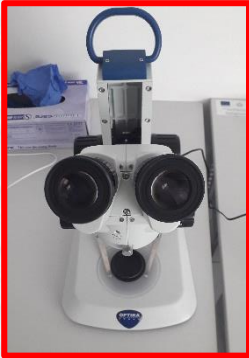
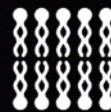


CENTRUM BIOVIED SAV





CENTRUM BIOVIED SAV

Táto publikácia vznikla s cieľom oboznámiť verejnosť s metódami výskumu využívanými v laboratóriách Centra biovied Slovenskej akadémie vied v Bratislave. Jednoduchým spôsobom približuje naše každodenne využívané postupy. Nahliadnete tak do sveta rôznych biofyzikálnych metód ako je konfokálna a elektrónová mikroskopia, meranie elektrických signálov na úrovni bunky alebo jednej bielkoviny či sledovanie interakcií medzi molekulami. Z molekulárno-biologických metód tu nájdete princíp zisťovania prítomnosti bielkovín vo vzorke, a tiež spoznáte ako funguje „PCR“ metóda a farbenie biologických vzoriek pomocou protilátok. Jednou z metód je aj počítačové modelovanie neuronálnych sietí. Vo výskume sa často využívajú modelové systémy. U nás používame napríklad chorioalantoickú membránu vtáčieho embrya alebo kvasinky. Náš výskum sa zapísal aj do histórie kozmickej biológie.

Veríme, že čítanie týchto stránok bude pre vás rovnako zaujímavé a zábavné ako je pre nás naša práca. Ak by ste mali záujem pozrieť sa na to, ako tieto metódy vyzerajú „naživo“ alebo sa chcete o nich dozvedieť viac, náučné videá a prednášky nájdete na našej webovej stránke: <https://cbv.sav.sk/pre-zvedavych/>.

za kolektív autorov

Zuzana Ševčíková Tomášková



OBJEKT A CIEĽ VEDECKÉHO SKÚMANIA

Na našom pracovisku sa venujeme skúmaniu dejov, odohrávajúcich sa v živočíchoch alebo ľuďoch. Prekvapivo blízko má k človeku laboratórny potkan alebo myš. Na potkanoch a myšiach sa môžeme naučiť veľa o tom, ako funguje naše telo. A niekedy dokonca ani nepotrebujeme zviera, stačia nám bunky, ktoré môžeme pestovať vo vhodných podmienkach vo fľaši. To závisí od toho, čo chceme skúmať. Ak skúmame jednotlivé bielkoviny, potrebujeme z buniek vybrať len niektorú ich časť. Ak sa venujeme molekulárnym dejom, postačí nám bunka. Ak skúmame deje na bunkovej úrovni, potrebujeme orgán zo zvieraťa – napríklad srdce alebo mozog. Ak skúmame čo sa deje v celom tele (krvný obeh, hormonálne zmeny, správanie zvierat a podobne), potrebujeme zviera celé a živé.

BIELKOVINY



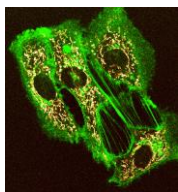
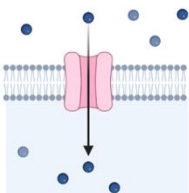
BUNKY



ORGÁNY



ZVIERATÁ



PREČO SKÚMAME?

Sú dva hlavné dôvody, prečo sa venujeme biologickému výskumu:

1. Prvým dôvodom je, že chceme vedieť, ako funguje živý organizmus keď je zdravý. Vedný odbor popisujúci deje v zdravom organizme sa nazýva **fyziológia**.
2. A druhým dôvodom je, že keď organizmus nefunguje správne, chceme zistiť prečo. Keď zistíme čo sa pokazilo, môžeme hľadať spôsob, akým túto poruchu napraviť, teda hľadať vhodný liek alebo liečbu. Vedný odbor popisujúci deje v zle fungujúcom organizme sa nazýva **patofyziológia**.



ELEKTROFYZIOLOGICKÉ METÓDY

Elektrofyziológia sa zaoberá elektrickými prúdmi, ktoré tečú v našom tele. Možno ste u doktora počuli hovoriť o EKG alebo EEG. Pod týmito záhadnými skratkami sa skrýva výsledný elektrický prúd nameraný z celého srdca (EKG, elektrokardiogram) alebo z mozgu (EEG, elektroencefalogram).



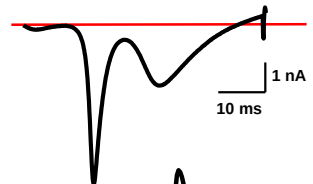
EKG – na obrázku je elektrický signál zdravého srdca. Každý vysoký špic predstavuje jeden úder srdca



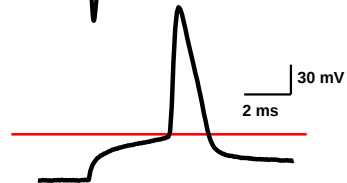
EEG – na obrázku je elektrický signál mozgu meraný počas stavu ospalosti, tzv. theta vlny. Poznáme viaceré typy vln v závislosti od toho, akú činnosť práve mozog vykonáva.

Elektrický signál je súčet všetkých prúdov, ktoré tečú cez tisíce bielkovinových molekúl, tzv. iónových kanálov, prítomných v každej jednej bunke daného orgánu. Pomocou metódy patch-clamp vieme zmerať elektrický prúd tečúci cez jednu bunku alebo zmenu napätia na jednej bunke (akčný potenciál).

prúd cez jednu srdcovú bunku:



akčný potenciál na neuróne:



Vkladaním bielkovín do umelej lipidovej membrány vieme zmerať elektrický prúd tečúci cez jednu jedinu bielkovinu – iónový kanál. Typický priebeh prúdu cez jeden iónový kanál vyzerá takto:

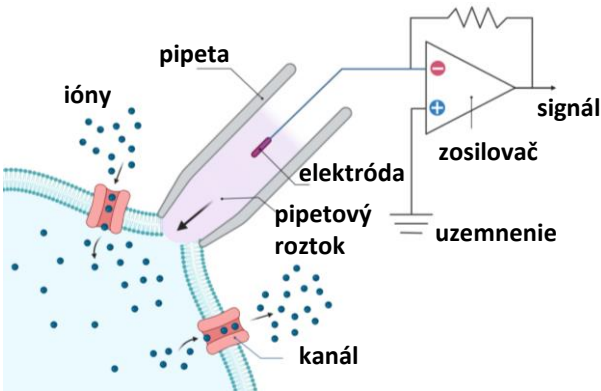


Takýchto iónových kanálov je veľmi veľa druhov. Často je ich porucha zodpovedná za nejakú závažnú chorobu, ako sú poruchy srdcového rytmu, cystická fibróza, epilepsia a veľa ďalších.



