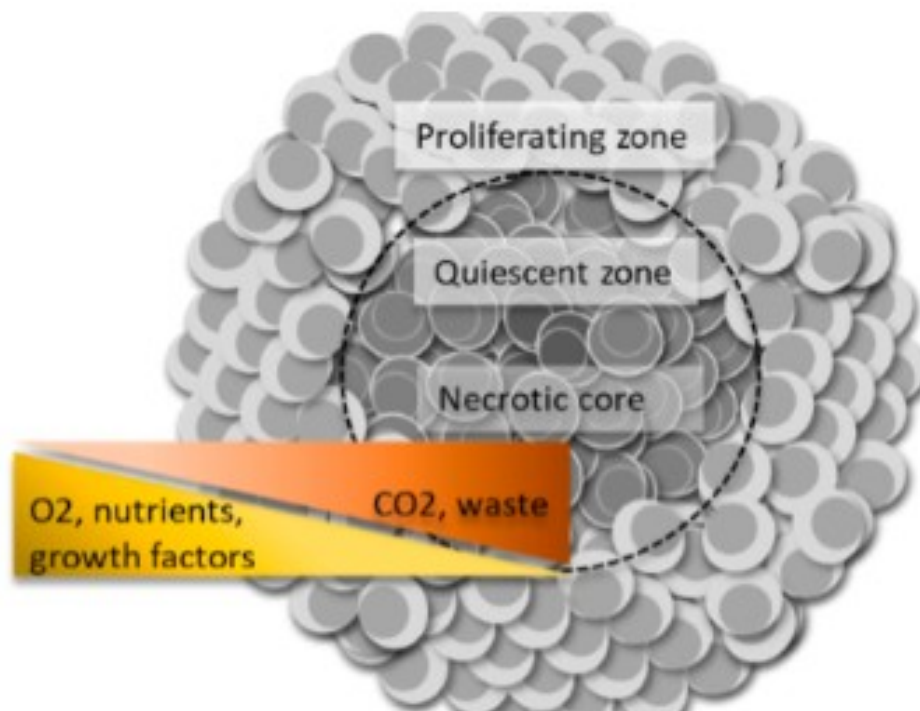


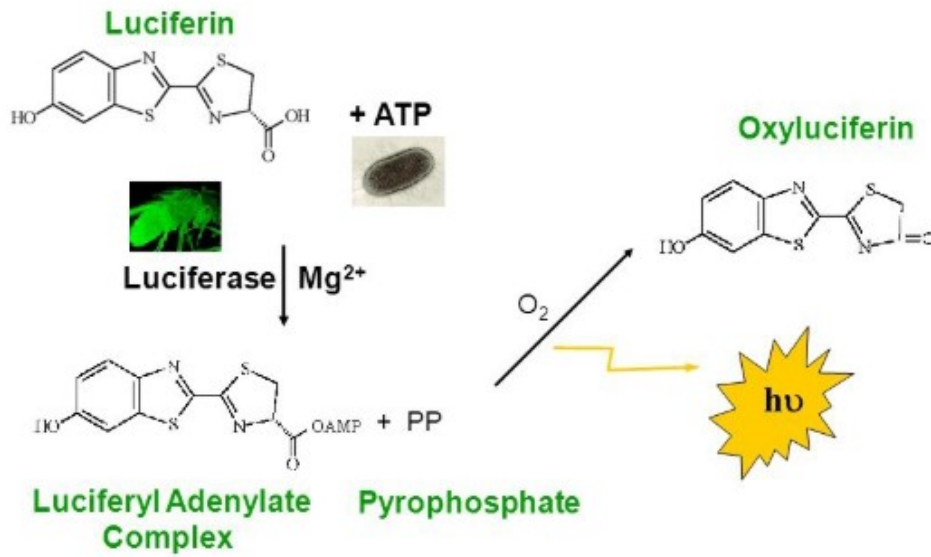
Po	<ol style="list-style-type: none"> 1. mražení sféroidů pro IHC 2. nasazení 3D 3. indukce buněk na MTT , ATP , buněčný cyklus 4. sklízení buněk na immonobloting (4 sféroidy)
Ut	<ol style="list-style-type: none"> 1. indukce 3D na konfokál calcein-AM/PI (4 sféroidy) 2. krájení sféroidů na kryotomu pro IHC 3. IHC -nanesení primární protilátky (v prostojích 15 a 30 min. nalít gel) 4. nalít dolní gel na ELFO 5. FBS ke sféroidům - foto
St	<ol style="list-style-type: none"> 1. buněčný cyklus - fixace buněk 2. MTT, ATP assay 3. ELFO, immunoblotting, prim Ab 4. IHC - nanesení sekundární protilátky 5. FOTO sféroidů
Ct	<ol style="list-style-type: none"> 1. vyvolání immunoblotting 2. buněčný cyklus průtokova cytometrie 3. konfokál - stanovení viability sféroidů 4. konfokál - IHC 5. FOTO sféroidů
Pa	prezentace výsledku



A New Dimension of Cell Culture: The Rise of Spheroid Culture Systems

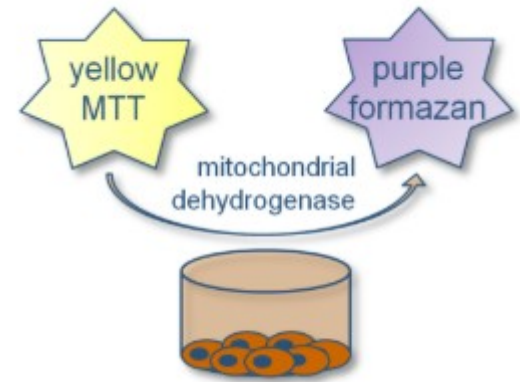
Analýza lyzátů připravených ze sféroidů

1. ATP assay



<https://www.creative-bioarray.com/support/atp-cell-viability-assay.htm>

2. MTT assay



<https://www.eurofins.de/medizinprodukte-pruefungen/validierte-methoden/mtt-test>

3. ELFO, imunobloting Stanovení hladiny proteinů v lyzátech

4. Buněčný cyklus

5. Analýza POVRCHU schéroidů

calcein-AM/PI

(calcein-AM značí živé buňky, propidium iodid proniká pouze do mrtvých buněk)

6. Analýza ŘEZU sféroidů

IHC – stanovení prostorové distribuce markerů
proliferace (Ki67) a apoptózy (cv. Caspase 8)

U všech obrazových dat provést analýzu obrazu, kvantifikaci signálu

Principle Of CLSM

- A confocal microscope creates sharp images of a specimen that would otherwise appear blurred when viewed with a conventional microscope.
- This is achieved by excluding most of the light from the specimen that is not from the microscope's focal plane.
- The confocal microscope incorporates the ideas of point-by-point illumination of the specimen and rejection of out-of-focus light.

