**Rok akademicki 2021/2022**

**Przedmiot: Diagnostyka molekularna**

**Kierunek: Analityka Medyczna, III rok**

**Harmonogram wykładów**

Godzina: 8:15-9:45 (on-line w czasie rzeczywistym)

**5.10**

**12.10**

**19.10**

**26.10**

**2.11**

**9.11**

**16.11**

**23.11** 9:00-9:45

**Ćwiczenia:**

Poniedziałki, godz. 13:30-16:30

|  |  |
| --- | --- |
| Data ćw. | Grupy |
|  | 1 | 2 | 3 |
| 11.10 | 1  | 3  | 2  |
| 18.10 | 4 | 1  | 3  |
| 25.10 | 5  | 4  | 1  |
| 08.11 | 2  | 5  | 4  |
| 15.11 | 3  | 2  | 5  |

**Ćwiczenie 1**

Temat: Sekwencjonowanie DNA

Zagadnienia:

Definicja sekwencjonowania, pierwsze historyczne metody sekwencjonowania (metoda Maxama-Gilberta),  metoda Sangera oraz jej modyfikacje , zastosowanie dideoksynukleotydów w sekwencjonowaniu, pirosekwencjonowanie, ewolucja metod sekwencjonowania oraz ogólny schemat metod nowej generacji, NGS - wybrane metody (Metoda Illumina, Metoda IonTorrent)

Materiały:

<http://www.pfb.info.pl/files/kwartalnik/4_2010/02.%20kotowska.pdf>

[https://biotechnologia.pl/biotechnologia/metody-sekwencjonowania-powtorka-przed-sesja,14136](https://biotechnologia.pl/biotechnologia/metody-sekwencjonowania-powtorka-przed-sesja%2C14136)

<http://www.wple.net/plek/numery_2013/numer-7-2013/458-462.pdf>

<http://yadda.icm.edu.pl/baztech/element/bwmeta1.element.baztech-95df8166-731f-4729-8376-9d03a0ef0a4b> (należy pobrać pdf poprzez kliknięcie w ikonę)

oraz inne materiały

**Ćwiczenie 2**

Temat: Wykrywanie *Mycoplasma spp*. w hodowlach komórkowych, z wykorzystaniem technik biologii molekularnej.

Zagadnienia:

Mycoplasma sp. – budowa, chorobotwórczość, problemy diagnostyczne

Modyfikacje reakcji PCR (ze szczególnym uwzględnieniem metody multiplex), ich wykorzystanie w diagnostyce

Rozdział elektroforetyczny kwasów nukleinowych – rodzaje, sposoby, metody,

Materiały:

Podręcznik: Słomski Analiza DNA. Teoria i praktyka (dostęp poprzez platformę IBUK)

<https://www.bioind.com/worldwide/support/tech-tips-posters/mycoplasma-effective-detection-and-treatment/>

**Ćwiczenie 3**

Temat: Diagnostyka polimorfizmów genetycznych w metabolizmie antagonistów witaminy K

Zagadnienia:

Rola witaminy K w procesie krzepnięcia, Antagoniści witaminy K – mechanizm działania, przykłady substancji, monitorowanie leczenia antagonistami witaminy K, rola polimorfizmów genetycznych genów *VKORC* oraz *CYP2C9* w metabolizmie antagonistów witaminy K, zasada funkcjonowania sond molekularnych wykorzystywanych w metodzie real time PCR (sondy degradacyjne, Molecular Beacons)

Materiały:

* Podstawy hematologii; Anna Dmoszyńska, Tedeusz Robak
* Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej; Aldona Dembińska- Kieć, Jerzy W. Naskalski, Bogdan Solnica
* Znaczenie polimorfizmów genów VKORC1 oraz CYP2C9 dla leczenia przeciwzakrzepowego doustnymi pochodnymi kumaryny - przegląd doniesień; Tomasz Ciurus, Małgorzata Lelonek
* PCR w czasie rzeczywistym. Istota metody i strategie monitorowania przebiegu reakcji; Anna Studzińska, Jarosław Tyburski, Patrycja Daca, Andrzej Tretyn

**Ćwiczenie 4**

Temat: Oznaczanie haplotypów związanych z ryzykiem zachorowania na celiakię

Zagadnienia:

HLA klasy II: budowa, funkcja, cechy charakterystyczne antygenów.

Celiakia: etiopatogeneza, diagnostyka.

Materiały:

Biologia molekularna rok II - wykład (konspekt)

Immunologia kliniczna Kowalski, Marek L. Red.