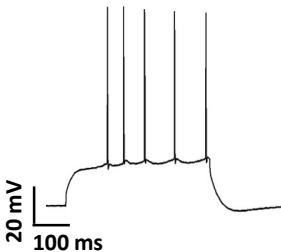
PATCH-CLAMP

Patch-clamp je metóda, pomocou ktorej vieme merať tok iónov cez iónové kanály v membráne bunky. Tok iónov vieme zaznamenať ako elektrický prúd alebo zmenu napätia pri vzniku a šírení vzruchu. Merania prebiehajú v uzavretom elektrickom obvode, ktorého súčasťou je meraná bunka. Na meranie elektrických zmien na vonkajšej membráne bunky používame dve elektródy: vonkajšiu – uzemnenú a umiestnenú vo vodnom roztoku a vnútornú – umiestnenú v tenkej sklenenej pipete, naplnenej roztokom a „zapichnutej“ do vnútra bunky. V mieste pevného spojenia pipety a membrány sa vytvorí podtlakom dierka v membráne.

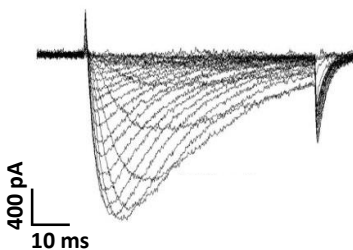


Pretrhnutím membrány vznikne vodivé spojenie, ktoré umožní zaznamenávanie odpovedí bunky na nami vyslané signály. Prúd prechádzajúci medzi elektródami je snímaný cez zosilovač do počítača. Takto vieme zaznamenávať rôzne typy prúdových alebo napäťových odpovedí bunky ako sú akčné potenciály, vápnikové alebo draslíkové prúdy.

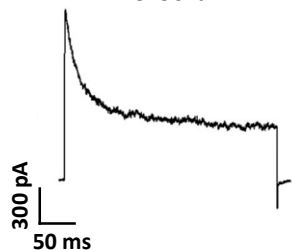
séria akčných potenciálov na neuróne



vápnikové prúdy neurónov pri rôznych napätiach



draslíkový prúd v granulárnych bunkách mozoku



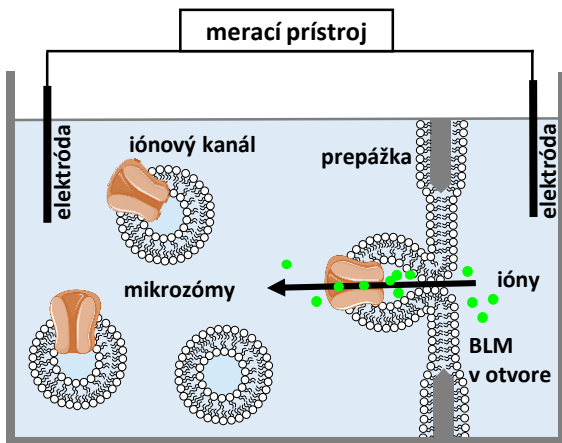


METÓDA BLM

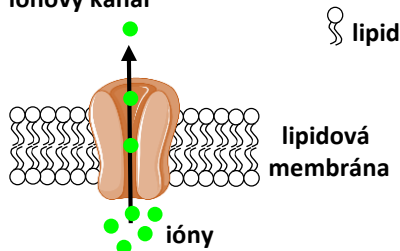
V membránach buniek sa nachádzajú iónové kanály, ktoré umožňujú prechod nabitých častíc (iónov) cez membránu. Na skúmanie iónových kanálov z vnútrobunkových membrán, ktoré sa ťažko merajú metódou patch-clamp, sa používa metóda umelej lipidovej membrány (BLM, *bilayer lipid membrane*).

Princíp tejto metódy je založený na prenesení iónového kanála z bunkovej membrány do umelej BLM, ktorá sa vytvorí z lipidov v miniatúrnom otvore v stene prepážky. Z jednej strany BLM sa pridávajú uzavreté časti bunkových membrán (napr. mikrozómy), ktoré obsahujú skúmané iónové kanály. Po splynutí vhodného mikrozómu s BLM môžeme zaznamenávať prechod iónov cez zabudovaný iónový kanál použitím dvoch elektród zapojených do meracieho prístroja.

BLM metóda - meracia komora:



iónový kanál



Mikrozómy s iónovými kanálmi izolujeme z tkaniva experimentálneho zvierťa. Tkanivo sa najskôr rozmixuje a potom sa centrifuguje (viac nájdete v časti Centrifugácia). Centrifugáciou pri rôznych rýchlostiach vieme z rozmixovaného tkaniva získať prečistené membrány s iónovými kanálmi, ktoré nás zaujímajú.

záznam prúdu cez iónový kanál v BLM, ktorý preskakuje zo zatvoreného do otvoreného stavu:

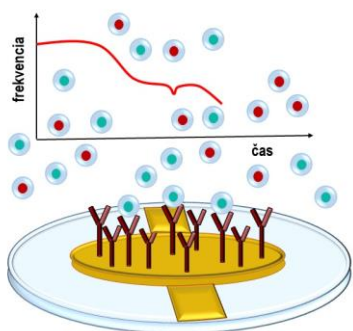
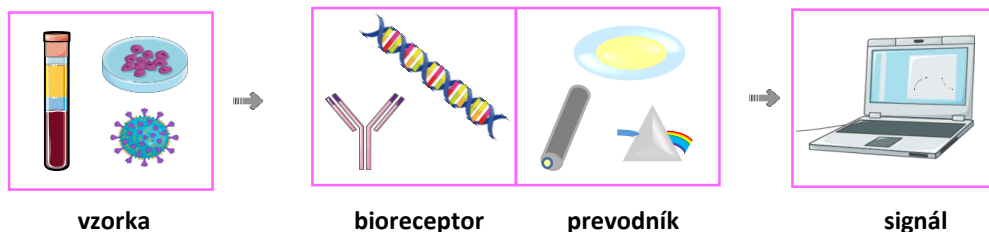
otvorený stav



