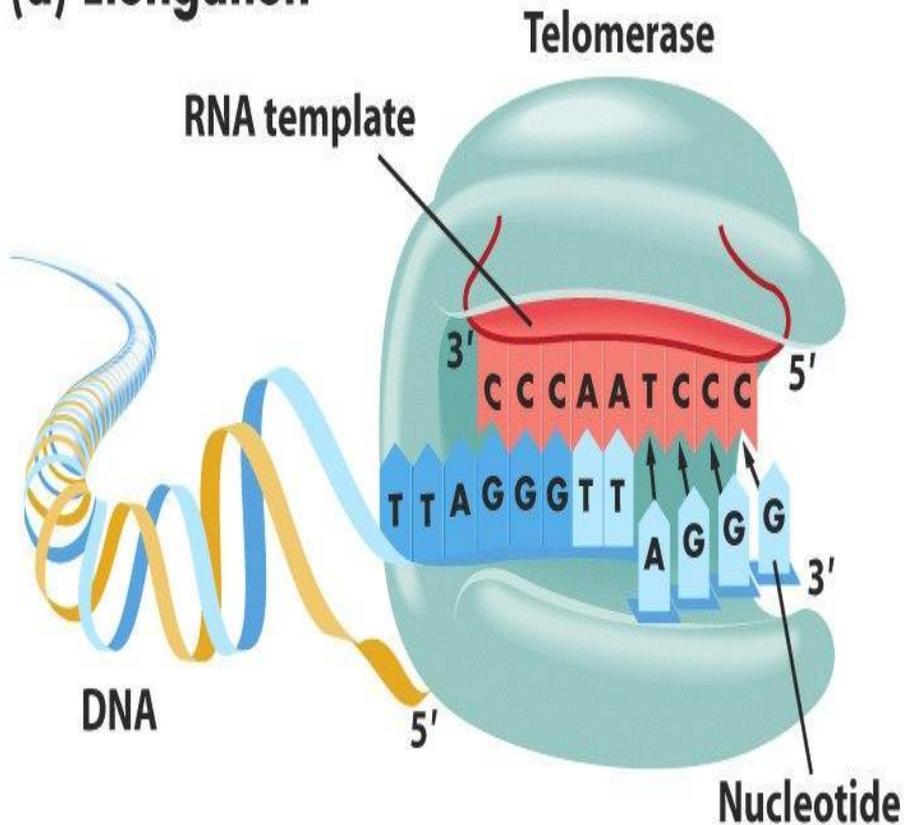
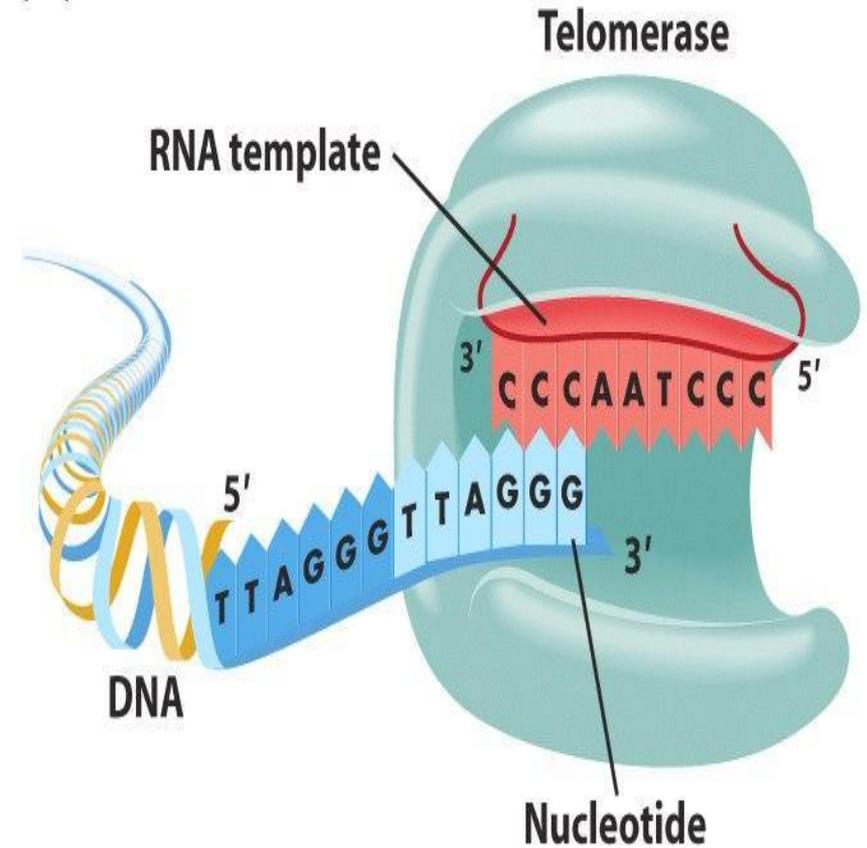


