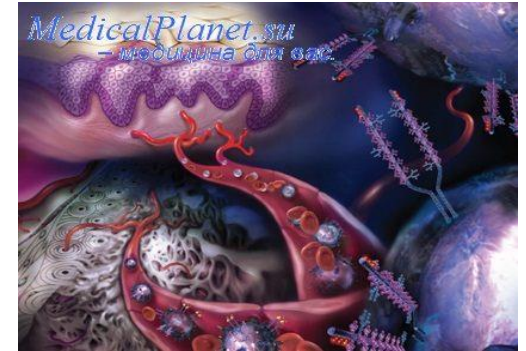


# Тақырып

- **Жануарлар клеткалар культураларын өсіру**



## ЖОСПАР:

- **Жануарлар клеткаларын культураға ендіру**
- **Жануар клеткаларын өсіру жүйелері**
- **Моноқабатты культуралардың ерекшеліктері мен артықшылықтары**

- **Клеткалық жүйелер:**

- адамның дәнекер ұлпалары (фибробласттар),
- қаңқа ұлпалары (сүйек және шеміршек),
- жүрек ұлпалары, тегіс бұлшықет ұлпасы
- эпителиалды ұлпалар (бауыр, өкпе, бүйрек т.б.),
- жүйке клеткалары,
- эндокринді ұлпалар, меланоциттер,
- көптеген ісік клеткалары.

- Клеткалар популяциясы барлық жағдайда гомогенді болмайды және белгілі бір фенотипке ие болады.

- Кейбір культуралар, мысалы эпидермистің кератиноциттер культурасында бағаналы клеткалар болады, осындай культурада клеткалар үздіксіз жаңару, пролиферация, клеткалардың ізашарлары, қайтымсыз дифференциацияға ұшырайды.

# Клеткаларды культураға ендіру

Клетка культурасы	Мүшелер мен ұлпалар културасы
Ұйымдастырылу құрылымы жоқ	Ұйымдастырылу құрылымы бар
Гистиотипті архитектура жойылған	Гистиотипті архитектура бар
Биохимиялық процестер <i>in vivo</i> дан өзгеше	Биохимиялық процестер <i>in vivo</i> жағдайына жақын
Динамикалық қасиеттерін бақылау жоқ	Динамикалық қасиеттер бақыланады
<i>In vitro</i> - да Клеткалық өзара байланысты реконструкциялау мүмкіндігі жоқ	<i>In vitro</i> - да Клеткалық өзара байланысты реконструкциялау мүмкіндігі бар
Гомогенділік болмайды, клеткалардың ізашарлары мен бағаналы клеткалар болуы мүмкін	Ұлпа культураларының гомогенділігі

➤ Клетка культуралары: алғашқы және тұрақты деп бөлінеді.

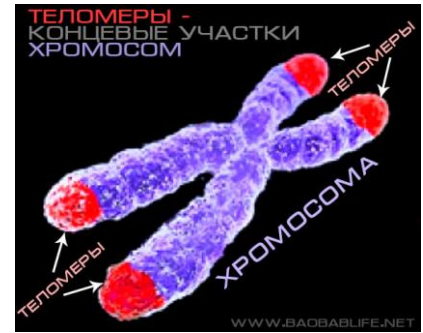
***Тұрақты культураның морфофизиологиялық ерекшеліктері:***

1. Клеткалар майдаланады
  2. Клеткалардың адгезиялық қасиеті төмендейді
  3. Дөңгелектенуі
  4. Ядролық цитоплазмалық қатынас жоғарылайды
  5. Клеткалардың екі еселену уақыты төмендейді  
(3 сағаттан 12 сағатқа дейін), клеткалар өсу жылдамдығы артады
1. Сарысуға тәуелділік төмендейді
  2. Клондау тиімділігі артады
  3. Субстратқа тәуелділігі төмендейді
  4. Гетероплоидтылық пен анеуплоидтылық артады

# Клетка культураларының биологиясы

## ➤ *In vitro* жағдайында өсірілетін клеткалар культуралары

Сомалық клеткалардың генерациясы -50,  
өсіру мерзімінде қысқарады (Хейфлик және Мухерд)  
Алғашқы культурада клеткалар саны- $10^{22}$   
Ересек сомалық клеткалар генерациясы -20