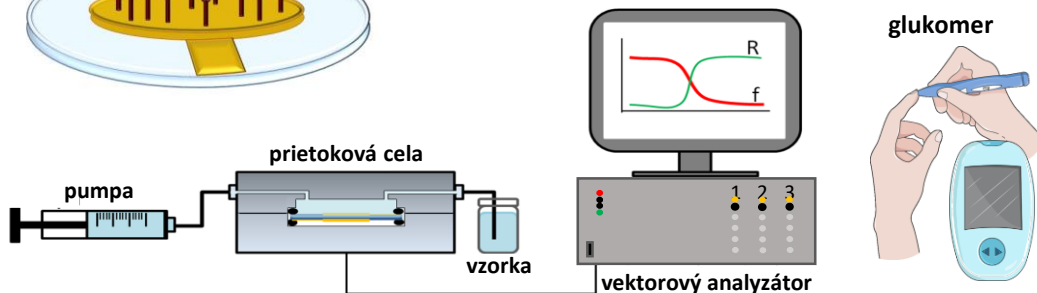


BIOSENZORY

Opakované pohyby vo fyzike označujeme ako kmity. Môže to byť napr. hojdanie na hojdačke ale aj kmitanie molekúl. Kmitanie využívame aj pri meraní pomocou kremenných mikrováh. Na veľmi tenkú a čistú zlatú vrstvu na kremennom kryštáli sa naviažu bioreceptory, ktoré vedia špecificky naviazať rôzne typy molekúl. Kremenný kryštál kmitá svojou vlastnou frekvenciou (*frekvencia* = počet kmitov za 1 sekundu). Ak sa na bioreceptory naviažu molekuly, prejaví sa to znížením frekvencie kmitania, ktorá je zaznamenaná v počítači. Pomocou tejto metódy vieme skúmať vzájomné väzby medzi bioreceptormi a inými molekulami.



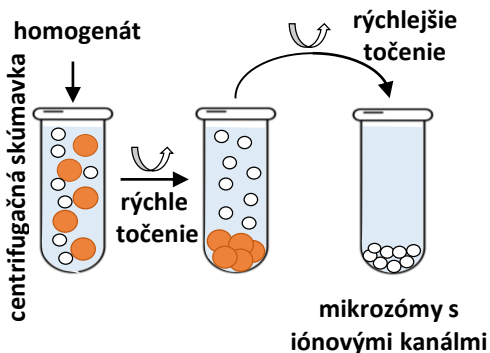
Biosenzory sa používajú napr. na diagnostiku v zdravotníctve, kontrolu potravín či určenie prítomnosti patogénov. Jedným z prvých biosenzorov bol glukomer na stanovenie hladiny glukózy v krvi.





CENTRIFUGÁCIA

Pri príprave vzoriek pre rôzne typy experimentov (napríklad pri BLM metóde alebo pri práci s biosenzormi) je často potrebné oddeliť od seba časti buniek. Napriek tomu, že bunky sú také malé, že ich vidíme len v mikroskope s dostatočným zväčšením, vieme od seba z rozmixovaného tkaniva alebo buniek (homogenát) oddeliť časti buniek ako sú jadrá, mitochondrie alebo endoplazmatické retikulum. Využívame na to centrifugáciu.

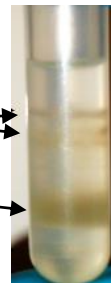


Skúmavky s homogenátom sú uložené v rotore centrifúgy, ktorá je vlastne odstredivka, podobne ako kolotoč. Ťažšie časti buniek klesnú v dôsledku pôsobenia odstredivej sily na dno skúmaviek rýchlejšie ako ľahké časti.

čistenie mitochondrií
v hustotnom gradiente:

rozpadnuté
mitochondrie

celé
mitochondrie



Pre dosiahnutie rozdelenia bunkových častí, ktoré majú podobnú hmotnosť a veľkosť, sa využíva centrifugácia v hustotnom gradiente.

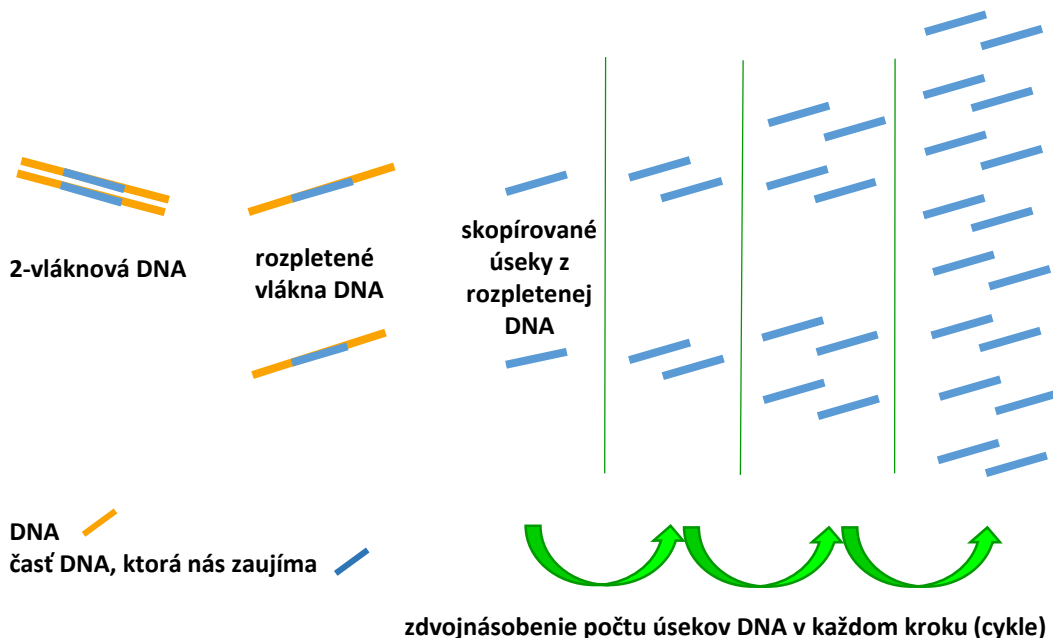
Ten sa vytvorí s použitím roztoku hustého ako sirup. Jednotlivé časti potom vidíme „plávať“ v hladinách s rôznou hustotou.

