
Laboratoř molekulární farmakologie a toxikologie

Rok pořízení	2018 - 2021
Financování	OP VVV CORE FACILITIES CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002515
Zodpovědná osoba	prof. MUDr. Stanislav Mičuda, Ph.D

Laboratoř molekulární farmakologie a toxikologie se zabývá studiem farmakodynamiky potenciálních nových nebo stávajících léčiv a současně získáváním detailních informací o jejich farmakokinetice (absorpce, distribuce, metabolismus a eliminace). Cílem je vyvíjet nová, efektivnější a bezpečnější léčiva a optimalizovat klinické používání stávajících léčiv. Spojením metod relevantních pro danou oblast, např. molekulárně-biochemických, analytických, biochemických, zobrazovacích, funkčních a dalších se daří získat komplexní pohled na vliv léčiva a dějů probíhajících v organismu. Studium biomakromolekul (DNA, RNA a proteinů), jejich vzájemné interakce a regulace jejich funkcí ve vztahu k funkcím a vlastnostem buňky mají v dnešní době stále své nenahraditelné místo v aplikovaném výzkumu.

Laboratoř se zabývá tématy kardiovaskulární toxicity protinádorových léčiv a možností farmakologické kardioprotekce, hodnocením jaterních účinků a kinetiky žlučových kyselin, cholesterolu stávajících nebo potenciálních léčiv a využitím metod individuálního a populačního modelování farmakokinetiky a farmakodynamiky a bioindikátorů terapeutických a toxických účinků léčiv.

V současné době je trendem především vysokorychlostní zpracování velkého množství vzorků v co nejmenším objemu, citlivá detekce a rychlá analýza naměřených dat. Snaha studovat účinky léčiv a dějů probíhajících v organismu jako komplexního celku vedla díky evropským dotacím k pořízení celého souboru moderního přístrojového vybavení, které splňuje standardy dnešní doby.

Western blot

Na Ústavu farmakologie byla vybavena laboratoř zabývající se detekcí proteinů metodami Western Blotu. Laboratoř disponuje celou řadou moderních přístrojů, soubor vybavení pro nácvik Western Blotu, Power Blotter systém, Bioruptor Pico, Fusion Solo 7S EDGE a WES system.

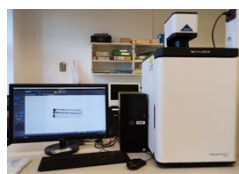
Wes System

Jedná se o unikátní plně automatizovaný přístroj pro separaci proteinů na principu kapilární elektroforézy s následnou detekcí pomocí specifických protilátek. Cílem je nahradit v současnosti používanou multikrokovou analýzu Western blotu odpovídající přístrojovou metodou, ve které nebude nutná manipulace s gely, používání sekvencí různých přístrojů a manuálně náročných technologických postupů. Jednou z obrovských výhod je rychlost celé analýzy, kdy celý proces separace proteinů a jejich imunodetekce probíhá v rámci 3 hodin. Za zmínku stojí také nízká spotřeba biologického materiálu (2ug), což v případě buněčného materiálu, kde je výťažnost omezena, je nespornou výhodou.



Fusion Solo 7S EDGE

Multifunkční dokumentační systém pro chemiluminiscenci, Western blot a ELFO gely s CCD kamerou chlazenou -90°C a aperturou čočky f/0,70 umožňuje vysoce citlivou detekci odpovídající standardům dnešní doby. Přístroj umožňuje snímání v reálném čase nebo v časových sekvencích. Součástí je i výsuvný transluminátor s UV světlem, který nabízí další využití přístroje. Obsahuje též kompletní softwarové vybavení umožňující vyhodnocení a kvantifikaci naměřených dat.



Bioruptor Pico

Bioruptor Pico je chlazený sonikátor, který využívá ultrazvukových vln pro extrakci nukleových kyselin a proteinů z tkání a buněk s možností regulace teploty a času. Zásadními výhodami přístroje je kontinuální chlazení vzorků v průběhu sonikace a možnost práce v uzavřeném systému bránícím cross-kontaminacím.

