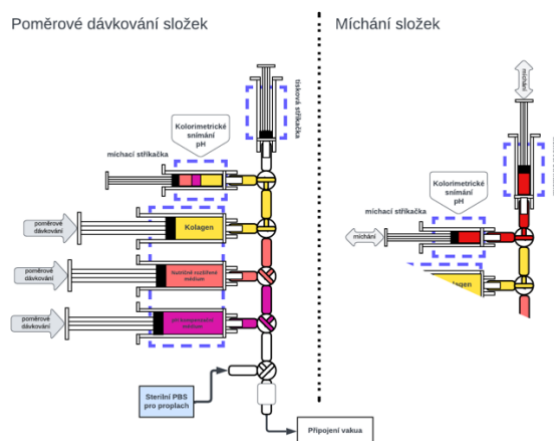


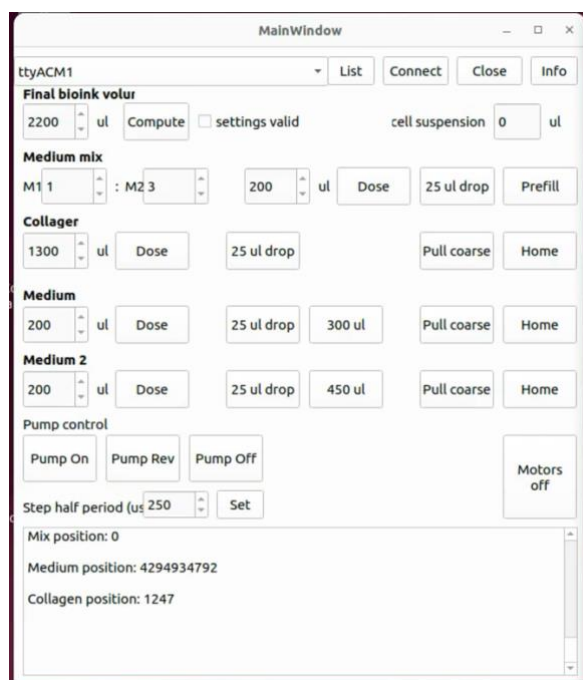
Příprava tisknutelného kolagenového hydrogelu

Příprava míchacího systému

1. Dle schématu vložte do míchacího systému jednotlivé komponenty – kolagen, pH základní a pH zvýšené médium, připojte oplachové PBS a vakuum
2. V SW použijte tlačítko Dose 25 ul a dotlačte jezdce na úroveň stříkaček
3. Přebytečné složky vniklé do míchacích kanálů vypláchněte pomocí PBS a odsajte vakuvovým ventilem



Obrázek 1 - schema míchacího systému.



Obrázek 2 - ovládací SW míchacího systému.

