

Program seminarium tematycznego dla doktorantów pt.:

Metody wielkoskalowe (genomiczne, transkryptomyczne i proteomiczne) w badaniach podstawowych i aplikacyjnych

I Genomika i transkryptomika (2 wykłady 2-godzinne)

Dr hab. Marta Kobłowska, dr Roksana Iwanicka-Nowicka

Wykłady obejmą zagadnienia dotyczące zastosowania technik wielkoskalowych (analizy mikromacierzowej i sekwencjonowania) w analizie genomów, epigenomów i transkryptomów różnych organizmów.

1. Analizy z wykorzystaniem technologii mikromacierzy DNA
 - Podstawy technologii mikromacierzy.
 - Planowanie właściwego eksperymentu z zastosowaniem mikromacierzy
 - Zastosowanie mikromacierzy w analizie genomów i transkryptomów
 - Wstęp do analizy danych otrzymanych z analiz mikromacierzowych (struktura danych, stosowane oprogramowanie)
 - Technologia mikromacierzy w diagnostyce medycznej.
2. Sekwencjonowanie nowej generacji (NGS – Next generation sequencing).
 - Rozwój metod sekwencjonowania DNA.
 - Podstawy sekwencjonowania nowej generacji (next generation sequencing – NGS).
 - Omówienie najczęściej stosowanych technologii NGS.
 - Omówienie struktury danych uzyskanych z sekwencjonowania, przedstawienie metod oraz oprogramowania stosowanych do analizy sekwencjonowania DNA.

- Struktura ludzkiego genomu – badania polimorfizmów pojedynczego nukleotydu SNP (ang. Single Nucleotide Polymorphism) i zmian liczby kopii fragmentów DNA - CNV (ang. copy number variation) na podstawie badań wielkoskalowych.
- Zastosowanie technologii wielkoskalowych w analizie epigenetycznej.

II Proteomika (5 wykładów 2-godzinnych)

Dr Maciej Kotliński

Podczas wykładów omówione zostaną podstawowe zagadnienia związane z proteomiką. Szczególny nacisk zostanie położony na techniki identyfikacji białek i zmniejszania złożoności prób stosowane w proteomice (spektrometria mas, jedno i wielowymiarowa chromatografia peptydów oraz białek, oprogramowanie do identyfikacji białek, itp.).

1. Definicja proteomiki i techniki stosowane w proteomice
 - Różnica pomiędzy proteomiką a „tradycyjnymi” badaniami białek
 - Krótka historia proteomiki i metod stosowanych w proteomice
 - Omówienie starszych, wychodzących z użycia metod, jak metoda sekwencjonowania Edmana.
2. Identyfikacja białek z zastosowaniem spektrometrii mas
 - Budowa i działanie spektrometru mas
 - Jonizacja i źródła jonów
 - Analizatory masy
 - Spektrometry mas stosowane w proteomice
 - Dane generowane przez spektrometry mas
 - Pomiar mas białek i peptydów
 - Metody identyfikacji białek
 - ‘mass fingerprinting’
 - sekwencjonowanie peptydów i spektrometry tandemowe

- Analiza danych otrzymanych podczas doświadczeń proteomicznych
 - Programy stosowane do identyfikacji białek w oparciu o dane otrzymane ze spektrometrów mas
- Modele spektrometrów stosowanych we współczesnej proteomice i ich optymalne zastosowanie

3. Złożoność proteomów

- Liczba różnych białek obecnych w proteomach
 - Zwiększenie złożoności proteomów przez alternatywne składanie transkryptów i występowanie modyfikacji potranslacyjnych
- Zakres stężeń białek występujących w proteomach
 - Zakres dynamiczny metod analizy białek
- Sposoby radzenia sobie ze złożonością prób proteomicznych
 - Rozwój metod spektrometrii mas
 - Frakcjonowanie komórek, organelli komórkowych, białek i peptydów. Omówienie metod takich, jak elektroforeza dwukierunkowa białek, ogniskowanie izoelektryczne białek lub peptydów w żelu i roztworze, chromatografia jedno i dwukierunkowa peptydów

4. Proteomika ilościowa

- Analiza bezwzględnej ilości białek
- Badania porównawcze (różnicowe)
- Elektroforeza dwukierunkowa
 - Difference gel electrophoresis (DIGE)
- Liczenie widm (spectral counting)
- Analiza siły sygnału
- Znakowanie izotopowe

- Znakowanie metaboliczne (SILAC, itp.)
- Znakowanie peptydów (np. ^{18}O)
- Znaczniki izobaryczne (np. iTRAQ)

5. Badania oddziaływań białek (Antoni Palusiński)

- Drożdżowy system dwuhybrydowy
- Bimolecular Fluorescence Complementation
- Föster (Fluorescence) Resonance Energy Transfer (FRET)
- Chromatografia powinowactwa
 - do peptydu (peptide pull-down)
 - peptydy modyfikowane potranslacyjnie
 - do białka (z metryczką, w fuzji w GFP)
 - Immunoprecypitacja (IP)
 - Immunoprecypitacja chromatyny (ChIP)
- Metody ilościowe w analizie oddziaływań białek