

Vysoké učení technické v Brně
Mendelova univerzita v Brně
Výzkumný ústav pletářský
Středoevropský technologický institut v Brně

SOFTWARE PRO ANALÝZU VIABILITY BUNĚK PO PŮSOBENÍ TOXICKÝCH AGENS A PRO STANOVENÍ 50% INHIBIČNÍ KONCENTRACE

Jaromír Gumulec, Dagmar Chudobová, Kristýna Číhalová, Michal Masařík, Ivo
Provazník, Karel Bastl, Vojtěch Adam a René Kizek



Funkční vzorek, Brno 2014

FUNKČNÍ VZOREK - TYP G PODLE RIV

Název: Software pro analýzu viability buněk po působení toxických agens a pro stanovení 50% inhibiční koncentrace.

Oblast techniky

Předmětem funkčního vzorku je matematický model sloužící k vyhodnocení biologických experimentů. Tento model využívá funkcí aplikace Microsoft Excel pro automatizované vyhodnocování viability buněk různých typů a stanovení hodnoty IC_{50} (koncentrace potřebné pro 50% inhibici růstu bakteriální kultury) z dat získaných různými metodickými přístupy.

Autoři:

MUDr. Jaromír Gumulec, Mgr. Dagmar Chudobová, Ing. Kristýna Číhalová, RNDr. Michal Masařík, Ph.D., Prof. Ing. Ivo Provazník Ph.D., Mgr. Karel Bastl, Doc. RNDr. Vojtěch Adam, Ph.D., Prof. Ing. René Kizek, Ph.D.

