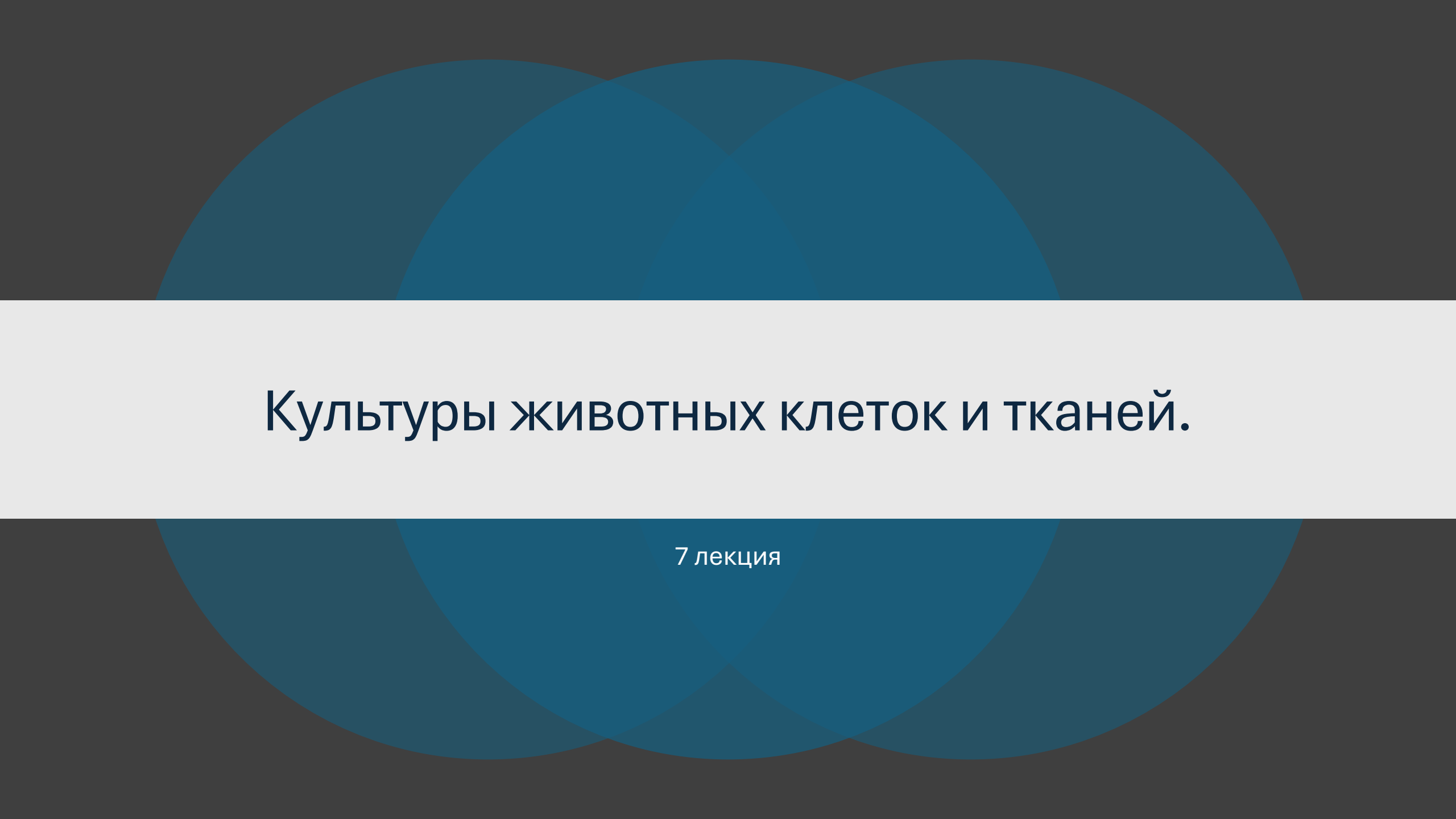
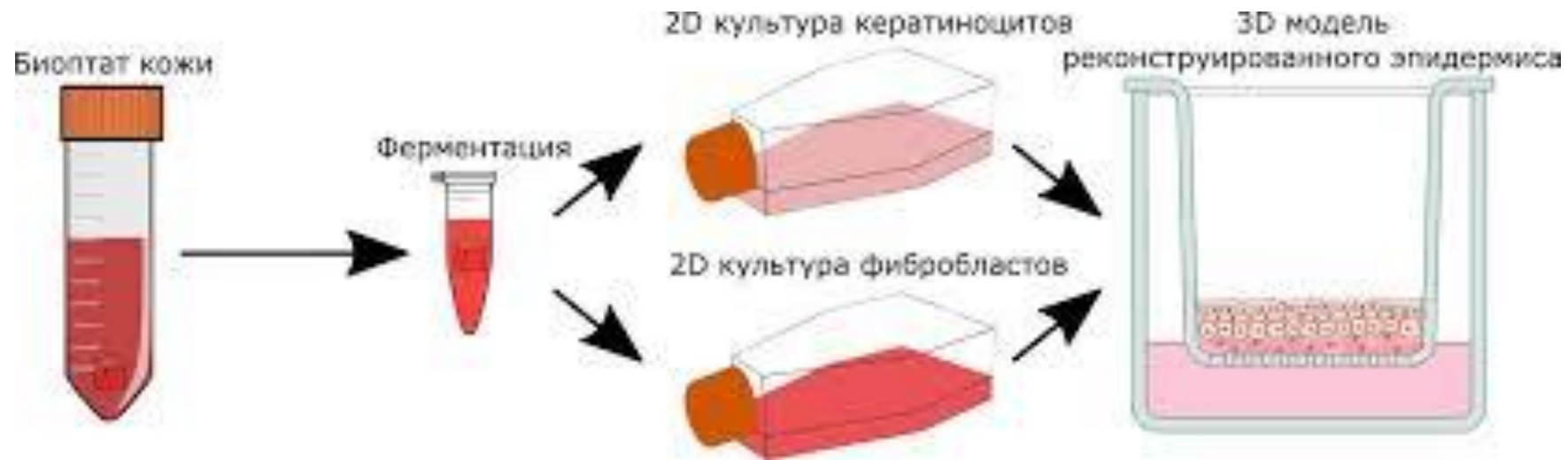




Культуры животных клеток и тканей.

7 лекция



- Культура клеток и тканей — это метод выращивания клеток животных вне организма, в искусственных условиях.
- Используется для изучения физиологических, биохимических и генетических процессов, а также для производства биопрепаратов.