„Diagnostyka celiakii i badania przesiewowe w grupach ryzyka” Joanna Beata Bierła, Ilona Trojanowska, Ewa Konopka, Elżbieta Czarnowska, Agnieszka Sowińska, Bożena Cukrowska. Diagn Lab 2016; 52(3): 205-210

„Celiakia – etiopatogeneza, klinika i diagnostyka laboratoryjna” Katarzyna Gomułka, Urszula Demkow. Nowa Pediatria 2/2010, s. 44-49

Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej autorzy: A. Dembińska-Kieć, J.W. Naskalski, B. Solnica

**Ćwiczenie 5**

Temat: Wykorzystanie techniki real-time PCR w diagnostyce

Zagadnienia:

real-time PCR, ocena względna poziomu ekspresji genów, ocena bezwzględna poziomu ekspresji genu, genotypowanie techniką HRM, genotypowanie z wykorzystaniem sond, rodzaje sond stosowanych wykorzystywanych w metodzie real-time, metody opracowywania wyników

Materiały:

**Analiza DNA - Teoria i Praktyka** autorzy :Słomski R

**Techniki laboratoryjne w biologii molekularnej** autorzy: Anna Lewandowska Ronnegren,

**Real-time pcr handbook** w postaci pliku pdf do Pobrania przez starostę roku z Zakładu

**Seminaria:**

Poniedziałek, godz. 14:00-16:15

|  |  |
| --- | --- |
| Data sem.  | Seminarium |
| 22.11 – uwaga 14:30 -16:45  | 1 s.2 |
| 29.11 – uwaga 14:30 -16:45 | 2 s.2 |
| 06.12 | 3 s.2 |
| 13.12 | 4 s.4A |
| 20.12 | 5 s.2 |

**Seminarium 1**

Temat: Sekwencjonowanie DNA

Zagadnienia:

Definicja sekwencjonowania, pierwsze historyczne metody sekwencjonowania( metoda Maxama-Gilberta),  metoda Sangera oraz jej modyfikacje , zastosowanie dideoksynukleotydów w sekwencjonowaniu, pirosekwencjonowanie, ewolucja metod sekwencjonowania oraz ogólny schemat metod nowej generacji, NGS - wybrane metody (Metoda Illumina, Metoda IonTorrent)

Materiały:

<http://www.pfb.info.pl/files/kwartalnik/4_2010/02.%20kotowska.pdf>

[https://biotechnologia.pl/biotechnologia/metody-sekwencjonowania-powtorka-przed-sesja,14136](https://biotechnologia.pl/biotechnologia/metody-sekwencjonowania-powtorka-przed-sesja%2C14136)

<http://www.wple.net/plek/numery_2013/numer-7-2013/458-462.pdf>

 <http://yadda.icm.edu.pl/baztech/element/bwmeta1.element.baztech-95df8166-731f-4729-8376-9d03a0ef0a4b> (należy pobrać pdf poprzez klikniecie w ikonę)

**Seminarium 2**

Temat: Aspekty prawne w badaniach genetycznych

Zagadnienia:

 regulacja warunków dopuszczenia na rynek medyczny testów diagnostycznych

 Ustawa o Diagnostyce Laboratoryjnej

 rozporządzenie MZ w sprawie standardów jakości dla Medycznych Laboratoriów Diagnostycznych i Mikrobiologicznych

 standardy jakości dla laboratorium w zakresie czynności laboratoryjnej diagnostyki genetycznej oraz laboratoryjnej interpretacji i autoryzacji wyniku badań

 stanowisko Międzynarodowego Komitetu Bioetycznego UNESCO

 stanowisko Zespołu ds Molekularnych Badań Genetycznych i Biobankowania

 Ustawa o Prawach Pacjenta

 Europejska Konwencja Bioetyczna

**Seminarium 3**

Temat: „Praktyczne aspekty farmakogenetyki”

Materiały:

1. Materiał wykładowy z przedmiotu Biologia Molekularna
2. Farmakogenetyka – znaczenie w chemioterapii raka jelita grubego. Mariusz Panczyk, Marek Mirowski. Nowotwory. Journal of Oncology 2008;58(1):62
3. Aspekty farmakogenetyczne u pacjentów ze współwystępującymi chorobami somatycznymi i psychicznymi. James R. Rundell, MD, Gen Shinozaki, MD, Tom 7, Nr 3, 2010, Psychiatria po Dyplomie
4. Rozdział X.1 Farmakogenetyka, wraz z podrozdziałami, Biologia molekularna w medycynie. Elementy genetyki klinicznej Jerzy Bal, 2013 (zakres stron w tym wydaniu 290-305)

**Seminarium 4**

Temat: "Mutacje dynamiczne i choroby wieloczynnikowe":

Zagadnienia:

Definicja mutacji dynamicznej, zjawisko antycypacji genetycznej, przykłady chorób wywołanych mutacjami dynamicznymi.

