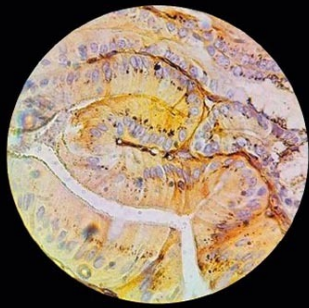
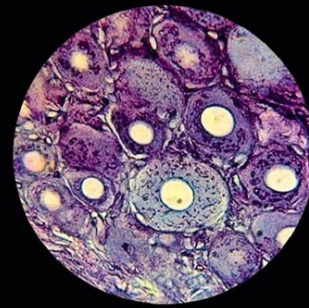
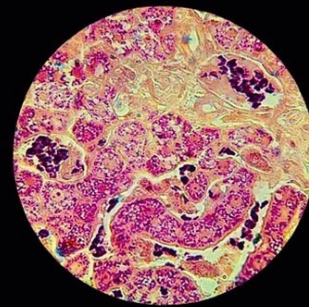
Начальные методы клеточной биологии

Учебно-методическое пособие



Евгений Николаевич Князев
Дмитрий Александрович Скворцов
Надежда Викторовна Антипова
Рита Валерьевна Черткова

Начальные методы клеточной биологии

Текст предоставлен правообладателем
http://www.litres.ru/pages/biblio_book/?art=73782053
Начальные методы клеточной биологии. Учебно-методическое пособие для курса «Клеточная биология: основы биопроцессов» / Н. В. Антипова, Р. В. Черткова, Е. Н. Князев, Д. А. Скворцов: Изд. дом Высшей школы экономики; Москва; 2026
ISBN 978-5-7598-4337-5, 978-5-7598-4463-1

Аннотация

Учебно-методическое пособие по проведению практических занятий в рамках дисциплины «Клеточная биология: основы биопроцессов» знакомит с основными понятиями и определениями, необходимыми для работы с клеточными культурами. Практическая часть посвящена проведению лабораторных работ и содержит информацию о материалах, оборудовании и методах работы с клеточными культурами, в том числе в стерильных условиях.

Издание предназначено для студентов и преподавателей факультета биологии и биотехнологии НИУ ВШЭ, а также профильных факультетов других вузов.

В формате PDF A4 сохранен издательский макет книги.

Содержание

Предисловие 6
Введение 8
Основные понятия работы с культурами эукариотических клеток многоклеточных организмов 8
Основные принципы культивирования клеток 16
Подготовка питательной среды 18
Подготовка клеточного субстрата 20
Создание оптимальных условий инкубации 22
Стерильность при работе с клеточными культурами 26
Конец ознакомительного фрагмента. 32

Н. В. Антипова, Р. В. Черткова, Е. Н. Князев, Д. А. Скворцов
Начальные методы клеточной биологии

© Антипова Н.В., Черткова Р.В., Князев Е.Н., Скворцов Д.А., 2026

Предисловие

Клеточная биология – раздел биологии, в котором изучают строение и жизнедеятельность клеток живых организмов, процессы клеточного размножения, старения и смерти. Настоящая методическая разработка предназначена для преподавателей и учебных ассистентов дисциплины «Клеточная биология: основы биопроцессов», для студентов направления подготовки «06.03.01 Биология», обучающихся по образовательной программе «Клеточная и молекулярная биотехнология» НИУ ВШЭ, а также для всех интересующихся биологией.

Пособие позволяет студентам получить начальные знания и навыки работы с культурами клеток, изучить методы хранения и культивирования клеточных культур. Также учащиеся ознакомятся с использованием клеток в научных исследованиях. Студенты приобретают навыки работы в стерильном помещении; в ходе лабораторных работ узнают о реактивах и посуде, необходимых для культивирования клеток, составляют полную питательную среду и выращивают на ней клетки. При выполнении практикума знакомятся с методами исследования функционального состояния клетки: окрашивают клетки прижизненными красителями и изучают фиксированные образцы, проводят тесты на цитотоксичность веществ и подвижность клеток.

