

M1510 Signaltransduktion der Zelle: Molekulare Mechanismen der Stressantwort (Apoptose, Autophagie, Seneszenz)

Cellular signal transduction:

Molecular mechanisms of stress response (apoptosis, autophagy, senescence)

Modulverantwortliche/r

Prof. Sebastian Wesselborg (sebastian.wesselborg@uni-duesseldorf.de)

Dozentinnen/Dozenten

Prof. Dr. Sebastian Wesselborg, Prof. Dr. Björn Stork, PD Dr. Dennis Sohn, Prof. Dr. Andreas Reichert, Prof. Dr. Christoph Suschek, PD Dr. Carsten Berndt, weitere Dozent*innen und Mitarbeiter*innen

Modulorganisation

Prof. Dr. Björn Stork (bjoern.stork@uni-duesseldorf.de)

Arbeitsaufwand	Leistungspunkte	Kontaktzeit	Selbststudium	Dauer
420 h	14 CP	225 h	195 h	1 Semester
Lehrveranstaltungen		Häufigkeit des Angebots		Gruppengröße
Praktikum: 18,0 SWS		Wintersemester		10 Studierende
Vorlesung: 1,5 SWS				
Seminar: 0,5 SWS				

Lernergebnisse/Kompetenzen

In dieser Lehrveranstaltungsreihe bekommen die Studierenden in der Vorlesung einen umfassenden Überblick über die verschiedenen Signaltransduktionsvorgänge in der Zelle sowie über die medizinische Relevanz dieser Prozesse vermittelt. Die Schwerpunkte im Praktikum liegen in der Signaltransduktion der Apoptose, Autophagie, Ferroptose, Seneszenz, mitochondrialen Qualitätskontrolle, NF- κ B- und NFAT-Signaling und Stickstoffmonoxid (NO)/Redox Signaling. Die Studierenden werden die dazugehörigen Analysemethoden anwenden und die entsprechenden Ergebnisse interpretieren können.

Lehrformen

Vorlesung, Literaturseminar, Praktikum, Präsentationen

Inhalte

Vorlesung:

Übersicht über die Mechanismen der zellulären Signaltransduktion:

Apoptose; Clearance apoptotischer Zellen; Autophagie; Zellzyklus und Proliferation; Zellalterung (Seneszenz) und die Rolle von p53 und p21; TNF-Rezeptor- und NF- κ B-Signaling; Wirkungsweise der Immunsuppressiva und FK506, NFAT- und Calcineurin-Signaling; Stickstoffmonoxid (NO) Signaling, mitochondriale Qualitätskontrolle, Mitophagie, zelluläre Respiration (oxidative Phosphorylierung), Eisen und Ferroptose, oxidative Beschädigungen, Thiol-Redox Signaling

Literaturseminar:

Im Literaturseminar soll das Verständnis der methodischen Vorgehensweise zur Gewinnung von wissenschaftlichen Erkenntnissen vermittelt werden. Die Studierenden lernen hierbei, sich in die jeweilige Fachliteratur einzuarbeiten, die zum Verständnis einer zu präsentierenden Publikation notwendig ist. Die benötigte Literatur wird hierbei von den Dozierenden zur Verfügung gestellt.

