

1.1. Molekulární biologie buňky

Geny, chromosomy a funkční architektura buněčného jádra

1) Struktura eukaryotických genů.

Transkripční definice genu. Struktura genu, jeho regulační oblasti, alternativní počátky a konce transkripce a translace, sestřih a alternativní sestřih transkriptů. Regulační sekvence v proteinkódujících genech, TATA box, Initiator, CpG islands, promotor-proximální elementy, enhancery.

2) Organizace genů a nekódující DNA v chromosomech, mobilní DNA-elementy.

Srovnání velikostí genomů organismů, podíly kódující a nekódující DNA. Repetitivní DNA, satelitní DNA, mikrosatelity. DNA-fingerprinting. Typy nekódujících RNA a jejich funkce. DNATranspozony a retrotranspozony, typy, hlavní rozdíly a mechanismy jejich transpozice.

3) Struktura a modifikace chromatinu.

Členění a struktura heterochromatinu a euchromatinu. Histony - typy a funkce. Histonové chaperony, HMG a SMC proteiny, proteiny modifikující histony či methylující DNA, proteiny rozpoznávající tyto modifikace. Komplexy remodelující chromatin. Metody studia chromatinu. Strukturní a funkční koordinace methylace DNA a histonů.

4) Funkční architektura buněčného jádra.

Organizace chromatinu do struktur vyššího řádu. Chromatinové smyčky, topologicky asociované domény, chromozómové kompartmenty. Asociace chromatinu s různými jadernými strukturami. Chromozómová teritoria. Jaderné nemembránové organely, poznatky o jejich vzniku, organizaci a funkci. Superenhancery.

Základní genetické mechanismy

5) Replikace DNA a replikační stres

Detailní popis DNA-replikace u eukaryot. Licencování DNA. Zahájení replikace (firing). Role CDKs v regulaci DNA replikace. Vizualizace DNA replikace v živých buňkách. Vztah mezi licencováním DNA a vstupem do S-fáze: Replikační licenční restriční bod. Replikační stres.

6) Oprava poškození DNA a rekombinace

Chyby vznikající při replikaci DNA. Přehled opravných mechanismů eliminujících poškození DNA (base excision repair, mismatch repair, nucleotide excision repair; non-homologous endjoining, homologous recombination). Defekty spojené s poruchami těchto mechanismů. Odpovědi buňky na poškození DNA.

7) Transkripce

Iniciace, elongace a terminace transkripce u eukaryot. Detailní srovnání struktury a funkce RNA Pol I, II a III a jejich komplexů. Syntéza a zpracování ribozomální RNA. Transkripce, zpracování a funkce tRNA, 7SK, SRP, U6, RNA P a MRP. Holokomplex RNA PolIII, TAFs. Modifikace RNA PolIII, CTD.

8) Translace

Dekódování mRNA prostřednictvím tRNA. Degenerovaný tripletový kód, start- a stop-kodony, ORF. Aminoacyl-tRNA-synthetasy. Struktura a interakce tRNA. Struktura, funkce a sestavování

eukaryotických ribozomů. Ribosom jako ribozym. Iniciace, elongace a terminace translace. Polysomy.

Řízení genové exprese

9) Aktivátory a represory transkripce.

Architektura transkripčních faktorů, typy DNA-vazebných domén. Vazba transkripčních faktorů na DNA – v kontextu chromatinu, v rámci genomu. Způsoby regulace aktivací funkce transkripčních faktorů SMAD, STAT, FoxO, HIF, Myc, Jun/Fos, CREB. Jaderné hormonální receptory, vazba na DNA, vazba ligandu, funkční cyklus. Koregulátory, koncept SERM, role chromatinu.

10) Regulace transkripce RNA PolII od iniciace po terminaci

Funkční cyklus RNA PolII - iniciace, elongace a terminace transkripce protein-kódujících genů. Chromatinové modifikace a jejich důsledky pro organizaci chromatinu a genovou expresi. Role remodelačních komplexů, role mediátorového komplexu. Kompartmentalizace transkripce.

