

Szkoła cytometrii
**„Cytometria przepływowa-
podstawowe narzędzie badawcze”**

14-18.02.2022

MIEJSCE SPOTKANIA:

Budynek Dydaktyczny Patomorfologii, II piętro, sala 209
ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, Bydgoszcz

ORGANIZATORZY:

Centrum Doskonałości „W kierunku medycyny
spersonalizowanej” oraz Katedra Immunologii CM UMK

PONIEDZIAŁEK: 14.02.2022

„Miłość od pierwszego wejrzenia i aż do śmierci”
czyli wprowadzenie do cytometrii przepływowej i testy żywotności

9.00-9.10 Oficjalne otwarcie spotkania: dr n. med. Lidia Gackowska (Katedra Immunologii, CM UMK)

Prelegent: mgr Michał Maj

9.10-11.00

Cytometria Przepływowa – prawdopodobnie najlepsza metoda badawcza na świecie

- fizyka w służbie biologii – zasady działania cytometrii przepływowej
- poznaj swoją maszynę – czy lepiej orać pole Ferrari czy wybrać się na tor wyścigowy Ursusem?
- „political corectness” – dyskryminacja i wykluczenie każdego dnia – na czym polega analiza cytometryczna i dlaczego kontrola jest ważniejszą próbką niż próba badana?
- kompensacja fluorescencji – jeśli ten termin wywołuje u Ciebie dreszcze lub nie jest Ci znany-posłuchaj
- ewolucja cytometrii i spojrzenie poza horyzont technologii – co nadciąga? Kilka słów o „spektrum, masie, czasie życia i VACS”

11.00-12.00 Przerwa kawowo/lunchowa

12.00-14.30

Popularne aplikacje cytometryczne – zrób to sam! Kilka mniej popularnych również...

- jak się masz? – apoptoza i żywotność
- krótko o G1, G2 oraz S
- dynastia – kilka słów o pomiarze proliferacji
- immunofenotypowanie – nie tylko klinika!
- ale jazda! – sort komórkowy – coś dla komórek miłujących mocne wrażenia
- małe jest piękne – nanoskala w akcji
- mitochondrium z potencjałem! Kilka testów na koniec

14.30-15.00: DYSKUSJA: Kto pyta nie błądzi

WTOREK: 15.02.2022

„Everything you need to know about intracellular staining-good cytometric practice” czyli pokaż kotku co masz w środku

Prelegent: Riccardo Pasculli, MSc ACCELA s.r.o.

9.00-9.15 Spectral flow cytometry and spectral sorting

5 min Questions/Answers

Prelegent: dr Raif Yuecel

9.20-11.00 Discover What’s Beyond The Surface – Intracellular Flow Cytometry

-Cytometry – ELISA: the advantages of cellular cytokine measurement

-Cytometry vs Western Blot: the power of flow cytometry in cell signaling

11.00-12.00 Przerwa kawowo/lunchowa

Prelegent: dr Francesco Pinto

12.00-12.10 The power of Flow Cytometry in Cell Signalling

5 min Questions/Answers

Prelegent: dr Raif Yuecel

12.15-14.30

1. ”Primeflow” – Combined Flow Cytometric Analysis of Surface and intracellular Gene expression

2. ”Phospho-Flow”: Combined Flow Cytometric Analysis of Surface and Intracellular Signaling

Demo: Evaluation of multiple intracellular phospho-signalling events as biomarker on single in whole blood

14.30-15.00: DYSKUSJA: Kto pyta nie błądzi

ŚRODA: 16.02.2022

„Na górze róże, na dole komórki – zastosuj cytometrię z obrazowaniem i multiplexy, a nauka pójdzie z górki”.

Cytometria obrazowa i technologia Luminex xMAP

Prelegent: dr n. farm. Aleksandra Gregorius

9.00-9.30: Innowacyjne urządzenia wspierające hodowle komórkowe Scepter 3.0, Millicell DCI

Prelegent: mgr inż. Michał Konieczny

9.30-10.15: Wstęp - demokratyzacja cytometrii (Guava Muse) oraz cytometria z obrazowaniem (IFC) - zobacz czego nie widzisz i zmierz to co zobaczysz

Prelegent: dr n. biol. Paweł Zatwarnicki

10.15-11.00: MILLIPIX xMAP - oznaczenia multipleksowe biomarkerów i białek szlaków sygnałowych w oparciu o technologię Luminex xMAP