Praktikum:**Inhalt:**

- Durchflusszytometrischer Nachweis der DNA-Degradation während der Apoptose (FACS)
- Caspase- und PARP-Spaltung während der Apoptose (Westernblot)
- Detektion der LC3-Lipidierung zum Nachweis der Autophagie (Westernblot)
- LC3-Immunfluoreszenz zum Nachweis der Autophagie (Fluoreszenzmikroskopie)
- Durchflusszytometrischer Nachweis der mCitrine-LC3 Degradation während der Autophagie (FACS)
- β -Galactosidase-Färbung zum Nachweis der Seneszenz (Mikroskopie)
- Quantifikation eines Zellzyklusarrestes durch Anfärbung des nukleären DNA-Gehaltes (FACS)
- Nachweis einer DNA-Schädigungsantwort durch p53/p21-Analyse (Real-Time qPCR)
- NF- κ B-Aktivierung (Reporterassay)
- NFAT-Aktivierung (Reporterassay)
- Bestimmung von Mitophagie mittels Fluoreszenzmikroskopie
- Bestimmung mitochondrialer Respiration mittels Sauerstoff-Fluxanalyse
- Bestrahlung von Zellen mit UVA
- Bestimmung des Schutzes vor UVA-induzierter Apoptose durch den Arginin/iNOS-Stoffwechsel
- Aktivierung der iNOS durch pro-inflammatorische Zytokine
- Quantifizierung der iNOS-Expression und Korrelation zur UVA-induzierten Apoptose
- Quantitativer Nachweis der Erhöhung der systemischen NO-Derivat-Konzentration durch Aufnahme Nitrit/Nitrat-haltiger Lebensmittel
- Nachweis des Redoxstatus von Proteinen und bestimmter oxidativer Thiolmodifikationen (Westernblot, Redox Shift)
- Nachweis oxidativer Beschädigungen von DNA und Lipiden (FACS, Dot Blots, Fluoreszenzmikroskopie)

Techniken:

- Kultivierung eukaryotischer Zellen (steriles Arbeiten), Zellzahlbestimmung, Zellstimulation und Zell-Lyse
- Durchflusszytometrie (LSR Fortessa von BD)
- Quantitative Proteinbestimmung, SDS-PAGE, Westernblot
- Fluorimetrische / colorimetrische Assays
- Mikroskopie
- Quantifizierung bioenergetischer Parameter mittels ‚Seahorse Flux Analyzer‘
- Transfektion, Reporterassays
- Chemolumineszenzdetektion (CLD) von Stickstoffmonoxid und seiner Derivate
- Fluoreszenzbasierter Nachweis reaktiver Sauerstoff- und Stickoxidspezies
- Immunzyto- und immunhistochemische Arbeitsmethoden
- Fluoreszenz-basierte Techniken
- ATPase Assays

Teilnahmevoraussetzungen

Formal: Zulassung zum Masterstudiengang Molekulare Biomedizin

Inhaltlich: Grundkenntnisse in Aufbau und Funktion eukaryotischer Zellen; Allgemeine Kenntnisse der Zellbiologie; Grundzüge und Mechanismen der Signaltransduktion
Prüfungsform (1) Kompetenzbereich Wissen (100% der Note): Schriftl. Prüfung über die Inhalte der Vorlesung und des Praktikums; Dauer: 60 Minuten (2) Kompetenzbereich Dokumentation (unbenotet): Darstellung der Praktikums-Versuche in einer Präsentation; Dauer: 15 Minuten und 5 Minuten wiss. Diskussion
Voraussetzungen für die Vergabe der Leistungspunkte für dieses Modul (1) Regelmäßige und aktive Teilnahme am Praktikum (2) Halten von zwei Präsentationen (möglichst in englischer Sprache): a) Darstellung der Praktikums-Versuche in einer Präsentation (Dauer:15 Minuten und 5 Minuten wiss. Diskussion) b) Literaturseminar mit Vorstellen einer Originalpublikation (Dauer: 15 Minuten und 5 Minuten wiss. Diskussion) (3) Bestehen der Abschlussklausur bestehend aus Inhalten der Vorlesung und des Praktikums
Zuordnung zum Schwerpunkt A) Zell- & Organbiologie
Verwendung des Moduls in anderen Studiengängen Keine
Stellenwert der Note für die Endnote Die Note fließt entsprechend der Leistungspunkte (CP) gewichtet in die Gesamtnote ein: M.Sc. Molekulare Biomedizin 14/72 CP.
Unterrichtssprache Deutsch und Englisch (i.d.R. sollen die Studierenden das Literaturseminar und den Vortrag über die Praktikumergebnisse möglichst in englischer Sprache halten)
Sonstige Informationen Das Modul wird zentral vergeben. Anwesenheit bei der Vorbesprechung ist Pflicht.