11) Methylace DNA v řízení genové exprese.

Methylace CpG a non-CpG, methylace adenosinu. Metody pro studium methylace DNA, bisulfitové sekvenování. Methyl-vazebné proteiny a mechanismy inhibice genové exprese, distribuce DNA-methylací v rámci genů a savčích genomů.

12) Role nekódujících RNA v genové expresi.

Typy a funkce rRNA, snRNA, snoRNA. Transkripce a maturace. Telomerasová RNA, struktura a funkce telomerázy. Dráhy miRNA, efekty na chromatin. Dlouhé nekódující RNA - přepis, zpracování a funkce.

13) Sestřih, jeho regulace a navazující procesy.

Zpracování pre-mRNA (zakončení, sestřih, editace, polyA), alternativní sestřih, buněčné struktury podílející se na metabolismu RNA. Spliceosom jako ribozym, evoluce sestřihu. Transport mRNA. Lokalizace mRNA a stabilita. Spřažení transkripce s navazujícími procesy.

14) Mechanismy RNA interference.

RNA silencing. Syntéza, zpracování a funkce miRNA, piwiRNA, siRNA. Komplexy fungující v rámci drah RNA silencing. Role a efekty dsRNA. Technologie RNAi. Využití RNAi v experimentech.

Buněčná signalizace

15) Extracelulární signalizace

Interakce buňka-extracelulární matrix, interakce buňka-buňka: mezibuněčná komunikace, „gap junction“ & interakce molekul plazmatických membrán, extracelulární signální molekuly - struktura a funkce, endokrinní, parakrinní, autokrinní a synaptická signalizace, hormony, cytokiny.

16) Přenos signálu do buňky

Difúze molekul plynů a hydrofobních molekul, interakce s membránovým receptorem, struktura a funkce membránových receptorů, receptory spojené s iontovými kanály, receptory spojené s G proteiny, receptorové kinázy: receptorové tyrosinkinázy & receptorové serin/threoninkinázy, receptory asociované s kinázami, receptory s doménou smrti.

17) Charakteristiky buněčných signálních sítí

Způsoby kódování signálu, typy kompartmentalizace, crosstalk. Kombinatorická komplexita, robustnost odpovědi. Kooperativita odpovědi, signalizace vše nebo nic versus graduovaná odpověď. Integrovaná versus modulární architektura signálních proteinů. Příklady konstrukcí signálních uzlů.

18) Role Ser/Thr-fosforylace v signalizaci

Rodina proteinkinas. Signalizace cAMP, AGC kinasy a různé mechanismy jejich regulace. Kaskády MAPK. Rodina CDK a způsoby regulace, inhibitory INK a CIP/KIP. Regulace GSK3 a její kompartmentalizace. Receptorové Ser/Thr kinázy. MTORC a jejich regulace.

19) Role Tyr-fosorylace v signalizaci

Receptory růstových faktorů, přenos signálu do buňky. Receptor pro insulin, IRS, PI3-kinasy. Nereceptorové tyrozinové kinázy. JAK/STAT signalizace. Integrinové receptory a signalizace kontaktní inhibice růstu.

20) Regulovaná proteolýza v intracelulární signalizaci

Signální dráhy NFκB/Rel, Notch, Wnt jako příklady uplatnění regulované proteolýzy. Ubiquitinylace a příbuzné modifikace. Typy řetězců ubiquitinu a jejich role.

Rozvíjející metodické otázky

Viz konec seznamu

1.2. Buněčná fyziologie a diferenciacce

Biologické membrány

1) Struktura biologických membrán

Typy lipidů v biologických membrán, jejich uspořádání, asymetrie lipidové dvojvrstvy a její tvorba a udržení. Role membránových lipidů v signalizaci. Proteinová složka biomembrán, typy interakcí proteinů s membránami.