-
- 1907 — Росс Харрисон впервые культивировал нервные клетки лягушки.
 - 1940–1960-е — развитие питательных сред и стерильных технологий.
 - Современность — автоматизация и применение биореакторов.



Основные типы культур

- **Первичные культуры** —
получаются напрямую из тканей
организма.
- **Перевиваемые (линии)** —
способны делиться
неограниченное количество раз.
- **Клональные культуры** —
происходят от одной клетки.



Животные клетки гораздо сложнее культивировать *in vitro* по сравнению с растительными клетками по следующим причинам:

Требуются более сложные по составу питательные среды.

Клетки очень чувствительны к механическим воздействиям.

3. Рост клеток происходит преимущественно после прикрепления к поверхности.

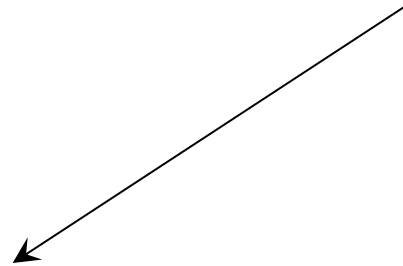
Культуры клеток животных классифицируют по следующим признакам:

способу культивирования;

происхождению;

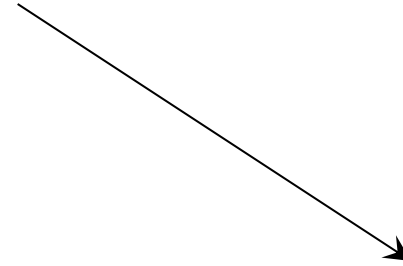
продолжительности культивирования

Способы культивирования животных клеток



**Культивирование в
прикрепленном
состоянии на внутренней
поверхности
культурального сосуда**

**Монослойные
культуры**



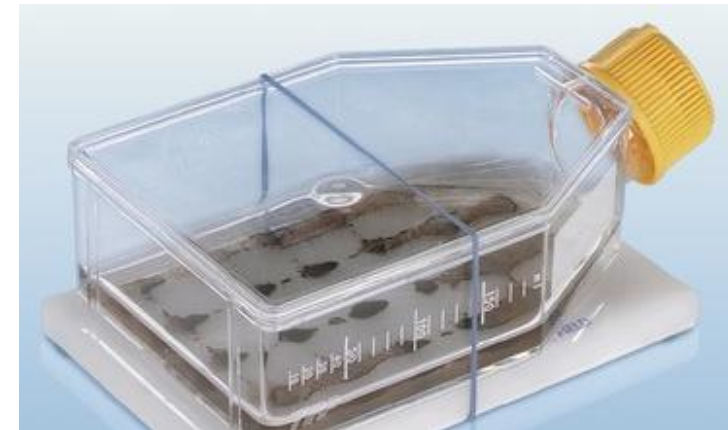
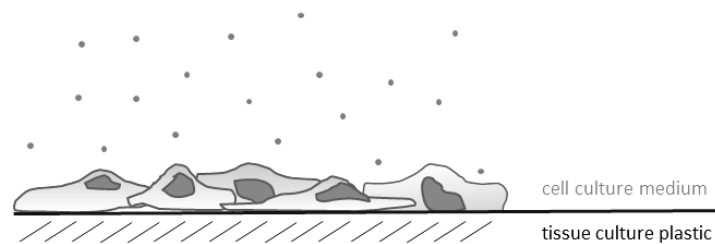
**Глубинное
культивирование**

**Суспензионные
культуры**

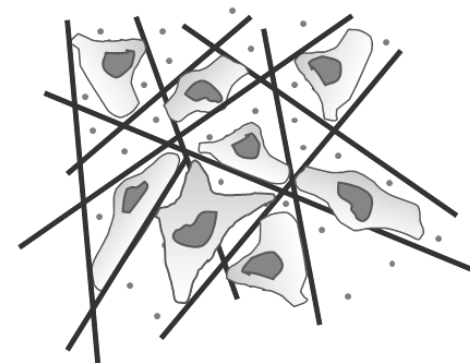
**Монослойные
(опорно-зависимые)
культуры – культуры,
клетки которых
размножаются в
форме монослоя,
прикрепившись к
субстрату**