По завершении лекционного и практического разделов курса студент:

• культивирует бактерии, работает в стерильных условиях;

• проводит определение титра бактерий и оценку их чувствительности к антибиотикам;

• культивирует дрожжи, объясняет разницу чувствительности дрожжей и бактерий к антибиотикам;

• культивирует клеточные линии млекопитающих, наблюдает за ними и проводит прижизненное окрашивание;

• проводит функциональные тесты с клетками млекопитающих (скретч-тест и анализ цитотоксичности);

• объясняет и иллюстрирует организацию хромосом в клетке; может объяснить, как устроено клеточное ядро и основные субъядерные структуры;

• распознает органеллы клетки, описывает их функции и протекающие в них процессы, а также структуру и функции клеточных органелл;

• наблюдает в микроскоп деление эукариотической клетки, распознает основные признаки фаз клеточного деления.

Введение

Основные понятия работы с культурами эукариотических клеток многоклеточных организмов

Эукариотические клетки человек культивирует уже несколько тысячелетий, пример тому – дрожжи, которые по сей день используют для выпечки хлеба и в пивоварении. В XX в. ученые начали разработку методов культивации клеток многоклеточных организмов, включая клетки млекопитающих. Благодаря созданию искусственных питательных сред и выращиванию клеток вне организма появилась возможность исследовать клеточную и молекулярную биологию человека. На сегодняшний день существуют тысячи клеточных линий различного происхождения и различные методы их культивирования, что позволяет изучать как внутриклеточные процессы, так и межклеточные взаимодействия.

Клеточные культуры эукариотических организмов получают непосредственно из тканей. Разрушение ткани можно производить как механически, так и с использованием ферментов, или комбинируя оба метода. Для ферментативной обработки чаще всего используют трипсин в комбинации с

другими ферментами, в частности, коллагеназой или эластазой. При этом происходит разрушение внеклеточного матрикса, поддерживающего сложную организацию ткани, и высвобождаются отдельные клетки.

Клетки, изолированные из ткани, которые начинают делиться в искусственных условиях, называют *первичной* клеточной культурой. Она может содержать все типы клеток исходной ткани. В зависимости от условий культивирования первичная культура либо остается разнородной, тогда в ее составе будет присутствовать большинство типов клеток исходной ткани, либо становится однородной. Такая однородность, как правило, возникает при перерождении клеток, и ее можно объяснить увеличением скорости деления одного типа клеток по сравнению с другими. Возможно также отмирание большей части клеток исходной ткани при сохранении пролиферации у определенной популяции клеток.

По способу культивации выделяют *суспензионные* культуры (клетки растут в виде взвеси в питательной среде) и *адгезионные* (клетки растут прикрепленными к специально обработанной поверхности). Возможно выращивать клетки и в трехмерных структурах. Так, когда клетки выращивают в условиях адгезии друг к другу, при делении они собираются в сфероиды, причем клетки на поверхности и в объеме могут различаться по свойствам. В *гистотипической* культуре трехмерная структура формируется из одного типа клеток. Культура, формирующая структуру из разных клеточных по-

пуляций, называется *органотипической*.

Когда адгезионные клетки, выделенные из ткани, при делении займут всю доступную поверхность сосуда, их необходимо перенести в емкость со свободной поверхностью, где они продолжат деление. С этого момента клетки становятся культивируемой клеточной линией. Перенос культуры в новые культуральные флаконы и смена ростовой среды на новую называется *субкультивированием* или *пересевом.* При пересеве часть клеток погибает, а клетки, делящиеся быстрее, накапливаются. В результате субкультивирования можно получить и в дальнейшем охарактеризовать новую клеточную линию.

Наращивание биомассы предполагает субкультивирование клеточной линии, т. е. регулярный пересев в новый флакон при достижении определенной концентрации клеток и/или истощении среды. Каждый перенос клеток из одного флакона в новый называется *пассаж.*

Клеточная линия – это совокупность клеток, полученная из первичной культуры путем увеличения количества клеток после нескольких генераций с преобладанием клеток или линий дифференцировки с высоким темпом роста и высокой однородностью клеточной популяции [Фрешни, 2010].