2) Membránový transport

Propustnost biologických membrán, plyny, ionty, látky polární a nepolární. Pasivní a aktivní transport. Typy pasivního transportu, přenašeče a kanály. Aktivní transport primární a sekundární, zdroje energie pro transport.

Transport proteinů do membrán a organel

3) Sekrece proteinů a inserce proteinů do membrány v ER

Signální sekvence, kotranslační translokace přes membránu ER. Posttranslační translokace. Integrální membránové proteiny syntetizované na drsném ER – typy, topogenní sekvence.

4) Posttranslační modifikace a folding v ER

N- a O-vázané oligosacharidy v glykoproteinech – složení a funkce. Syntéza N-oligosacharidů, dolicholfosfát. Folding, chaperony – typy a funkce. Vznik S-S můstků v ER – PDI.

5) Sorting proteinů do mitochondrií a peroxisomů

Syntéza a rozpoznání mitochondriálních proteinů kódovaných jaderným genomem. Import proteinů do mitochondriální matrix. Dráhy translokace do mitochondriální membrány. Sorting do peroxisomů – rozpoznání proteinů a způsob translokace, odlišnost od situace v mitochondriích.

6) Jaderný transport

Komplex jaderného póru – struktura, komponenty. Jaderné lokalizační a exportní signály. Receptorové proteiny – karyopheriny. Cyklus karga a transportních komponent při jaderném importu. Ran-dependentní a Ran-independentí jaderný export – popis, rozdíly. Role GEF a GAP pro Ran. Export mRNP.

Buněčná energetika

7) Základní dráhy energetického metabolismu

Glykolýza a Krebsův cyklus, oxidace mastných kyselin, role mitochondrií, peroxisomů. Transportní systémy vnitřní mitochondriální membrány.

8) Elektron-transportní řetězec a tvorba ATP

Komplexy dýchacího řetězce, jejich složení a funkce. Energetika dýchacího řetězce, Nernstova rovnice, redox-potenciál. Transport protonů, Q-cyklus. ATP-synthasa – složení, funkční cyklus, energetika.

Pohyb váčků, sekrece a endocytóza**9) Molekulární mechanismy transportu váčků**

Transportní váčky – klathrinové, COPI, COPII. Jejich role v transportu, povrchové proteiny. Formování váčků a jejich fúze s cílovou membránou, role G proteinů. Signální sekvence na kargo-proteinech a jejich receptory. v-SNARE komplexy a jejich role při fúzi membrán.

10) Fáze sekreční dráhy

Transport ER – Golgi. Role váčků COPII a COPI, anterográdní a retrográdní transport. Signální sekvence, receptor KDEL. Maturace cis-trans v rámci Golgi cisteren. Transport váčků z transGolgi. Formování klathrinových váčků, role dynaminu. Sorting lysosomálních enzymů, M6P receptory. Sortování proteinů do basolaterální nebo apikální membrány u polarizovaných buněk. Řízená exocytosa. Transcytosa.

11) Receptory zprostředkovaná endocytóza, cílení proteinů do lysosomů

Endocytická dráha pro internalizaci LDL. LDL-receptor, signální sekvence, recyklace receptoru. Transferinový cyklus. Endocytóza membránových proteinů, multivesikulární endosomy. Autofagie cytosolických proteinů a organel.

Buněčné struktury a pohyb**12) Mikrofilamenta – organizace, dynamika, regulace**

Výstavba a dynamika mikrofilament, regulace aktin-vazebnými proteiny, forminy a Arp2/3komplex. Proteiny spojující aktinová filamenta. Buněčné struktury založené na mikrofilamentech, interakce s membránou.

13) Myosiny a pohyb

Myosiny jako molekulární motory, typy, organizace, interakce s mikrofilamenty. Pohyb založený na funkci myosinů. Kontraktilní mikrofibrily kosterního svalu. Aktomyosinová filamenta v buňkách hladkého svalu. Transport karga prostřednictvím myosinu V.

