

Buněčné kultury

Historie

Udržet naživu rostlinné nebo živočišné buňky odebrané z živého organismu se ještě koncem 19. století zdálo zcela nemožné. Přesto první úspěšné pokusy proběhly už počátkem 20. století. První, kdo dokázal, že orgány či tkáně je možné dlouhodobě udržet naživu i po vyjmutí z organismu, byl francouzský lékař a laureát Nobelovy ceny **Alexis Carrel** (1873–1944). Nezbytné je zajištění optimálních podmínek pro rozmnožování. V roce 1912 udělal pokus, ve kterém vložil do živného roztoku kus kuřecího srdce, jehož buňky vydržely v kultivační nádobě po plných 27 let. Tento pokus způsobil průlom v rané historii biologie a měl význam pro rozvinutí metod genetických, mikrobiologických a farmaceutických. Carrel se nesprávně domníval, že lze kultivovat libovolné buňky neomezeně dlouho. Ve skutečnosti je schopnost buněk dělit se omezena tzv. Hayflickovým limitem.



francouzský chirurg a biolog Alexis Carrel (1873-1944)

Kultury živočišných buněk

Mezi kultury živočišných buněk řadíme i kultury buněk **lidských**, které mají význam především pro buněčnou terapii. Podle stáří můžeme živočišné buněčné kultury rozdělit do tří skupin:

1. primární linie
2. buněčné kmeny
3. buněčné linie

Primární kultury

Skládají se z buněk přímo odebraných z organismu. Tento typ kultury má pouze **krátkou životnost**, která se počítá jen na několik dní, poté je třeba buňky převést do nového média (**pasážování**). V primárních kulturách dochází především k vyselektování buněk, které jsou lépe přizpůsobené kultivačním podmínkám.

Buněčné kmeny

Buněčné kmeny vznikají na základě primárních kultur z buněk, které byly už alespoň jednou **pasážovány**. Jedná se o kulturu normálních **diploidních** buněk (oproti buněčným liniím), které vydrží v průměru 40–50 dělení a poté zanikají.

Buněčné linie

Buněčná linie představuje kulturu buněk, které mají prakticky neomezenou životnost a schopnost **neomezeného buněčného dělení**. Tento typ kultury vzniká z buněčných kmenů procesem transformace nebo mohou být izolovány přímo z živé tkáně (například nádorové buňky, u kterých dochází k selhání mechanismů regulujících buněčný cyklus). Příkladem mohou být HeLa buňky, izolované v 50. letech 20. století z karcinomu děložního hrdla *Henrietty Lacksové*.

Kultury rostlinných buněk

V medicínské praxi se můžeme méně často setkat i s kulturami buněk rostlinných. Princip jejich vzniku se prakticky neliší od vzniku kultur živočišných buněk. Protože však buňky neopouštějí rostlinné pletivo po přenesení do živného média, přeměňujeme původní pletivo na tzv. **kalus**, neorganizovaný shluk buněk vzniklých z původního pletiva, který lze v kultuře uchovat dlouhou dobu. Oproti živočišným buňkám lze ale po navození vhodných podmínek změnou složení živného média vyvolat zpětnou **přeměnu** na základní zárodečnou buňku a poté diferencovat v jiný rostlinný orgán, aniž by došlo k radikální změně buňky, jako tomu je u metaplasie.

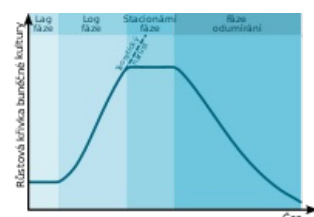


Buněčné kultury

Růstová křivka buněčné kultury

Růst buněk v kultuře probíhá charakteristicky a lze ho popsat pomocí tzv. **růstové křivky**, která se skládá ze čtyř částí:

1. **Lag fáze** – první fáze, počet buněk nejprve mírně klesne (adaptace buněk na médium) a poté začíná narůstat.
2. **Log fáze** – počet buněk exponenciálně roste, buňky využívají pro svůj metabolismus všechny živiny, v této fázi jsou buňky vhodnými objekty pro cytogenetické vyšetření.
3. **Stacionární fáze** – růst buněk se zastaví, začíná se projevovat vyčerpání živin, hromadění metabolitů a toxinů.
4. **Fáze odumírání** – konečná fáze, udržení kultury již není možné, protože došlo k vyčerpání živin, poklesu



Růstová křivka bakteriální kultury

pH, hromadění metabolitů (např. CO₂) a toxinů, v této fázi je nutné převést buňky na **nové médium**.

Využití buněčných kultur

Živočišné kultury mají velký význam, především v **genetice** pro **prenatální cytogenetické vyšetření**, kdy kultivujeme buňky odebrané např. amniocentézou z plodové vody nebo **postnatálně** při odběru lymfocytů periferní krve (nejčastěji), či fibroblastů, buněk kostní dřeně a buněk nádorových. Dále jsou buněčné kultury využívány ke studiu buněčného cyklu a jeho regulace, při pokusech s klonováním savců a při mapování genomu.

V **imunologii** se využívají k výrobě monoklonálních protilátek, takzvaných hybridomů.

V **mikrobiologii** se buněčné kultury využívají k záchytu virových agens a bakterií, které nejsou schopné přežít bez hostitelské buňky (*Chlamydia*, *Rickettsia*).

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Množení bakterií in vitro.*

Kultury rostlinných buněk mají uplatnění především v zemědělství ke šlechtění nových odrůd a při vyvíjení **geneticky modifikovaných plodin**.

Odkazy

Související články

- Množení bakterií in vitro
- Kultivace buněk a tkání in vitro, význam v medicíně
- Základní techniky práce s tkáňovými kulturami
- Vyšetření chromozomů
- Replikativní stárnutí

Použitá literatura

- KOČÁREK, Eduard, Martin PÁNEK a Drahůše NOVOTNÁ. *Klinická cytogenetika I : úvod do klinické cytogenetiky : vyšetřovací metody v klinické cytogenetice*. 1. vydání. Praha : Karolinum, 2006. 120 s. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze; ISBN 80-246-1069-8.