## ➤ *Хейфлик шектеуі*

Хромосома ұштарындағы **ДНҚ теломерлік участкілерінің** қысқаруымен байланысты

**ДНҚ полимераза** - ДНҚ молекуласының ұштарын репликациялауға қабілетсіз болады

Теломераза жойылғанда **апоптоз** бағдарламасы қосылады

Бастапқы клеткалардың бөліну кезінде диплоидты клеткалар **анеуплоидтыға** айналады

➤ Тірі қалған жағдайда **клеткалық штамм** қалыптасады, олар (**анеуплоидті кариотипке байланысты**) спецификалық қасиетке ие, өміршеңдігі ұзақ, көбеюге қабілетті болады.

➤ ***In vitro* –да клетка культураларын өсіру ерекшеліктері**

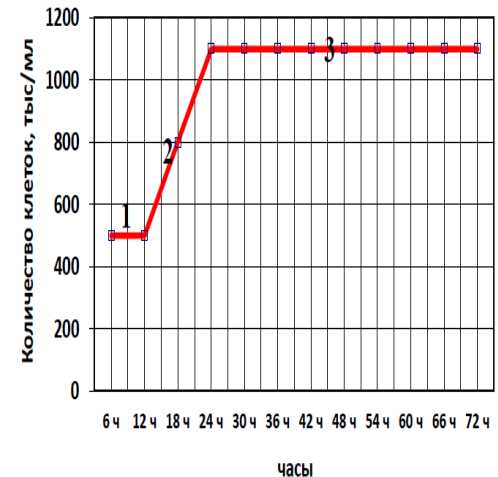
1. Жануарлардың (сүт қоректілер) клеткалары белгілі бір **субстратқа бекініп** өседі.

Субстрат ретінде (**коллаген, желатин, денатурацияланған коллаген, шыны, пластик**).

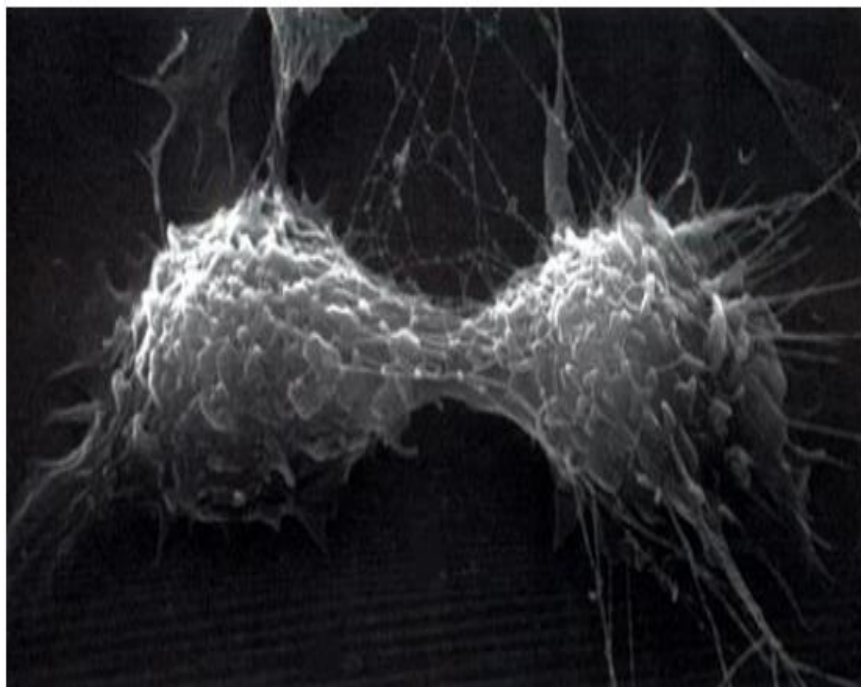
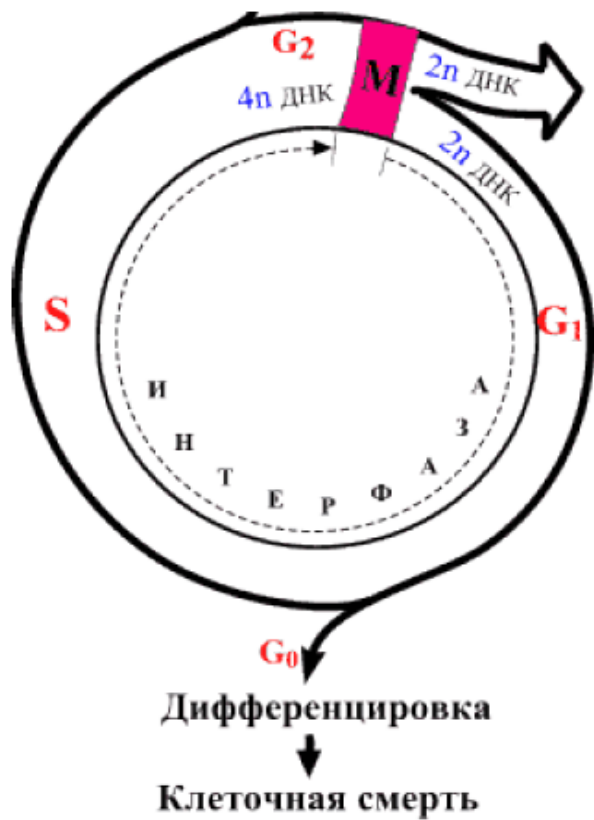
Субстраттардан клетка культураларын ажыратқан жағдайда өсу мен көбею тоқталады, суспензиялы культураның жедел дегенерациясы орын алады.