Клеточные линии получают из различных тканей. Исходными могут быть дифференцированные клетки, которые при культивировании можно стабильно поддерживать в культуре. Возможно также запустить процесс дедиффе-

ренцировки так называемых первичных клеток для их культивирования. Важным исходным биоматериалом являются опухоли, уже содержащие дедифференцированные клетки, и недифференцированные постнатальные либо эмбриональные стволовые клетки.

Число возможных делений нормальных соматических клеток ограничено (такое явление называют *лимитом,* или *пределом, Хейфлика*). После определенного числа делений (обычно 30–52 для клеток человека) их рост останавливается, клетки переходят в состояние старения и затем погибают. Однако некоторые клетки способны делиться бесконечно – например, выделенные из опухолевых тканей или подвергшиеся направленной либо спонтанной трансформации. Культуры, состоящие из таких клеток, называют *иммортализованными* (постоянными, непрерывными) клеточными линиями.

У клеток эукариотических линий может быть разный хромосомный набор. Если клетки имеют измененное число хромосом, кратное гаплоидному набору (23 для человеческих клеток), такое явление носит название *полиплоидия*. Рассматривая митотические хромосомы фиксированных клеток под микроскопом, можно наблюдать диплоидный, триплоидный, тетраплоидный набор. Если же клетки содержат измененное число хромосом, некратное гаплоидному набору, это называется *анеуплоидия*. При анеуплоидии число копий отдельных хромосом может различаться, например, при по-

явлении дополнительной хромосомы возникает так называемая *трисомия*, а при исчезновении одной хромосомы – *моносомия*. В клеточных линиях встречается сочетание полиплоидии и анеуплоидии по нескольким хромосомам, при этом в отдельных клетках одной и той же линии наборы хромосом могут отличаться.

Культуры клеток используют для фундаментальных исследований и в некоторых биотехнологических процессах. В процессе культивирования можно наблюдать за отдельными функциями клеток изучаемого организма, что приводит к пониманию биологических процессов и сокращает работу с животными моделями. В лабораториях на клеточных линиях проверяют нейтрализующую активность антител, влияние внеклеточных микровезикул на молекулярные механизмы внутри клетки. Межклеточные взаимодействия, влияние гормонов, лиганд-рецепторное взаимодействие также исследуются с применением клеточных технологий. На клетках изучают цитотоксичность новых соединений и проводят первичные тесты потенциальных лекарственных средств. Производство рекомбинантных белков, в том числе антител, и создание вакцин – биотехнологические области применения клеточных культур.

Преимуществом исследований на культурах клеток является возможность культивировать многие линии в стандартных условиях, что существенно упрощает проведение работ и уменьшает их стоимость. При выращивании клеточных

культур удается строго контролировать концентрации питательных и биологически активных веществ. К недостаткам результатов, полученных на культивируемых клетках, можно отнести тот факт, что клеточные линии отличаются по степени дифференцировки от первичных культур клеток и тем более от условий *in vivo* (т. е. в живом организме) и могут изменяться в ходе длительного культивирования.

Сертификация охарактеризованных клеточных линий и аккредитация лабораторий нужны для повторяемости и воспроизводимости результатов. Для хранения охарактеризованных клеточных линий созданы специальные клеточные коллекции.

Российская коллекция клеточных культур включает следующие специализированные коллекции:

• Коллекция культур клеток позвоночных (Институт цитологии РАН);

• Коллекция клеточных линий человека и животных для исследований в области вирусологии (НИИ гриппа МЗ РФ);

• Коллекция перевиваемых соматических клеток позвоночных (НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского МЗ РФ);

• Коллекция перевиваемых соматических клеток позвоночных медицинского назначения (Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций Роспотребнадзора МЗСР РФ);

• Коллекция перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных (Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им.

Я.Р. Коваленко, РАСХН);

• Всероссийская коллекция постоянных линий клеток беспозвоночных (Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, РАСХН);

• Всероссийская коллекция культур клеток высших растений (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева, РАН);

• Коллекция генетически трансформированных pRi корней высших растений (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева, РАН).

В рамках поддержания Российской коллекции клеточных культур осуществляются паспортизация, хранение и получение новых линий. Некоторые научно-исследовательские институты и фирмы имеют индивидуальные коллекции клеточных культур; многие фирмы поставляют клеточные линии и из зарубежных коллекций.

