

## OBSAH

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>NAVRHOVÁNÍ BIOMARKEROVÉ STUDIE</b>	<b>9</b>
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
<b>3</b>	<b>IZOLACE A KONTROLA KVALITY RNA</b>	<b>19</b>
3.1	Izolace RNA	19
3.2	Stanovení koncentrace a čistoty RNA	23
3.3	Stanovení integrity RNA	27
<b>4</b>	<b>EXPLORATIVNÍ FÁZE BIOMARKEROVÉ STUDIE – VYSOKOKAPACITNÍ ANALÝZY</b>	<b>31</b>
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
<b>5</b>	<b>TRÉNINKOVÁ A VALIDAČNÍ FÁZE BIOMARKEROVÉ STUDIE</b>	<b>41</b>
5.1	Reverzní transkripce	41
5.2	Real-time PCR	43
5.3	Správné navržení validačního experimentu	48
<b>6</b>	<b>STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ STUDIE</b>	<b>53</b>
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
<b>7</b>	<b>FUNKČNÍ CHARAKTERIZACE IDENTIFIKOVANÝCH BIOMARKERŮ <i>IN VITRO</i></b>	<b>69</b>
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
<b>8</b>	<b>SPRÁVNÁ PREZENTACE VÝSLEDKŮ</b>	<b>109</b>
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
<b>9</b>	<b>Použitá a doporučená literatura</b>	<b>123</b>