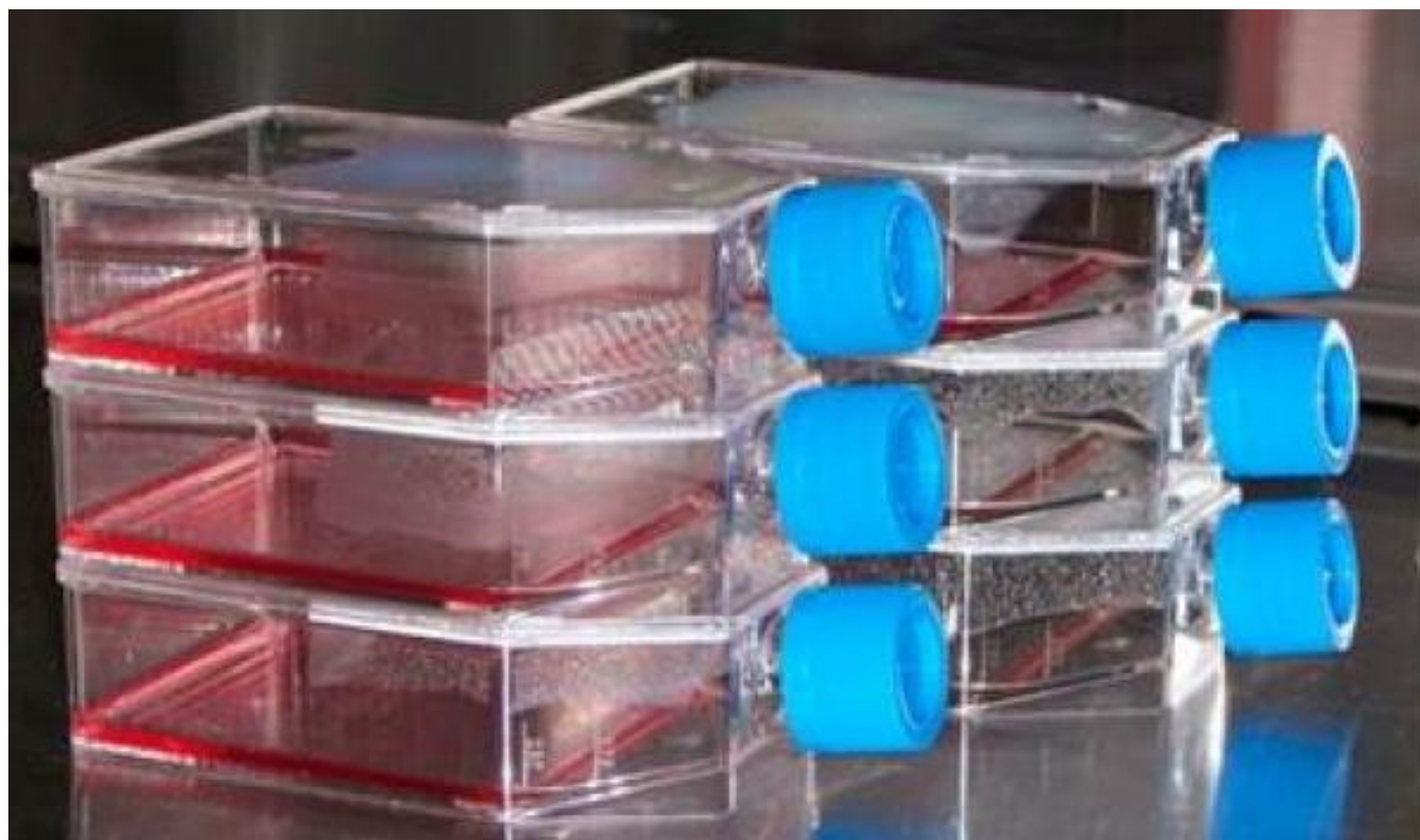
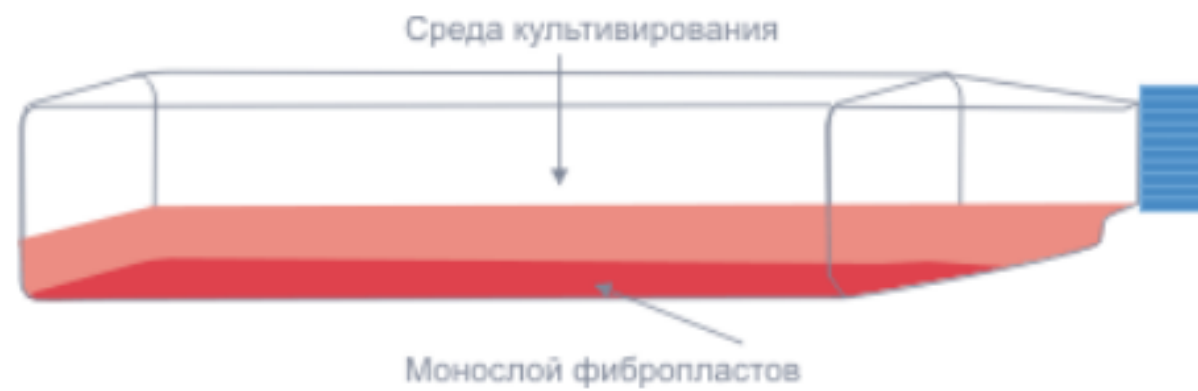


2D monolayer culture



3D culture





В качестве субстрата для опорно-зависимых клеток используют:

Пластик
(полистирол,
поликарбонат,
поливинилхлорид,
тефлон и др.)

Стекло
(пирекс
(алюмоборосиликатное
стекло))

3. Металлы
(нержавеющая сталь,
титан)

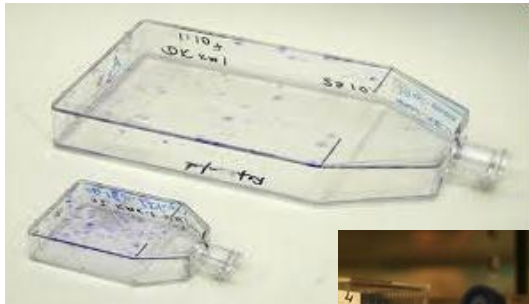
Клетки связываются с субстратом не непосредственно, а с участием **факторов адгезии**

К факторам адгезии относятся белки:

- **фибронектин;**
- **коллаген;**
- **поли-L-лизин;**
- **хондронектин (адгезия хондроцитов);**
- **ламинин (адгезия эпителиальных, нервных клеток)**

Монослойные культуры

Стационарные
культуры, растущие в
неподвижных
культуральных сосудах



Роллерные
культуры, растущие в
сосудах, вращаемых вдоль
своей продольной оси



Площадь,
занимаемая
клетками,
увеличивается
на порядок по
сравнению со
стационарными
культурами

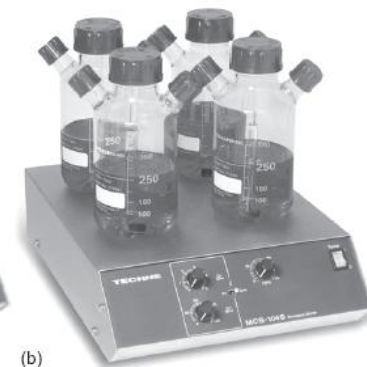
Роллерные культуры (до 700 бутылок в каждой установке, сотни литров) используют для получения противовирусных вакцин и интерферона



Суспензионные культуры – культуры, клетки которых способны расти во взвешенном (суспендированном) состоянии в жидкой питательной среде



(a)



