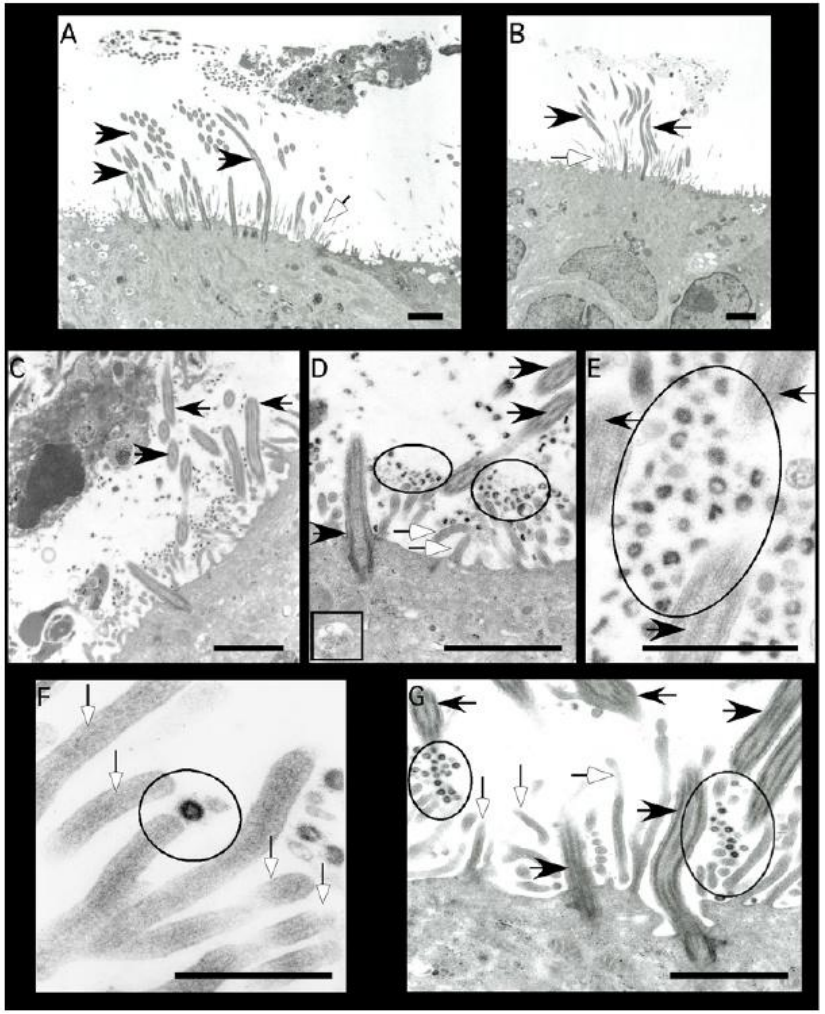
Laboratorium Wirusologiczne

Krzysztof Pyrć



Pracownia wirusologiczna:

- Powstanie i wyposażenie całkowicie nowego laboratorium w ramach Zakładu Mikrobiologii WBBiB

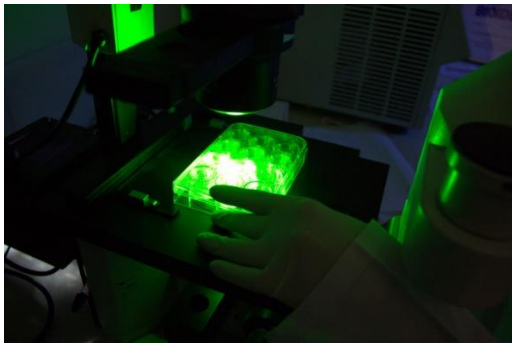
- Profil: laboratorium molekularno-komórkowe klasy II bezpieczeństwa biologicznego, dostosowane do pracy z ludzkimi wirusami.