Centrifúgy, ktoré vedia dosiahnuť vysoký počet otáčok za minútu sa nazývajú ultracentrifúgy. V takej ultracentrifúge je možné točiť vzorky rýchlosťou 100 000 otáčok za minútu a odstredivé zrýchlenie dosahuje až 500 000-násobok gravitačného zrýchlenia **g**, ktoré nás priťahuje k Zemi. Pre porovnanie, bubon v práčke sa točí rýchlosťou približne 1 000 otáčok za minútu.



POLYMERÁZOVÁ REŤAZOVÁ REAKCIA

Skratku PCR určite poznáte z obdobia pandémie. Skrýva sa za ňou polymerázová reťazová reakcia (*polymerase chain reaction*), ktorá slúži na namnoženie vybranej časti DNA zo vzorky. Keď je vzorky málo, vďaka tejto reakcii si vybranú časť DNA vieme namnožiť (skopírovať) toľkokrát, aby sme vedeli bezpečne zistiť jej prítomnosť. PCR reakcia používa na to biochemickú verziu kúzla „geminio“ z príbehu o Harry Potterovi. V každom cykle sa zdvojnásobí množstvo vybranej časti genetickej informácie.



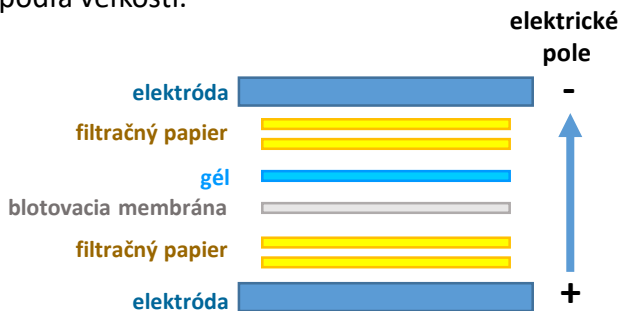
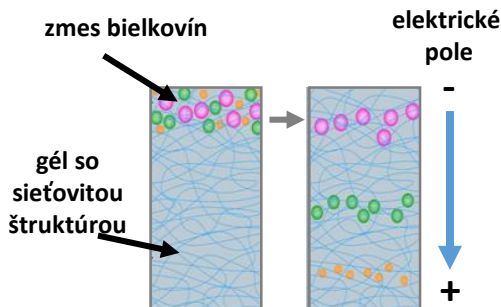
V PCR reakcii prebehne niekoľko cyklov za sebou. Každý cyklus obsahuje tri deje, vďaka ktorým je na konci cyklu **2x** viac úsekov DNA ako na začiatku cyklu. Takto to pokračuje typicky 40 cyklov. Za ten čas sa vybraný úsek DNA namnoží približne 1 000 000 000 000-krát (biliónkrát). Takto namnožené úseky DNA, ktoré nás zaujímajú, môžu byť ďalej skúmané inými metódami molekulárnej biológie.



WESTERN BLOT ANALÝZA

Zisťovanie prítomnosti bielkoviny vo vzorke (napríklad v bunkách, tkanivách a podobne) sa robí v dvoch krokoch. Prvý krok je rozdelenie bielkovín podľa veľkosti pomocou gélovej elektroforézy. Druhý krok je prenesenie bielkovín z gélu na tzv. blotovaciu membránu a následná identifikácia bielkovín pomocou protilátok.

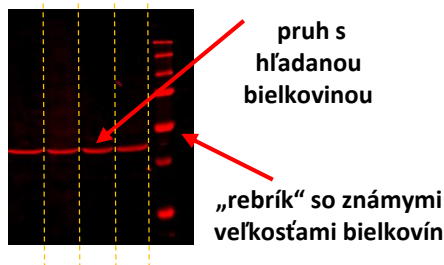
V elektrickom poli sa bielkoviny pohybujú vďaka zápornému elektrickému náboju, ktorý získavajú vďaka chemikálii nazývanej SDS. Čím sú molekuly bielkovín menšie, tým rýchlejšie sa pohybujú v husto zosieťovanom géli. Po určitom čase sa preto bielkoviny vo vzorke rozdelia podľa veľkosti.



V druhom kroku sa ku gélu priloží blotovacia membrána a pôsobením elektrického poľa sa bielkoviny prenesú z gélu na membránu.

Na membráne sa bielkoviny detekujú pomocou protilátok. Každá protilátka dokáže špecificky rozoznať určitý typ bielkoviny. Hľadanú bielkovinu vidíme na membráne ako pruh.