Power Blotter

Jedná se o samostatnou blotovací jednotku s integrovaným zdrojem, která umožňuje rychlý a spolehlivý přenos proteinů na PVDF membránu s minimální spotřebou blotovacího pufru. Tento nový přístroj umožnil zkrátit dobu přenosu na membránu z předchozí jedné hodiny přibližně na 10 min.

Analýza nukleových kyselin – qRT-PCR

QuantStudio7

Vysoce citlivý přístroj QuantStudio7 umožňuje širokou škálu aplikací založených na RT-PCR. Systém obsahuje 6 oddělených kanálů excitačního a emisního filtru s 21 kombinací filtrů pro maximální multiplexování. Zajímavá je také snadná možnost výměny bloků (96 well/384 well) bez jakýchkoli nástrojů a flexibilita v použité chemii. Díky svému snadnému ovládání, intuitivnímu SW a automatizovaným funkcím se stává nepostradatelnou součástí laboratoře.



ProFlex PCR systém

Jedná se o účinný víceblokový PCR thermocykler pro přepis mRNA do cDNA a amplifikaci DNA, který je rozdělen do tří na sobě nezávislých bloků (3x32 pozic). V celém bloku je možné využít 6 oddělených teplotních zón (VeriFlex technologie).

Metody analýzy farmakokinetiky léčiv

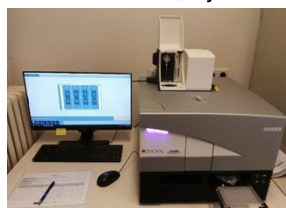
Agilent 1209 Infinity II

Systém Agilent 1209 Infinity II LC představuje novou generaci UHPLC s UVVIS detektorem diodového pole (DAD) a fluorescenčním detektorem. Vysoce výkonný a citlivý systém obsahuje gradientové čerpadlo pro práci až do tlaku 1300 barů, vakuový degaser, autosampler s temperováním vzorků v rozmezí teplot 4–40°C umožňující zpracovat velké množství vzorků (chromatografické vialky, mikrotitrační destičky), dále kolonový termostat, který disponuje prostorem pro dvě kolony s možností přepínání a regulací teploty až do 80°C. Nepostradatelnou součástí je také počítač se softwarem umožňující řízení a monitorování systému, sběr naměřených dat a jejich kvalitativní a kvantitativní vyhodnocení.



Tecan Spark

Vysokorychlostní destičkový reader Tecan Spark je multifunkční přístroj využívající široké spektrum režimů detekce, od absorbance (UV/VIS spektra), fluorescence, TRF, FRET, TR-FRET, luminiscence až po zobrazování živých buněk. Při volbě vlnové délky pro fluorescenci umožňuje kombinaci monochromátorů a interferenčních filtrů zároveň. Přístroj umožňuje také měření v ultranízkých objemech 2 mikrolitrů. Přístroj je unikátní ve své možnosti automatizace od inkubace buněk, injekce látek až získání měřených dat bez další lidské manipulace s destičkou.



Biochemický analyzátor

Malý centrifugační analyzátor umožňující stanovit základní komplexní vyšetření biochemických parametrů, včetně jaterního profilu transamináz a enzymů pankreatu, hodnot bílkovin, mineralogramu a hodnot kontrolního vyšetření ledvin. Kompletní analýza je velmi rychlá, v rámci 12 minut dokáže přístroj stanovit až 14 analytů ze 100 ul plné krve, séra či plazmy.

Ostatní přístroje

Díky projektu byly laboratoře modernizovány novým přístrojovým vybavením běžně používaným v laboratorní praxi, např. termobloky, chlazenými centrifugami s výměnnými rotory, analytickými váhami, systémem na produkci ultra čisté vody Synergy UV, aspiračním systémem pro odsávání zbytků nebezpečných vzorků a biochemickým analyzátozem.

Autor textu: Ing. Hana Laštůvková a spol.