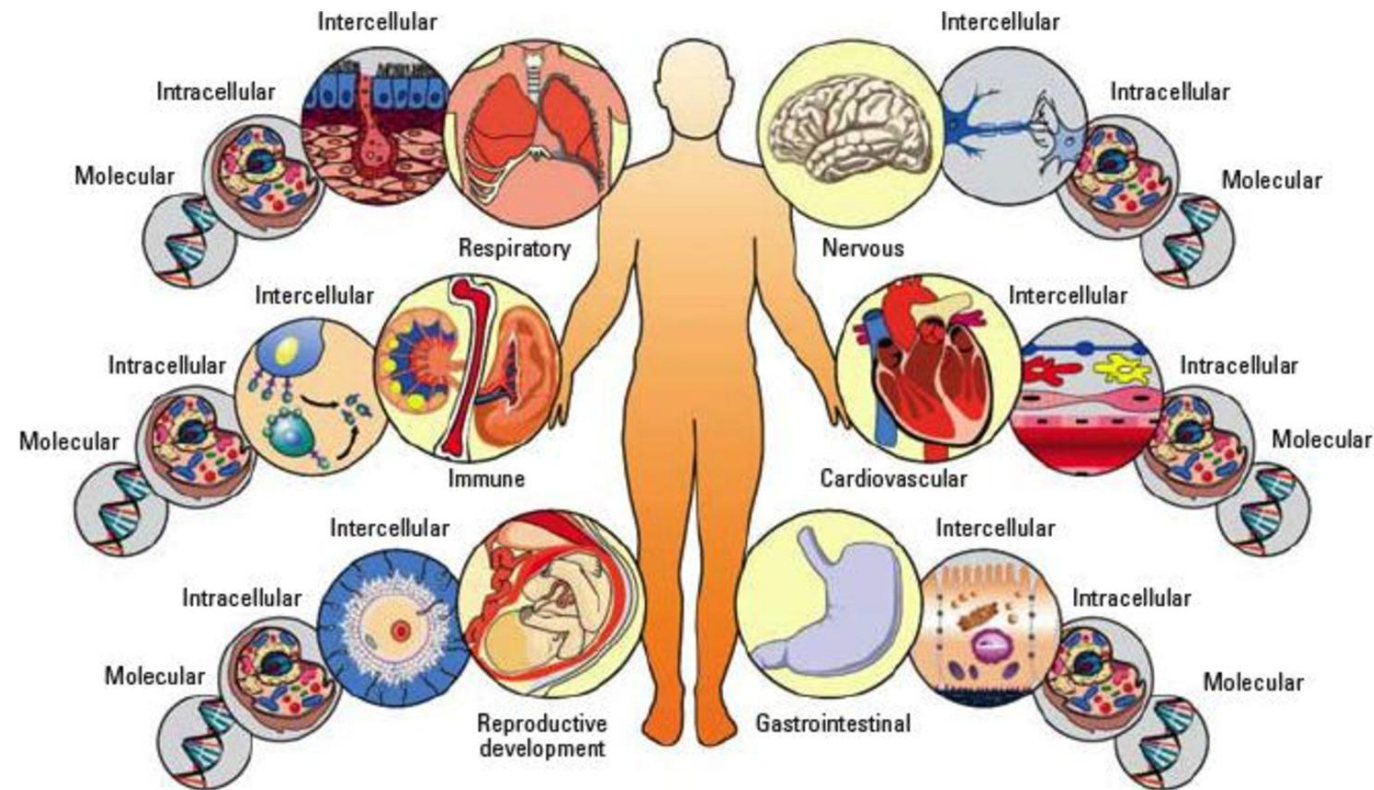
(b)

Преимущества суспензионных культур:

- простота субкультивирования;
- экономия площадей;
- простота сбора клеток

**!Не все типы животных клеток могут расти
в суспендированном состоянии**

Типы культур животных клеток в зависимости от происхождения

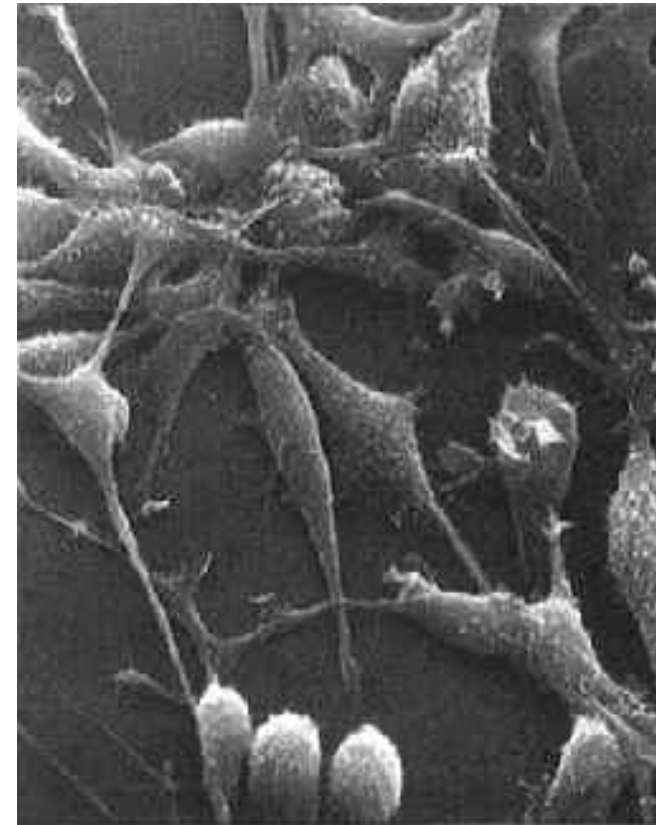


Список типов клеток, которые уже введены в культуру, достаточно велик. Это элементы

- ***соединительной ткани человека (фибробласты),***
- ***скелетные ткани (кость и хрящи),***
- ***скелетные, сердечные и гладкие мышцы,***
- ***эпителиальные ткани (печень, легкие, почки и др.),***
- ***клетки нервной системы,***
- ***эндокринные клетки (надпочечники, гипофиз, клетки островков Лангерганса),***
- ***меланоциты и различные опухолевые клетки.***

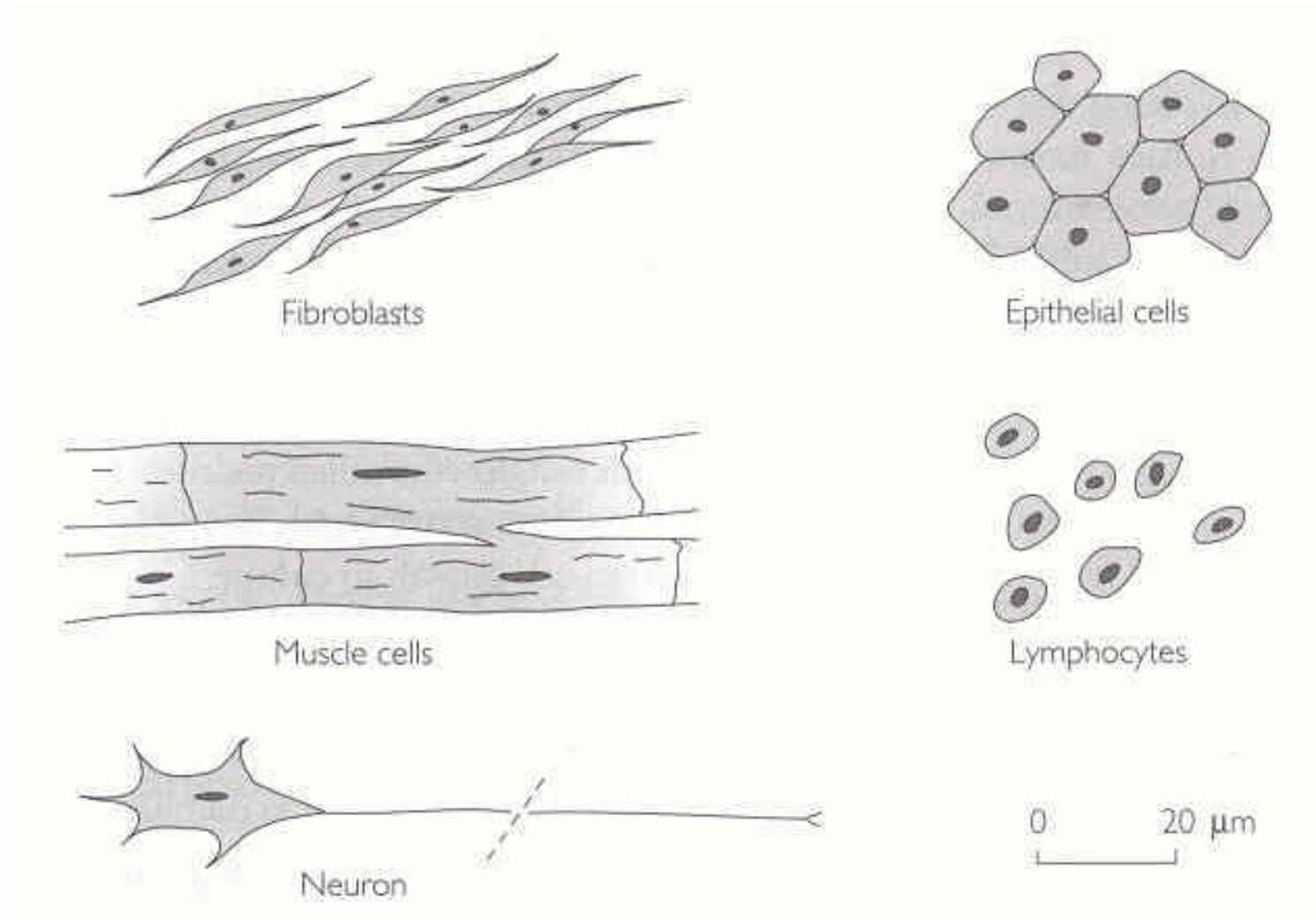
А) в зависимости от типа исходной ткани:

