TRÓJWYMIAROWE HODOWLE KOMÓREK MIĘŚNIA SERCA

W obecnym stuleciu choroby serca stały się jednym z najpoważniejszych problemów ludzkości, co spowodowało intensyfikację badań dotyczących genezy tych chorób oraz fizjologii i morfogenezy samego mięśnia serca. Implikowało to konieczność stworzenia modeli doświadczalnych *in vitro*, umożliwiających uzyskiwanie wiarygodnych i powtarzalnych wyników. W przypadku mięśnia serca, najistotniejsze było zapewnienie wyników, które pozwalały na względnie długotrwałe utrzymanie spontanicznej aktywności skrczowej.

Jednym z modeli do badań mechanizmów i przebiegu procesów różnicowania tkanki mięśniowej są hodowle komórek serca zarodka kurczęcia. Zdecydowana większość informacji o procesach zachodzących w różnicującej się *in vitro* tkance mięśnia serca pochodzi z badań, w których wykorzystywano hodowle jednowarstwowe. Technika ta jednak nie pozwala na odtwarzanie tkankowo specyficznej organizacji komórek oraz na podtrzymanie aktywności skurczowej przez dłuższy czas. Wymagania te spełnia technika trójwymiarowej hodowli agregatów komórek serca zarodka kurczęcia na włóknach waty szklanej. Wata szklana z jednej strony zapewnia sprężyste podłoże dla kurczącego się agregatu, z drugiej zaś ze względu na małą powierzchnie włókien, utrudnia migrację komórek agregatu i jego dezorganizacje.

Możliwe jest także długotrwałe podtrzymywanie aktywności skurczowej całego mięśnia serca *in vitro*. Tego typu układ doświadczalny wykorzystujący np. serce ryby umożliwia porównanie reakcji na różne czynniki serca hodowanego w całości oraz jego fragmentów.

Celem ćwiczenia jest zapoznanie się z techniką zakładania hodowli agregatów komórek serca zarodka kurczęcia.

WYKONANIE DOŚWIADCZENIA

A. PRZYGOTOWANIE POŻYWKI HODOWLANEJ

Przygotować pożywkę Parkera z dodatkiem:

5% surowicy kurzej

5 mM buforu HEPES

1 mg/ml glukozy

1 mM tauryny

antybiotyki

B. ZAKŁADANIE HODOWLI AGREGATÓW KOMÓREK SERCA ZARODKA KURCZĘCIA

1. Przygotować komorę Rosse'go
   a) na dno komory nanieść cienką warstwę 1% agaru w PBS-ie;
   b) po zastygnięciu agaru na jego powierzchnię nanieść kilkanaście włókien odtłuszczonej waty szklanej.
2. Zarodki kurze, 8-dniowe, wydobyć ze skorupki, oczyścić z błon, zdekapitować i wyizolować mięsień serca.
3. Serca przenieść na szalkę, odpłukać z krwi pożywką schłodzoną do temperatury 4^0C pociąć za pomocą nożyczek na kawałki o wielkości 0.1 - 1 mm.
4. Agregaty przenieść przy pomocy pipety Pasteura do uprzednio przygotowanych komór.
5. Skręcić komory i dopełnić pożywką pozostawiając wewnątrz niewielką ilość powietrza.
6. Komory umieścić w cieplarce o temp. 37^0C.