4 dráhy pre 4 vzorky

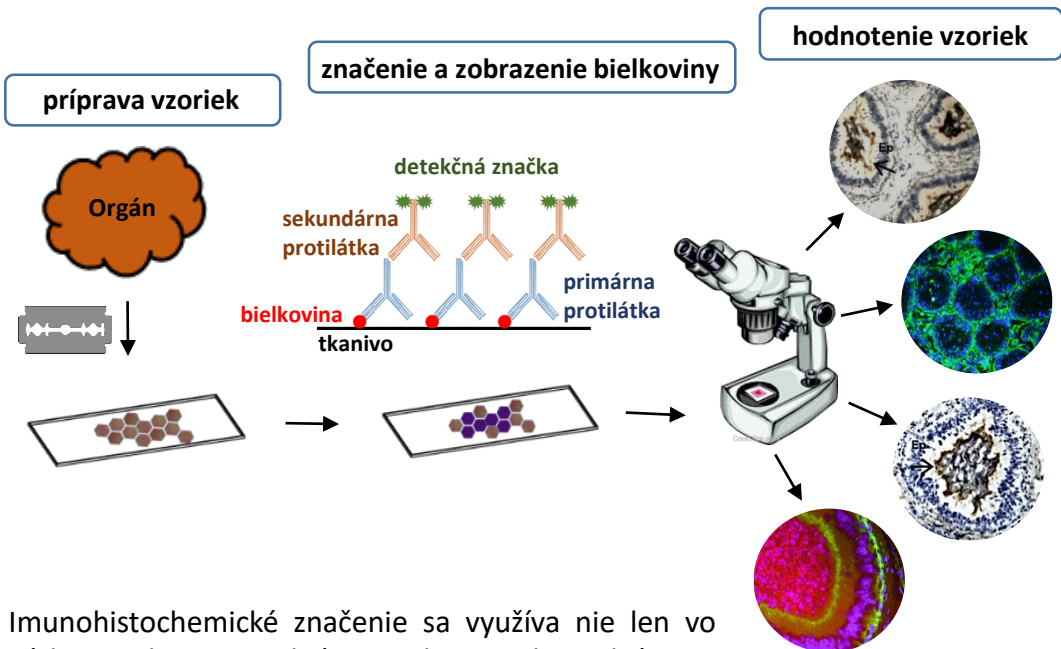




IMUNOHISTOCHEMICKÁ METÓDA

Prítomnosť a lokalizáciu vybranej bielkoviny v tkanivových rezoch môžeme skúmať pomocou imunohistochemického značenia. Z tkaniva konzervovaného v parafíne alebo hlboko zmrazeného sa pripravujú tkanivové rezy, hrubé len niekoľko mikrometrov.

Značenie prebieha pomocou väzby špecifických primárnych protilátok na bielkoviny, ktoré sú predmetom štúdia. Primárne protilátky sa zviditeľnia naviazaním sekundárnych protilátok, ktoré obsahujú detekčnú značku. Vzorky je možné hodnotiť pod svetelným alebo fluorescenčným mikroskopom, podľa použitej detekčnej značky.



Imunohistochemické značenie sa využíva nie len vo výskume ale aj v medicíne pri diagnostike a skríningu rôznych ochorení.



KONFOKÁLNA MIKROSKOPIA

Biele svetlo (napr. slnečné) je možné rozložiť na farby dúhy. Každéj farbe zodpovedá svetlo s určitou vlnovou dĺžkou. Niektoré chemické látky sú schopné pohlcovať svetlo určitej vlnovej dĺžky a vyžiariť ho s väčšou vlnovou dĺžkou. Tento jav nazývame **fluorescencia**.

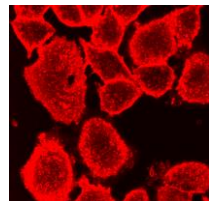
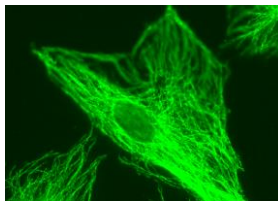
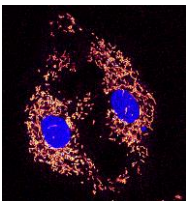


<https://science.howstufworks.com/nature/climate-weather/atmospheric/double-rainbows-rare.htm>

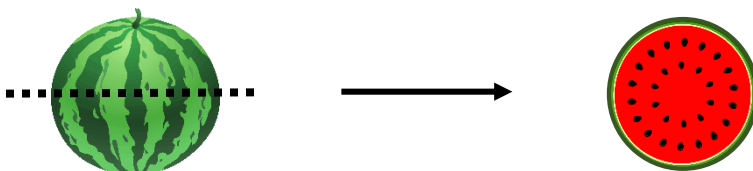


<http://labman.phys.utk.edu/phys222core/modules/m7/dispersion.html>

Pomocou takýchto chemických látok vieme značiť vybrané bunkové štruktúry, napríklad jadro, mitochondrie, bielkoviny a podobne. Označené bunky môžeme pozorovať vo fluorescenčnom mikroskope. Konfokálny mikroskop je druh fluorescenčného mikroskopu, v ktorom vďaka optickému triku dokážeme zaostriť na konkrétnu rovinu vo vzorke, čím získame optický rez.



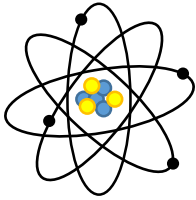
Vidíme prierez vzorkou zhora, podobne ako keď rozkrojíme melón:



Konfokálny mikroskop dosahuje rozlíšenie v rozsahu 200 až 500 nm.



ELEKTRÓNOVÁ MIKROSKOPIA



Každý atóm je zložený z jadra a elektrónového obalu. Podobne ako planéty okolo Slnka obiehajú elektróny (čierne guľičky) okolo atómového jadra. Jadro je zložené z protónov a neutrónov (žlté a modré guľičky). Čím viac sa nachádza častíc v jadre, tým je atóm ťažší a silnejšie vplýva na elektróny vo svojom okolí.

V elektrónovom mikroskope používame lúč veľmi rýchlych elektrónov zacielený na vzorku. Vzorka (napr. bunky) je zaliata v epoxidovej živici a narezaná na rezy s hrúbkou menej ako 100 nm. Lipidové membrány aj proteíny treba pred zobrazovaním v elektrónovom mikroskope „označiť“ ťažkými atómami (osmium, urán, zlato), aby bolo možné pozorovať zmeny v elektrónovom lúči. Ľahké atómy ako uhlík alebo vodík nedokážu dostatočne ovplyvňovať elektrónový lúč. Rozptyl elektrónového lúču na ťažkých jadrách je zaznamenaný po prechode vzorkou, takýto spôsob zobrazovania nazývame transmisná elektrónová mikroskopia (TEM). Rozlíšenie elektrónového mikroskopu je menej ako 1 nm. To je minimálne 200-krát väčšie rozlíšenie ako má konfokálny mikroskop. Pomocou TEM vidíme detail drobných štruktúr v membránach a bunkových častiach ako sú mitochondrie, svalové vlákna, veľké proteíny, chromozómy (nosiče DNA) alebo dokonca aj vírusové častice.

mitochondrie



jadro





VÝPOČTOVÉ MODELOVANIE

Nervová sústava je veľmi zložitý systém. Pochopenie jej fungovania vyžaduje porozumieť tomu, čo sa deje na jednotlivých úrovniach.