Uwarunkowania wielogenowe i wieloczynnikowe chorób i/lub cech fenotypowych. Przykłady chorób i/lub cech fenotypowych o uwarunkowaniach wielogenowych lub wieloczynnikowych, model dziedziczenia wieloczynnikowego wg Falconera.

Zjawiska: kodominacja, heterogenność loci, plejotropizm.

Źródła:

* Nadgrodkiewicz K, Kifer I: *Choroba Huntingtona jako przykład choroby neurodegeneracyjnej ze szczególnym uwzględnieniem aspektów genetycznych.*Postępy Psychiatrii i Neurologii, 2002, II, 149-153
* Kozubski W: *Neurologia*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2006
* Bal J: *Biologia molekularna w medycynie. Elementy genetyki klinicznej*. PWN, Warszawa, 2013
* Tobias E, Connor M, Ferguson M: *Genetyka Medyczna*. PZWL, Warszawa, 2013
* Fletcher H, Hickey I, Winter P: *Genetyka – krótkie wykłady*. PWN, Warszawa, 2010

**Seminarium 5:**

**Temat: Diagnostyka molekularna w hematologii**

**Zagadnienia**:

1. Wykorzystanie technik biologii molekularnej w diagnostyce białaczek.
2. Minimalna choroba resztkowa (MRD)
3. Markery oznaczane w MRD
4. Zastosowanie i znaczenie MRD
5. Metody oznaczania MRD
6. Schemat monitorowania MRD
7. Diagnostyka molekularna zaburzeń krzepnięcia i fibrynolizy

**Materiały obowiązkowe:**

**Skrypt:** „Wybrane zagadnienia biologii molekularnej” pod red. R.Wierzbickiego

Wykład „Diagnostyka molekularna zaburzeń hemostazy” – przedmiot: diagnostyka molekularna, Analityka Medyczna 2020/2021

1. MAŁGORZATA DAWIDOWSKA, JACEK WACHOWIAK „ROZWÓJ BADAŃ MOLEKULARNYCH W HEMATOONKOLOGII – MONITOROWANIE MINIMALNEJ CHOROBY RESZTKOWEJ W OSTREJ BIAŁACZCE LIMFOBLASTYCZNEJ I POTRANSPLANTACYJNEGO CHIMERYZMU HEMATOPOETYCZNEGO” Nowiny Lekarskie 2007, 76, 3, 282-291 <http://www.nowinylekarskie.ump.edu.pl/uploads/2007/3/282_3_76_2007.pdf>

#### KRYSTYNA JAGODA · BEATA STELLA-HOŁOWIECKA „Badanie choroby resztkowej (MRD) metodą cytometrii przepływowej w ostrej białaczce limfoblastycznej z linii T (T -OBL) u dorosłych” Acta Haematologica Polonica, 2004, 35, 4

#### [http://pthit.pl/Acta\_Haematologica\_Polonica,Choroba\_resztkowa\_MRD\_Ostra\_bialaczka\_limfoblastyczna\_T\_komorkowa\_T\_OBL\_Zakresy\_norm\_Cytometria\_prze,228.html#fulltext](http://pthit.pl/Acta_Haematologica_Polonica%2CChoroba_resztkowa_MRD_Ostra_bialaczka_limfoblastyczna_T_komorkowa_T_OBL_Zakresy_norm_Cytometria_prze%2C228.html#fulltext)

1. Małgorzata Dawidowska, Jacek Wachowiak, Michał Witt „Molekularne metody diagnostyki i oceny efektywności terapii we współczesnej hematoonkologii pediatrycznej” Postępy Biochemii 52 (4) 2006 <http://www.postepybiochemii.pl/pdf/4_2006/08_4_2006.pdf>
2. JOANNA KOPEĆ-SZLĘZAK, JOLANTA WOŹNIAK „STANDARDOWE OZNACZANIE IMMUNOFENOTYPU KOMÓREK BIAŁACZKOWYCH W ROZPOZNAWANIU I MONITOROWANIU OSTREJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ (OBS)” Nowiny Lekarskie 2008, 77, 4, 273–279 <http://www.nowinylekarskie.ump.edu.pl/uploads/2008/4/273_4_77_2008.pdf>
3. Anna Skotny, Joanna Pucińska WSPÓŁCZESNA CYTOMETRIA PRZEPŁYWOWA Acta Bio-Optica et Informatica Medica *Inżynieria Biomedyczna*, vol. 19, nr 1, 2013 <http://yadda.icm.edu.pl/baztech/element/bwmeta1.element.baztech-8a4c262e-3ba3-45d7-aba4-352e2eaa05a8>

Materiały dodatkowe:

## Wolfgang Kern, Susanne Schnittger, Claudia Schoch, Torsten Haferlach “Monitoring of minimal residual disease in acute myeloid leukemia” http://atlasgeneticsoncology.org/Deep/MinResDiseaseAMLID20047.html