (EIA – ELISA, MEIA, FEIA; RIA – IRMA, RAST; blotovací metody – imunobloting, imunodot).

Počet hodin: 1

Přednášející: Král

## **Úskalí imunoanalytických stanovení**

Definice možných chyb jednotlivých imunoanalytických metod: imunofixace, jednoduchá radiální imunodifuze, imunonefelometrie, imuniturbidimetrie, imunostanovení "sandwich", "one step competitive type", "two step back-titration type".

Problematika průkazu specifických protilátek, příklady jednotlivých imunoanalytických systémů "double antigen sandwich", kompetitivní a neutralizační systémy, "capture" metody.

Počet hodin: 1

Přednášející: Rozprimová

## **Průtoková cytometrie, klinické využití**

Východiska (monoklonální protilátky, fluorochromy, laserová technologie) a princip metody, analýza a dělení subpopulací buněk (sorting), imunofenotypizace (CD klasifikace, klinické využití) – imunodeficience, lymfoproliferativní chroby.

Funkční testy buněčné imunity (proliferace lymfocytů in vitro, fagocytóza, cytotoxicita, interleukiny) – možnosti využití průtokové cytometrie.

Počet hodin: 1

Přednášející: Král

## **Indikace a interpretace imunologických vyšetření**

Koncepce oboru AKI dle WHO a IUIS – situace v ČR, definice imunologické laboratoře, spektrum vyšetření.

Racionální indikace imunologických vyšetření – základní imunologické parametry, příklady: imunodeficience, alergické choroby, autoimunitní onemocnění, orgánová onemocnění s imunopatologickou etiologií.

**Počet hodin:** 2

Přednášející: Král

## **HLA systém, imunogenetika**

HLA systém - charakteristika, funkce v imunitní odpovědi.

HLA I. a II. třídy - tkáňová distribuce, struktura, specifické funkce, klinicky významné lokusy.

Prezentace antigenních peptidů T-lymfocytům prostřednictvím HLA molekul.

Genová oblast HLA.

Biologický a klinický význam polymorfismu HLA systému.

Nomenklatura HLA systému dle WHO.

Laboratorní vyšetření (typizace) HLA systému - přehled a základní princip sérologických a molekulárně-genetických metod.

Videoprojekce k molekulárně-genetické typizaci HLA.

Aplikace poznatků o HLA v medicíně - pomocná diagnostika chorob asociovaných s HLA, význam imunogenetického vyšetření se zaměřením na transplantace orgánů a kmenových buněk krevetvorby.

**Počet hodin:** 3

Přednášející: Petřek /Mrázek