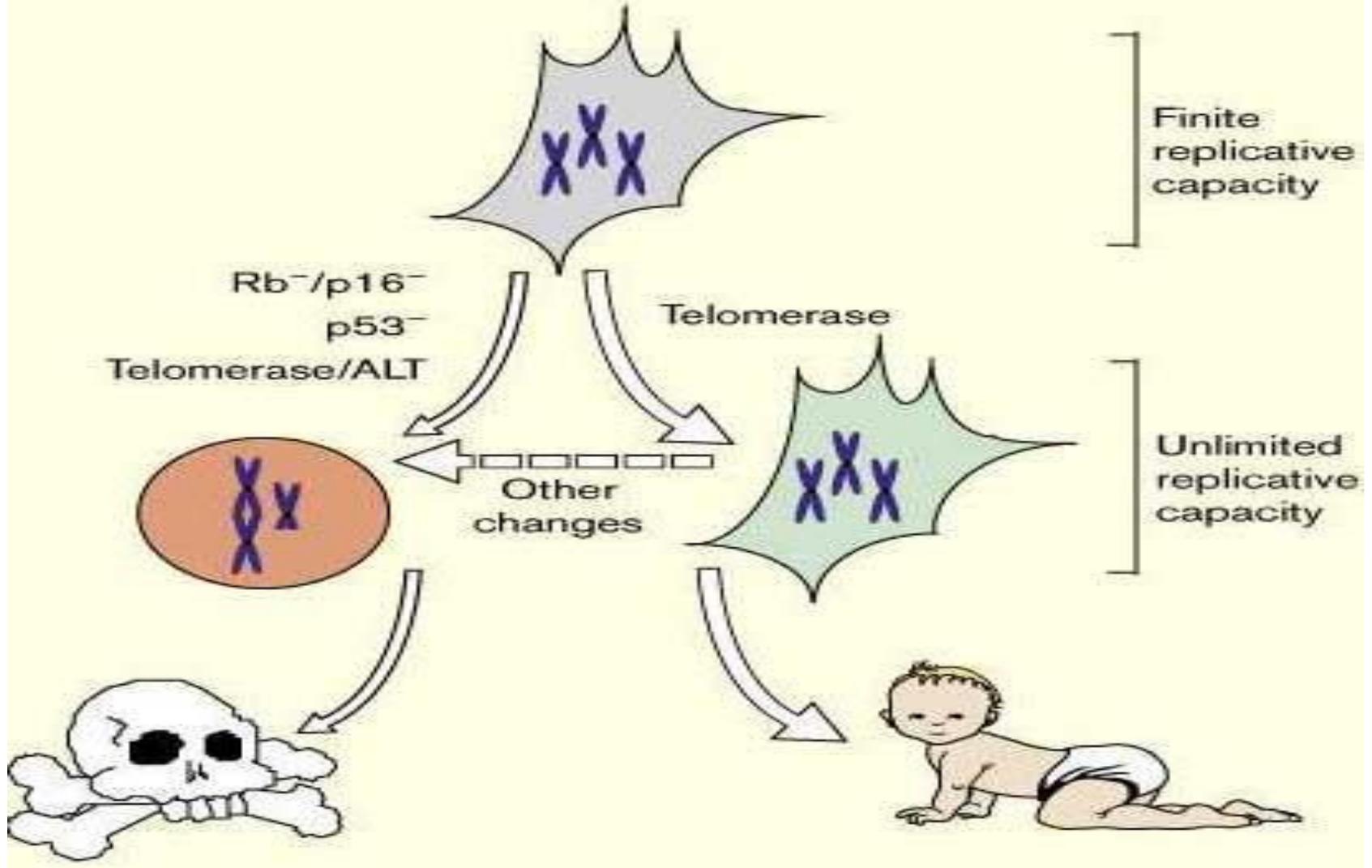
(a) Elongation



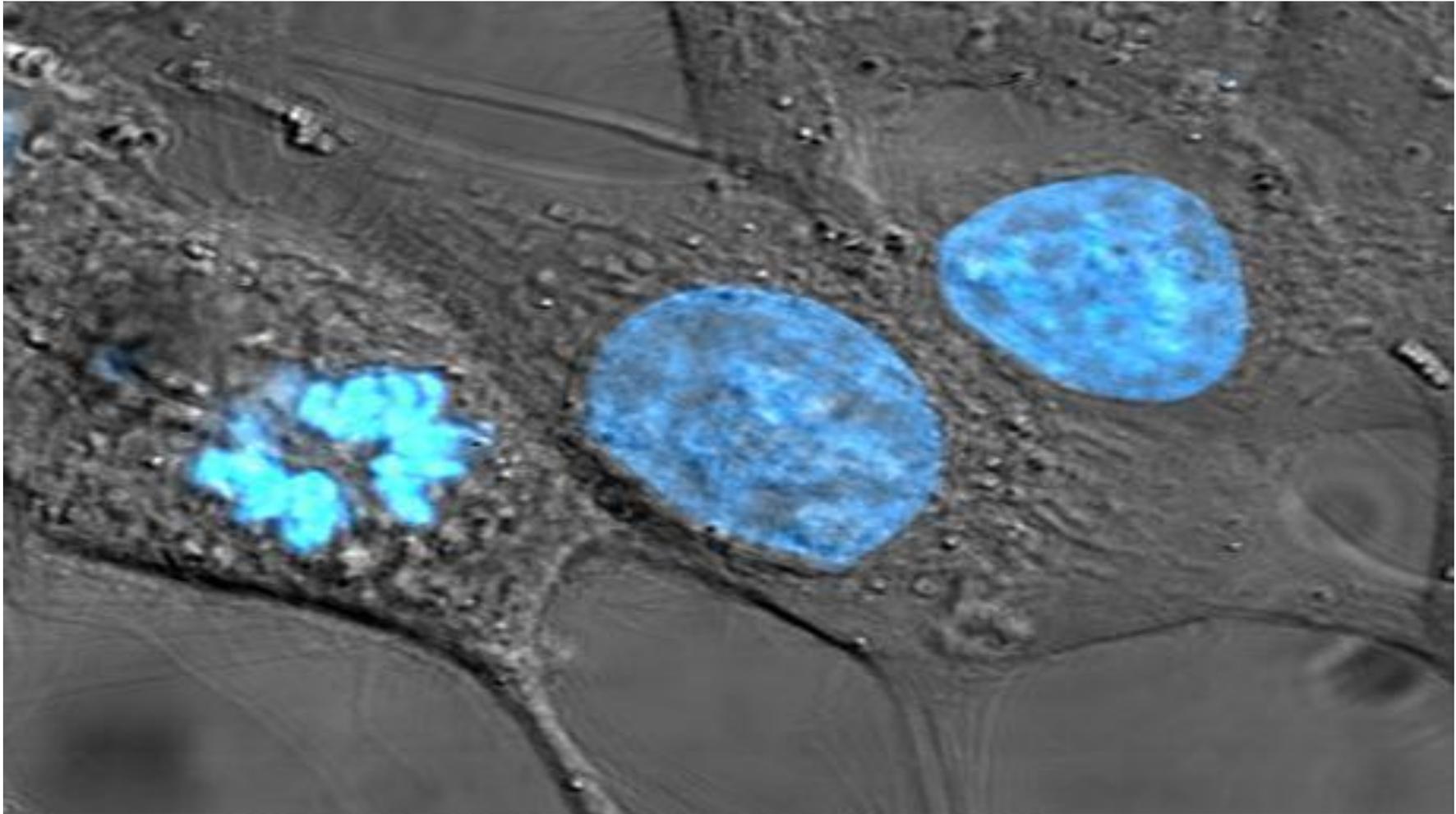
(b) Translocation



[Теломераза](#) – обратная транскриптаза. При помощи собственной РНК-матрицы она достраивает теломерные повторы и удлиняет теломеры в половых и стволовых клетках .