14) Buněčná migrace

Směřovaný buněčný pohyb a jeho regulace. Asymetrická distribuce komponent. Sestavování a funkce aktinových filament, role G proteinů, role myosinu II. Metodické přístupy ke studiu Rho GTPas.

15) Mikrotubuly – organizace, dynamika, regulace

Tubuliny, mikrotubuly, uspořádání do protofilament. Nukleace mikrotubulů, MTOC. Formy MTOC, centrosomy. Dynamická nestabilita jednotlivých mikrotubulů, „treadmilling“, role GTP. Organizace mikrotubulů v buňce, „search and capture“. Proteiny asociované s mikrotubuly.

16) Kinesiny a dyneiny. Eukaryotické řasinky a bičíky. Kinesin-1 jako molekulární motor, struktura, funkce, energetika konformačních změn. Procesivita kinesinu-1. Role dalších typů kinesinů v buňce. Dynein a jeho role v transportu karga. Transport organel mikrotubulárními motory. Mikrotubulární struktury na povrchu buněk, řasinky a bičíky. Výstavba, bazální tělíska. Role dyneinu v generování pohybu. Intraflagelární transport.

17) Intermediální filamenta. Kooperace mezi cytoskeletárními elementy

Členění do základních 5 typů, výskyt. Výstavba, dynamika. Funkce jednotlivých typů. Nemoci spojené s defekty intermediálních filament. Vazba intermediálních filament na další struktury v buňce. Koordinace mikrotubulů a mikrofilament prostřednictvím Cdc42.

Buněčný cyklus eukaryot**18) Buněčný cyklus, řízení a kontrolní body**

Fáze buněčného cyklu a kontrolní body. Spojitost mezi replikací DNA, centrosomem a genomovou integritou. Regulace přechodu G1/S. Kontrola transkripce v průběhu buněčného cyklu. Regulace a význam exprese cyklinů D pro průchod buněčným cyklem. Restrikční bod a jeho umístění v buněčném cyklu.

19) Mitóza

Vstup do mitózy a organizace mitotického vřeténka, jednotlivé fáze mitózy. Průběh a regulace CDK1 aktivity během mitózy. Role Aurora-kináz a PLK1 v mitóze. Segregace chromosomů v průběhu anafáze a cytokineze. Anafázní kontrolní bod (SAC), komplex APC. Segregace chromosomů a cytokineze. Aneuploidie a chromosomální nestabilita.

20) Meióza

Hlavní rozdíly mezi mitózou a meiózou. Jednotlivé fáze I. a II. meiotického dělení. Homologní rekombinace a význam pro segregaci chromosomů (crossing over). Segregace chromosomů v meióze.

21) Oplození u savců z hlediska regulace buněčného cyklu a meiózy

Regulace meiotického buněčného cyklu oocytů. Signalizace profáze I bloku u oocytů. Signalizace metafáze II bloku u oocytů. Znovuzahájení meiózy u oocytů. Výstavba dělicího vřeténka a asymetrické buněčné dělení v meióze I oocytů. Defekty v segregaci chromosomů v oocytech.

22) Kmenové buňky, regenerace

Embryonální a tkáňově specifické kmenové buňky, vlastnosti a využití. Embryonální kmenové buňky (charakteristiky a různé způsoby jejich získávání), kmenové buňky přítomné v plodové vodě, metody přeprogramování, transdiferenciace a dediferenciace buněk. Krevní kmenové buňky, kmenové buňky epitelu střeva, kmenové buňky přítomné v mozku; Izolace a značení kmenových buněk v dospělých tkáních; Regenerace, úrovně, možnosti a schopnosti různých tkání a organismů.

Buněčná biologie ontogeneze**23) Diferenciace buněk**

Pojem diferenciace buněk. Stabilita a proměnlivost genetické výbavy během vývoje. Příklady diminuce, multiplikace, transpozice, přestavby genů během diferenciace. Průkaz potence jádra diferencované buňky.