2. **Культурадағы клеткалардың бөлінуі**  
**24 – сағатта 1 –рет орын алады.**

**Лимиттеуші фактор** немесе **өсу ауданы кемігенде** өсу қарқыны стационар фазасына ауысады



- 3. Клетка циклі



4. **Клеткалардың бөліну жылдамдығын бақылау арқылы клеткалық популяциялардың тығыздығы тұрақтандырылады.**

❖ Эпителиалды клеткаларды немесе фибробласттарды культуралық флакондарға өсіргенде, клеткалар жайылып, өзара байланысып моноқабат түзе өседі.

5. Культурада бөлінетін клеткалар өсу барысында контактты тежелуден өтеді. Яғни бөлінетін аудан толық моноқабатпен толтырылғанда, клеткалардың бөлінуі тоқталады, бұл **адгезиялық байланыстар** нәтижесінде орын алады.

Адгезиялық байланыстар клеткалардың үстінгі қабаттарындағы рецепторлар комплекстерінің қалыптасуымен байланысты.

Клетка мембраналарында адгезия рецепторлары

**(гликопротеиндер комплексі)** болады. Негізгі өкілі **фибронектин**.



**Фибронектин** - **Gig** (Cold insoluble globulin- суықта ерімейтін глобулин) және **SP** (Cell surface protein – беттік глобулин).

**Фибронектин** (Mr 220 000) - клетканың үстіңгі қабатында клетка мембранасы мен цитоқаңқаны байланыстыратын қозғалмайтын **фибрилярлық тор** құрады.

Митоздық клеткаларда фибронектин болмайды.