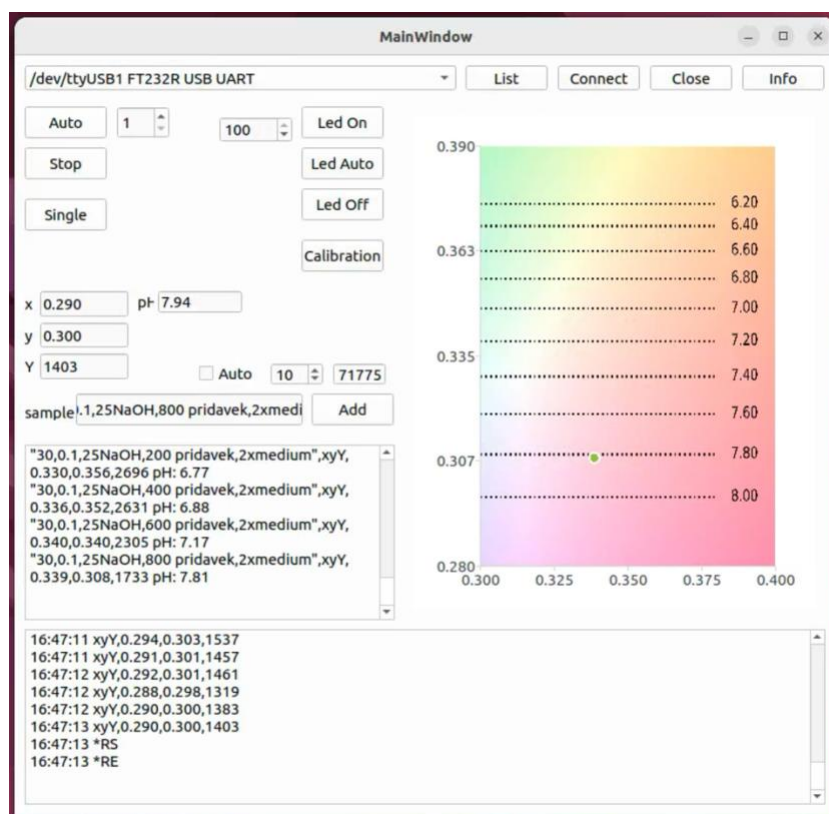
Kalibrace pH kolorimetru a spektrometru

1. Do odpovídající chladicí komory – volba podle objemu gelu – vložte injekční stříkačku s bílou kalibrační tekutinou
2. Nastavte LED na 100% výkonu

Vzniklo za podpory projektu IP – „Inovace a propojení výuky zaměřené na metody testování biofyzikálních vlastností živých tkání a buněk“

Doc. Ing. Roman Matějka, Ph.D.

3. Stiskněte Calibrate a ověřte zda odpovídá iluminantu D65



Obrázek 3 - ovládací okno kolorimetru

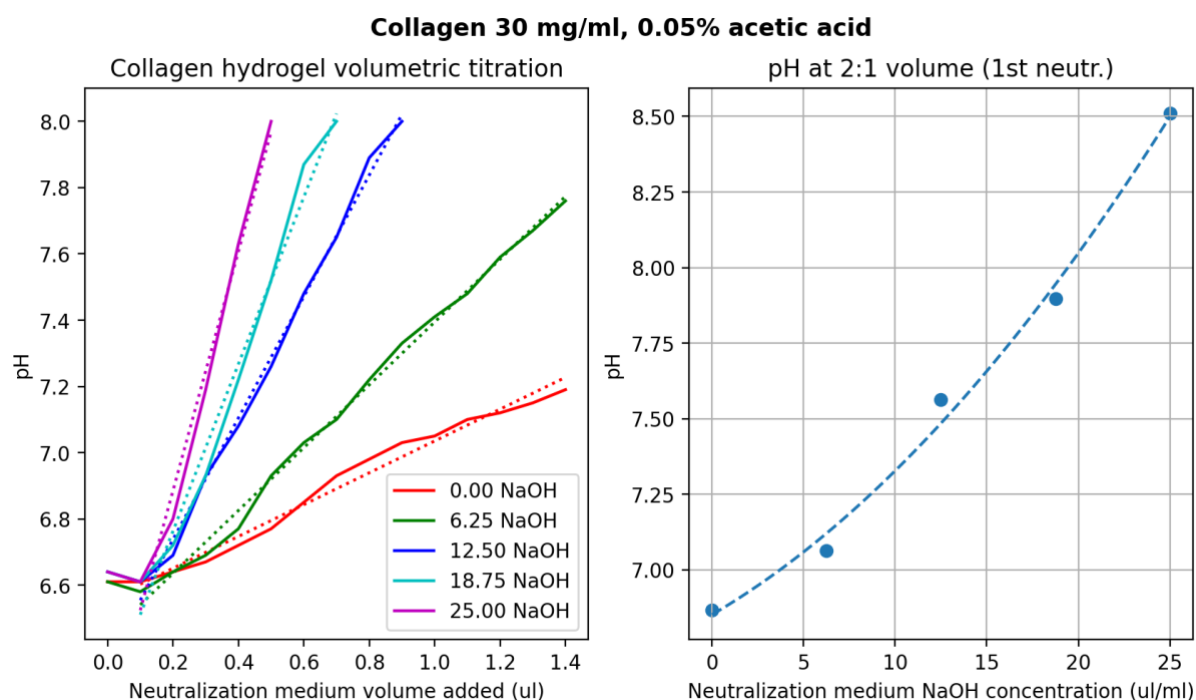
Titrace pH hydrogelu

Proveďte titraci kolagenového hydrogelu a jeho změnu pH.