24) Mezibuněčné vztahy ve vývoji

Endo, auto, para, juxtakrinní signalizace. Typy mezibuněčných signálů a jejich přenosové mechanismy. Receptorová soustava a způsoby jejího využití. Příklad neurální indukce.

Patterning ve vývoji bezobratlých a obratlovců. Mozaikový a regulační vývoj. Asymetrická segregace buněčných determinantů. Gradienty morfogenů

25) Gametogeneze a fertilizace

Gametogeneze - principy diferenciacce gonocytů. Struktura a molekulární výbava gamet a její význam pro vývoj jedince. Maternální vlivy zprostředkované oocytem. Buněčná a molekulární podstata oplození, kapacitace, akrozomální reakce, interakce spermie-oocyt (vajíčko).

26) Epigenetické reprogramování v životním cyklu savců

Imprinting – molekulární mechanismy a funkce. Principy a různé strategie “dosage compensation”. Řízení inaktivace chromosomu X u savců. Epigenetické modifikace v životním cyklu savců. Reprogramování genové exprese v průběhu ontogeneze. Epigenetické mechanismy u významných modelových organismů (rostliny, kvasinky, bezobratlí). Epigenetické mechanismy ovlivňující integritu genomu a expresi genů.

27) Morfogeneze a určení tělních os u obojživelníků.

Induktivní interakce jako princip regulace morfogeneze. Mezodermální, neurální a další indukce. Základní mechanismy vzniku anterior-posteriorní a dorzo-ventrální a pravo-levé osní symetrie na modelu *Xenopus*.

28) Vývojové etapy a určení tělních os v rámci živočišné říše

Vývojové etapy a určení tělních os u ryb, ptáků a savců. EVO-DEVO srovnání vzniku anterior-posteriorní a dorzo-ventrální osní symetrie v rámci živočišné říše. Ustanovení pravo-levé osní symetrie v rámci živočišné říše. Segmentace u obratlovců, role genů Hox.

29) Vývoj embrya a segmentace u hmyzu

Vývoj embrya na modelu *Drosophila*. Popis ranné fáze vývoje embrya. Ustanovení anterior-posteriorní a dorzo-ventrální osní symetrie u hmyzu na modelu *Drosophila*. Kaskáda transkripčních faktorů řídících segmentaci, role genů Hox.

Rozvíjející metodické otázky

Viz konec seznamu

1.3. Nádorová biologie

Integrace buněk do tkání, extracelulární matrix

1) Interakce buňka-buňka

Význam kontaktů mezi buňkami pro funkci tkání. Molekuly zprostředkovávající kontakty mezi buňkami. Hlavní typy adhezních molekul, homotypické a heterotypické interakce. Komunikace adhezních molekul směrem dovnitř buněk. Typy spojení – těsná, komunikační, adhezní, jejich charakterizace, molekuly, které je vytvářejí.

2) Extracelulární matrix (ECM),

Hlavní typy molekul konstituujících ECM. Bazální lamina – funkce, složení, struktura. Interakce buněk s bazální laminou. ECM pojivových tkání. Proteinové a cukerné komponenty – kolageny, proteoglykany, složení a funkce. Hyaluronan, aggrecan, fibronectin.

3) Interakce buňka-ECM, integrinová signalizace

Buněčné adhezivní struktury – fokální adheze, podosomy, invadopodia. Integriny; typy, struktura a funkce. Konformační změny integrinů ve vztahu k vazbě ligandu a signalizaci. Inside-out a outside-in regulace integrinů. Role integrinů ve vazbě leukocytů na endothely a extravasaci. Vnímání mechanických podnětů na rozhraní buňka-ECM, proteinové mechanosensory fokálních adhezí.