Laboratorium Wirusologiczne

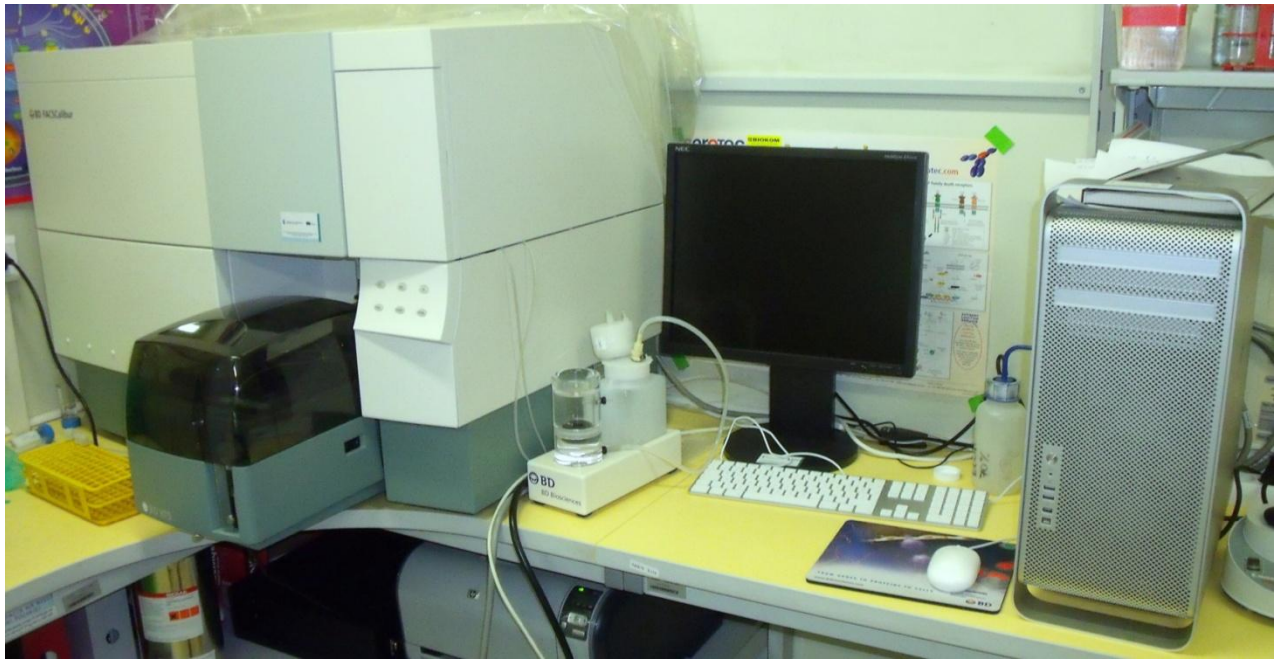
LABORATORIUM KOMÓRKOWE

Laboratorium komórkowe - bezpieczeństwo

- Praca w warunkach ultra-sterylnych: komora laminarna z filtrami HEPA H14 (seria KSP18 Thermo Scientific).
- Bezpieczeństwo: dodatkowy segmentowany filtr HEPA, oczyszczający powietrze krążące w komorze (klasa bezpieczeństwa pozwalająca na pracę z cytostatykami).
- Pracownia w pełni wyposażona do pracy z komórkami eukariotycznymi i patogenami wirusowymi.



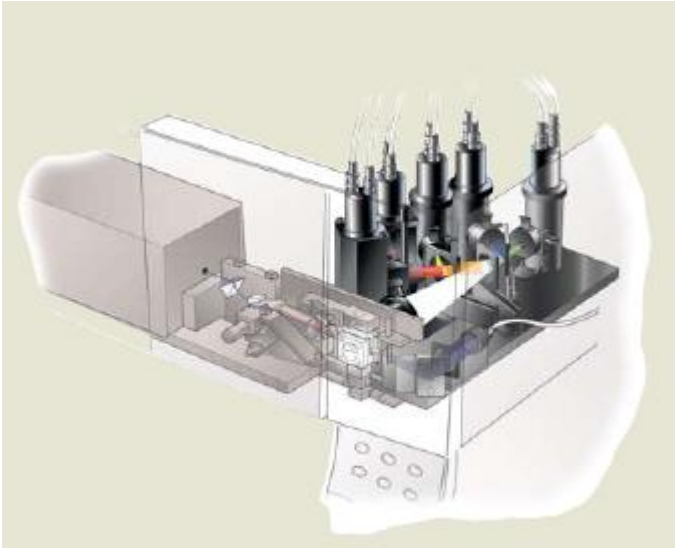
Cytometria przepływowa



FACSCalibur z przystawką HTS i sorterem (Becton Dickinson)

