

In vitro - buněčné a tkáňové kultury

In vitro

Termín in vitro v překladu z latiny znamená „ve skle“. Tato metoda se používá v biologii, medicíně a dalších příbuzných oborech a je založena na pěstování buněčných (popř. tkáňových) kultur mimo organismus, ze kterého pochází. K vývoji této metody velkou měrou přispěl francouzský lékař, laureát Nobelovy ceny, Alexis Carrel (1873-1944), jehož pokusy probíhaly na začátku 20. století.

Kultivace buněk in vitro

Aby kultivace byla úspěšná, je zapotřebí odebranou tkáň či soubor buněk co nejrychleji přenést do živného roztoku nebo média. Toto médium se svým chemickým složením a fyzikálními vlastnostmi snaží co nejvíce přiblížit přirozenému prostředí v těle (in vivo), tedy tělním tekutinám (lymfě, krevní plazmě, mozkomíšnímu moku atd.) Musí se přísně kontrolovat koncentrace solí a organických živin, hodnota pH, teplota prostředí, ve kterém se vzorek vyvíjí, a mnoho dalších faktorů. Velký důraz se musí klást na sterilitu používaných nástrojů, aby nedošlo k infekci dané kultury.

Nezbytnou součástí živného média je sérum (fetální bovinní sérum), které iniciuje buňky k dělení a tedy i růst celé kultury. Další součástí tohoto média jsou antibiotika, aby se předcházelo infekci a tedy i zániku celé kultury.

V případě úspěšné kultivace se nám buňky začínají množit a vzniká buněčná (resp. tkáňová) kultura. Tyto kultury se pěstují zpravidla na Petriho miskách v termostatu při stálé teplotě 37 °C. Po určité době se ovšem živné médium vyčerpá a je nutné část buněk odebrat a přenést do jiné kultivační nádoby s čerstvým živným roztokem. Tento proces se nazývá pasážování buněk a je nutné ho pravidelně opakovat.

Růstová křivka buněčné kultury

Lag-fáze

Počet buněk v médiu nejprve lehce poklesne, což je způsobeno adaptací na kultivační prostředí. Po tomto úvodním „šoku“ začíná ovšem velikost populace rapidně růst.

Log-fáze (logaritmická resp. exponenciální fáze)

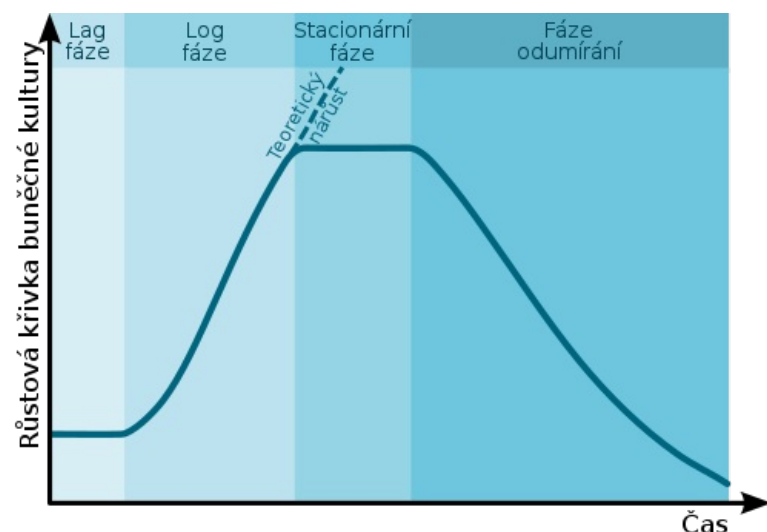
V této fázi roste počet buněk v kultuře exponenciálně a je možné zachytit vysoké procento buněk v mitóze (čehož lze využít pro karyotypizaci).

Stacionární fáze

Buňky v kultuře se přestávají množit. To je způsobeno inhibičními mechanismy (např. kontaktní inhibice) a částečně také vyčerpáním živného média.

Fáze úbytku buněk

Dochází k ní z důvodu nedostatku živin, snížení pH (díky zvýšení CO₂), kumulace toxických produktů metabolismu atd.



Druhy kultur živočišných buněk

Primokultury (primární kultury)

Jedná se o buňky či tkáně čerstvě odebrané z organismu. Z celé populace vložené do živného média přežívá jen ta část, která se nejlépe přizpůsobí novým podmínkám. Buňky, které se přizpůsobily se začínají dělit. Tato kultura existuje zpravidla jen pár dní, protože poté se musí pasážovat.

Buněčné kmeny

Jedná se o buněčnou kulturu normálních diploidních buněk, které minimálně jedenkrát již prošly procesem pasážování. Tyto kmeny zpravidla zanikají po 40-50ti děleních z důvodu zkracování telomer.

Buněčné linie (permanentní buněčné linie)

Jsou charakteru nádorových buněk, plně adaptovány na podmínky in vitro a neomezeně se dělí. Jejich „nesmrtelnost“ je způsobena přítomností telomerázy. Jednou z nejznámějších buněčných linií je HeLa (Henrietta Lacks).

Odkazy

Související články

- Kultivace buněk a tkání in vitro
- Kultivační média
- Buněčná kultura

Použitá literatura

- KOČÁREK, E., M. PÁNEK a D. NOVOTNÁ. *Klinická cytogenetika I : Úvod do klinické cytogenetiky, vyšetřovací metody v cytogenetice*. 1. vydání. Karolinum, 23006. ISBN 80-246-1069-8.