

Sylabus Molekulární fyziologie genomu 2010-04-23

1. **Definice chromatinu:** Jednotlivé složky chromatinu, úrovně organizace chromatinu, chromozomální teritoria a uspořádání chromatinu do chromozomálních teritorií.
2. **Struktura nukleozómů:** Varianty a typy histonů, formování nukleosomů, funkce histonu v buněčných jádrech.
3. **Epigenetické modifikace histonů:** acetylace, methylyce, fosforylace a ubikvitinace. Korelace mezi methylací histonů a DNA.
4. **Funkce chromatinu:** Ve vztahu k replikaci, transkripci, sestřihu a DNA reparaci. Charakteristika struktury chromatinu během zmíněných procesů.
5. **Struktura metafázních chromozómů:** typy a sub-typy metafázních chromozómu, karyotypování, klinické aplikace
6. **Definice buněčné diferenciaci:** Struktura chromatinu u cyklujících a diferencujících se buněk.
7. **Diferenciaci embryonálních kmenových buněk:** Možnosti využití myších ES buněk (systém knockout myší), možnosti využití lidských ES buněk jako terapeutického nástroje.
8. **Krvetvorba** – hlavní diferenciacní směry
9. **Metodické přístupy:** Fluorescenční in situ hybridizace (FISH technika)
10. **Metodické přístupy:** Imunocytochemie
11. **Metodické přístupy:** Komparativní genomická hybridizace
12. **Metodické přístupy:** GFP technologie, FRAP technika
13. HP1 protein a centromerický heterochromatin: Význam z hlediska struktury a funkce chromatinu
14. **Apoptóza** – morfologie, molekulárně-biologické změny, hlavní apoptotické dráhy
15. **Struktura a funkce cytoskeletu:** hlavní složky cytoskeletu, proteiny cytoskeletu
16. **Jaderná matrix:** Složky jaderné matrix, kontroverzní přístupy k existenci jaderné matrix, vztah jaderná matrix k formování chromatinu
17. **Laminy a další proteiny jaderné matrix:** Typy laminů a jejich funkce.
18. **Oblasti MARs, SARs a LBARs** a jejich funkce vzhledem ke struktuře chromatinu
19. **BAC/PAC knihovny** a jejich využití pro FISH techniku – obecně
20. **Patofyziologie a cytogenetika nádorových buněk:** Cytogenetické metody aplikované v klinické cytogenetice. Základní cytogenetické změny u vybraných typů nádorů jako je retinoblastom, nádory tlustého střeva, mnohočetný myelom.
21. **Konfokální mikroskopie**

22. HP1 proteiny – struktura a funkce
23. Methylyce DNA versus methylyce histonů
24. Epigenetická modifikace histonů a jejich funkce
25. Varianty histonů
26. Organizace chromatinu, struktura nukleosomů
27. Epigenetické modifikace centromer, Xi a telomer
28. Účinky HDACi
29. DNA microarrays

Literatura:

1. Cremer, T. and Cremer, C. (2001) Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. *Nat. Rev. Genet.* 2, 292-301.
2. Rice, J.C. and Allis, C.D. (2001). Histone methylation versus histone acetylation: new insights into epigenetic regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13, 263-273.
3. Francastel, C., Schubeler, D., Martin, D.I. and Groudine, M. (2000) Nuclear compartmentalization and gene activity. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 1, 137-143.
3. Bártová and Kozubek (2006) Nuclear architecture in the light of gene expression and cell differentiation studies, *Biol Cell* 98: accepted.
4. Raška I. Buněčné jádro, *Vesmí*, 563-572, 2000
5. Bednár J., Staněk D., Malínský J., Raška I. Dnešní mikroskopie v biomedicíně, *Vesmír*, 581-585, 2004

Otázky:

1. Replikace genomu
2. Biologická dozimetrie
3. Struktura genomu v jadře
4. Regulace exprese u prokaryot a eukaryot
5. Numerické aberace
6. Mismatch reparace
7. Rekombinační reparace
8. Vznik aberací
9. Poškození na cytogenetické úrovni
10. Pohyblivost genomu – experimenty na živých buňkách, GFP
11. Struktura genomu – chromosomy
12. Strukturální aberace
13. Regulace exprese u eukaryot
14. Faktory ovlivňující chromatin
15. NHEJ reparace
16. Působení UV-záření na genom
17. Epigenetická regulace exprese
18. Poškození genomu
19. Excizní reparace
20. Regulace transkripce u prokaryot
21. SOS reparace
22. Modifikace histonů a jejich úloha
23. Struktura genomu – po chromosomové vlákno
24. Enhancery a aktivátory
25. Výpočet produkce zlomů DNA
26. Systémy reparace
27. Významná jména z historie výzkumu genomu
28. Stanovení zlomů DNA

