

Тарапата Т.С.

ГАОУ ВО ЛО «ЛГУ им. А. С. Пушкина» Лужский институт (филиал), Ленинградская область, г. Луга

Научный руководитель Решетникова О.В.

ГАОУ ВО ЛО «ЛГУ им. А. С. Пушкина» Лужский институт (филиал), Ленинградская область, г. Луга

Клеточная инженерия является одним из направлений биотехнологии. Методы клеточной инженерии получили широкое распространение в различных областях современной биологии. Клеточная инженерия применяет технологические процессы с использованием биологических систем: живых организмов и компонентов живой клетки для конструирования клеток нового типа на основе их культивирования, гибридизации и реконструкции. Объектом и средством исследования в клеточной инженерии является клеточная культура.

Культура клеток позволяет сохранить жизнеспособность клеток вне организма в искусственно созданных условиях жидкой или плотной питательных сред. Для культивирования могут быть использованы фибробласты (элементы соединительной ткани), мышечные клетки, опухолевые клетки, клетки кости и хряща, эпителиальные клетки, нервные клетки (нейроны, глиальные клетки), эндокринные клетки [5].

Соматические клетки подразделяются на два типа: эмбриональные; соматические (стволовые клетки взрослого организма). Соматические стволовые клетки по строению сходны с эмбриональными клетками. В стволовых, половых, опухолевых клетках проявляется теломеразная активность - концы их хромосом надстраиваются, то есть эти клетки способны проходить потенциально бесконечное количество клеточных делений. Поэтому эти клеточные культуры считаются бессмертными [1].

Стволовые клетки являются особенными клетками живых организмов, каждая из которых способна дифференцироваться особым образом, то есть получать специализацию и развиваться как обычная клетка. Стволовые клетки асимметрично делятся, в результате образуется клетка, подобная материнской (самовоспроизведение), а также новая клетка, которая способна дифференцироваться. Стволовые клетки могут регенерировать поврежденные органы и ткани, лечить заболевания, не поддающиеся лекарственной терапии [1, 2].

Технология получения стволовых клеток подразделяется на следующие направления: 1) культивирование клеток внутренней клеточной массы бластоцисты; 2) культивирование первичных половых клеток плода; 3) культивирование изолированных стволовых клеток взрослого организма; 4) терапевтическое клонирование (ядро соматической клетки переносят в энуклеированный ооцит, который после активации дает эмбриобласты бластоцисты) [6].

Культивирование дермальных фибробластов кожи проводили в лаборатории «Полимерные материалы для тканевой инженерии и трансплантологии» института высокомолекулярных соединений РАН. Методика культивирования стволовых клеток состоит из следующих этапов: 1) получение первичной культуры дермальных фибробластов кожи и ее культивирование; 2) приготовление раствора МТТ в PBS(DPBS); 3) МТТ-тест для определения количества жизнеспособных клеток [2, 3].

Для выделения дермальных фибробластов кожи был использован биологический материал биопсии кожи здорового донора, полученный с соблюдением правил асептики и антисептики. Для выделения первичной культуры дермальных фибробластов кожи

применяли стандартную ферментативную методику. Полученную в ходе ферментативной обработки клеточную суспензию культивировали в полной питательной среде ДМЕМ (Панэко, Россия) с добавлением L-глутамина, 10 % бычьей эмбриональной сыворотки и антибиотиков 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина (все рективы Gibco, США) в условиях CO₂ инкубатора (Thermo Fisher Scientific, 3423) при температуре 37 °С, концентрации CO₂ 5 % и повышенной влажности. Для проведения исследований использовали клетки 3 – 12 пассажей. Для определения количества жизнеспособных клеток после культивирования использовали МТТ-тест путем регистрации оптической плотности раствора на спектрофотометре SPECTROstar Nano, длина волны 570 нм. Оптическая плотность коррелирует с количеством жизнеспособных клеток [4, 7].

Таким образом, современные клеточные технологии основаны на использовании стволовых клеток, которые культивируют биотехнологическими методами. Фибробласты кожи используются в регенеративной медицине и ветеринарии для приготовления *in vitro* живых эквивалентов и их трансплантации на пораженные участки кожи.

Список литературы

1. Мезен Н.И., Квачева З.Б., Сычик Л.М. Стволовые клетки. - Минск: БГМУ, 2014.-62 с.
2. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. - Новосибирск: Сиб. Унив.изд-во, 2004.-496 с.
3. <http://macro.ru/information/history>.
4. <http://macro.ru/laboratorii>.
5. https://ru.wikipedia.org/wiki/Культура_клеток#Использование_клеточных_культур.
6. <https://studfiles.net/preview/1856181/page:32>.
7. <https://pcgroup.ru/blog/dimetilsulfoksid-unikalnyj-rastvoritel-i-lechebnoe-veschestvo>.