- элементы соединительной ткани
(фибробласты, лимфоциты, клетки хряща и др.);
- мышечные ткани (скелетные, сердечные и гладкие мышцы);
- эпителиальные ткани
(печень, легкие, почки и др.);
- клетки нервной системы;
- эндокринные клетки
(надпочечники, гипофиз и др.);
- опухолевые клетки



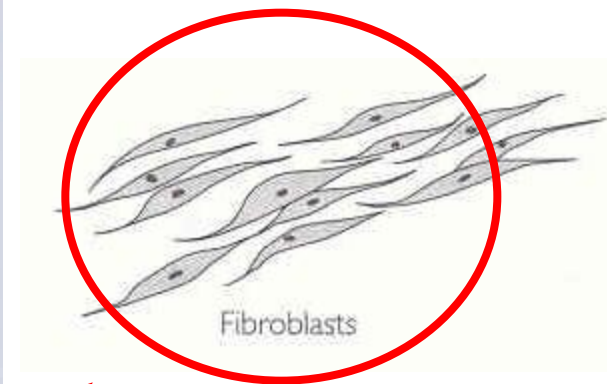
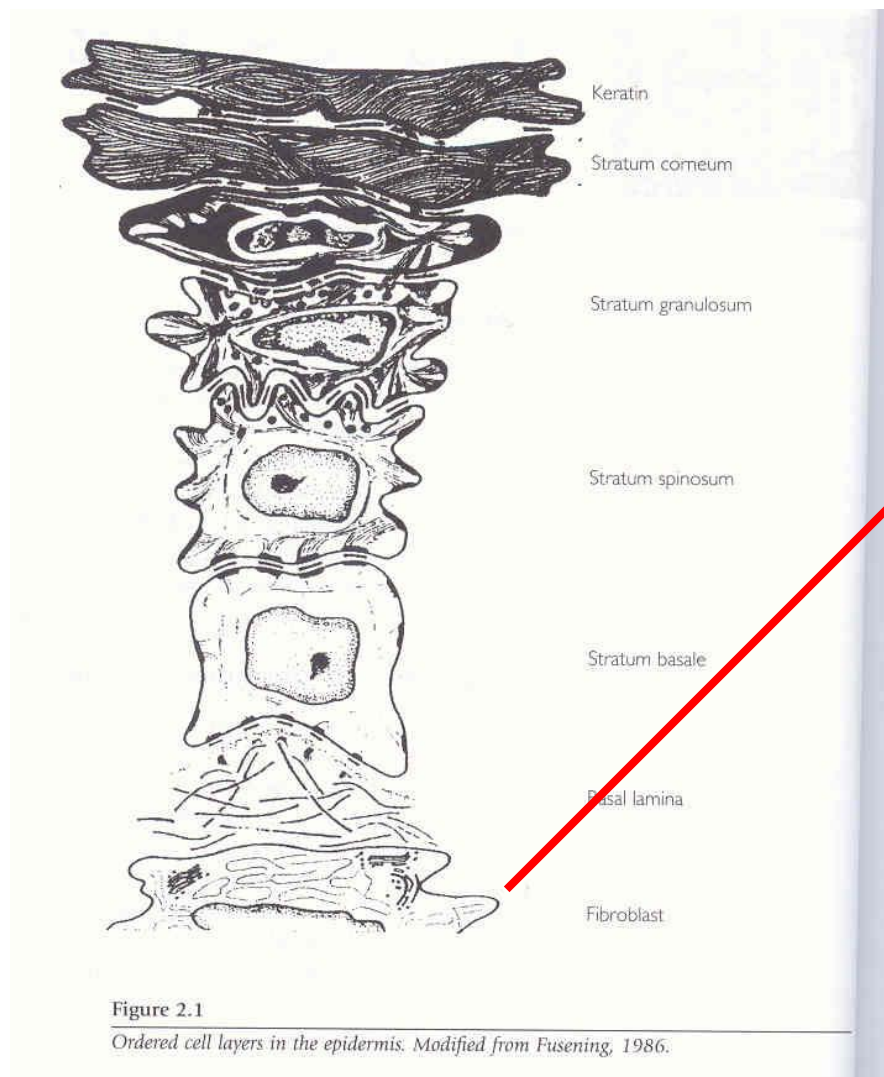
10 µm