Výpočtové modelovanie nám umožňuje lepšie pochopenie fungovania celej nervovej sústavy. Základom práce výpočtového neurovedca je dobrý model, ktorý musí čo najpresnejšie simulovať pozorovaný jav. Následne môže vedec meniť rôzne parametre alebo sledovať ako sa menia ich hodnoty pri rôznych simuláciách. Takto dokáže vysvetliť jednotlivé javy alebo na druhej strane vytvoriť nové predpoklady, ktoré neskôr overí pomocou experimentu v laboratóriu.

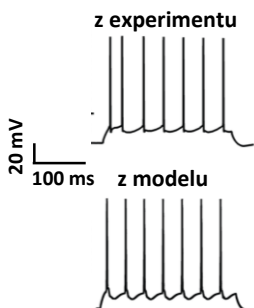


neurón pod mikroskopom

model
neurónu



séria akčných potenciálov
na neuróne



1 m	nervový systém
10 cm	oblasti mozgu
1 cm	neurálne siete
1 mm	mikroobvody
100 μ m	neuróny
10 μ m	dendrity
1 μ m	synapsy
1 nm	signálne dráhy
1 pm	iónové kanály

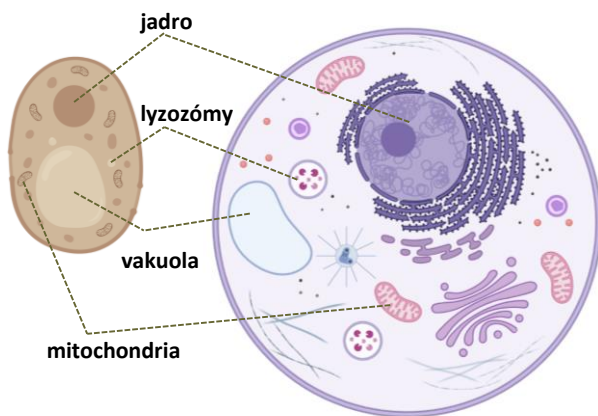


KVASINKY VO VEDE

Kvasinky všetci dobre poznáme ako droždie. Sú to jednobunkové organizmy, ktoré sa pridávajú do cesta aby vykyslo, alebo sa pomocou nich vyrábajú alkoholické nápoje ako napríklad pivo alebo víno.

V laboratóriu sa často používajú ako náhrada zložitejších organizmov. Mnohé základné biologické procesy prebiehajú v živočíšnych bunkách podobne a preto je možné uskutočniť prvotné pokusy na jednoduchých organizmoch – kvasinkách a neskôr výsledky overiť na zložitejších organizmoch ako sú rastliny, živočíchy alebo človek.

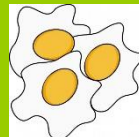
kvasinky (vľavo) sú menšie ako živočíšne bunky (vpravo), ale zložením sa na seba podobajú



kvasinky vypestované v laboratóriu

Výhodou kvasiniek je, že sa s nimi ľahko pracuje, sú lacné a rýchlo sa rozmnožia do veľkých počtov (miliardy buniek).

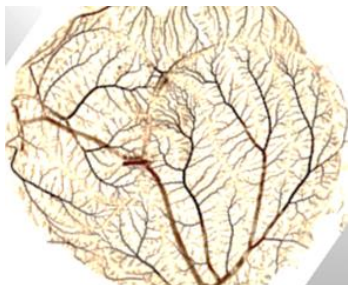
Kvasinky je možné v laboratóriu rôzne geneticky upraviť a následne využiť ako "továreň" na výrobu vybraných bielkovín alebo iných zaujímavých biologických látok, prípadne na výrobu biopalív. V mnohom vedia byť nápomocné ako "nástroj", či už na testovanie veľkého množstva rôznych genetických mutácií alebo zistenie funkcie a vlastností bielkovín.



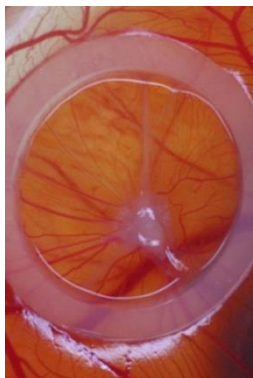
CHORIOALANTOICKÁ MEMBRÁNA

Chorioalantoická membrána (CAM) je hlavným dýchacím orgánom vtáčieho embrya (zárodku). Je priehľadná, husto prekrvená a svojimi vlastnosťami sa podobá napr. sliznici pľúc alebo močového mechúra. CAM je vhodným *in vivo* modelom pre štúdium rastu ciev (angiogenézy), testovanie liečiv, kozmetiky a biomateriálov. Vhodným príkladom je aj použitie pri fotodynamickej diagnostike a terapii nádorových či mikrobiálnych ochorení.

8-dňové embryo prepelice japonskej



CAM má hustú sieť drobných cievok - kapilár



nádor na povrchu CAM, naľavo v bielom svetle, napravo zviditeľnený látkou citlivou na svetlo (napr. hypericín) pod ultrafialovým (UV) svetlom.



embryá prepelice japonskej kultivované mimo vajčka - *ex ovo*



MYŠACIE PREIMPLANTAČNÉ EMBRYO

Vo vajcovode (trubica vedúca od vaječníka k maternici) dôjde po oplodnení vajíčka spermiou k vzniku jednobunkového embrya. Nasledujúcich niekoľko dní (4 dni u myši, 6 dní u ľudí) sa toto embryo delí, čím vzniká najprv 2-bunkové a postupne 4-bunkové, 8-bunkové...embryo, ktoré sa pritom posúva smerom k maternici. Nakoniec vzniká tzv. blastocysta, čo je embryo obsahujúce dva rôzne typy buniek (označované ako „TE“ a „ICM“). Blastocysta sa zanoří – implantuje do steny maternice (embryá v období od oplodnenia po implantáciu sa teda označujú ako „preimplantačné“). Preimplantačné embryá sú veľmi citlivé na pôsobenie rôznych faktorov prostredia. Skúmanie vývinu preimplantačných embryí sa najčastejšie uskutočňuje na modeli laboratórnej myši.