Buněčná smrt, stárnutí, reakce na poškození DNA, stresová odpověď

4) Buněčná smrt a buněčné stárnutí

Buněčná proliferace a buněčná smrt, nekróza vs. programovaná buněčná smrt (apoptóza), biologický význam. Proces buněčného stárnutí, Hayflickův limit. Příčiny buněčného stárnutí, akumulace mutací a poškození (včetně poškození mitochondriálního genomu): oxidativní poškození. Zkracování telomer, telomerase. Metody studia buněčné proliferace a apoptózy.

5) Apoptóza a její regulace

Úloha apoptózy v ontogenezi, v imunitním systému. Apoptóza a patologické stavy. Kaspázy: iniciační kaspázy a exekuční kaspázy, substráty smrti. Mechanismy regulace apoptózy: endogenní a exogenní signály. Mechanismy aktivace kaspáz: dráha receptorů s doménou smrti & mitochondriální dráha. Úloha proteinů rodiny Bcl-2. Úloha p53, struktura a funkce.

6) Buněčná odpověď na poškození DNA

Signalizace rozpoznání dvouřetězcových DNA zlomů. Odpověď na poškození DNA v různých fázích buněčného cyklu. Kontrolní body buněčného cyklu. Oprava DNA zlomů v průběhu mitózy. Osud buňky po poškození DNA. Role p53, oscilace, aktivace genu p21. Genomová nestabilita. Buněčná smrt a senescence jako ochrana před rozvojem nádorů.

7) Buněčná odpověď na proteotoxický stres

Unfolded-protein response v endoplasmatickém retikulu; IRE1, PERK, ATF6 signalizace. ERAD dráha. Autofagie cytosolických proteinů a organel. Úloha UPR, ERAD a autofagie v karcinogenezi.

Molekulární a buněčné základy vzniku rakoviny**8) Transformace buňky a vznik nádorů**

Základní vlastnosti nádorové tkáně - nádor, metastáza, progresse nádoru; základní dělení a klasifikace nádorů a krevních neoplázií; epidemiologická data o rakovině. Rakovina jako evoluční proces; sekvenování genomu nádorových buněk; nestabilita genomu nádorových buněk.

9) Karcinogeny, ztráta opravných mechanismů DNA, exprese telomerasy

Změny v buňkách vzniklé působením exogenních látek; karcinogeny a nádorové promotory; dělení karcinogenů a mechanismus jejich působení; xenobiotika a jejich zpracování buňkou (metabolická aktivace karcinogenů). Buněčná odpověď na poškození DNA lidské syndromy spojené s nefunkční DDR; buněčná role nádorových supresorů BRCA1/2, p53; molekulární a buněčné charakteristiky senescentních buněk; Telomery, exprese telomerasy.

10) Onkogeny a jejich aktivace v nádorech

Způsoby aberantní aktivace onkogenů v nádorech; mechanismy působení onkogenů Myc, MLL a PML-RAR; onkogenní signalizace EGF a FGF. Onkogeny ERBB2/HER2, RAS, RAF a PI3K; nádorové supresory NF1 a PTEN; /FGF. Onkogenní signalizace Wnt, Notch, Hedgehog a mTOR. Signalizace zprostředkovaná integriny. Heterotypická interakce v tkáních.

"Onkomýši" - důležitý experimentální model nádorové biologie.

11) Supresory a jejich inaktivace v nádorech

Nádorové supresory. Nádorový supresor pRB, objev proteinu pRB, Knudsonova teorie nádorového supresoru. Rodina „pocket proteins“. Buněčná senescence.

12) Rakovina jako infekční onemocnění

Onkogenní retroviry a viry; základní přehled (nejen virových) onkogenů; zvláštní typy infekčních nádorů (příklady nádorů vznikajících přenosem nádorových buněk); Burkittův lymfosarkom.

