

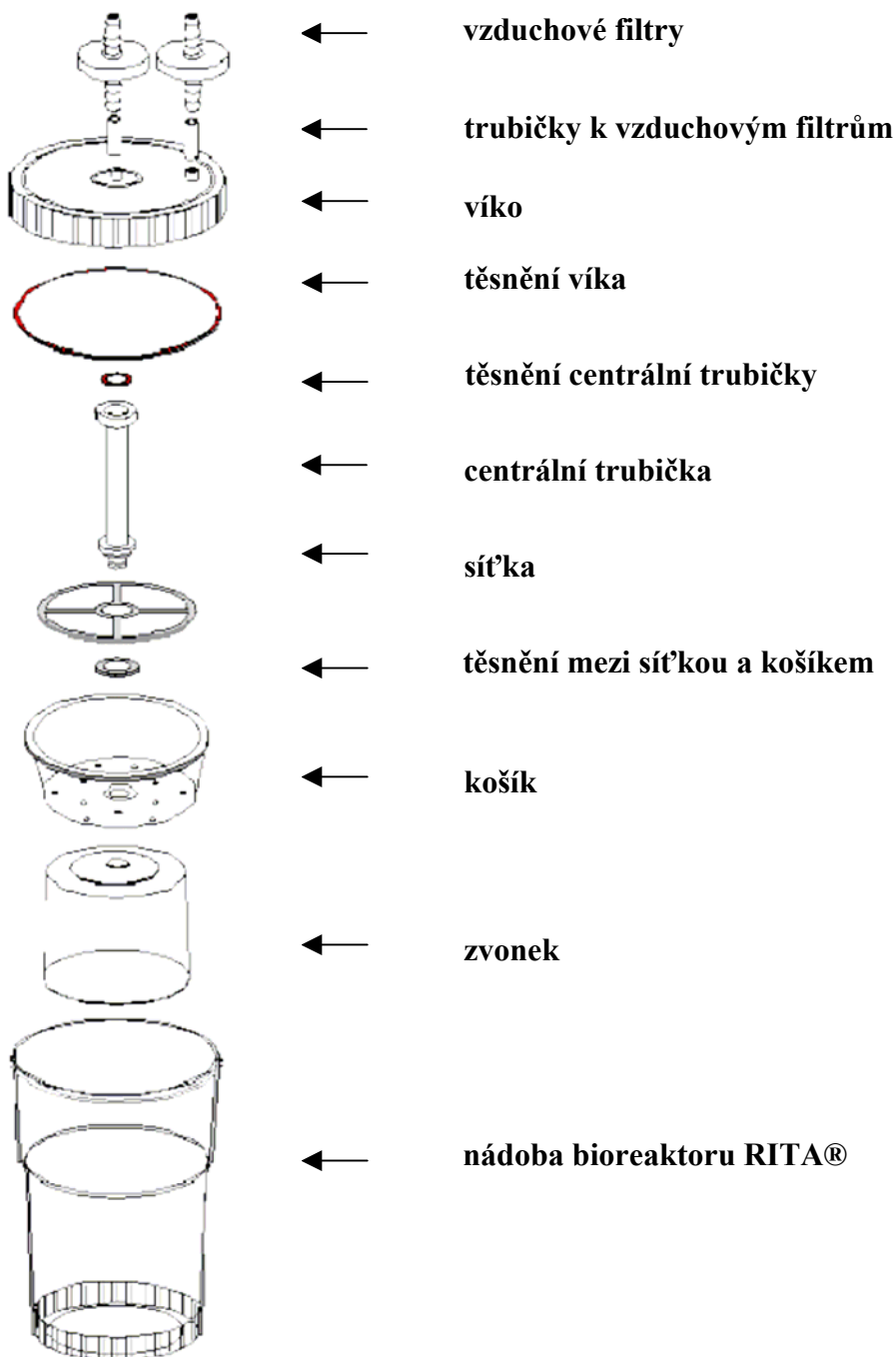
DATUM:

TÉMA: **Založení a pasážování kultury v bioreaktoru RITA®**

Bioreaktorový systém RITA® pracuje na principu opakovaného částečného zanořování explantátů („temporary immersion“) do tekutého živného media.

Jednotlivé bioreaktory jsou nádoby z trvanlivého autoklávovatelného plastu (polysulfon) o celkovém objemu 1l, ve kterých je na perforovaném košíku připevněna síťka pro umístění explantátů. Na víku bioreaktoru jsou přívody pro umístění 2 vzduchových filtrů, které zajišťují sterilitu kultivační nádoby v průběhu celého kultivačního období.

Jednotlivé komponenty bioreaktoru RITA® jsou znázorněny na obr. 1.



**Obr. 1.** Díly a složení bioreaktoru RITA®

POSTUP PRÁCE:

### **Čištění dílů bioreaktoru RITA®**

1. Pro dostatečné umytí bioreaktoru je nutno celý systém rozložit a jednotlivé díly šetrně mýt samostatně s použitím detergentů, které nesmějí obsahovat aromatické uhlovodíky snižující trvanlivost plastu.
2. **Nepoužíváme žádné abrazivní prostředky!** Vhodné je šetrné použití utěrky z mikrovlákna.
3. Po opláchnutí mycího roztoku čistou vodovodní vodou opláchneme díly bioreaktoru v destilované vodě a usušíme při laboratorní teplotě.

### **Sterilizace bioreaktoru RITA®**

1. Sterilizujte sestavený bioreaktor s nasazenými vzduchovými filtry (neutahujte víko nádoby příliš těsně, aby nedošlo k deformaci v průběhu sterilizace).
2. Před sterilizací v autoklávu přidejte do nádoby několik mililitrů destilované vody.
3. Vzduchové filtry chraňte aluminiovou fólií před vlhkostí. Na filtrech označujte počet cyklů sterilizace (výrobce doporučuje filtry autoklávovat maximálně 10x).
4. Médium sterilizujte odděleně a vlévejte do bioreaktoru až v laminárním boxu.

### **Iniciace kultury v bioreaktoru RITA®**

1. Vysterilizovaný sestavený bioreaktor s nasazenými vzduchovými filtry přeneste do laminárního boxu.
2. Po otevření víka bioreaktoru vlijte připravené sterilní tekuté živné médium do nádoby (víko si v laminárním boxu odložte na sterilní Petriho misku).
3. Na síťku vložte explantáty a zpět nasadíte a zašroubujete víko bioreaktoru.
4. Přeneste bioreaktor do kultivační místnosti a připojte střední vzduchový filtr pomocí hadičky ke vzduchovacímu systému.

### **Pasážování kultur v bioreaktoru RITA®**

1. Bioreaktor RITA® s kulturou přeneste do laminárního boxu a pečlivě desinfikujte jeho povrch, zejména okraj víka.
2. Vysterilizujte si novou nádobu RITA® s víkem (bez vnitřní části) a přeneste ji do laminárního boxu.
3. Připravte si tekuté sterilní živné médium podle potřeby pasážované kultury a vlijte je v laminárním boxu po otevření víka bioreaktoru do nádoby.
4. Přeneste sterilně celou vnitřní část s explantáty do nové nádoby, uzavřete víkem. Přeneste bioreaktor zpět do kultivační místnosti a připojte přes střední filtr hadičkou ke vzduchovacímu zařízení.

HODNOCENÍ

V následujících týdnech kontrolujeme čistotu kultur a vývoj explantátů.

LITERATURA: [www.vitropic.fr](http://www.vitropic.fr)