

Techniki badawcze stosowane w CBT

Spis treści

Mikrobiologia i badania z wykorzystaniem bakterii.....	1
Analizy w modelu <i>C. elegans</i>	2
Badania na komórkach ludzkich/ssaczych	2
Badania <i>in vivo/ex vivo</i>	2
Badania <i>in vitro</i>	2
Analizy białek.....	3
Analizy kwasów nukleinowych	4
Analizy metabolitów.....	4
Analizy bioinformatyczne	4

Skróty nazw zakładów (alfabetycznie): ZBiBM: Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej (kontakt: kzbk@cmkp.edu.pl), ZFK: Zakład Fizjologii Klinicznej (kontakt: kzf@cmkp.edu.pl), ZITiEIT: Zakład Immunologii Translacyjnej i Eksperymentalnej Intensywnej Terapii (kontakt: kzck@cmkp.edu.pl), ZNK: Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej (kontakt: zne@cmkp.edu.pl).

Stosowane techniki badawcze	Zakład
Mikrobiologia i badania z wykorzystaniem bakterii	
Analizy wzrostu drobnoustrojów w czasie rzeczywistym – Bioscreen C	ZBiBM
Hodowla i testy fenotypowe bakterii niepatogennych (np. badanie wpływu związków chemicznych na przeżycie)	ZBiBM
Bankowanie i przechowywanie szczepów bakteryjnych	ZITiEIT
Analiza wrażliwości na antybiotyki szczepów bakteryjnych metodą spektrofotometryczną <i>in vitro</i> (metoda seryjnych rozcieńczeń w podłożu płynnym)	ZITiEIT
Izolacja plazmidu; izolacja RNA, izolacja DNA - z hodowli bakteryjnych	ZBiBM
Klonowanie DNA przy użyciu kompetentnych bakterii	ZBiBM

Analizy w modelu <i>C. elegans</i>	
Hodowla i testy fenotypowe (np. badanie wpływu związków chemicznych na przeżycie) na modelu <i>C. elegans</i>	ZBiBM
Badania na komórkach ludzkich/ssaczych	
Badania in vivo/ex vivo	
Badania w modelach zwierzęcych chorób układu krążenia (niereperfundowany zawał mięśnia sercowego [podwiązanie lewej tętnicy wieńcowej], reperfundowany zawał mięśnia sercowego, niewydolność serca (ostra i przewlekła), nadciśnienie płucne wywołane monokrotaliną, podwiązanie tętnicy płucnej)	ZFK
Badanie echokardiograficzne szczurów i myszy, z oceną funkcji skurczowej i rozkurczowej lewej i prawej komory, rozmiarów komór, przepływów (Doppler)	ZFK
Badanie ultrasonograficzne małych zwierząt z oceną przepływów (Doppler)	ZFK
Inwazyjne cewnikowanie tętnic oraz lewego i prawego serca z pomiarem ciśnień i objętości (pressure-volume loops), kurczliwości i parametrów rozkurczu	ZFK
Analiza metabolitów tlenu azotu w powietrzu wydychanym i płynach, ustrojowych (surowica) oraz hodowlanych/perfuzatach	ZFK
Badania izolowanych narządów, perfundowanych metodą Langendorffa, z oceną przepływów i reaktywności naczyń, ocena funkcji śródbłonna naczyniowego	ZFK
Izolacja kardiomiocytów roboczych z serc szczura i myszy	ZFK
Rejestracja kurczliwości izolowanych kardiomiocytów szczura i myszy (metoda detekcji krawędzi)	ZFK
Ocena wielkości blaszek miażdżycowych w sekcjach poprzecznych początkowego odcinka aorty na mysim modelu miażdżycy	ZNK
Rejestracja wewnątrzkomórkowego stężenia Ca przy pomocy sondy fluorescencyjnej Fura2 w komórkach różnego typu (pobudliwych i niepobudliwych)	ZFK
Badania in vivo w mysich modelach sepsy, chorób nowotworowych	ZITiEIT
Projektowanie kompleksowego badania in vitro oraz in vivo związków immunomodulujących i potencjalnych leków onkologicznych	ZITiEIT
Immunofenotypowanie komórek układu odpornościowego człowieka i myszy (cytometria przepływowa)	ZITiEIT
Sortowanie populacji komórek	ZITiEIT
Analiza zmian apoptotyczno-nekrotycznych metodą podwójnego barwienia Hoechst 33342 /Jodek propidyny (analiza mikroskopowa i pomiar za pomocą czytnika mikroplamki)	ZNK
Badania in vitro	
Transfekcja linii komórkowych plazmidami w celu indukcji ekspresji genów, syntetycznymi cząsteczkami miRNA/piRNA, inhibitorami miRNA/piRNA, wyciszanie ekspresji genów przy użyciu siRNA	ZBiBM
Testy lucyferazowe w liniach komórkowych – badanie oddziaływania cząsteczek miRNA/piRNA z transkryptami docelowymi	ZBiBM
Testy funkcjonalne w liniach komórkowych: analiza żywotności komórek, cytotoksyczności (MTS, MTT, LDH)	ZBiBM, ZITiEIT, ZNK

