

Názov predmetu:	<i>Výšetrovacie metódy v molekulovej diagnostike</i>	Kód:	ULCHBKB/ACHLM/22
Študijný program:	<i>laboratórne výšetrovacie metódy v zdravotníctve</i>	Obdobie štúdia:	5. semester
Hodnotenie predmetu:	<i>skúška</i>	Záväznosť predmetu:	<i>povinný</i>
Rozsah výučby:	<i>2 h prednášky, 3 h cvičenia / týždeň</i>		<i>spolu 70 hodín</i>

Pracovisko: Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF

Týždeň	Prednášky http://portal.lf.upjs.sk	Cvičenia http://portal.lf.upjs.sk
1.	Organizácia práce v laboratóriu klinickej genetiky a molekulovej diagnostiky - Štandardné pracovné postupy (SOP) a dokumentácia - Manipulácia s biologickým materiálom: príjem, evidencia, skladovanie - Práca laboratórneho diagnostika - Princíp MLPA metódy	Bezpečnosť práce v zdravotníckom laboratóriu - Bezpečnostné predpisy a normy pre prácu v zdravotníckych laboratóriách - Kontrola kvality práce v laboratóriách
2.	Molekulové metódy v laboratórnej praxi - Základné princípy práce s DNA a RNA v laboratóriu - Hybridizačné techniky a metódy detekcie - Elektroforéza a vizualizácia produktov - Aplikácie v diagnostike dedičných ochorení a nádorov	Základné postupy prác v zdravotníckom laboratóriu - Pravidlá pre manipuláciu s biologickým materiálom a odpadom - Evidencia vzoriek a vedenie laboratórneho denníka
3.	Techniky izolácie nukleových kyselín - Typy biologického materiálu a jeho spracovanie pri izolácii – výber vhodnej izolačnej metódy - Základné princípy izolácie DNA, RNA a proteínov - Úloha čistoty a výťažnosti pre následné využitie v klinickej diagnostike	Izolácia nukleových kyselín - Manuálna izolácia DNA a RNA (kolónky, lyzačné pufre, centrifugácia) - Práca v čistých podmienkach – ochrana pred RNázami - Základy hodnotenia kvality izolátov (výťažnosť, čistota – príprava na meranie)
4.	Polymerázová reťazová reakcia (PCR) - Princíp amplifikácie špecifickej oblasti DNA - Typy PCR: klasická, real-time, multiplexová - Význam PCR v molekulovej diagnostike - Citlivosť, špecificita a validácia	Reverzná transkripcia (RT) - Príprava RNA na reverznú transkripciu - Výber reverzného transkriptu a primerov - Nastavenie reakcie RT a inkubácia - Príprava cDNA vhodnej pre PCR analýzu
5.	Prietoková cytometria v laboratórnej praxi - Cytometre – charakterizácia - Typy cytometrov a softvérov - Značenie buniek: fluorochrómy, protilátky - Analýza dát: dot-plot, histogram - Imunofenotypizácia - Využitie v praxi (imunológia, hematológia)	RT-PCR a Real-time PCR - Nastavenie RT-PCR reakcie z cDNA - Princíp kvantitatívnej PCR (Real-time PCR) - Príprava reakčnej zmesi, pipetovanie do stripov - Sledovanie amplifikácie v reálnom čase a interpretácia kriviek
6.	Cytogenetika - Chromozómy a ich klasifikácia - Typy chromozómových aberácií - Vyšetrovaný materiál: krv, plodová voda, kostná dreň - Klinické aplikácie: prenatálna, postnatálna a onkocytogenetická diagnostika (Fiedlerová)	Gradientová PCR a elektroforéza - Príprava PCR a termocyklačné podmienky - Separácia PCR produktov pomocou agarózovej elektroforézy - Vizualizácia DNA (UV transiluminátor, hodnotenie veľkosti fragmentov)

7.	Molekulová cytogenetika - Princíp hybridizácie sondy s DNA - Typy fluorescenčných sond - Aplikačný materiál (krv, kostná dreň, tkanivá) - Klinické využitie (onkohematológia, patológia)	MEDIREX – laboratórium cytogenetiky - Štandardné pracovné postupy (SOP) a dokumentácia - Manipulácia s biologickým materiálom: príjem, evidencia, skladovanie - Rutinne využívané metódy
8.	Základy práce s bunkovými kultúrami - Typy buniek a kultúr - Základy kultivácie (médium, inkubácia, pasážovanie) - 3D kultúry a sféroidy - Sterilné podmienky a kontaminanty - Kryoprezervácia a experimentálna príprava buniek	MEDIREX – laboratórium molekulovej diagnostiky - Štandardné pracovné postupy (SOP) a dokumentácia - Manipulácia s biologickým materiálom: príjem, evidencia, skladovanie - Rutinne využívané metódy
9.	Priméry a markery v laboratórnej praxi - Priméry – definícia, štruktúra, typy, špecifita - Zásady dizajnu primérov (dĺžka, G/C obsah, T_m) - Použitie primérov v praxi - Značenie využívané v laboratórnej praxi - Markery – definícia, rozdelenie, využitie	Príprava bunkových kultúr - Výber a charakteristika bunkovej línie - Príprava pracovného prostredia - Chyby a kontaminácie kultivácie - Aplikácia v laboratórnej medicíne
10.	Molekulové sondy v diagnostike a výskume - Typy molekulových sond: DNA, RNA (ribopróby), proteínové - Hybridizácia – Southern, Northern, Western blot - Využitie sond v diagnostike – napr. FISH, génová expresia, identifikácia patogénov	Návrh primerov a molekulových sond - Návrh primerov na základe zadanej sekvencie - Overenie špecifity primerov pomocou online nástrojov (napr. NCBI Primer-BLAST)
11.	Metódy sekvenovania nukleových kyselín (NK) - História sekvenovania NK - NK – štruktúra, chemické zloženie - Metódy sekvenovania – princíp a využitie Sangerovej metódy - Vývoj a prechod na sekvenovanie novej generácie (NGS) - Typy NGS platforiem a ich charakteristiky - Využitie sekvenovania v diagnostike	Vyhodnotenie sekvenačných dát - Typy sekvenačných dát - Kvalitatívna kontrola dát - referenčný genóm - Detekcia genetických variantov, expresie génov pre RNA – seq - Bioinformatické pipeline, nástroje
12.	Verejne dostupné omické databázy - GEO databáza: vyhľadávanie a sťahovanie dát - Interpretácia transkriptomických profilov - Základy spracovania diferenciálnej expresie génov - Využitie omických dát v biomedicíne	Práca s GEO databázou a omickými dátami - Vyhľadávanie experimentov v GEO databáze - Stiahnutie a otvorenie transkriptomických datasetov - Identifikácia rozdielne exprimovaných génov
13.	Bioinformatické spracovanie omických dát - Základné pojmy – DL, ML, AI - Umelá inteligencia (AI) – história, programovacie jazyky, generatívna AI - AI a jej využitie v analýze laboratórnych dát a klinických údajov - Riziká a etika AI v zdravotníctve	Bioinformatické spracovanie fiktívnych dát - Práca s fiktívnym datasetom pacientov (základné laboratórne a klinické údaje) - Základy triedenia a porovnávania údajov - Vizualizácia dát (tabuľky, jednoduché grafy – PCA, klastre)
14.	Využitie strojového učenia vo výskume - Strojové učenie (ML) – modely, klasifikácia, klastrovanie - Využitie ML v analýze biologických vzoriek a klinických údajov	Záverečné cvičenie - Využitie generatívnej AI - Individuálne vyhodnotenie práce študentov