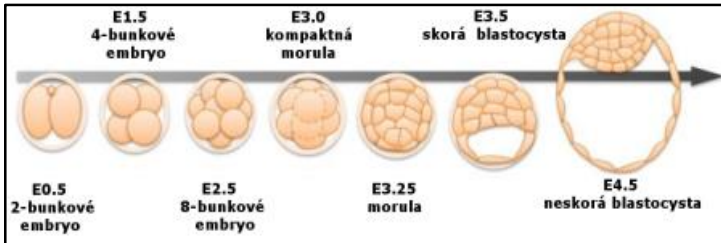
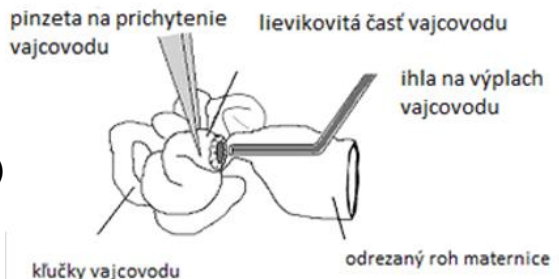


schéma vývinu myšacieho preimplantačného embrya: E0 (embryonálny deň 0; deň ovulácie) až E4 (embryonálny deň 4; deň implantácie); upravené podľa Bergsmedh a kol. (2011)

schéma izolácie myšacích preimplantačných embryí z vajcovodu
(Z: Deb et al, Methods Mol Med, 2006)

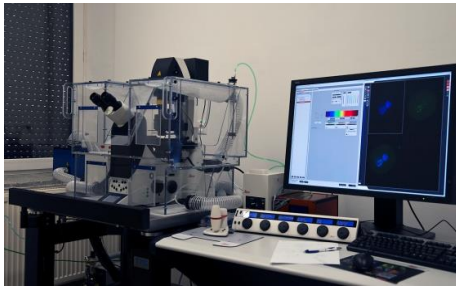


myšacie embryá v rôznych vývinových štádiách: zygotu, 2-bunkové embryo, 4-bunkové embryo, 8-bunkové embryo, blastocysta



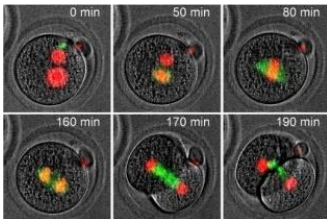
ČASOZBERNÉ ZOBRAZOVANIE

Je metóda pozorovania zmien na bunkových štruktúrach v priebehu času. Metóda je založená na princípe sekvenčného snímania objektu (živých buniek) mikroskopom. V týchto bunkách sa cieľové bunkové štruktúry označia fluorescenčným farbivom, čo umožní ich vizualizáciu. Pre vizualizáciu sa využíva konfokálny fluorescenčný mikroskop s laserovým svetelným zdrojom, ktorý je programovateľný pre podmienky sekvenčného snímania obrazu v reálnom čase. Mikroskop je doplnený boxom pre dlhodobú kultiváciu živých buniek.

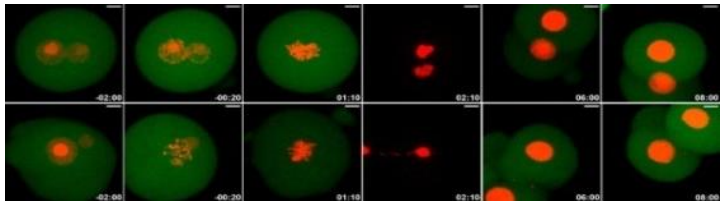


fluorescenčný konfokálny mikroskop

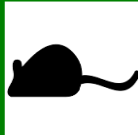
Vizuálnym výsledkom časozberného zobrazovania je videozáznam dynamiky zmien. Údaje časozberného zobrazovania umožňujú detailnú morfometrickú analýzu sledovaného objektu.



dynamika tvorby deliaceho
vretienka (zelený signál)
v jednobunkovom embryu



degradácia sekurínu (zelený signál) počas prvého
delenia embrya



MODEL OBEZITY

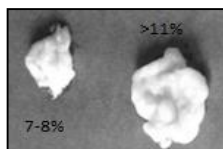
Medzigeneračný model obezity, vyvinutý na laboratórnych myšiach na našom pracovisku, umožňuje dochovať matky/darkyne preimplantačných embryí so zvýšenou telesnou hmotnosťou a zvýšeným obsahom telového tuku. Získanie takýchto zvierat zahŕňa špeciálne kŕmenie, t.j. podávanie štandardného peletovaného krmiva spolu s tekutou vysoko energetickou diétou v období pred narodením (gestačné obdobie) a po narodení (laktčné obdobie). U takto odchovaných zvierat sa pomocou celotelového analyzátora, využívajúceho princíp magnetickej rezonancie, získajú údaje o množstve telového tuku, beztukového tkaniva a vody. Daný model môžeme využiť na rôzne experimentálne účely, napr. na hodnotenie kvality preimplantačných embryí.



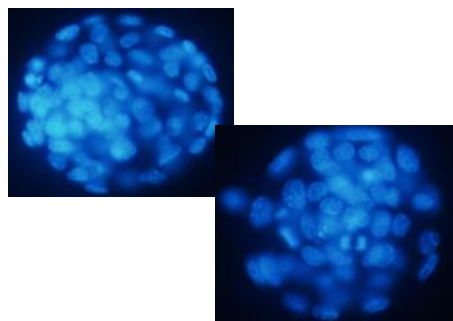
kŕmenie myší



celotelová analýza myší pomocou magnetickej rezonancie



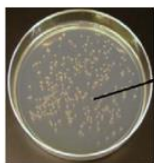
veľkosť myší s
rozdielnym
kondičným stavom
a obsah ich
telového tuku



hodnotenie preimplantačných myšacích
embryí



**bakteriálne kolónie
na agarovej platni**



ethanol



deionizov
voda



centrifugácia



70% kyselina
mravčia



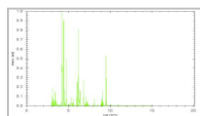
acetonitril



centrifugácia

výsledok identifikácie

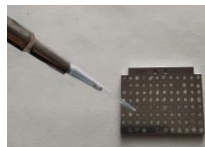
Overall diagnosis		Positive		Negative	
Analysis	Analysis ID	Positive (mean from overall)	Score Value	Negative (mean from overall)	Score Value
1	1-1-1-1	not reliable (overall false)	0.00	not reliable (overall false)	0.00
2	2-1-1-1	Systematic false	0.00	Systematic false	0.00
3	3-1-1-1	Systematic false	0.00	Systematic false	0.00
4	4-1-1-1	Systematic false	0.00	Systematic false	0.00
5	5-1-1-1	Systematic false	0.00	Systematic false	0.00