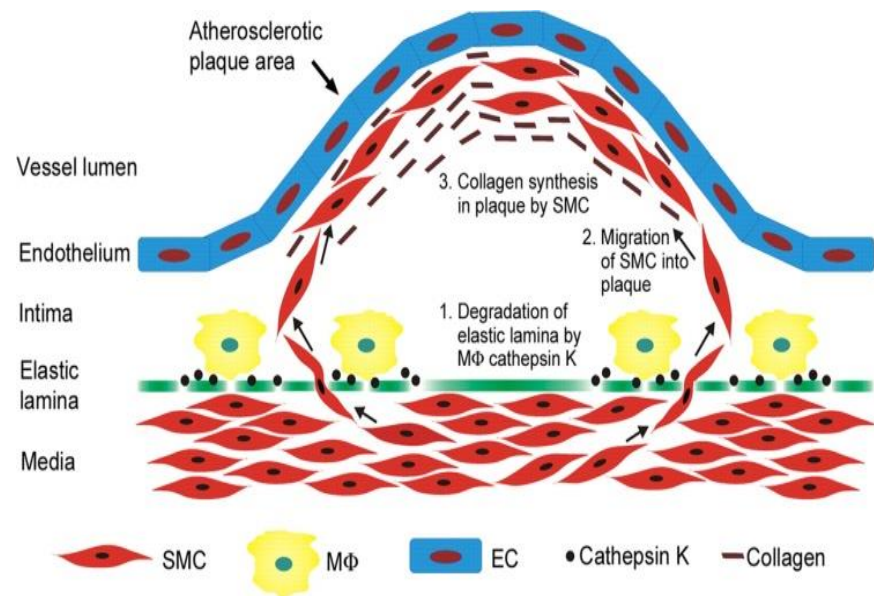
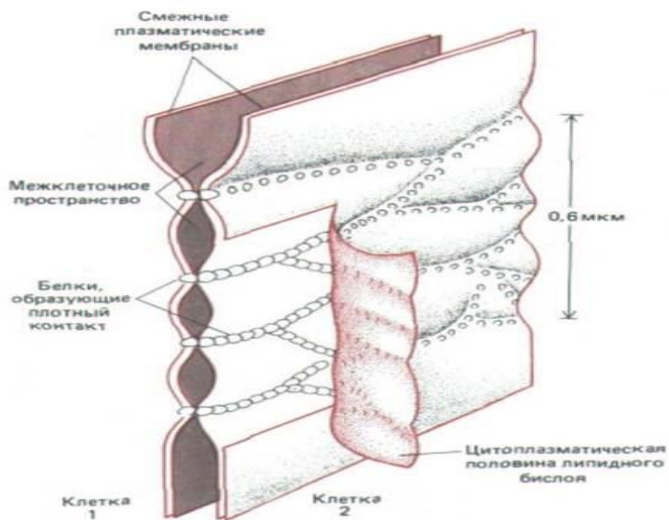
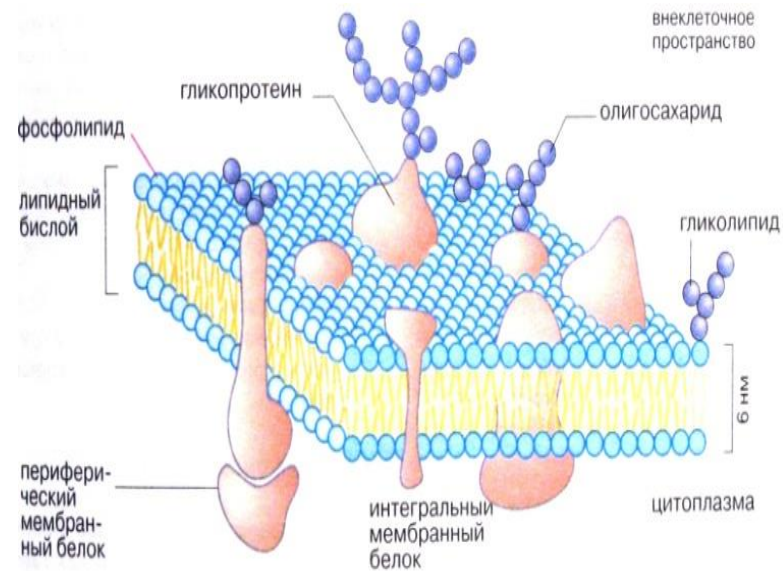
