

Náplň prednášok a cvičení

Názov predmetu:	<i>Analýza a detekcia nukleových kyselín</i>	Kód:	ULCHBKB/AaDNK-BDZ-M/26
Študijný program:	bioanalytická diagnostika v zdravotníctve	Obdobie štúdia:	1. semester
Hodnotenie predmetu:	skúška	Záväznosť predmetu:	povinný
Rozsah výučby:	2 h prednášky, 2 h cvičenia, 2 h samoštúdium / týždeň		spolu 84 hodín

Pracovisko: Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF

Týždeň	Prednášky http://portal.lf.upjs.sk	Cvičenia http://portal.lf.upjs.sk
1.	DNA – štruktúra, organizácia a replikácia - Primárna, sekundárna a terciárna štruktúra - Organizácia prokaryotického a eukaryotického genómu – kódujúce a nekódujúce oblasti, repetitívne sekvencie - Princíp a priebeh replikácie DNA - Replikácia prokaryotov a eukaryotov	Základy práce v genetickom laboratóriu - Zásady bezpečnosti práce v genetickom laboratóriu - Základné prístrojové vybavenie v cytogenetickom laboratóriu - Práca s biologickými materiálom
2.	RNA – štruktúra, transkripcia a spracovanie - Štruktúra a základné typy RNA, nekódujúce RNA - Transkripcia – princíp, priebeh, RNA polymerázy - Posttranskripčné úpravy – mRNA, tRNA, rRNA - Alternatívny splicing a editácia RNA	Kultivácia lymfocytov periférnej krvi Seminár: - Kultivácia lymfocytov periférnej krvi Praktická úloha: - Príprava bunkovej kultúry z plnej periférnej krvi
3.	Translácia a genetický kód - Vlastnosti genetického kódu - Iniciácia, elongácia a terminácia translácie - Základné posttranslačné úpravy - Vplyv zmien v sekvencii DNA na výsledný proteín	Spracovanie kultivácie lymfocytov periférnej krvi Seminár: - Základné kroky pri spracovaní kultivácie Praktická úloha: - Spracovanie bunkovej kultúry - Rozkvapkanie a príprava cytogenetických preparátov
4.	Regulácia génovej expresie - Úrovne regulácie génovej expresie - Regulácia transkripcie u prokaryotov a eukaryotov - Posttranskripčná regulácia génovej expresie - Úloha nekódujúcich RNA v regulácii génovej expresie	Konvenčné homogénne farbenie chromozómov Seminár: - Denverská klasifikácia - Technika správneho mikroskopovania Praktická úloha: - Konvenčné farbenie cytogenetických preparátov - Cytogenetická analýza konvenčne farbených chromozómov – zostavenie karyotypu
5.	Bunkový cyklus a bunkové delenie - Fázy bunkového cyklu - Kontrolné body bunkového cyklu - Cyklíny a cyklín-dependentné kinázy - Mitoza a meióza - Regulácia bunkového delenia - Protoonkogény a tumor-supresorové gény	Diferenciačné farbenie chromozómov – G band Seminár: - Farbenie Wrightovým farbivom - Parížska klasifikácia - Numerické a štrukturálne aberácie chromozómov Praktická úloha: - Diferenciačné farbenie vytogenetických preparátov - Cytogenetická analýza G-bandu – zostavenie karyotypu
6.	Základné cytogenetické techniky a ľudský karyotyp - Základné princípy kultivácie buniek a spracovania bunkových suspenzií - Konvenčné a diferenciačné farbenie chromozómov – základný princíp - Ľudský karyotyp a klasifikácia chromozómov	Prvá priebežná kontrola (prednášky 1–5) Základy práce v molekulovo-biologickom laboratóriu - Zásady bezpečnosti práce v molekulovo-biologickom laboratóriu - Základné prístrojové vybavenie molekulovo-biologického laboratória

Náplň prednášok a cvičení

7.	Variabilita a nestabilita genómu - Genetický polymorfizmus - Mutácie – definícia a klasifikácia - Spontánne a indukované mutácie, mutagény - Mechanizmy poškodenia DNA - Chromozómová a genómová nestabilita	Špecifikácie typov nukleových kyselín Praktická úloha: - Izolácia DNA - manuálna izolácia DNA, princíp lýzy, purifikácie a elúcie Seminár: - Základné fyzikálno-chemické vlastnosti DNA
8.	Základy humánnej a populačnej genetiky - Mendelove zákony dedičnosti - Autozómovo dominantná a recesívna dedičnosť - X-viazaná dedičnosť - Génová väzba a rekombinácia - Genetická predispozícia	Špecifikácie typov nukleových kyselín Praktická úloha: - Izolácia RNA – RNase-free práca, uchovávanie RNA Seminár: - Význam nekódujúcich RNA
9.	Epigenetika - Základné princípy epigenetickej regulácie - Genomický imprinting - Inaktivácia chromozómu X - Úloha nekódujúcich RNA v epigenetickej regulácii - Epigenetické zmeny vo vývine a pri ochoreniach	Kontrola kvality DNA a RNA Praktická úloha: - Meranie koncentrácie, hodnotenie čistoty, výpočty riedení a normalizácia koncentrácie Seminár: - Hodnotenie čistoty DNA a RNA - Integrita a degradácia DNA a RNA
10.	Imunogenetika - Úvod do fungovania imunitného systému a základné pojmy - Genetická podstata variability imunitného systému - Význam imunogenetiky pri transplantáciách, autoimunitných a ďalších ochoreniach	Klasická PCR a elektroforéza Praktická úloha: - Príprava a separácia PCR produktov pomocou agarózovej elektroforézy Seminár: - Princíp agarózovej elektroforézy a faktory ovplyvňujúce migráciu DNA
11.	Základné techniky bunkovej biológie - Biologický materiál vhodný na molekulovú analýzu - Výber biologického materiálu podľa typu analýzy - Základné princípy spracovania bunkových suspenzií - Izolácia a purifikácia nukleových kyselín	Reverzná transkripcia Praktická úloha: - Príprava RNA – reakčná zmes, riedenie cDNA Seminár: - Princíp reverznej transkripcie a funkcia reverznej transkriptázy
12.	Základné techniky molekulovej biológie - Hybridizácia nukleových kyselín - Restričné endonukleázy - Elektroforéza nukleových kyselín - Hybridizácia <i>in situ</i> a FISH	Druhá priebežná kontrola (prednášky 6–11) Real-time PCR Praktická úloha: - Princíp kvantitatívnej PCR (Real-time PCR) Seminár: - Fluorescenčné sondy – SYBR Green a TaqMan - Referenčné gény a normalizácia génovej expresie
13.	Amplifikačné metódy analýzy nukleových kyselín - Klónovanie - Vektory – plazmidové, vírusové a ďalšie typy - Princíp a typy PCR	Vyhodnotenie qPCR - Absolútna a relatívna kvantifikácia - Technické a biologické replikáty - Interpretácia amplifikačných a melting kriviek
14.	Génové inžinierstvo - Základné princípy technológie rekombinantnej DNA - Princíp CRISPR/Cas systémov - Využitie génového inžinierstva vo výskume a medicíne	Záverečné cvičenie - Interpretácia molekulových výsledkov - Individuálne vyhodnotenie práce študentov