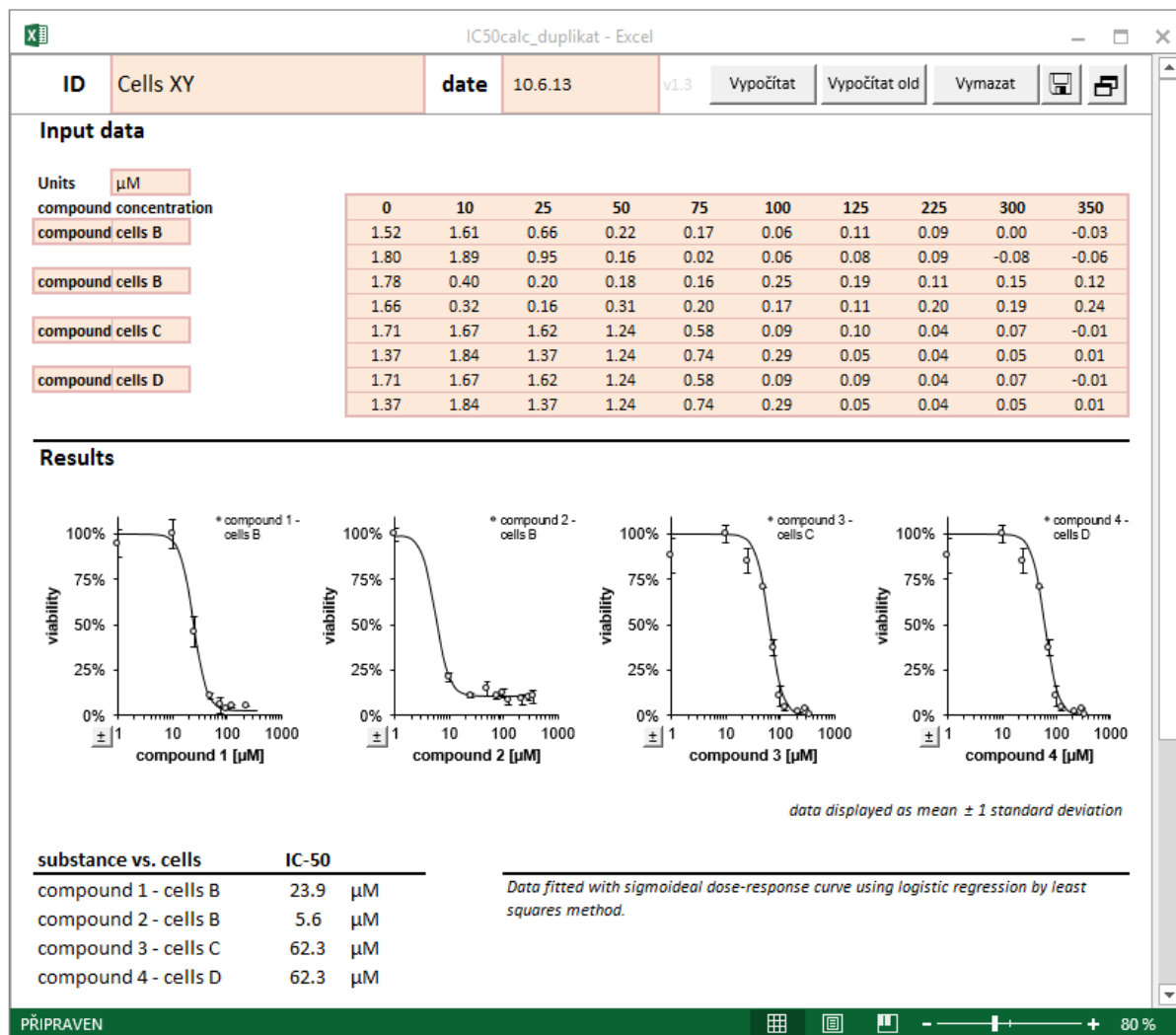
Dosavadní stav techniky

Kalkulace padesátiprocentní inhibiční koncentrace (IC_{50}) je součástí komerčních software sloužících k analýze viability buněk řady výrobců, například systém xCelligence (Acea biosystems, inc.). Nicméně, komerční řešení nejsou otevřená pro analýzy jiných výrobců a jiných metod. Matematický základ kalkulace je však všeobecně znám.

Podstata technického řešení

Datovým vstupem do kalkulátoru je koncentrační závislost měřeného parametru odrážejícího viabilitu, nebo jiného, u něhož je očekávána sigmoideální závislost na koncentraci. Parametrem, odrážejícím viabilitu může být počet buněk, výsledek MTT testu či jiného testu, výsledek absorbance (např. stanovené přístrojem Multiskan EX), či řada jiných. Tato vstupní data jsou proložena metodou nejmenších čtverců do sigmoideální na dávce závislé křivky. Ta slouží jako samotná grafická reprezentace viability a je optimalizována pro použití v publikacích. Z této funkce je dále odečtena hodnota IC_{50} a výstup také umožňuje stanovení korelačního koeficientu.

Přehled vyobrazení



Příklady uskutečnění technického řešení

Příklad 1

Příprava testovaných komponent (např. komplex nanočástic stříbra s chitosanem)

K 0,1 g chitosanu ($M_r = 140000 - 220000$) rozpuštěného v 9 ml vody s přidavkem 0,1 ml kyseliny octové byl přidán 1 ml roztoku AgNO_3 (0,034 g/10ml). Roztok byl důkladně promíchán a ponechán k reakci po dobu 1 h. Pak byl přidán pevný NaBH_4 (20 mg). Došlo ihned k tvorbě pěny a změně zbarvení do hnědé. Směs byla důkladně míchána po dobu 3 h.

Takto připravený roztok byl použit pro nanesení na cévní náhradu. Inhibiční efekt $IC_{50} = 1,0$ μ M.

Příklad 2

Příprava bakteriální kultury

24 hodinová narostlá bakteriální kultura byla na spektrofotometru Spekord naředěna na absorbanci 0,1 a byla dále použita pro smíchání s testovanými komponenty na mikrotitrační destičce využitě pro měření absorbance na přístroji Multiskan. Výsledné hodnoty absorbance jsou zaneseny do tabulky Excel, ze které jsou vygenerovány sigmoidní křivky, potažmo hodnoty IC_{50}

Průmyslová využitelnost

Benefit tohoto zařízení spočívá v možnosti analyzovat libovolná na koncentraci závislá data, u nichž je očekávána sigomoidální závislost – typicky analýza toxického působení látek na buňky (prokaryotické, eukaryotické). Tento software tak může být využit k analýze IC_{50} z dat naměřených řadou přístrojů stanovených řadou metod. Jediným požadavkem je mít data vyexportována do podoby tabulky. Jednoduchost uživatelského rozhraní a automatická kalkulace činí nástroj snadno využitelný pro rutinní užití v laboratoři.