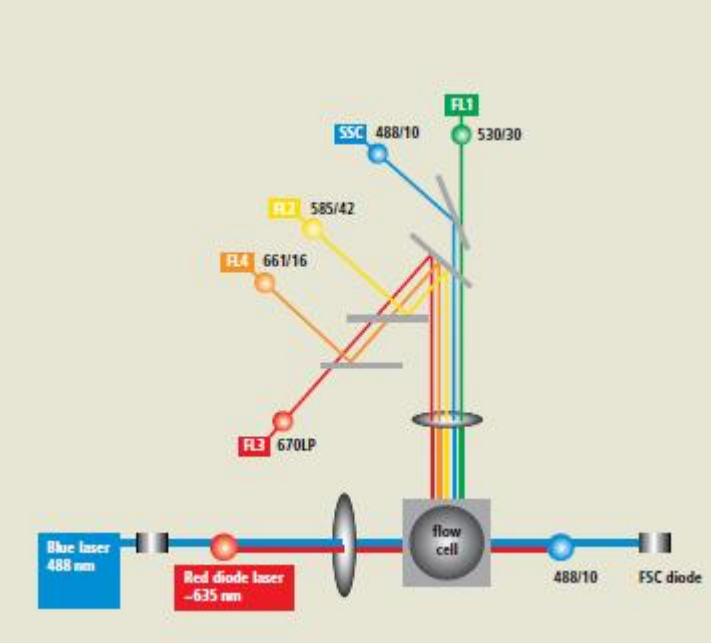
2 źródła światła:

- Niebieski laser argonowy λ=488 nm.
- Czerwony laser diodowy λ= 635 nm.



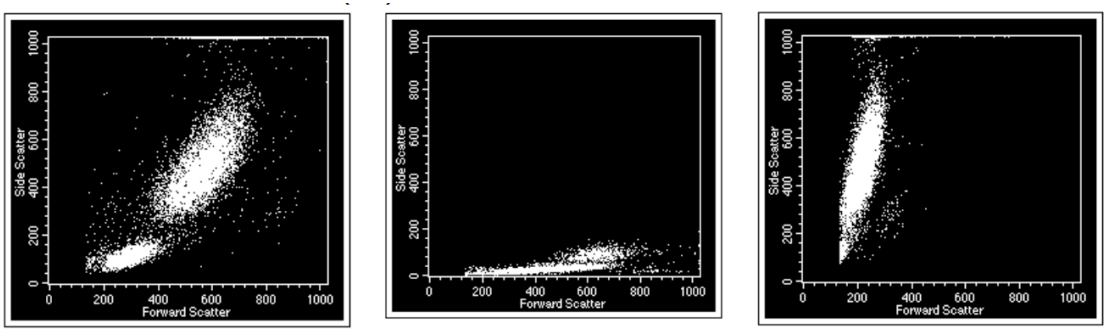
Możliwość równoczesnej analizy do sześciu markerów:

- FSC
- SSC
- 530 nm (FITC)
- 585 nm (PE/PI)
- 661 nm (APC)
- >670 nm (PerCP)



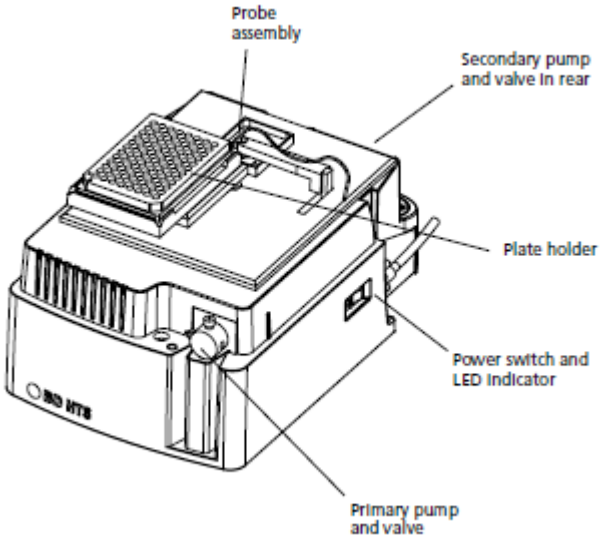
Oprogramowanie:

- Obrazowanie danych w czasie rzeczywistym,
- Bramkowanie na żywo do 16 regionów jednocześnie,
- Rozdzielczość graficzna 1024x1024,
- Analiza statystyczna histogramów, według modeli matematycznych lub geometrycznych.



