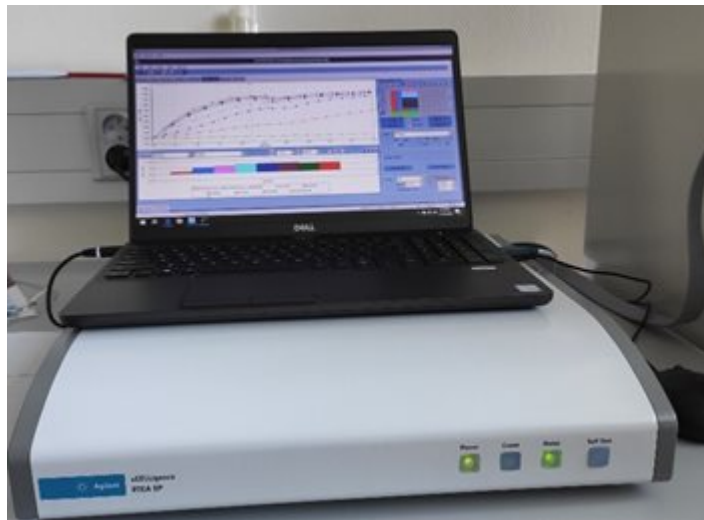

Laboratoř průtokové cytometrie

Rok pořízení	2018 - 2020
Financování	OP VVV CORE FACILITIES CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002515
Zodpovědná osoba	prof. MUDr. Martina Řezáčová, Ph.D.

xCELLigence

Nalézání nových, účinnějších a bezpečnějších léčiv a cytostatik představuje významný úkol pro nadcházející generace lékařů i vědeckovýzkumných pracovníků. Na počátku vývoje každé klinicky významné látky stojí její testování in vitro. Buněčné kultury představují komplexní biologický systém, který sdílí řadu vlastností tkání jejich původu, avšak za in vitro situace. To umožňuje reprodukovatelně simulovat řadu fyziologických i patologických situací a jejich potenciální ovlivnění nově vyvíjeným léčivem, které na jiných modelech nejsou z etických důvodů možné.

Přístroj xCELLigence RTCA (Real Time Cell Analyzer) umožňuje průběžně, neinvazivně a bez značení sledovat růst buněk, morfologii, viabilitu, proliferaci i migraci, a to i po dobu několika dní. Systém využívá speciálních tzv. E-destiček, které mají na dně umístěné biosenzory založené na zlatých mikroelektrodách. Princip stanovení spočívá v měření impedance (elektrického odporu). Čím silněji či ve větším počtu buňky adherují na povrch destičky, tím větší je odezva přístroje. V důsledku toho je xCELLigence schopna monitorovat cytotoxické reakce i změny tvaru a pohybu buněk vyplývající z výjimečně širokého rozsahu molekulárních cílů.



UV-VIS spektrofotometr

UV-VIS spektrofotometr BK-V1800 umožňuje stanovit vlastnosti vzorku, zejména koncentraci kvantifikované látky v roztoku, na základě pohlcování světla v různých vlnových délkách spektra. Jedná se o přístroj, u něhož lze libovolně nastavit vlnovou délku monochromatického světla. Principem je ozáření roztoku v kyvetě monochromatickým světlem (UV/VIS oblast elektromagnetického spektra), přičemž světelné záření je molekulou analytu absorbováno. Nedílnou součástí je proto fotodetektor, který měří intenzitu dopadajícího světla neabsorbovaného roztokem. Množství absorbovaného záření je úměrné koncentraci látky ve studovaném roztoku. UV-VIS spektrofotometr BK-V1800 je nezbytný pro kvalitní přípravu vzorků a praktická měření, která jsou v laboratoři průtokové cytometrie prováděna studenty doktorského studia.