spektrum



MALDI-TOF MS



**pripravenú vzorku nanesieme na doštičku,
po uschnutí prekryjeme matricou**

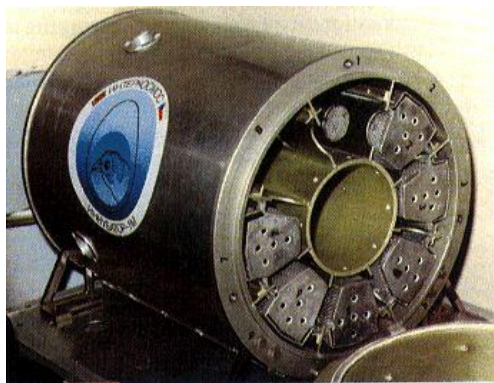
BETA1 (++) (A)	BETA1	Escherichia.coli	2.075
-----------------------------------	-------	----------------------------------	-----------------------

Získané spektrum sa porovnáva so zoznamom (databázou) spektier známych mikroorganizmov. Miera presnosti správneho určenia skúmanej vzorky je vyjadrená číselnou hodnotou.



VESMÍRNE OKIENKO

Od sedemdesiatych rokov 20. storočia bol náš ústav partnerom v programe *Interkosmos* v oblasti kozmickej biológie a medicíny, ktorého časťou bol vývoj autonómneho uzavretého ekosystému pre dlhodobé vesmírne lety. Jedným z článkov tohoto systému bola aj prepelica japonská. Výber prepelice pre tento experiment bol daný jej rýchlym reprodukčným cyklom. Už po piatich až šiestich týždňoch je dospelá a môže znášať vajíčka. Spolu s ňou mal ekosystém obsahovať aj jednobunkové riasy a vyššie rastliny ako napríklad šalát a obilniny. Zo živočíšnej ríše aj drobný hmyz (muchy). Dospelé prepelice alebo ich vajíčka boli v kozme na orbitálnej stanici MIR niekoľkokrát od roku 1979.



Od roku 1982 boli selektované prepelice, ktoré ľahšie znášali obmedzenie pohybu a aj v centrifúge navodené preťaženie. Z tejto línie boli aj vajíčka na stanici MIR.

Incubátor, v ktorom sa na orbitálnej stanici vyliahli malé prepeličky, bol vyrobený na mieru v spolupráci so Slovenskou technickou univerzitou a Slovenským metrologickým ústavom. Detaily konštrukcie sú popísané v článku z roku 2001 v časopise *Acta Astronautica* (2001, Vol. 49, No. 1, pp. 41–46).



ručné kŕmenie prepelice zmesou vody a sypkého krmiva



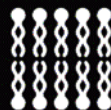
Projekt *Prepelica* bol jedným z projektov SAV riešených v rámci misie *Štefánik*. Dňa 20. 2. 1999 z kozmodromu Bajkonur v Kazachstane odštartovala raketa SOJUZ TM-29 s prvým slovenským kozmonautom Ing. Ivanom Bellom. Na obežnú dráhu sa dostalo okrem iného vybavenia aj 60 prepeličích vajíčok v na mieru vyrobenom inkubátore, s cieľom overiť schopnosť vývinu a prežívania v bezťažovom stave pred a po vyliahnutí. Na simuláciu gravitácie bola vyrobená centrifúga s nastaviteľnou hodnotou zrýchlenia medzi 0,1- až 1-násobkom gravitačného zrýchlenia Zeme. Umelá gravitácia mala zabezpečiť, aby prepelice dokázali samostatne prijímať potravu. Nastali však technické problémy a vyliahnuté prepelice bolo treba kŕmiť ručne pomocou striekačky. Z 36 vyliahnutých prepelíc sa 10 dožilo cesty na Zem, ale transport prežili len tri.

Výskum využitia prepelíc ako kozmickej stravy sa na pár rokov odmlčal. V dohľadnej dobe sú opäť plánované experimenty s prepelicami v modernejšej centrifúge na Medzinárodnej vesmírnej stanici, avšak už bez účasti slovenských vedcov.

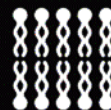
„Veda a výskum sú oblasti ľudskej činnosti, ktoré rozširujú a prehlbujú ľudské poznanie najrýchlejšie. Byť priamym a aktívnym účastníkom tohto diania by malo byť cieľom každej vyspelej krajiny a každého mladého človeka, ktorému záleží na budúcnosti ľudstva a Zeme.“

brigádny generál vo výslužbe Ing. Ivan Bella, 2023





MOJE POZNÁMKY



CENTRUM BIOVIED SLOVENSKEJ AKADEMIE VIED

Centrum biovied Slovenskej akadémie vied vzniklo zlúčením troch samostatných ústavov: Ústavu molekulárnej fyziológie a genetiky (ÚMFG), Ústavu biochémie a genetiky živočíchov (ÚBGŽ) a Ústavu fyziológie hospodárskych zvierat (ÚFHZ). V tejto publikácii sú popísané metódy, ktoré používajú pre svoj výskum pracovníci ÚMFG a ÚBGŽ. Tieto dva ústavy sídlia v Bratislave, na rozdiel od ÚFHZ, ktorý sídli v Košiciach. Bližšie informácie o ústavoch Centra biovied nájdete tu:

ÚMFG



ÚBGŽ



ÚFHZ



CENTRUM BIOVIED



Realizované z rozpočtovej rezervy predsedu vlády Slovenskej republiky, Eduarda Hegera v období 2022/2023 (*Vedecký kemp CBv*).

Kolektív autorov v abecednom poradí:

Bilčík B., Gaburjáková J., Jankovičová J., Jurkovičová Tarabová B., Ondáčová K., Poturnayová A., Šereš M., Ševčíková Tomášková Z., Tomko M., Valachovič M.

Niektoré obrázky boli vytvorené s pomocou programov a databáz: BioRender.com; Servier Medical Art, (Servier, licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 unported license); pixabay.com; cliparting.com alebo clipartqueen.com.