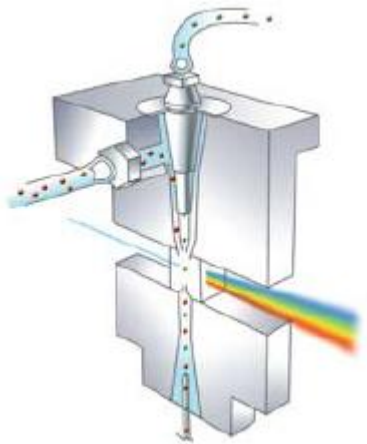
Przystawka HTS

- Możliwość zrobotyzowanej analizy próbek
- Obsługa płytek: 96- i 384-dołkowych
- Analiza płytki 96-dołkowej: **<15 minut**
- mieszanie próbki przed pobraniem;
- objętość pobieranej próbki: 2-200 ul
- możliwość ręcznego podawania próbki z probówki bez demontażu podajnika



Sorter komórkowy

- szybkość sortowania rzędu 300 komórek/sek.
- czystość >95%
- różne typy sortowania, pozwalające osiągnąć różną czystość materiału (single-cell, recovery, exclusion)



Przykładowe zastosowania

- Testy HTS – możliwość testowania działania leków, inhibitorów itp;
- Analizy diagnostyczne (certyfikat IVD).
- Analiza populacji bakterii;
- Analiza populacji komórek – ekspresja markerów powierzchniowych i wewnątrzkomórkowych;
- Analiza cyklu komórkowego;
- Sortowanie komórek lub bakterii;

Laboratorium Wirusologiczne

LABORATORIUM MOLEKULARNE

Pracownia molekularna - czystość

- W pełni wyposażona pracownia do prac w zakresie biologii molekularnej.
- Praca z RNA i cDNA – warunki sterylne. Komory z systemem oczyszczającym powietrze wchodzące i krążące (UV + HEPA).
- Powietrze: filtracja UV
- Spadek liczby kontaminacji.

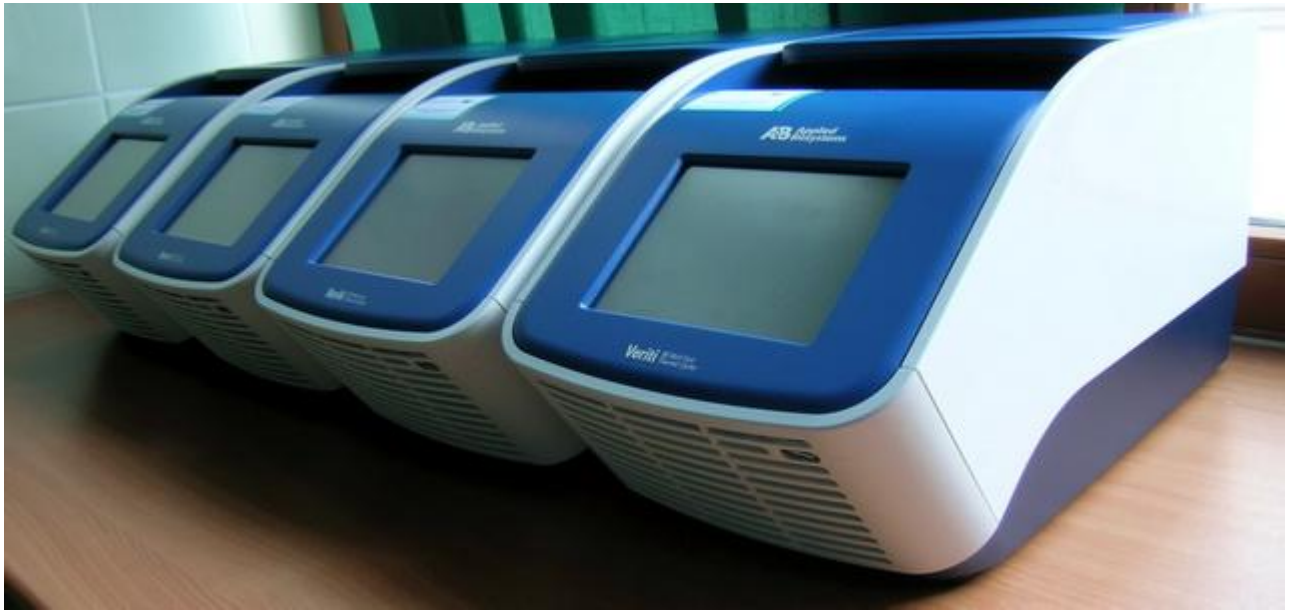
real-time PCR:

- Aparat do przeprowadzania real-time PCR - Applied Biosystems 7500fast
- Możliwość prowadzenia pomiaru w formacie płytki 96-dołkowej
- 5 zestawów filtrów: FAM/SYBR Green, VIC/JOE, NED /TAMRA /Cy3, ROX/TEXAS RED, Cy5 – możliwość jednoczesnego pomiaru 5 markerów
- Praca w trybie fast: 3,5°C/s – całość reakcji real-time w ciągu 37 minut

Oprogramowanie:

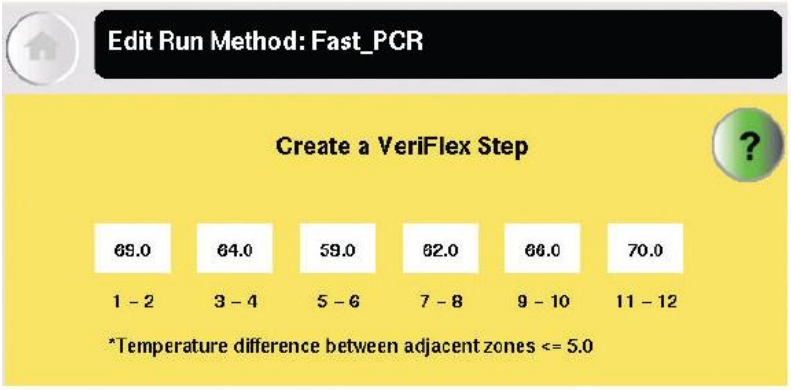
- Pomiary ekspresji genów
- Analizy mikrobiologiczne i wirusologiczne (m.in. +/-, relatywna i absolutna)
- Automatyczne genotypowanie SNP
- Badania populacyjne
- Analiza HRM (high-resolution melting curve)

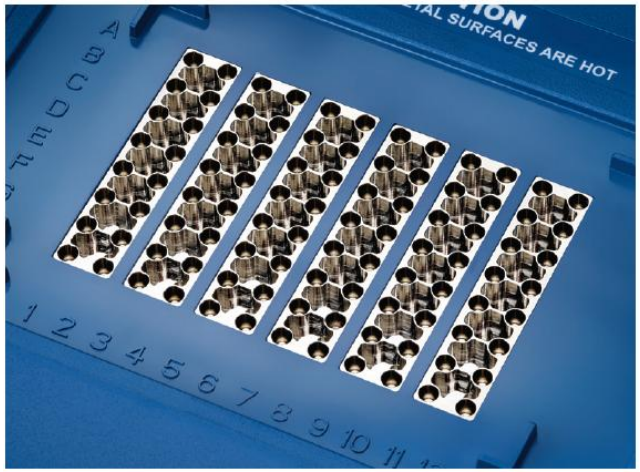
Termocyklery Verity



Termocyklery

- Termocyklery gradientowe pracujące w opcji „fast” (4,25C/sek, PCR 1,4kb ~35minut).
- 6 bloków grzejnych – maksymalna różnica temperatur pomiędzy blokami do 5°C.
- Kontrola z poziomu GUI urządzenia.
- Obsługa pamięci USB i sieci ethernet.





Użyteczność – przykładowe zastosowania

LABORATORIUM WIRUSOLOGICZNE

Obecne zadania laboratorium:

- Badania molekularne (podstawowe)
- Diagnostyka chorób wirusowych
- Opracowanie nowych leków przeciwwirusowych
- Hodowle tkankowe
- Identyfikacja nowych wirusów

- Realizacja projektu „Biotechnologia Molekularna dla Zdrowia” pozwoliło na stworzenie całkowicie nowej pracowni o unikalnym profilu badawczym.

- Sprzęt dostępny w ramach laboratorium pozwala na przeprowadzanie wszystkich potrzebnych analiz w trybie „High Throughput”, co znacząco podnosi szansę i ułatwia prace np. przy opracowania nowego leku.

- Zastosowane zabezpieczenia pozwalają na pracę z materiałem klinicznym oraz patogenami klasy 2 bezpieczeństwa biologicznego.

- Organizacja laboratorium jest komplementarna do innych zadań inwestycyjnych na Wydziale – np. analiza i kontrola zakażeń u zwierząt laboratoryjnych w nowo tworzonej zwierzętarni.

Dziękuję za uwagę!

Dr Krzysztof Pyrć
Zakład Mikrobiologii, WBBiB, Uniwersytet Jagielloński
C225 Gronostajowa 7, 30-387 Kraków
Tel.: +48 692 696 863 E-mail.: k.a.pyrc@uj.edu.pl
www: http://www.virogenetics.info