Molecular pathophysiology of the genome

1. **Definition of chromatin:** Chromatin components, levels of chromatin organization, chromosomal territories and chromatin arrangement into chromosome territories.
2. **Structure of nucleosome:** Histone variants, nucleosome arrangement, histone function in the interphase cell nuclei.
3. **Epigenetic modification of histones:** acetylation, methylation, phosphorylation and ubiquitination. Correlations between histone and DNA methylation states.
4. **Function of chromatin:** chromatin architecture related to the replication, transcription, splicing and DNA repair.
5. **Structure of metaphase chromosomes:** types and sub-types of metaphase chromosomes, karyotyping and clinical applications
6. **Definition of the cell differentiation:** Chromatin structure of cycling and differentiated cells.
7. **Differentiation of embryonic carcinoma cells:** Possibility to use mouse ES cells (knockout organisms), possibilities to use human ES cells as a therapeutic tool.
8. **Haematopoiesis:** Main differentiation pathways.
9. **Methodological approaches:** Fluorescence in situ hybridization (FISH technique), immunocytochemistry, Comparative genomic hybridization (CGH), DNA microarrays, GFP technologies, FRAP technique.
10. **Heterochromatin protein 1 (HP1) and centromeric heterochromatin:** An importance of HP1 in relationship to chromatin structure and function.
11. **Apoptosis:** Morphology, molecular-biological changes, main apoptotic pathways.
12. **Structure and function of cytoskeleton:** Main parts of cytoskeleton, cytoskeletal proteins.
13. **Nuclear matrix:** Components of nuclear matrix, controversial approaches to the existence of the nuclear matrix. Relationship of nuclear matrix to chromatin architecture.
14. **Lamins and other proteins of nuclear matrix:** Types of lamins and their function.
15. **MARs, SARs, LBARs regions of nuclear matrix,** their function and relationship to the chromatin structure.
16. **BAC/PAC clones** and their importance for FISH technique.
17. **Tumour cell pathophysiology and cytogenetics:** Cytogenetic methods applied in clinical laboratories. Basic cytogenetic changes in selected tumours such as retinoblastoma, colorectal carcinoma and multiple myeloma.
18. Confocal microscopy: Application

Anotace:

Hlavní cíle kurzu Molekulární fyziologie genomu vedou k porozumění základů korelací mezi strukturou a funkcí chromatinu. Cyklus přednášek je koncipován tak, aby posluchačům poskytl řadu nových poznatků z oblasti biologie chromatinu. Uspořádání chromatinu vyššího řádu je probíráno v kontextu s řadou fyziologických dějů jako je proliferace buněk, diferenciace a buněčná smrt apoptóza a patofyziologických procesů, jako je nádorová transformace buněk. Velká pozornost je věnována problematice epigenetických regulací genomu, jako jsou například methylace a acetylace histonů a methylace DNA. Dalším cílem je podrobně vyložit nejnovější postupy a možnosti konfokální mikroskopie a cytometrie s vysokým rozlišením. Studenti mají možnost se seznámit s řadou molekulárně biologických metod. Na konci tohoto kurzu bude student schopen vysvětlit význam struktury chromatinu při regulaci jaderných procesů jako je replikace, transkripce, sestřih a DNA reparace. Studenti by měli pochopit principy metod jako je například fluorescenční in situ hybridizace (FISH), chromatinová imunoprecipitace, komparativní genomová hybridizace (CGH), imunofluorescence, RT-PCR a další. Informace mohou využít především v dalších kurzech zabývajících se biologií nádorů. Celá problematika je vysvětlována z pohledu základního výzkumu a studenti mají možnost se seznámit s nejnovějšími poznatky a trendy v biologii chromatinu.

The main aims of lectures from Molecular Physiology of the Genome lead to understanding of correlations between structure and function of chromatin. Lectures offer new knowledge in the field of chromatin biology. Arrangement of higher order chromatin structure is discussed from the view of physiological events such as cell proliferation, differentiation and cell death apoptosis. Moreover, we are interested in changes in chromatin architecture during pathophysiological process such as tumor cell transformation. A part of chromatin structure course pays an attention to epigenetic regulation of genome. Students are informed about functional and structural aspects of histone acetylation, histone methylation and DNA methylation. In the next part of course we lecture latest principles and facilities of confocal microscopy and high-resolution cytometry. Students are familiarized with a vast array of molecular-biology methods. At the end of course the student will be able to explain an importance of chromatin structure during regulation of replication, transcription, splicing, and DNA reparation. Students would understand the principles of important methods such as fluorescence in situ hybridization (FISH), chromatin immunoprecipitation, comparative genomic hybridization (CGH), immunofluorescence, RT-PCR, and others. Students gain a lot of knowledge in the field of tumor cell biology, which could be applied in other courses and their diploma thesis with similar field of interest. The chromatin biology is explained from the view of basic research and students are familiarized with recent trends in this attractive field of science.

1. Buněčné jádro, jadérko – kompartmentalizace interfázních jader
<p>
2. Transkripce, RNA procesy a RNA interference
<p>
3. Struktura chromatinu a transkripce
<p>
4. Struktura chromatinu a buněčná diferenciace
<p>
5. Struktura chromatinu a apoptóza
<p>
6. Epigenetické aspekty chromatinu
<p>
7. Cytoskelet, laminy a kontroverzní jaderná matrix
<p>
8. BAC/PAC knihovny a příprava DNA sond pro FISH techniku
<p>
9. Konfokální mikroskopie a relevantní metody
<p>
10. Struktura chromatinu a epigenetické změny u nádorových buněk
<p>
11. Cytometrie s vysokým rozlišením – princip a statistické a bioinformatické analýzy
<p>
12. Microarray technologie
<p>
13. Reparační mechanismy DNA

**Bártová et al.,
GAČR: 204/06/0978**

Příloha 12