13) Metabolismus nádorových buněk

Warburgův efekt, kináza mTOR. Vliv proteinů p53, hypoxie, onkogenní signalizace. Metabolismus glukózy a glutaminu. Insulinová signalizace. Mitochondriální metabolismus. Nemetabolické funkce glykolytických enzymů. Znaky metabolismu nádorových buněk. Změny v regulaci genové exprese prostřednictvím metabolitů. Reaktivní kyslíkové radikály a antioxidanty. Terapie, zaměřená na metabolismus nádorových buněk.

14) Nádorové mikroprostředí

Nádor jako komplexní tkáň. Histologická stavba nádorů. Heterotypické interakce. Hojení ran a nádory. Modely nádorového mikroprostředí. Fibroblasty a myofibroblasty. Angiogeneze a hypoxie. Komunikace ve stromatu. Terapie, zaměřená na nádorové mikroprostředí.

15) Nádorové kmenové buňky a klonální expanze

Nádorové kmenové buňky - vysvětlení pojmů, metody studia a příklady identifikace u různých typů nádorů. Heterogenita uvnitř nádoru, mechanismus mutací, mikro a makroevoluční události, teoretické modely evoluce nádorových buněk, klonální kompetice a klonální kooperace, nádorové ekosystémy a adaptivní terapie.

16) Motilita nádorových buněk a metastázy

Invazivita nádorových buněk. Metastatická kaskáda, kolektivní a individuální módy invazivity, plasticita invazivity nádorových buněk, invadopodia, interakce nádorových buněk s buňkami nádorového stromatu. Cirkulující nádorové buňky. Teorie vzniku sekundárních nádorů a šíření nádorových buněk v organismu.

17) Imunita, zánět a růst nádoru

Historický pohled na úlohu imunity při potlačení vzniku a růstu nádorů; typy imunitních buněk přítomných v nádorech a jejich funkce; signalizace TGF-beta/BMP, NF-kappa B, TNF a Jak/STAT; epiteliálně-mezenchymální tranzice (EMT); růst nádoru - reakce nádorových buněk na hypoxii; vznik a charakteristika krevního zásobení nádoru.

18) Terapeutické metody v léčbě rakoviny

Radioterapie, chemoterapie, hormonální terapie, imunoterapie a příklady transportních systémů pro cílení léčby do nádorových buněk. Molekulární mechanismy fungování uvedených metod. Vznik rezistence proti léčbě. Pravidla klinického testování protinádorových léčiv

Rozvíjející metodické otázky

Metodické otázky mohou být součástí otázek kteréhokoli z okruhů nebo mohou být položeny samostatně.

M1) Kultivace a vizualizace buněk

Světelná mikroskopie. Limity rozlišení, fázový kontrast, fluorescence. Konfokální mikroskopie, mikroskopie s vysokým rozlišením. Fixace buněk a tkání, využití protilátek. Elektronová mikroskopie. Kryo-elektronová tomografie. Izolace buněčných organel. Průtoková cytometrie, sorting buněk. Izolace a kultivace buněk. Primární kultury, immortalizované linie. Hybridomy, produkce monoklonálních protilátek. Organoidy.

M2) Molekulárně-genetické techniky

DNA-klonování, restriční enzymy, vektory, cDNA knihovny, techniky založené na PCR. Hybridizační techniky k detekci DNA/RNA fragmentů. Transfekce buněk. Expresní systémy. Tagování proteinů. Techniky inaktivace genů. Použití geneticky modifikovaných myší (metody transgeneze, tzv. knockout a knockin). LoxP-Cre rekombinázový systém a jeho využití pro podmíněnou inaktivaci genů. Techniky využívající CRISPR-Cas9 pro cílenou inaktivaci genů. Utlumení exprese genů pomocí RNAi.

M3) Systémové a single-cell přístupy

Metody pro analýzu genomu. Metody pro analýzu transkriptomu. Metody pro analýzu proteomu. Metody pro analýzu interaktomu. Metody pro analýzu metabolismu. Možnosti studia na jednotlivých buňkách. Nejdůležitější modelové organismy experimentální biologie. Výhody a nevýhody, které přináší jejich využití.