

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 klastrů, zúčastňující se v detoxikační fázi 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 immunoanalytických stanovení

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

Problematika průkazu specifických protilátek, příklady jednotlivých immunoanalytických 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