

## Plazma vaječného žloutku jako alternativa k séru v kultivačních médiích

Michaela Klozová, ZL 3

Školitel: MUDr. Vlastimil Kulda, Ph.D.

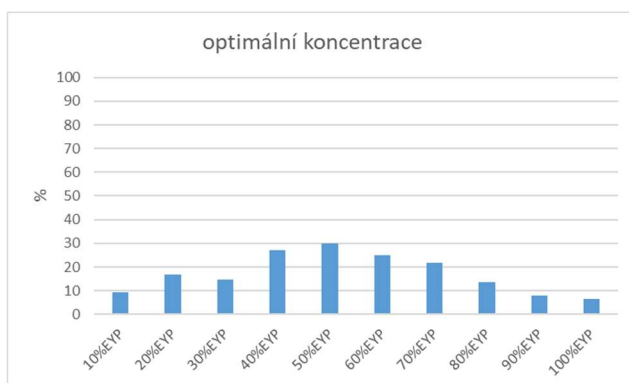
Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Plzni

**Východisko:** Buněčné kultury se dnes rutinně používají v řadě laboratoří a jsou jedním z hlavních nástrojů výzkumu v biomedicínských vědách. Kultivační média umožňující proliferaci eukaryotických buněk mají velmi komplexní složení. Pro kultivaci většiny buněk je třeba k základnímu složení přesně definovaného média doplnit ještě chemicky nedefinovanou složku, jíž je standardně fetální bovinní sérum (FBS), přidávané tak, že představuje 5-10% finálního média. FBS poskytuje růstové faktory, hormony, vazebné a transportní proteiny, stopové prvky, což jsou kvantitou sice minoritní složky, pro růst buněk jsou nezbytné. Proteiny z FBS mají i puřovací a detoxikační roli, důležité jsou i inhibitory proteolytických enzymů. Nevýhodou je jeho cena, variace mezi jednotlivými šaržemi, ale i etické otázky spojené s jeho získáváním. Je patrná snaha o kompletní bezsérová média doplněná jednotlivými růstovými faktory a purifikovanými proteiny, ale ta jsou velmi drahá a zatím umožňují kultivaci jen specifických typů buněk. V literatuře se sporadicky objevují zmínky o alternativách k FBS. Jednou z uváděných možností je plazma vaječného žloutku. Žloutková hmota se skládá z tělísek (granulí) a plazmy, které jde od sebe oddělit centrifugací.

**Cíl:** Experimentálně ověřit možnosti využít plazmy vaječného žloutku (EYP) jako alternativy k fetálnímu bovinnímu séru během kultivace.

**Metodika:** Experimentální práce se uskutečnila v laboratoři buněčných kultur. Pracovali jsme na srovnání viability a proliferace buněk kultivovaných v médiu s plazmou vaječného žloutku a v FBS.

**Výsledky:** Vlastní experiment zahrnoval kultivační média se vzrůstajícím obsahem EYP, od 10 % až po 100%. Do jedné jamky jsme přidávali 10000 buněk. Po 48 hodinách jsme provedli kontrolu pod mikroskopem a vyměnili médium. Další kontrolu jsme provedli po 96 hodinách, kdy jsme zároveň otestovali viabilitu buněk pomocí metody CCK-8. Získali jsme následující výsledky.



**Závěr:** Tato bakalářská práce je rozdělena na teoretickou a praktickou část. V teoretické části je kladen velký důraz na problematiku kultivace buněk obecně. Také jsou zde kapitoly popisující vejce, konkrétněji žloutek a v neposlední řadě buněčnou linii MG-63, se kterou jsme po celou dobu pracovali. V praktické části pak přenášíme naše teoretické úvahy o možnosti náhrady fetálního bovinního séra (FBS) v kultivačních médiích plazmou vaječného žloutku (EYP) do praxe. Opravdu jsme ukázali, že je možné buňky MG-63 pěstovat v médiu s přídavkem EYP místo FBS. Nedosáhli jsme sice takových výsledků jako v případě kultivace ve standardním médiu obsahujícím FBS, ale i tak myslím si, že tato bakalářská práce může posloužit jako startovací bod pro další výzkumy ve snaze o nahrazení FBS.