

SYLABY: Pokročilé bunkovo-biologické metódy
4. ročník – zimný semester – 2 / 0 / 1

PREDNÁŠKY:

Týždeň	Téma
1.	Bunkové kultúry – úvod: Definícia bunkových kultúr, využitie v praxi, výhody/nevýhody práce s bunkovými kultúrami, terminológia.
2.	Laboratóriá bunkových kultúr, regulácie: Vybavenie laboratória, triedy bezpečnosti – predpisy a nariadenia, špecifické aseptické pracovné podmienky. Plasty pre prácu s bunkovými kultúrami. Kontaminácia kultúr a ako jej predchádzať, typy antibiotík a antimykotík.
3.	Základy práce s bunkovými kultúrami I: Bunkové línie, ich selekcia a odber. Adherentné a suspenzné bunkové línie.
4.	Základy práce s bunkovými kultúrami II: Fyzikálne a biologické podmienky kultivácie buniek. Médiá pre bunkové kultúry. Bunková morfológia cicavčích buniek.
5.	Základné metódy práce s bunkovými líniami: Subkultivácia adherentných a suspenzných bunkových líní. Zamrazovanie a rozmrazovanie bunkových kultúr. Počítanie buniek.
6.	Špeciálne metódy práce s bunkovými líniami: Testy vitality buniek. Farbenie tukových buniek.
7.	Kmeňové bunky: Definícia, história výskumu s kmeňovými bunkami, ich vlastnosti (replikácia a schopnosť regenerácie), výskyt kmeňových buniek v organizme, druhy kmeňových buniek.
8.	Metodiky práce s kmeňovými bunkami: Izolácia a kultivácia kmeňových buniek, ich diferenciacia na rôzne typy, kmeňové bunky ako terapeutický nástroj, a s tým súvisiaca legislatíva a etické princípy.

9.	qPCR a PCR techniky I: Princíp techniky. Izolácia mRNA, syntéza cDNA, housekeeping gény. Dizajnovanie primerov, vyhľadávanie sekvencií v génových bankách.
10.	qPCR a PCR techniky II: Optimalizácia podmienok PCR reakcie. Vyhodnotenie, práca s programom „Vector NTI“, štatistické spracovanie dát. Možnosti využitia v rôznych klinických odboroch.
11.	Transfekcia I: Definícia transfekcie. Typy transfekčných techník: biologické, chemické, fyzikálne.
12.	Transfekcia II: Využitie transfekcie pri štúdiu funkcie génov (<i>nadexpresia, knockdown, knockout</i>).
13.	Záverečný prehľad: Zhodnotenie diskutovaných oblastí a špeciálnych metódik laboratória bunkových kultúr, vzťah k profilovým disciplinám farmácie a ich využitie v diagnostike a terapii ochorení.

PRAKTICKÉ CVIČENIA:

Praktické cvičenia (á 1 hodina za týždeň, 13 hodín za semester) predstavujú komplexný celok realizovaný v bloku, čím sa dosiahne realizácia súvislého experimentu:

- 3x laboratórne cvičenie á 4 hodiny
- 1x laboratórne cvičenie á 1 hodina

Týždeň	Téma
1.	[4 hod] Pasážovanie buniek, rátanie buniek, príprava experimentu (cell seeding).
2.	[4 hod] Model zápalu buniek (stimulácia s lipopolysacharidom). Izolácia totálnej RNA, jej prepis do jednovláknovej cDNA.
3.	[4 hod] Real time PCR (housekeeper, TNF α , IL1 β , NF κ B).
4.	[1 hod] Vyhodnotenie dát, štatistické spracovanie výsledkov.