© 1995 Scanning

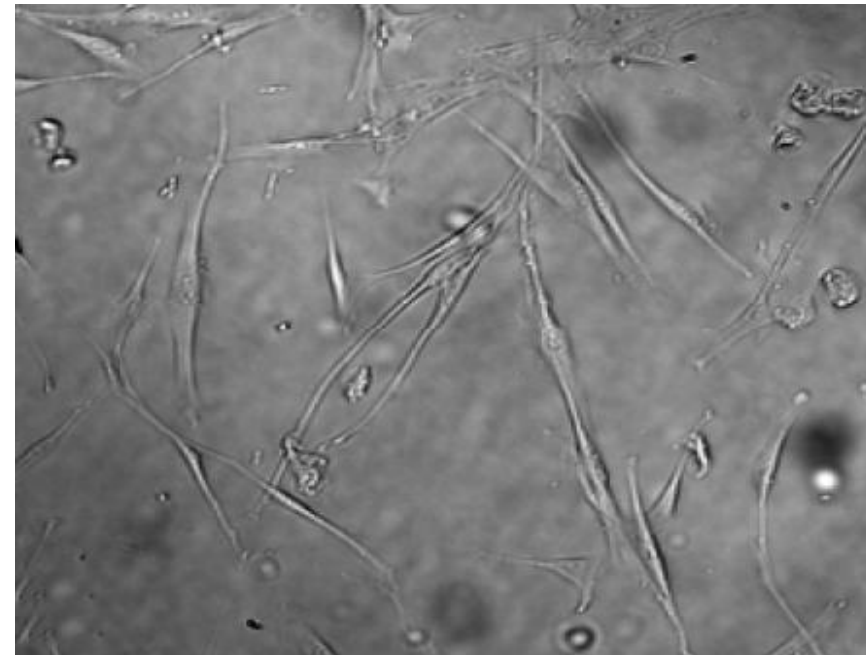


Широко используемые культуры клеток животных:

а – фибробласты; , б – эпителиальные клетки;
с – мышечные клетки; d – лимфоциты; e - нейроны



Фибробласты



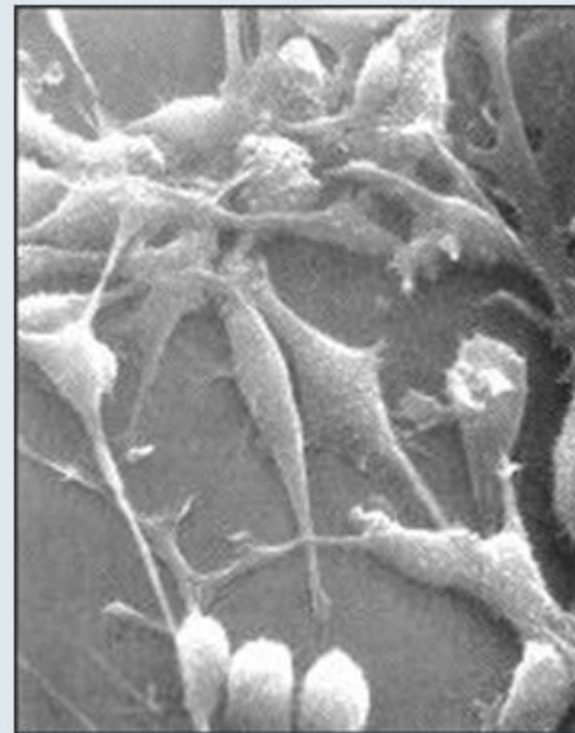
Культура фибробластов
ВНК 21 от сибирского
хомяка впервые была
получена в 1964 г.

Фибробласты

Отличаются легкостью культивирования.

Используются для изучения клеточных, биохимических, молекулярных аспектов патогенеза ряда болезней.

Данные, полученные на культивируемых фибробластах, могут быть перенесены (экстраполированы) на условия *in vivo*.