Наиболее крупные клеточные коллекции за рубежом – это American Type Culture Collection (ATCC) в США, European Collection of Animal Cell Cultures (ECACC) в Европе, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen в Германии, Riken BRC Cell Engineering Division – Cell Bank в Японии.

Все клеточные линии в данных коллекциях идентифицируются, как правило, по характерному набору коротких тандемных повторов. Рекомендуемые идентификация и описание клеточных линий осуществляются в соответствии с

принятыми стандартами GLP (Good Laboratory Practice – «надлежащая лабораторная практика»), требованиями ВОЗ, Минздрава Российской Федерации, FDA (Food and Drug Administration) США и других локальных органов – благодаря этому данные линии могут воспроизводимо использоваться в научных и клинических целях.

Основные принципы культивирования клеток

Культивирование клеток представляет собой фундаментальный метод современной биологии и медицины, позволяющий исследователям изучать клеточные процессы, проводить эксперименты и разрабатывать новые терапевтические подходы.

Основные компоненты культивирования клеток

1. Клеточные субстраты – поверхности, на которых клетки крепятся и растут. Это могут быть поверхности чашек Петри или иной культуральной посуды из стекла или пластика, а также специальные материалы с определенными свойствами адгезии для конкретных типов клеток. Материалы обрабатывают физически и/или химически для улучшения прикрепления клеток (например, частично окисляют плазмой или химическими окислителями), а также покрывают определенными веществами, улучшающими прикрепление и рост клеток (например, полилизином или коллагеном).

2. Питательные среды – специально разработанные смеси питательных веществ, которые обеспечивают клеткам все необходимые компоненты для роста и размножения. Питательные среды могут быть жидкими или гелеобразными и содержать различные добавки, такие как гормоны, антибиотики и факторы роста.

3. Условия инкубации – оптимальные условия для роста клеток, т. е. температура, влажность, содержание CO_2 и другие параметры окружающей среды. Обеспечение правильных условий играет важную роль в успешном культивировании клеток.

Подготовка питательной среды

Подготовка оптимальной питательной среды является одним из ключевых этапов успешного культивирования клеток, поскольку состав среды влияет на клеточный метаболизм и, соответственно, релевантность результатов эксперимента тому, что происходит *in vivo*. Культуральная среда представляет собой смесь питательных веществ, которые обеспечивают клеткам все необходимые компоненты для роста, размножения и поддержания их жизнеспособности.

Питательная среда для культивирования клеток обычно включает буферные системы, аминокислоты, витамины, углеводы и дополнительные компоненты, такие как гормоны и факторы роста. Выбор компонентов зависит от типа клеток, которые планируется культивировать, и условий, необходимых для их оптимального роста. Так, некоторые клеточные линии требуют дополнительного обогащения среды определенными аминокислотами или факторами роста для нормального функционирования. Часто в качестве источника гормонов и факторов роста используют эмбриональную телячью сыворотку (*fetal bovine serum*, или *fetal calf serum*).

Питательная среда может быть как изготовленной коммерчески, так и приготовленной самостоятельно в лаборатории. Для самостоятельной подготовки среды необходимо смешать все компоненты в указанных пропорциях в дистил-

лированной воде, при необходимости регулируя pH раствора. После приготовления среду следует стерилизовать, чтобы предотвратить загрязнение микроорганизмами.

Стерильность является критическим условием для успешного культивирования клеток. Даже небольшое загрязнение среды микроорганизмами может привести к контаминации культуры и нежелательным изменениям в клеточном росте. В связи с этим необходимо обеспечивать стерильность всех используемых материалов, а также среды, инструментов, культуральной посуды и строго следить за соблюдением правил асептики при проведении клеточных экспериментов.

Подготовка клеточного субстрата

Клеточный субстрат представляет собой поверхность, на которой клетки крепятся и растут в лабораторных условиях. Его подготовка – важный этап в культивировании клеток, поскольку он обеспечивает оптимальные условия для их адгезии и роста.