Průtokový cytometr

Průtoková cytometrie je moderní, stále se rozvíjející multiparametrická bioanalytická metoda, která umožňuje v reálném čase stanovit velikost a morfologické charakteristiky buněk, spolu s analýzou vazby specifických protilátek nebo fluorescenčních sond. Průtoková cytometrie je metodou schopnou poskytnout komplexní kvalitativní i kvantitativní informace o charakteru vyšetřovaných buněk. Tyto informace jsou nezbytné pro studium odpovědi buněk in vitro a in

vivo na působení látek s potenciálním biologicky významným účinkem. Vlastní analyzátor využívající principů průtokové cytometrie se nazývá průtokový cytometr. V rámci laboratoře slouží průtokový cytometr k multiparametrické analýze fenotypu, viability, proliferace, genové exprese povrchových nebo intracelulárních znaků, apoptózy a distribuce buněk v jednotlivých fázích buněčného cyklu. Analyzovány jsou buňky zdravých dárců, primární a nádorové buněčné linie. Průtokový cytometr CytoFlex LX je vybaven čtyřmi excitačními lasery (355, 405, 488 a 640 nm) a čtrnácti fluorescenčními detektory. Průtokový cytometr CytoFlex LX je unikátní zejména výjimečně vysokou citlivostí, 7dekádním zobrazením, rychlostí měření až 30 000 událostí/sekundu a schopností analyzovat malé buňky a mikropartikule pod 0,2 μ m. Buněčný analyzátor využívají studenti při řešení vědecko-výzkumných projektů a realizaci laboratorních experimentů spojených s vypracováním disertační práce.



Multifunkční destičkový reader Spark

Reader Spark představuje modulární reader, který díky kombinaci principiálně rozdílných spektrálních optických metod umožňuje řadu multiparametrických buněčných analýz. Přístroj využívá detekce absorbance (UV/VIS spektra), fluorescence a luminiscence. Kombinace monochromátorů a interferenčních filtrů během volby vlnové délky zaručuje multifunkcionalitu readeru a umožňuje realizaci pokročilých technik fluorescenčního měření. Přístroj dále využívá termostatování měřicího prostoru, kontrolu inkubace, řízení koncentrace CO₂, zobrazování živých buněk a jejich konfluenci. To komplementárně s využitím průtokového cytometru umožňuje studentům doktorského studia realizovat vlastní vědecky produktivní práci v oblasti moderního biomedicínského výzkumu.

Chlazená stolní centrifuga

Chlazená stolní centrifuga Rotina 420 R je vyvinuta pro potřeby biochemických laboratoří a laboratoří tkáňových kultur. Centrifugace s využitím chlazené stolní centrifugy Rotina 420 R umožňuje v silovém poli oddělit jednotlivé složky suspenze na základě rozdílných hustot. Chlazená stolní centrifuga Rotina 420 R umožňuje nejen práci s buněčnými kulturami v rámci laboratoře průtokové cytometrie, ale je využívána i k některým zvláštním preparativním a analytickým účelům, jako je separace buněk, nebo jejich značení pomocí specifických sond a protilátek.

Inkubátor CO₂

Lidské buněčné linie představují základní experimentální modely používané v aktuálním výzkumu. Buněčné linie se uchovávají a pomnožují se ve k tomu určených speciálních inkubátorech CO₂, které svojí konstrukcí dovedou zajistit veškeré podpůrné podmínky nutné pro kultivaci. Inkubátory CO₂ udržují stabilní teplotu 37 °C blízkou tělesné teplotě zdrojového organismu. Atmosféra inkubátoru se přísně reguluje, je obohacena o oxid uhličitý, obvykle obsahuje 5 % CO₂. Zvýšená tenze CO₂ v inkubátoru se nezbytně podílí na udržení pH médií s bikarbonátovým pufrům. Kromě toho vyšší tenze rozpuštěného CO₂ v médiu lépe odpovídá poměrům v extracelulární tekutině. Inkubátor tak musí být vybaven zařízením pro regulaci koncentrace CO₂. Aby nedocházelo ke ztrátě vody z kultivačního média, a nedocházelo tak ke změně zastoupení jeho složek, udržuje se relativní vlhkost atmosféry okolo 90 %. V rámci kurzu budou studenti pracovat s nenádorovými a nádorovými buněčnými liniemi, které budou kultivovány in vitro v inkubátoru pro buněčné kultury s řízenou atmosférou CO₂.

Autoři textu: prof. MUDr. Martina Řezáčová, Ph.D., RNDr. Radim Havelek, Ph.D.