Клетки с конечным репликативным потенциалом могут быть immortalизованы. В некоторых типах клеток инактивация теломеразы, скомбинированная с поддержанием теломер, может вести к immortalизации клеток с потерей контроля роста, типичными для онкогенотрансформированных клеток (in orange), тогда как экзогенная экспрессия только теломеразы (**индуктором теломеразы**) может увеличивать репликативный потенциал без онкогенной трансформации (in green). Возможно, что еще неизвестные факторы могут вовлекать клетки в онкогенную трансформацию теломеразой - immortalизованные клетки.



Одна из самых ранних культур клеток человека

Получена от [Генриетты Лакс](#), умершей от рака шейки матки. Культура клеток [HeLa](#) окрашена по Хойсту. Измененные [ядра](#) окрашены в синий цвет

- **Культуры клеток развитых и сложных эукариотов**
 - **Первичные культуры клеток (1 пассаж)**
 - **Вторичные культуры:**
 - **Соматических клеток (лимит Хейфлика, ограниченное число пассажей)**
 - **Стволовых, половых и иммортальных клеток (длительное пассажирование, » 100 пассажей)**

КОНСЕРВИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР

Добиваются резкого сокращения или полного прекращения клеточного метаболизма.

Охлаждение, замораживание или обезвоживание

• **Прокариоты и простые эукариоты хранят:**

- замороженными при минус 1-5 до минус 20°

С. Недопустимо повторное оттаивание и замораживание;

- лиофилизированными в ампулах. Срок

хранения несколько лет

• **Культуры клеток млекопитающих, в т.ч. и человека хранят:**

при минус 180°С в среде на основе жидкого инертного газа (азота и др.) и

Процесс консервирования *клеточных структур* и клеточных линий

- Используют программированное замораживание с помощью специальных криоустановок:
 - Охлаждение от -10 до -30°C со скоростью $1-3^{\circ}$ в минуту
 - Охлаждение до -120°C со скоростью $10-30^{\circ}$ в минуту
 - Объект помещают в жидкий азот ($180-196^{\circ}\text{C}$)

К питательной среде перед замораживанием добавляют криопротекторы

КРИОПРОТЕКТОРЫ

ЗАЩИТНЫЕ СРЕДЫ.

Сдерживают денатурацию белков, НК и других веществ клетки на стадии замораживания и при последующем хранении.

- *Компоненты сред:*

- ВМС (ПВП м.м. от 2600 до 6400, декстран, желатин, пептон)
- НМ и буферные компоненты: глутамат, трисбуфер,
- глицерин и ДМСО - 5-10%

- Денатурирующее действие замораживания сдерживается *изменением свойств **самих** защитных агентов*. Эти вещества одновременно *консервируют* биопрепараты, предотвращая их микробную порчу, возможную при обычных условиях хранения

Паспорт культуры

- Название культуры
- Штамм
- описание питательных сред
- Описание микро- и макроморфологических характеристик
- Описание физиологических характеристик
- Описание условий для расконсервации
- Описание условий выращивания
- Срок хранения.