Выбор подходящего материала для клеточного субстрата зависит от типа клеток, которые планируется культивировать, и особенностей эксперимента. Популярными материалами являются пластик, стекло, полимеры и гели. Каждый материал имеет свои преимущества и недостатки, и выбор должен основываться на конкретных требованиях эксперимента.

Обработка поверхности клеточного субстрата критически значима для обеспечения оптимальных условий для адгезии клеток. Обработку можно производить различными способами, например, модифицируя поверхности субстрата различными белковыми покрытиями, такими как коллагены, фибронектин, ламинины и др., либо физически и/или химически обрабатывая поверхности для улучшения адгезии клеток (например, используя частичное окисление плазмой или химическими окислителями).

Подготовка культуральной посуды является важной стадией в процессе культивирования клеток, поскольку обес-

печивает стерильные условия для их роста и размножения. Этот этап включает ряд ключевых действий, которые необходимо выполнить для предотвращения загрязнения культуры микроорганизмами и обеспечения успешного роста клеток, что будет подробнее обсуждено ниже.

Создание оптимальных условий инкубации

Оптимальные условия инкубации играют решающую роль в успешном культивировании клеток, поскольку обеспечивают необходимые параметры окружающей среды для оптимального роста и размножения клеток.

Температура имеет фундаментальное значение в регуляции биохимических процессов в клетках. Она влияет на скорость химических реакций, метаболические пути, а также на структуру и функцию белков, ферментов и мембран. В связи с этим поддержание оптимальной температуры является критическим аспектом успешного культивирования клеток. Для этого обычно используются клеточные инкубаторы. Электронные инкубаторы обеспечивают точный контроль температуры с помощью датчиков и регуляторов, что позволяет поддерживать стабильные условия в течение всего времени эксперимента. Для большинства клеток оптимальная температура составляет около 37 °C, что соответствует температуре тела человека. Однако существуют клеточные линии, которые лучше растут при более низких (например, 30–33 °C) или высоких температурах (например, 40–42 °C, а для некоторых термофильных бактерий – до 60–70 °C).

Влажность окружающей среды также важна в культивировании клеток: она влияет на множество факторов, включая

испарение среды, осмотическое давление и дыхание клеток. Поддержание оптимального уровня влажности в инкубационной камере обеспечивает комфортные условия для клеточного роста и функционирования. Этот уровень зависит от типа клеток, культивируемых в эксперименте, и может варьироваться в зависимости от требований (обычно – от 60 до 80 %). Чаще всего уровень влажности поддерживается за счет испарения воды из специальных поддонов, устанавливаемых в инкубаторы. Иногда для контроля влажности в инкубационной камере используются гигрометры, измеряющие относительную влажность воздуха. Это позволяет точно контролировать и регулировать уровень влажности в течение всего времени эксперимента при особых требованиях. Высокая влажность в инкубаторе для культивирования помогает предотвратить испарение среды и обеспечить лучший обмен газами между жидкой средой и воздухом внутри инкубатора.

Концентрация углекислого газа (CO_2) в инкубационной среде играет ключевую роль в регуляции pH среды и влияет на множество клеточных процессов, включая дыхание, рост и метаболизм. Поддержание оптимального содержания CO_2 в воздухе инкубатора является важным аспектом успешного культивирования клеток. Обычно оптимальное содержание CO_2 в инкубационной камере составляет около 5–10 %, что примерно соответствует уровню углекислого газа в крови и тканевой жидкости человека. Буферные системы питатель-

ной среды подбираются таким образом, чтобы поддерживать оптимальное значение pH именно при этом уровне CO_2. Недостаточное содержание CO_2 может привести к алкалозу (защелачиванию) среды, в то время как избыточное содержание CO_2 может вызвать ацидоз (закисление). Для поддержания оптимального содержания CO_2 используют специальные инкубаторы, которые настраивают на нужный уровень CO_2. Обычно инкубаторы оснащены системами регулирования, автоматически поддерживающими заданное содержание CO_2 путем подачи газа из подключенного баллона или удаления газа из камеры. Кроме того, в среды нередко добавляется индикатор, позволяющий отслеживать значимые изменения pH среды. Например, чаще всего используемый феноловый красный придает среде красный цвет, при закислении желтеет, а при защелачивании становится фиолетовым.