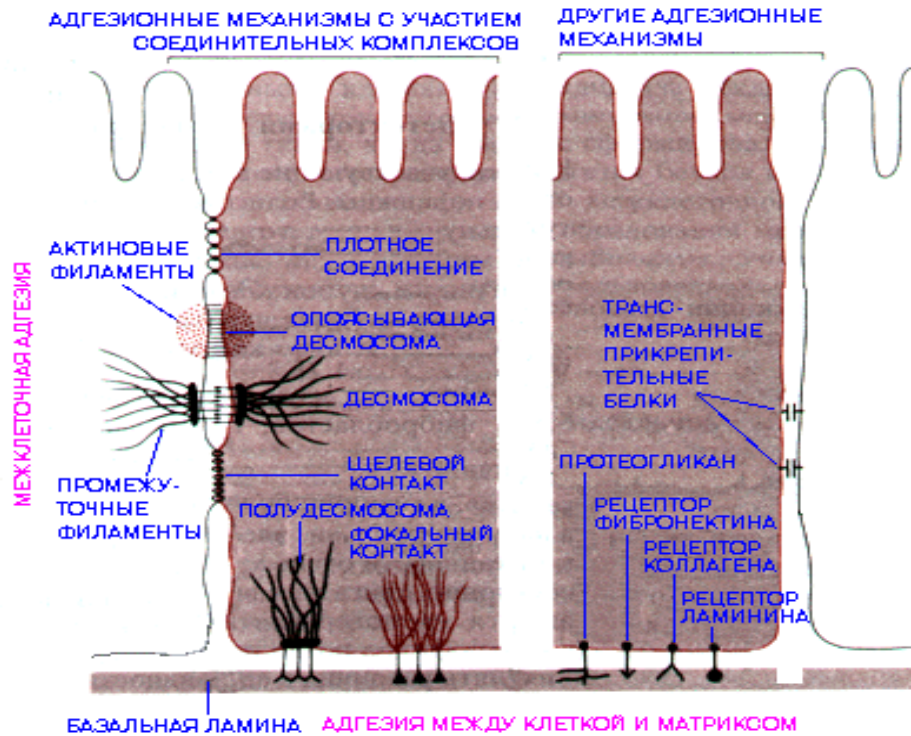
Көршілес клеткалардың гликопротеиндік комплекстері өзара жанасқанда адгезия бляшкалары қалыптасады.