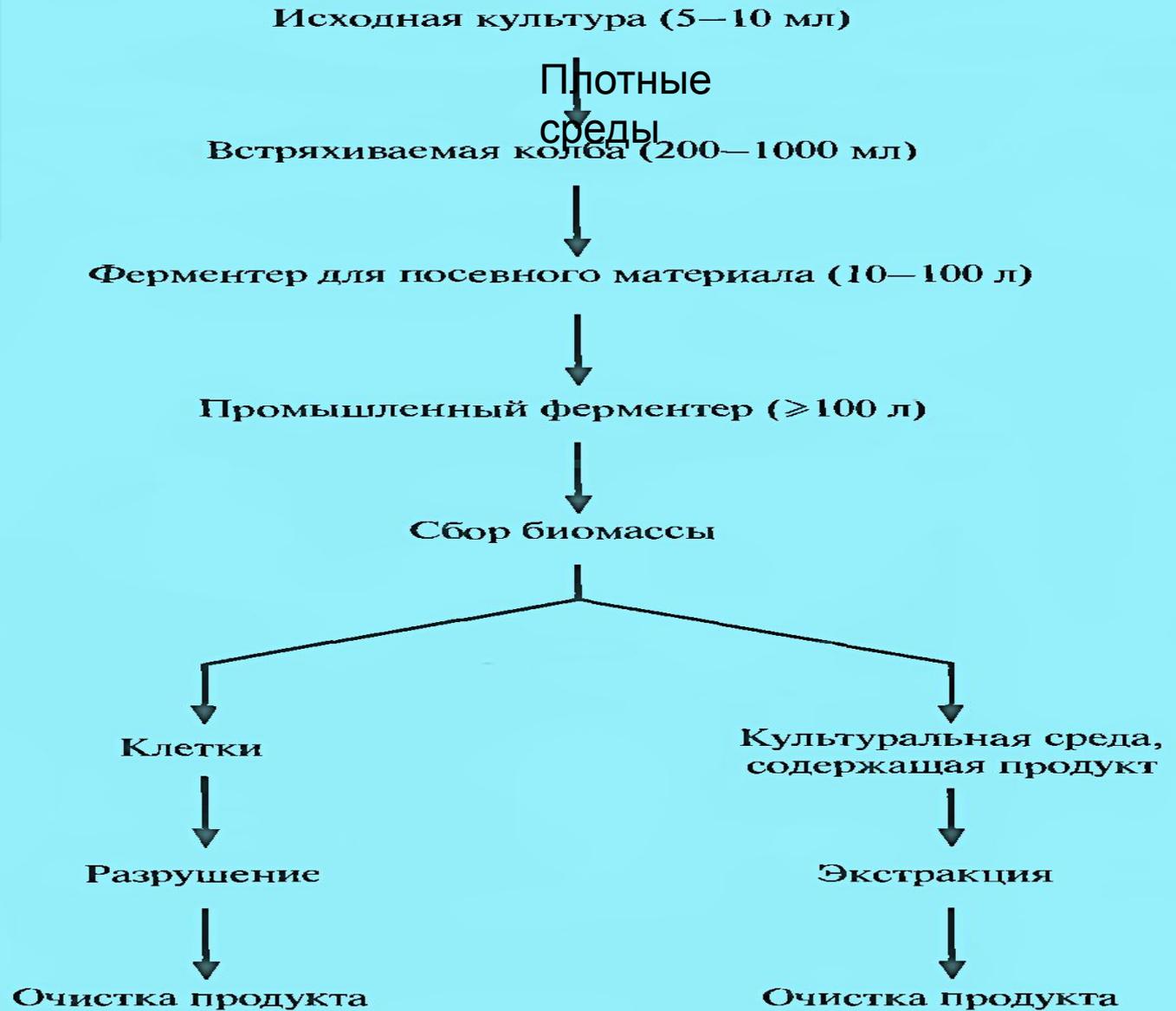
Подготовка посевного материала для промышленной ферментации.

ОБЩАЯ СХЕМА

Объем посевного материала перед загрузкой в промышленный реактор обычно составляет

5-10% питательной среды.

На всех этапах подготовки контролируют качество посевного материала по морфологическим признакам и продуктивност и, отслеживают отсутствие в нем посторонней



КУЛЬТИВИРОВАНИЕ (ФЕРМЕНТАЦИЯ)

Основные стадии биотехнологического процесса

1. приготовление и стерилизация питательных сред
2. приготовление посевного материала
- 3. культивирование**
4. обработка культуральной жидкости
5. выделение и очистка биопрепарата
6. получение готовой продукции

Промышленное культивирование
продуцентов не сводится к
пропорциональному увеличению
масштаба лабораторного эксперимента:

Оптимальные условия изменяются
при каждом десятикратном увеличении
объема биореактора