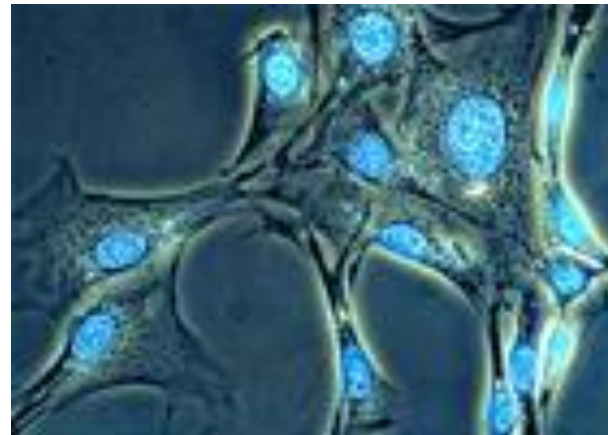


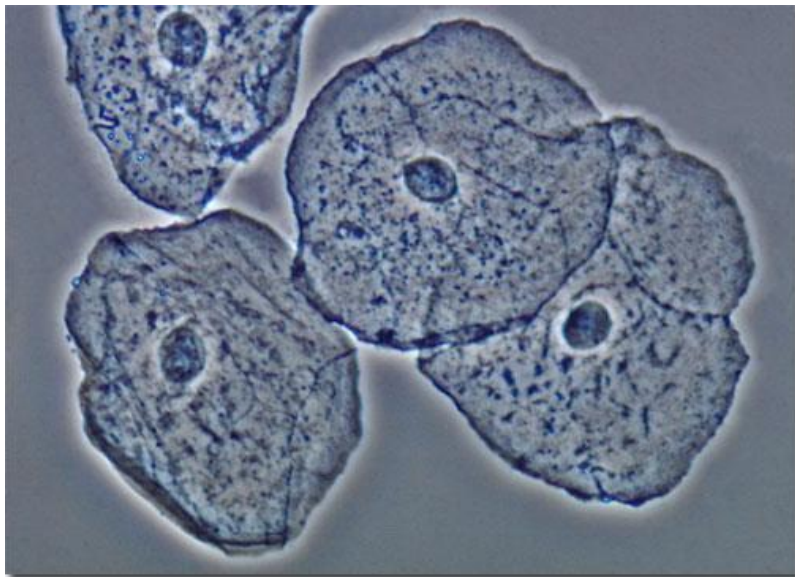
Клетки в культуре:
крысиные фибробласты



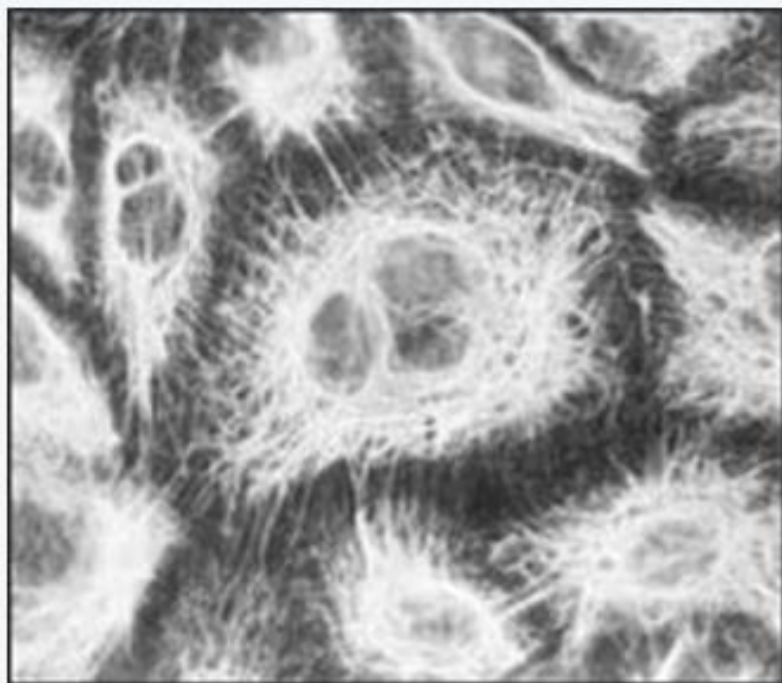
Фибробласты – клетки молодости

**Используются для омоложения в
косметологии, лечения ожогов и
рубцов**

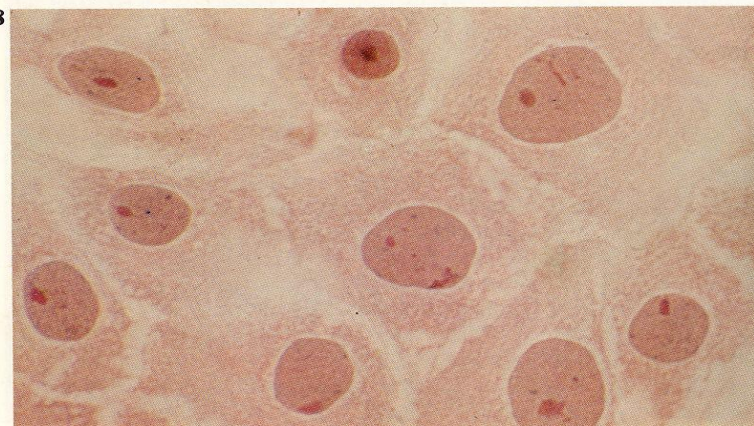




Эпителиальные клетки

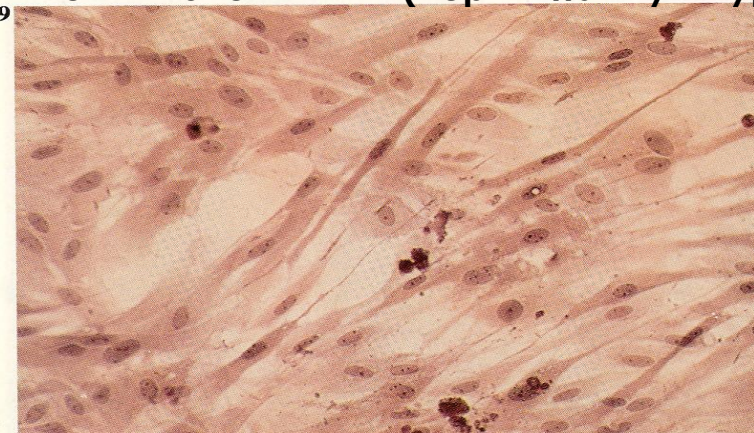


38

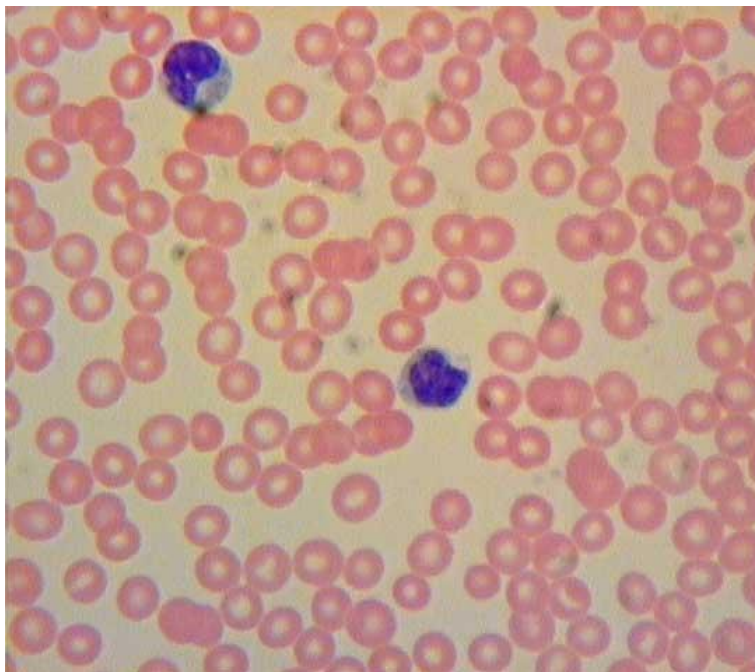


Клетки почек мыши (первичная культура)

39

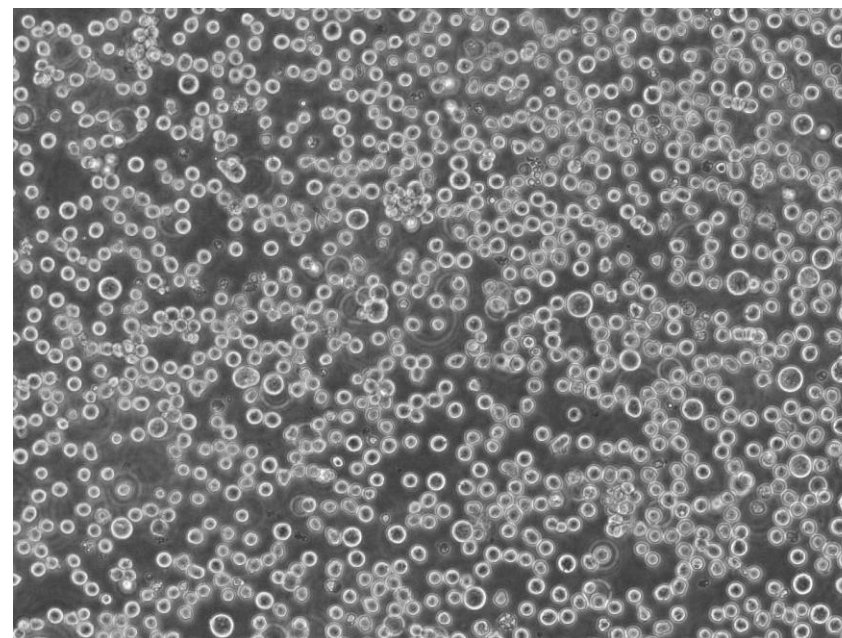


Клетки почек хомяка
(после нескольких субкультивирований)