11.00-12.00 Przerwa kawowo/lunchowa

ZAPRASZAMY NA Open Lab + dyskusję

Pięć stanowisk dyskusyjnych, aparaty Luminex o różnym charakterze działania, służące do odmiennych typów analiz (MagPix, Guava Muse, Guava EasyCyte, Amnis CellStream) oraz Scepter 3.0+Millicell DCI

Przy konkretnym urządzeniu/rozwiązaniu technologicznym i pysznej kawie dyskutuje się najlepiej

12:00-14.45 WARSZTATY PRAKTYCZNE

Warsztaty w 3 grupach, rotacja uczestników między stanowiskami po 55 minutach

- MILLIPIX xMAP (dr n. biol. Paweł Zatwarnicki) – warsztat z przygotowania płytki do analizy, odczyt oraz analiza i interpretacja danych
- Imaging Flow Cytometry (mgr inż. Michał Konieczny) - warsztat z analizy danych z wykorzystaniem sztucznej inteligencji
- Scepter 3.0, Millicell DCI, Muse (dr n. farm. Aleksandra Gregorius, dr n. med. Zuzanna Burzyńska) - warsztat z wizualizacji hodowli, liczenia i analizy danych na aparacie przenośnym (Scepter) przygotowania prób do właściwej analizy cytometrycznej, akwizycja oraz interpretacja danych.



CZWARTEK: 17.02.2022

„Bo małe jest piękne”

Prelegent: Prof. UPP dr hab. Wojciech Juzwa

9.00-11.00 Analiza cytometryczna komórek mikroorganizmów

- cytometria przepływowa jako nowoczesne narzędzie analizy komórek o unikatowych cechach – wartość dodana w stosunku do innych instrumentalnych technik analitycznych,
- nowe spojrzenie na kryteria oceny żywotności komórek – parametry funkcjonalne (fizjologia komórek),
- sposoby znakowania strukturalnych i funkcjonalnych parametrów/cech komórek - aktywacja fluorescencji,
- sposoby przygotowania prób do analizy cytometrycznej (zapobieganie blokowaniu układu ciśnieniowo-cieczowego oraz zmniejszanie tła analitycznego),
- punkty kontrolne analizy cytometrycznej – kluczowe elementy i etapy obsługi instrumentu

11.00-12.00 Przerwa kawowo/lunchowa

12.00-14.30 Sortowanie komórek – założenia, ograniczenia i pułapki oraz rozwiązywanie problemów

- „dobra praktyka” w cytometrii przepływowej i sortowaniu komórek,
- najważniejsze aspekty sortowania komórek – cele, kalibracja instrumentu, definicja pozytywnych sub-populacji i los komórek w czasie i po sorcie.
- sortery komórkowe a bio-bezpieczeństwo
- nowe kierunki w analizie cytometrycznej i sortowaniu komórek (połączenia funkcjonalne instrumentów oraz specyficzne nisze aplikacyjne).

14.30-15.00: DYSKUSJA: Kto pyta nie błądzi

PIĄTEK: 18.02.2022

„Nowe...nie zawsze znaczy lepsze”



Prelegent: dr Helena Moreira

9.00-11.00 Hodowle komórek nowotworowych jako podstawowe narzędzie do badań

- Pozyskiwanie komórek do badań. Linie komórkowe pierwotne i ciągłe. Hodowle zawieszinowe i komórek adherentnych. Hodowle komórkowe 2D i 3D;
- Przygotowanie komórek do badań w cytometrze przepływowym – zastosowanie odpowiednich odczynników do komórek adherentnych;
- Panel podstawowych metod stosowanych w badaniach *in vitro*:
 - ✓ stres oksydacyjny
 - ✓ aktywność funkcjonalna białek oporności wielolekowej
 - ✓ badanie uszkodzeń DNA

11.00-12.00 Przerwa kawowo/lunchowa

12.00-14.30 Komórki macierzyste

- Nowotworowe komórki macierzyste (NKM)
 - ✓ izolacje i hodowle NKM
 - ✓ określanie frakcji tzw. populacji bocznej (side population)
 - ✓ ekspresja markerów powierzchniowych NKM
- Mezenchymalne komórki macierzyste z miazgi zębowej (DPSC)
 - ✓ izolacje i hodowle NKM
 - ✓ ekspresja markerów powierzchniowych NKM

14.30-15.00: DYSKUSJA: Kto pyta nie błądzi