Помимо температуры, влажности и содержания CO_2, на успешное культивирование клеток оказывает влияние ряд других факторов, например, освещение может воздействовать на клеточный метаболизм и функционирование клеток. Некоторым клеткам для оптимального роста и размножения требуется определенный режим светового цикла или определенная интенсивность света. Большинство же клеточных линий выращивается в инкубаторах в отсутствие света. Хорошая вентиляция инкубационной камеры обеспечивает постоянное обновление воздуха и предотвращает накопление

вредных газов и испарений. Концентрация кислорода в инкубационной камере также влияет на клеточный метаболизм и функции клеток. Некоторым клеткам необходима повышенная концентрация кислорода для оптимального роста и функционирования. Для других клеток или в рамках эксперимента может потребоваться создать гипоксию, т. е. сниженное количество кислорода. Существуют специальные инкубаторы, которые могут регулировать уровень кислорода, например, путем подключения к инкубатору источника азота, за счет чего происходит вытеснение излишнего кислорода для поддержания необходимого соотношения газов.

Высокий уровень шума и вибраций может оказывать негативное влияние на клеточный рост и функционирование. В связи с этим необходимо выбирать местоположение инкубатора таким образом, чтобы минимизировать воздействие внешних факторов. Кроме вышеперечисленных, существуют и другие факторы, влияющие на культивирование клеток, – гидродинамика среды, электромагнитные поля и т. д. Их важность и воздействие на клеточные процессы варьируются в зависимости от конкретных условий эксперимента.

Стерильность при работе с клеточными культурами

Стерильность играет решающую роль в культивировании клеток, поскольку любое загрязнение среды или культуральной посуды может привести к контаминации, что негативно скажется на результатах эксперимента.

Чаще всего при культивировании клеток используется культуральная посуда, простерилизованная производителем и поставляемая в герметичной упаковке для сохранения стерильности. Однако если необходимо использовать культуральную посуду повторно, то прежде всего ее нужно тщательно очистить, чтобы удалить все загрязнения и остатки предыдущих экспериментов, вымыв в теплой мыльной воде или с применением специальных моющих средств для удаления белковых отложений либо других загрязнений. После очистки культуральную посуду следует простерилизовать, чтобы предотвратить загрязнение микроорганизмами и исключить риск контаминации клеточной культуры.

До использования посуда должна храниться в стерильных условиях, т. е. в стерильных пакетах либо в специальных шкафах или инкубаторах. Важно предотвратить и дальнейшее ее загрязнение микроорганизмами из окружающей среды. Для этого при работе необходимо соблюдать правила асептики – использовать перчатки, халаты, маски и защит-

ные очки, а также проводить все манипуляции в стерильном ламинарном шкафу и/или чистом помещении.

Существует несколько методов стерилизации, которые могут быть использованы для обеззараживания инструментов, культуральной посуды и сред.

Автоклавирование: это один из самых распространенных способов стерилизации, при котором материалы подвергаются воздействию пара высокой температуры (чаще всего в диапазоне 120–132 °C) при повышенном давлении в автоклаве.

Химическая стерилизация: использование химических веществ, таких как спирт, перекись водорода, хлоргексидин и др., для уничтожения микроорганизмов.

Фильтрация: прохождение среды или растворов через микропористый фильтр (с размером пор 0,22 мкм и менее) приводит к фильтрации бактерий и даже вирусов.

Ультрафиолетовое облучение: ультрафиолетовое излучение используется для уничтожения микроорганизмов на поверхности инструментов и культуральной посуды.

Радиационная стерилизация: облучение (чаще всего гамма- и бета-излучение) применяется для промышленной стерилизации одноразовых изделий из полимерных материалов.

Для поддержания стерильности во время культивирования клеток необходимо соблюдать следующие меры предосторожности:

• работать в чистой и стерильной среде, например, в ламинарном потоке в специальных боксах;

• использовать стерильные инструменты и культуральную посуду;

• периодически проверять эффективность стерилизации и обеззараживания оборудования, например, бактериологическими методами;

• избегать контакта нестерильных поверхностей с культуральной средой или клетками.