Лимфоциты

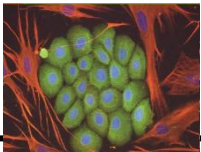
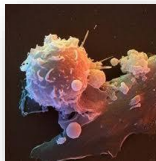
**Могут расти в виде
суспензионной
культуры**



Б) в зависимости от степени специализации ткани (эмбриональная либо взрослая ткань)

Эмбриональные ткани	Взрослые ткани
активный рост, лучшая выживаемость in vitro	низкая пролиферативная способность

В) в зависимости от физиологического состояния (нормальная либо опухолевая ткани)

Нормальные ткани	Опухолевые ткани
дают начало культурам с ограниченным временем жизни 	способны пролиферировать неограниченно долгое время 

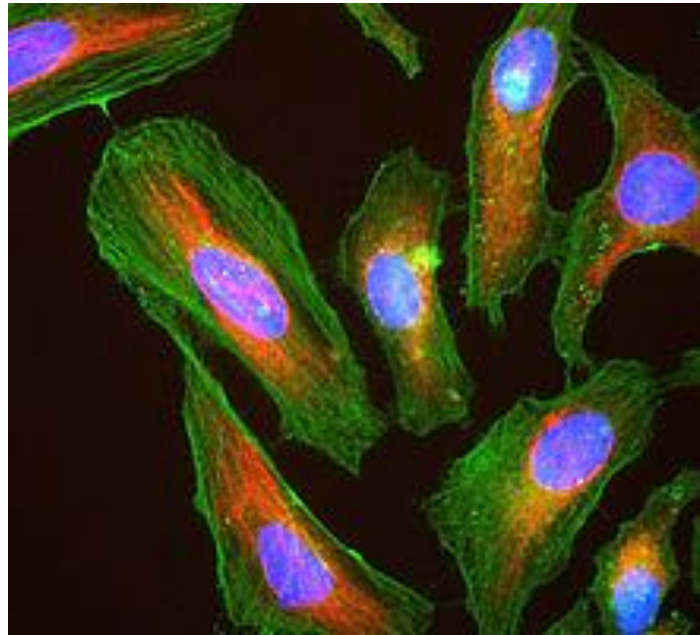
Примеры клеточных линий

- **HeLa** — эпителиальные клетки шейки матки.
- **CНО** — клетки яичников китайского хомячка (используются для производства белков).
- **Vero** — клетки почек зелёной мартышки (вакцины).
- **NIH 3T3** — фибробласты мыши.

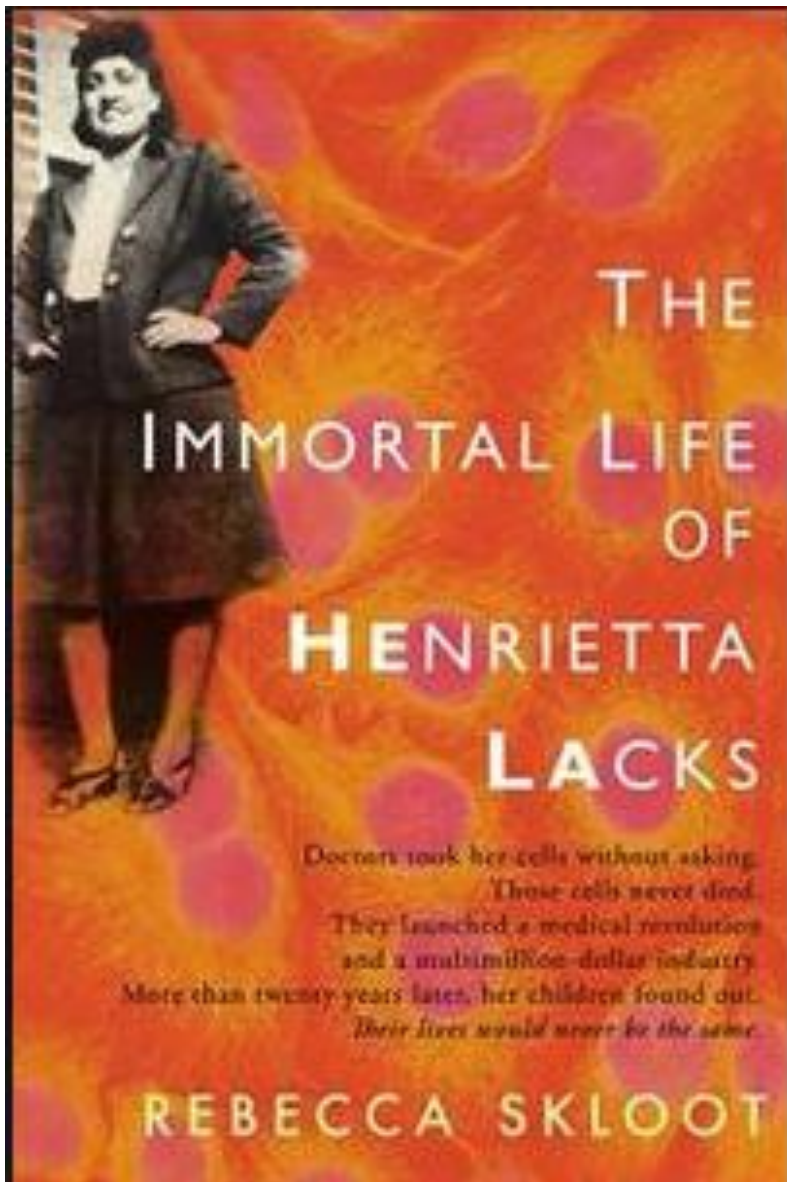
HeLa

Одна из первых и наиболее широко используемых культур опухолевых клеток человека

- **8 января 1951 г.: выделена из раковой опухоли шейки матки (Henrietta Lacks (1920-1951))**



Henrietta Lacks (circa 1945)



Опубликовано более чем 60,000 научных статей с использованием клеток HeLa. Интенсивно используется для исследования раковых заболеваний.

Клетки HeLa называют **«бессмертными»**, они способны делиться бесконечное число раз, в отличие от обычных клеток.

Были заражены геномом вируса папилломы, от которого умерла женщина. Обладают аномальным кариотипом: различные сублинии HeLa имеют 49 — 78 хромосом.

Recent National (US) Bestseller story about Henrietta Lacks

Применение

- Производство вакцин и моноклональных антител.
- Тестирование лекарств и токсикологические исследования.
- Генетическая инженерия и клонирование.
- Регенеративная медицина и тканевая инженерия.

