

SYLABUS

Moderní metody buněčné biologie

1. Buněčné kultury (*J. Hofmanová, N. Straková, Z. Tylichová, J. Lauková, O. Zapletal B. Šafaříková*)

Kultivace buněk *in vitro* a zařízení laboratoře: ukázka vybavení laboratoře, obsluha flow boxu, typy plastů pro buněčné kultury, automatické pipety, bezpečnost práce, pasážování buněk, počítání částic na *CASY*, určení životnosti buněk barvením (eosin, propidium jodid)

Detekce apoptotických buněk: stanovení apoptotického indexu - barvení pomocí DAPI (fluorescenční mikroskopická detekce buněk s kondenzovaným a fragmentovaným chromatinem).

Detekce lipidových dropletů v cytoplasmě: zpracování buněk pro barvení lipidových dropletů s využitím Nile Red (9-diethylamino-5H-benzo(alpha)phenoxazine-5-one) a detekce fluorescence pomocí průtokové cytometrie (FACS VERSE).

Stanovení diferenciací buněk linie nádoru kolonu (HT-29): stanovení alkalické fosfatázy kolorimetricky (alkalická fosfatáza štěpí bezbarvý substrát 4-p-nitrofenyl fosfát za vzniku žlutého zbarvení) s pomocí přístroje FluoStar.

2. Fluorescenční a konfokální mikroskopie (*E. Bártová, L. Stixová, R. Fedr*):

Princip funkce fluorescenčního mikroskopu (výhody a limity), rozdíly mezi konvenční a konfokální mikroskopií. Pozorování trojrozměrně fixovaných interfázních jader, ve kterých je fluorescenčně značený gen a jinou fluorescenční značkou obarven celý chromozom, na kterém se daný gen nachází.

3. Biochemické metody (*J. Vondráček, M. Kabátková, Jana Svobodová*):

Izolace celkové RNA, stanovení koncentrace a kvality:

Izolace RNA z připraveného buněčného lyzátu pomocí komerčního kitu, stanovení koncentrace RNA a její čistota na přístroji Nanodrop ND-1000 Spectrophotometer.

Detekce oxidu dusnatého pomocí ozonové chemiluminiscence (*A. Lojek, M. Číž, J. Viteček*):

Úvod do problematiky stanovení NO a jeho metabolitů (dusičnan, dusitan, nitrososloučeniny) pomocí ozonové chemiluminiscence a praktická demonstrace stanovení NO ve vydechaném vzduchu.