1. Do míchací stříkačky nadávkuje 1400 ul kolagenu
2. Propláchněte kanály směšovacích ventilů
3. Připravte médium o dané koncentraci NaOH
4. Po 200 ul přidavcích přidávejte neutralizační médium do kolagenu a postupně míchejte
5. Vyneste změnu pH v grafu, proveďte pro okrajové hodnoty 0 a 25 ul/ml a dále naleznete optimální koncentraci

Vzniklo za podpory projektu IP – „Inovace a propojení výuky zaměřené na metody testování biofyzikálních vlastností živých tkání a buněk“

Doc. Ing. Roman Matějka, Ph.D.



Obrázek 4 - titrační křivka kolagenového hydrogelu.

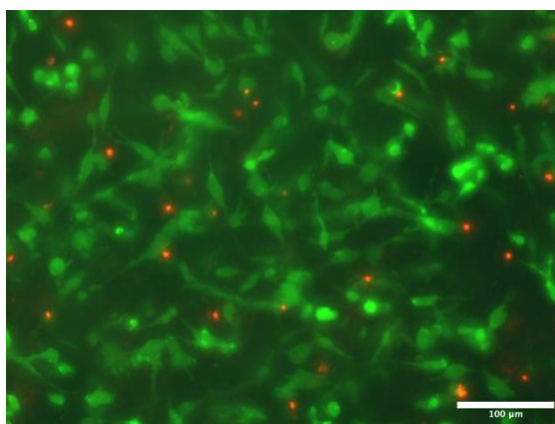
Příprava kolagenového bioinku

1. Na základě titrační křivky zvolte optimální pH – při přidavku poloviny objemu by měla dosáhnout pH kolem 7
2. Nadávkujte daný objem kolagenu do směšovací stříkačky
3. Vypláchněte kanály míchacího systému
4. Naplňte spodní kanál pomocí pH zvýšeného média – drop 150 ul.
5. Nyní nastavte daný poměr média
6. Pomocí Drop 450 ul doplňte celý míchací kanál
7. Doplňte ½ objemu kolagenu neutralizačním médiem
8. Přidejte buněčnou suspenzi – objem ½ objemu kolagenu
9. Smíchejte

C1	0	ul/ml NaOH									
C2	25	ul/ml NaOH									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	25,00	12,50	8,33	6,25	5,00	4,17	3,57	3,13	2,78	2,50	2,27
2	25,00	16,67	12,50	10,00	8,33	7,14	6,25	5,56	5,00	4,55	4,17
3	25,00	18,75	15,00	12,50	10,71	9,38	8,33	7,50	6,82	6,25	5,77
4	25,00	20,00	16,67	14,29	12,50	11,11	10,00	9,09	8,33	7,69	7,14
5	25,00	20,83	17,86	15,63	13,89	12,50	11,36	10,42	9,62	8,93	8,33
6	25,00	21,43	18,75	16,67	15,00	13,64	12,50	11,54	10,71	10,00	9,38
7	25,00	21,88	19,44	17,50	15,91	14,58	13,46	12,50	11,67	10,94	10,29
8	25,00	22,22	20,00	18,18	16,67	15,38	14,29	13,33	12,50	11,76	11,11
9	25,00	22,50	20,45	18,75	17,31	16,07	15,00	14,06	13,24	12,50	11,84
10	25,00	22,73	20,83	19,23	17,86	16,67	15,63	14,71	13,89	13,16	12,50

Příprava tisku

1. Připravený bioinkoust přesuňte v chlazeném držáku do biotiskárny – pozor je nutné zachovat nízkou teplotu
2. Provedte kalibraci tiskárny
 - a. Homing osy Z
 - b. Homing os XY
 - c. Vložte sklíčko na vakuovou podložku
 - d. Stiskněte Probe
 - e. Poté nastavte platformu na 24x24
3. Vytiskněte kalibrační paternu – Snake
4. Vytiskněte vzorky pro další kultivaci
5. Ověřte pomocí LD barvení



Vzniklo za podpory projektu IP – „Inovace a propojení výuky zaměřené na metody testování biofyzikálních vlastností živých tkání a buněk“
Doc. Ing. Roman Matějka, Ph.D.