

OBSAH

1	Úvod	7
2	NAVRHOVÁNÍ BIOMARKEROVÉ STUDIE	9
2.1	Biologický materiál, proveditelnost studie, informovaný souhlas	10
2.2	Odběry, zpracování a skladování biologického materiálu	12
2.3	Biomarkerová studie	13
2.4	Odhad velikosti souboru pacientů	16
3	IZOLACE A KONTROLA KVALITY RNA	19
3.1	Izolace RNA	19
3.2	Stanovení koncentrace a čistoty RNA	23
3.3	Stanovení integrity RNA	27
4	EXPLORATIVNÍ FÁZE BIOMARKEROVÉ STUDIE – VYSOKOKAPACITNÍ ANALÝZY	31
4.1	PCR arraye	33
4.2	Microarrays – DNA čipy	33
4.3	Sekvenování nové generace	34
4.4	Návrh experimentu	35
4.5	Biostatistické vyhodnocení vysokokapacitních analýz	37
5	TRÉNINKOVÁ A VALIDAČNÍ FÁZE BIOMARKEROVÉ STUDIE	41
5.1	Reverzní transkripce	41
5.2	Real-time PCR	43
5.3	Správné navržení validačního experimentu	48
6	STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ STUDIE	53
6.1	Dvouvýběrové testy	54
6.2	Párové testy	57
6.3	ROC analýza	58
6.4	Analýza přežívání (Kaplan-Meierova analýza)	61
6.5	Multivariační analýza (Coxův regresní model)	66
7	FUNKČNÍ CHARAKTERIZACE IDENTIFIKOVANÝCH BIOMARKERŮ <i>IN VITRO</i>	69
7.1	Kultivace buněčných linií	69
7.2	Růstové křivky buněčných linií	70
7.3	Transfekce nukleových kyselin do buněk – cílená deregulace nalezeného biomarkeru	74
7.4	Testování viability a proliferace buněk	81
7.5	Testování cytotoxicity	85
7.6	Průtoková cytometrie v analýze apoptózy a buněčného cyklu	91
7.7	Analýza buněčné migrace	101
7.8	Hodnocení buněčné invazivity	105
8	SPRÁVNÁ PREZENTACE VÝSLEDKŮ	109
8.1	Základní pilíře kvalitní prezentace	109
8.2	Struktura přednášky a její příprava	111
8.3	Příprava na přednášku	119
8.4	Jak vylepšit dojem z prezentace?	120
8.5	Diskuze po přednášce	121
8.6	Na závěr	122
9	Použitá a doporučená literatura	123