

Sylabus Molekulární fyziologie genomu (přednášky E. Bártová)

1. **Definice chromatinu:** Jednotlivé složky chromatinu, úroveň organizace chromatinu, chromozomální teritoria a uspořádání chromatinu do chromozomálních teritorií.
2. **Struktura nukleosomu:** 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, sestříhu a DNA reparaci. Charakteristika struktury chromatinu během zmíněných procesů.
5. **Struktura metafázních chromosomů:** typy a sub-typy metafázních chromosomů, 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 myši), možnosti využití lidských ES buněk jako terapeutického nástroje.
8. **Krvetvorba** – hlavní diferenciacní směry
9. **Metodické přístupy:** Fluorescenční in situ hybridizace (FISH technika), imunocytochemie, komparativní genomická hybridizace, DNA microarrays, GFP technologie, FRAP technika
10. HP1 protein a centromerický heterochromatin: Význam z hlediska struktury a funkce chromatinu
11. Apoptóza – morfologie, molekulárně-biologické změny, hlavní apoptotické dráhy
12. **Struktura a funkce cytoskeletu:** hlavní složky cytoskeletu, proteiny cytoskeletu
13. **Jaderná matrix:** Složky jaderné matrix, kontroverzní přístupy k existenci jaderné matrix, vztah jaderná matrix k formování chromatinu
14. **Laminy a další proteiny jaderné matrix:** Typy laminů a jejich funkce.
15. **Oblasti MARs, SARs a LBARs** a jejich funkce vzhledem ke struktuře chromatinu
16. **BAC/PAC knihovny** a jejich využití pro FISH techniku – obecně, **FISH technika**
17. **FRAP technika**
18. **Princip PCR**
19. **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.
20. **Reparace DNA.** Mechanismy HR, NHEJ, atd.

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.
4. Bártová and Kozubek (2006) Nuclear architecture in the light of gene expression and cell differentiation studies, *Biol Cell* 98: accepted.
5. Raška, Buněčné jádro. Vesmír, 2000.

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.