Testy funkcjonalne w liniach komórkowych: analiza proliferacji	ZBiBM, ZNK
Testy funkcjonalne w liniach komórkowych: analiza migracji	ZBiBM
Testy funkcjonalne w liniach komórkowych: analiza inwazji	ZBiBM
Testy funkcjonalne w liniach komórkowych: analiza adhezji	ZBiBM
Analiza cyklu komórkowego/podziałów komórkowych, apoptozy, pyroptozy (cytometria przepływowa, mikroskopia w czasie rzeczywistym)	ZBiBM, ZITiEIT
Analiza żywotności komórek w czasie rzeczywistym (Incucyte Live-Cell Analysis Systems)	ZITiEIT
Analiza adhezji, migracji, cytotoksyczności i cytopatogeniczności komórek w czasie rzeczywistym (xCelligence RTCA DP)	ZITiEIT
Analiza potencjału błony mitochondrialnej (cytometria przepływowa, analiza mikroskopowa/pomiar za pomocą czytnika mikroplątek)	ZITiEIT, ZNK
Analiza ilości mitochondriów przy użyciu barwnika MitoTracker w liniach komórkowych	ZNK
Analiza ilości lizosomów przy użyciu barwnika LysoTracker w liniach komórkowych	ZNK
Badanie fagocytozy (cytometria przepływowa, mikroskopia w czasie rzeczywistym)	ZITiEIT
Analiza indukcji autofagii w liniach komórkowych za pomocą mikroskopowej oceny kwaśnych organelli pęcherzykowych (AVOs) (zastosowanie barwnika oranżu akrydyny)	ZNK
Analiza angiogenezy in vitro	ZBiBM
Wytworzenie knockoutu w linii komórek ssaczych techniką CRISPR/Cas9	ZBiBM
Hodowla eksplantów tkanki tłuszczowej	ZNK
Cięcie preparatów parafinowych na mikrotomie	ZNK
Cięcie preparatów mrożeniowych na kriostacie	ZNK
Obserwacje mikroskopowe komórek i tkanek (mikroskopia świetlna, fluorescencyjna, konfokalna)	ZBiBM
Barwienia preparatów mikroskopowych metodą Hematoxylina i Eozyna	ZNK
Barwienie immunocytochemiczne (ICC/IF) komórek i tkanek	ZBiBM, ZNK
Barwienia fluorescencyjne skrawków parafinowych i mrożeniowych	ZNK
Hybrydyzacja in situ, FISH	ZBiBM
Barwienia lipidów w preparatach mikroskopowych za pomocą barwnika Oil Red O	ZNK
Analizy białek	
Izolacja białek z hodowli komórkowych, tkanek, surowicy krwi i moczu	ZBiBM, ZITiEIT, ZNK
Analiza białek wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych (cytometria przepływowa)	ZITiEIT
Analiza ufosforylowanych białek w komórkach (cytometria przepływowa)	ZITiEIT
Detekcja cytometryczna fosforylacji histonów	ZITiEIT
Oznaczanie poziomu białek/cytokin/antygenów/przeciwciał metodą ELISA, RIA	ZBiBM, ZITiEIT, ZNK

Elektroforeza SDS-PAGE	ZBiBM
Analiza Western-blot	ZBiBM, ZITiEIT, ZNK
Macierze białkowe	ZNK
Immunoprecypitacja	ZBiBM
Analizy kwasów nukleinowych	
Oznaczanie RNA (cytometria przepływowa)	ZITiEIT
Oznaczanie stężeń: RNA, DNA i białek oraz testy kinetyczne (czynnik Synergy H4 – pomiar absorbancji i fluorescencji, Nanodrop-1000)	ZBiBM, ZITiEIT
Izolacja DNA, RNA z hodowli komórkowych, tkanek, surowicy krwi i moczu	ZBiBM, ZITiEIT, ZNK
Ilościowa i jakościowa analiza kwasów nukleinowych oraz ich fragmentów	ZITiEIT
Odwrotna transkrypcja	ZBiBM
Analiza ekspresji genów metodą PCR w czasie rzeczywistym (Real-time PCR)	ZBiBM, ZITiEIT, ZNK
Analiza ekspresji niekodujących RNA (miRNA, piRNA, lncRNA) metodą PCR w czasie rzeczywistym	ZBiBM
Testy PCR, single cell PCR	ZITiEIT
Analizy metabolitów	
Izolacja metabolomu z komórek, tkanek, mediów hodowlanych	ZBiBM
Oznaczanie stężeń metabolitów (ELISA, testy kolorymetryczne/fluorymetryczne)	ZBiBM
Analizy bioinformatyczne	
Analiza bioinformatyczna wyników badań wielkoskalowych (Gene Ontology, KEGG)	ZBiBM
Analiza bioinformatyczna: typowanie potencjalnych genów docelowych dla miRNA/piRNA/lncRNA	ZBiBM
Analizy w platformach ENCORI, UALCAN, TargetScan, mirSystem	ZBiBM