

**Odběr a transport:**

RIA metodou zpracováváme krevní vzorky. Pro jejich odběr platí všeobecné zásady. Musí být odebráno správné množství do předem označené zkumavky a musí být správně vyplněná žádanka.

**Porovnání stanovení exprese znaku CD 69 pomocí nové metody Pheno-Immuno Computing a průtokové cytometrie u aktivovaných lymfocytů**

Patrik Zmij (3. ročník LDZ)

Školitel: Ing. Tomáš Vlas

XENO Cell Innovations s.r.o. (NTIS), Ústav imunologie a alergologie FN Plzeň

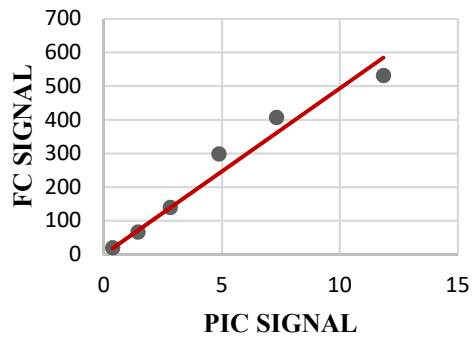
**Východisko:** Pheno-Immuno Computing je informační technologie, která je nyní ve vývoji. Tato technologie je postavená na nejrozšířenějším průmyslovém organismu, pekařském droždí. To umožňuje bezkonkurenční diagnostický výkon s neuvěřitelnou nákladovou efektivitou. Pomocí PIC metody je možné podrobně analyzovat buňky v suspenzi. Průtoková cytometrie je metoda analyzující buněčné populace, které je schopná je odlišit na základě vlastností jednotlivých buněk. Průtokový cytometr je přizpůsoben k třídění buněčných subpopulací na bázi fluorescence a rozptylu světla.

**Cíl:** Cílem této práce je porovnat stanovení exprese znaku CD 69 za pomoci nové výzkumné metody Pheno-Immuno Computing s rutinní průtokovou cytometrií u aktivovaných lymfocytů. Hodnocení spočívá v porovnání shodnosti výsledků stanovení znaku CD 69 u aktivovaných lymfocytů stejných vzorků naměřených metodou PIC a průtokovou cytometrií a jejich interpretace.

**Metodika:** Výzkum probíhal na vzorcích plné krve dobrovolníků, které byly odebrány do zkumavek s heparinem. Ze vzorků plné krve byly separovány čisté kultury T lymfocytů, které byly použity pro následnou kultivaci s PHA-L. Stanovení exprese znaku CD 69 u aktivovaných T lymfocytů byla provedena za pomoci metody PIC a byla porovnána s měřením na průtokovém cytometru. Při měření PIC metody jsem použil dva odlišné pracovní postupy nazvané PIC-LONG a PIC-SHORT. Dle zvoleného postupu se odvíjelo také stanovení na průtokovém cytometru a zejména ve volbě protilátky, kterou byl měřený vzorek obarven. Odběr plné krve, separace vzorků a finální měření na průtokovém cytometru probíhalo na Ústavu imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Plzeň. Kultivace vzorků, provedení a vyhodnocení PIC metody bylo provedeno na výzkumném centru NTIS. Při stanovení porovnání metody PIC-SHORT s FC se sledoval znak CD 25 kvůli absenci biomarkerů pro stanovení znaku CD 69.

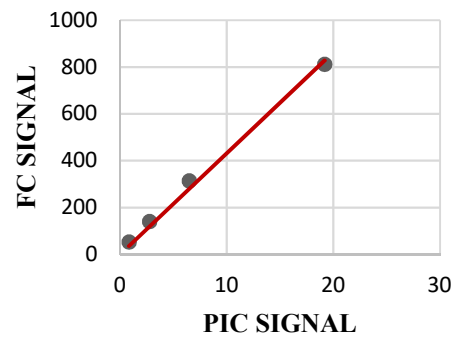
**Výsledky:** Při porovnání výsledků stanovení exprese znaku CD 69 a CD 25 u aktivovaných T lymfocytů metodou Pheno-Immuno Computing a průtokovou cytometrií s použitím grafů jsem zjistil, že metody korelují. U stanovení CD 69 metodou PIC-LONG a průtokovou cytometrií jsem získal korelační koeficient  $R^2 = 0,9851$ . U stanovení CD 25 metodou PIC-SHORT a průtokovou cytometrií jsem získal korelační koeficient  $R^2 = 0,9972$ .

### PIC-LONG x FC-1



$R^2 = 0,9851$

### PIC-SHORT x FC-2



$R^2 = 0,9972$

**Závěr:** Zjistil jsem, že je možné porovnat metodu Pheno-Immuno Computing s průtokovou cytometrií a lze jimi stanovit znak CD 69 a CD 25 u aktivovaných T lymfocytů. Zjistil jsem, že metody korelují.