**Адгезиялық бляшкалар** түрлі белоктар, негізінен цитоқаңқаның негізіндегі белоктарын бөле бастайды.

Түзілген цитоқаңқа белоктары мембарнаға қаланып, оның аққыштығын төмендетеді, клеткалар дөңгелектене алмай қалады. Сол бағытта клеткалардың қозғалысын шектейді.

**Контактты тежеу** орын алады моноқабат қалыптасу аяқталғанда барлық клеткалардың қозғалысы тоқталады. Пролиферация тоқталады.

Моноқабатт зақымдаған жағдайда ДНҚ синтезінің стимуляциясы орын алып, клетка бөлініп, жыртылған орын қайта жабылады.





6. Культуралық клеткалар популяцияларының тығыздығы өсу факторынан тәуелді. Әр клеткада 80-150 жуық өсу факторын танитын рецепторлар болады. Клеткалар өсу факторларын сіңіру эндоцитоз арқылы жүзеге асырады.

Клеткалар арасында өсу факторына деген өзара бәсекелестік орнайды.

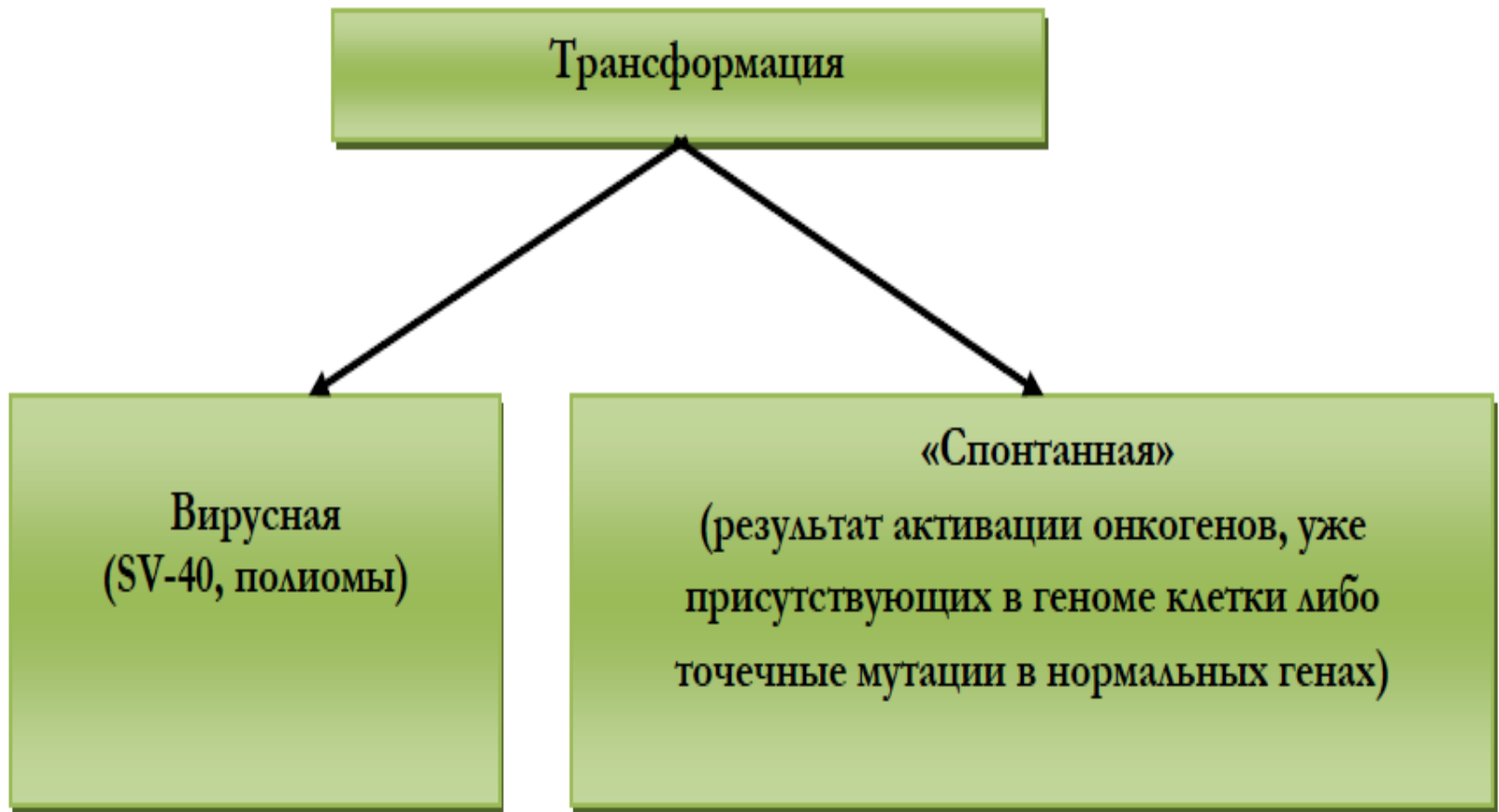
Қоректік ортада **өсу факторы** өте мардымсыз мөлшерде -  $10^{-9}$ - $10^{-10}$  М болады

➤ Клеткаларды культурада өсіру барысында трансформация орын алуы мүмкін.

❖ **Трансформация** – қайтымсыз процесс, генетикалық өзгерістер жиынтығы орын алады.

• ***Себептері:***

1. Клетка циклінің қысқаруы (36 – сағаттан 12 сағатқа дейін),
2. Клетканың сарысуға тәуелділігі төмендеуі,
3. Субстраттың сапасына деген таңдағыштығы төмендеуі,
4. Ісік туу потенциясының артуы,
5. Морфологиялық өзгерістер (майдалануы немесе іріленуі, ядроның ұлғаюы)



Клеткалардың трансформациялану себептері

# Қоректік орталар және өсіру жағдайлары

1

- **Сұйық қоректік орта**, оның негізін тұздар ерітінділері, арнайы минералды заттар құрамы таңдалады (ортаның қышқылдық және сілтілік балансын сақтайды, рН тұрақтандырады және буферлік көлем сақталады).
- Ортаның минералды негізіне плазма немесе қан сарысуы, ұлпа экстракттары, антибиотиктер, өсу факторлары т.б қосылады

2

- **Газ тәрізді орта** құрамында белгілі бір газдардың проценттік мөлшері, температура мен ылғалдылық қатаң сақталады.

3

- **Қатты субстрат** қоректік ортаның негізгі беткі фазасы. Әр түрлі клеткалық линиялар қасиеттеріне қарай субстраттар жеке таңдалады.

