накопичення. Сумарна продукція окислювальних форм феназинів виявилася більш інтенсивною для *P. aeruginosa* ATCC 15692. За співвідношенням окислювальних та відновлювальних форм досліджені мікроорганізми можна розташувати у наступній послідовності: *P. aeruginosa* ATCC 27853 >> *P. fluorescens* ONU 111 > *P. aeruginosa* ATCC 15692 > *P. fluorescens* ONU 110, де перший зі штамів характеризувався майже найбільшою інтенсивністю продукції відновлювальної форми феназинів та найвищим редокс-потенціалом.

Таким чином, досліджувані штами псевдомонад виявилися перспективними щодо створення на їх основі біоелектрохімічних систем.

Живильні середовища для культивування клітинних культур тварин

Маслова Т.Ю., Двінських Н.В.

Кафедра біотехнології Національного фармацевтичного університету, м. Харків, Україна

maslowatanya76@gmail.com

Живильне середовище є розчином певного складу, до якого додаються компоненти біологічного походження (плазма, сироватка крові, тканинні екстракти). Основу живильних середовищ складають сольові розчини, мінеральні компоненти яких підібрані так, щоб розчин мав необхідний осмотичний тиск та виконував буферні функції, підтримуючи постійний кислотно-лужний баланс в процесі культивування.

Діапазони pH, при яких проліферують клітини, вузькі і змінюються залежно від типу клітин. Так, для клонального росту диплоїдних фібробластів людини оптимальне значення pH 7,30, а для фібробластів з ембріона курчати - 7,12. Для стабілізації pH використовується бікарбонатний буфер.

Розчини, які містять малу кількість бікарбонатного буферу, призначені для підтримки pH в щільно закритих посудинах (розчин Хенкса); у інших - бікарбонату більше, і вони використовуються в системах з підвищеним парціальним тиском CO_2 (розчин Ерла). Якщо проліферація відбувається зовні

інкубатора, то pH підтримувати важче, тому необхідні альтернативні буферні системи, наприклад, HEPES (цвіттеріонна сульфокислота).

Сольові розчини Ерла і Хенкса, як і фосфатно-сольовий буфер Дульбекко і Фогта, використовують для вирощування клітин, виділення клітинних ліній і в інших маніпуляціях з культурами клітин.

Стандартні середовища для проліферації культур тваринних клітин:

1) Середовища Ігла МЕМ, до його складу входять мінеральні речовини, амінокислоти (13 незамінних), 6 водорозчинних вітамінів, холін і інозит як вуглеводневі субстрати. МЕМ використовується тільки з сироваткою, оскільки в ньому відсутні біотин, вітамін B_{12}, іони заліза і мікроелементи.

2) Середовище Дульбекко DME використовують для клітин різних типів, зокрема нетрансформованих клітин і гібридом. Є основою для безсироваткових середовищ. Містить подвійну концентрацію амінокислот, гліцин, серин, піруват, залізо. Використовують в інкубаторі з 10% CO_2.

3) Середовище Іськова IMDM. Додані незамінні амінокислоти, вітаміни B_7 і B_{12}, селеніт натрію. В середовище введений HEPES і зменшені концентрації NaCl і $NaHCO_3$. Використовується для культивування лімфоцитів і кровотворних клітин.

4) Середовище Маккоя 5А і серія середовищ RPMI. Розроблене для підтримки клонального росту клітин карциносаркоми Уолкера 256 в присутності сироватки та інших первинних культур і різних клітинних ліній. Зазвичай проводиться в модифікації Івката і Грейса (RPMI) і призначене для культивування лейкоцитів у присутності сироватки та для культивування гібридом. Концентрація CO_2 при культивуванні 5%.

5) Середовище 199 розроблене для культивування фрагментів серця з ембріона курчати. Для середовища характерні широкий спектр поживних речовин і невисока їх концентрація. Використовується для первинних клітин без добавок, а для клітинних ліній додають 5-20 % ембріональної сироватки.

Сироватка є надзвичайно складною сумішшю дрібних і крупних молекул, здатних як викликати, так і гальмувати ріст клітин.

Одні з ростових факторів в її складі специфічні для клітин на певній стадії диференціювання, дія інших не обмежена якимось одним типом клітин. Один і той же тип клітин може стимулюватись різними ростовими факторами. Важливим фактором росту практично для всіх типів клітин є інсулін. З гормонів також застосовують глюкокортикоїди (гідрокортизон, дексаметазон), стероїди (естрадіол, тестостерон, прогестерон), гормони щитовидної залози.

Для перенесення низькомолекулярних речовин (вітамінів, ліпідів і інших) в сироватці присутні транспортні білки, наприклад, альбумін. Транспорт заліза забезпечує трансферин. До факторів прикріплення і розпластання клітин відносяться колаген і фібронектин, більш спеціалізовані хондронектин і ламінін.

Безсироваткові середовища найчастіше є вузькоспеціалізованими, призначені для певного типу клітин. До базового середовища додається інсулін, трансферин, гідрокортизон або його аналог дексаметазон.

Безсироваткові середовища дають більшу відтворюваність результатів внаслідок визначеності їх складу, знижують ризик зараження культури вірусами, грибами, мікоплазмою та вплив додаткових білків на результати досліджень, полегшено очищення продуктів клітинного метаболізму.

Культуральні середовища забезпечують необхідні поживні речовини та фактори росту, необхідні для виживання та проліферації клітин поза організмом. Склад культуральних середовищ постійно еволюціонує від простіших поживних сумішей до складних спеціальних составів, а також до хімічно визначених безсироваткових середовищ.

Маніпулюючи складом живильних середовищ дослідники можуть направлено впливати на ріст та розвиток різних типів клітин у відповідності з поставленою метою дослідження або виробничим завданням.