Для сдерживания роста небольшого количества микроорганизмов, которые могут попасть в культуральную среду при работе с клетками, используются растворы антибиотиков (антибактериальных средств) и/или антимикотиков (противогрибковых средств), однако они не смогут предотвратить рост микроорганизмов при избыточном попадании или при контаминации резистентными штаммами. Кроме того, в ряде экспериментов антибиотики и антимикотики недопустимы.

Регулярное обновление навыков и техник стерильной работы и соблюдение правил стерильности являются важнейшими аспектами успешного культивирования клеток. Это подразумевает и обучение персонала, и обновление протоколов и процедур в соответствии с последними рекомендациями и стандартами, которые содержатся в нескольких авторитетных источниках. Вот некоторые из них.

1. Американская ассоциация клеточной биологии

(American Society for Cell Biology, ASCB) предоставляет рекомендации и образовательные ресурсы по различным аспектам клеточной биологии, включая культивирование клеток.

2. Европейская фармакопея (European Pharmacopoeia) публикует стандарты, которые включают методы контроля качества клеточных культур, используемых в медицинских и фармацевтических исследованиях.

3. «Американская коллекция типовых культур» (American Type Culture Collection, ATCC) устанавливает стандарты и протоколы культивирования клеток, а также тестирования на контаминацию.

4. Международная организация по стандартизации (International Organization for Standardization, ISO) публикует стандарты, касающиеся биотехнологий и лабораторной практики, в том числе ISO 9001 и ISO 13485, которые относятся к системам менеджмента качества в биотехнологической и медицинской промышленности.

5. «Стандарты надлежащей лабораторной практики» (Good Laboratory Practice, GLP) регламентируют процессы и процедуры для обеспечения надежности и воспроизводимости результатов исследований, включая культивирование клеток.

6. «Стандарты надлежащей производственной практики» (Good Manufacturing Practice, GMP) регламентируют производственные процессы в биотехнологии и фармацев-

тике, в том числе стерильные техники и контроль качества клеточных культур.

7. Национальные институты здравоохранения США (National Institutes of Health, NIH) предоставляют руководства и стандарты по различным аспектам биомедицинских исследований, включая культивирование клеток и предотвращение контаминации.

8. Федеральное агентство по контролю за продуктами и лекарствами США (Food and Drug Administration, FDA) публикует руководства и стандарты, касающиеся использования клеточных культур в медицинских исследованиях и производстве.

Эти рекомендации и стандарты помогают поддерживать высокий уровень стерильности и качества в процессе культивирования клеток, способствуют надежности и воспроизводимости результатов исследований.

В случае возникновения контаминации необходимо немедленно принять меры по ее устранению, такие как удаление зараженных культур и поверхностей, проведение дополнительных процедур стерилизации и анализ источников заражения для предотвращения повторного возникновения проблемы.

Далее перечислены основные признаки контаминации и методы их выявления.

1. Визуальная оценка. Одним из первых признаков контаминации является изменение прозрачности культуральной

среды. Бактериальная и грибковая контаминация может вызывать помутнение. В средах часто присутствуют индикаторные красители, например феноловый красный, изменяющие свой цвет в зависимости от pH среды. Значимое закисление среды может быть обусловлено контаминацией культуры. Визуальные признаки контаминации при световой микроскопии включают появление маленьких движущихся точек (бактерии) или нитей (грибы). Особый тип контаминации связан с заражением культуры микоплазмой. Микоплазмы слишком малы, чтобы их можно было увидеть под обычным световым микроскопом, но их можно обнаружить с помощью специальной флуоресцентной окраски.

Конец ознакомительного фрагмента.

Текст предоставлен ООО «Литрес».

Прочитайте эту книгу целиком, купив полную легальную версию на Литрес.

Безопасно оплатить книгу можно банковской картой Visa, MasterCard, Maestro, со счета мобильного телефона, с платежного терминала, в салоне МТС или Связной, через PayPal, WebMoney, Яндекс.Деньги, QIWI Кошелек, бонусными картами или другим удобным Вам способом.