## Жануарлар клеткаларын өсіруге арналған негізгі қоректік орталар

Қоректік орта атауы	Қолдану аясы	Қоректік орта құрамы
Игла MEM (minimal essential medium) және Игла BME	Стандартты орталар, клеткаларды культураға ендіру үшін қолданылады	Орта негізі : Эрл ерітіндісі, минералды заттар, алмаспайтын амин қышқылдары, суда еритін витаминдер, холин, инозит. сарысу міндетті түрде қосылады, витамин В 12, Fe иондары қосылады, биотин болмайды.
Дульбеко ортасы ДМЕ немесе ДМЕМ	Әр түрлі клеткаларды өсіруге қолданылады, трансформацияланбаған клеткалар мен гибридомаларды өсіреді, Сарысусыз өсіретін орта негізі болып табылады	Аминқышқылдардың , концентрациясы екі еселенген, глицин, серин, пируват, темір. 10% CO2 бар инкубатор қажет

Қоректік орта атауы	Қолдану аясы	Қоректік орта құрамы
Исков ортасы ІМДМ (Дульбеко ортасының модификациясы)	Лимфоциттер мен қан түзуші клеткаларға қолданылады	Сарысусыз орта, алмаспайтын аминқышқылдар, биотин, витамин В12, натрий селенит қосылған. Ортаға HEPES қосылған, NaCl мен NaHCO <sub>3</sub> концентрациялары азайтылған
МакКой 5A ртасы	Уилкер 256 - карцинома клеткаларын өсіруге арналған , сарысу қосылған және басқа да алғашқы культуралар қатысында өсіруге арналған	Қорек заттардың спекторы кең
RPMI ортасы	Сарысу қосылған орта, лейкоциттерді және гибридомаларды өсіруге арналған	Қоректік заттардың спекторы кең, концентрациялары төмен, феталды сарысу 5-20% қосылады
199 ортасы	Балапан эмбрионынан жүрек фрагменттерін өсіруге арналған	Гормондық факторлар және клеткалардың жабысып, жайылуына қажетті факторлар болады,
Сарысу	Қоректік орталарға қоспа ретінде қолданылады	Гормондық факторлар және клеткалардың жабысып, жайылуына қажетті факторлар болады,



# Клетка культураларын өсіру жүйелері

Жануарлар клеткаларын өсіру

Ағынсыз культура

Ағынды культура

Моноқабат культурасы

суспензия

Колле шынысы немесе түбіне клеткалар салынатын тегіс флакон

Айналмалы сосудтар (клеткалар қабырғаларында және түбінде өседі )

Микротасымалдағыштары бар колонкалар

## Клеткалық культураларды өсіру жүйелерінің ерекшеліктері

Ағынсыз жүйе	Ағынды жүйе
Бастапқы қоректік орта құрамы мен көлемі өзгеріссіз қалады	Қоректік орта үздіксіз жаңартылып отырады
Қорек нәрі сарқылады және метаболиттер жинақталады	<b>Гомеостатикалық жағдай</b> сақталады
Қоректік ортаны жаңарту қажет болғандықтан, <b>клеткалық метаболизмде ауытқулар</b> орын алады	Қоректік заттар мен метаболиттер концентрациясы тұрақты деңгейде болады, ол қоректік орта үздіксіз жаңартылуы мен метаболиттік өнімдердің үздіксіз тазартылуынан орын алады
Қоректік орта нәрі сарқылған соң, клеткалардың пролиферациясы тежеледі	Ұзақ уақыт өміршеңдігі сақталады

➤ ***Клеткаларды моноқабатты культурада өсіру ерекшеліктері:***

1. Клеткалар өзара тыңыз клеткалық байланыста болады, бір қабаттың бойында орналасады;
2. Кез келген клетка типіне қолданылады;
3. Өсіру ауданында клеткалардың тығыздығы жоғары болады;
4. Клеткалар субстратқа берік байланысқан болғандықтан, қоректік ортаны жуу мен алмастыру оңай;
5. Вирустарды өсіруде тиімді, вирустардың клетка аралық байланыстар арқылы таралуына оңтайлы әдіс
6. **Кемшілігі.** Қоректір орта рН, O<sub>2</sub> концентрациясын анықтау қиын, үлкен ауданды талап етеді, клеткаларды сұрыптау қиындығы

➤ **Суспензия культурасы**

1. Клеткалар суспензияда кіші агрегаттар ретінде қалқып өседі
2. Клеткалардың ұлпадан бөліну дәрежесі жоғары