Классификация процессов ферментации

Твердофазная ферментация

клетки микроорганизмов

Жидкофазная ферментация

Клетки микроорганизмов

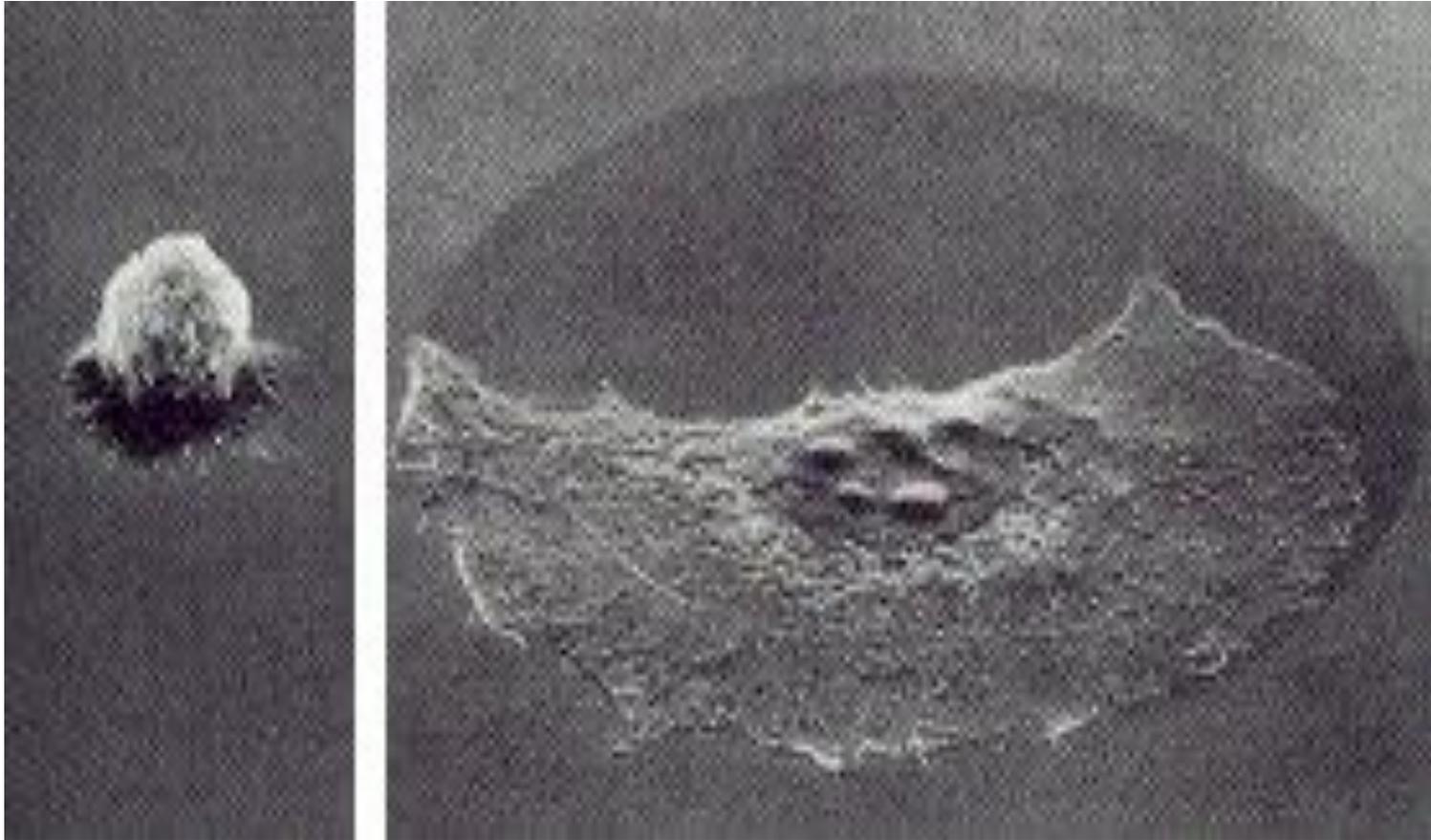
клетки многоклеточных
организмов

Поверхностная

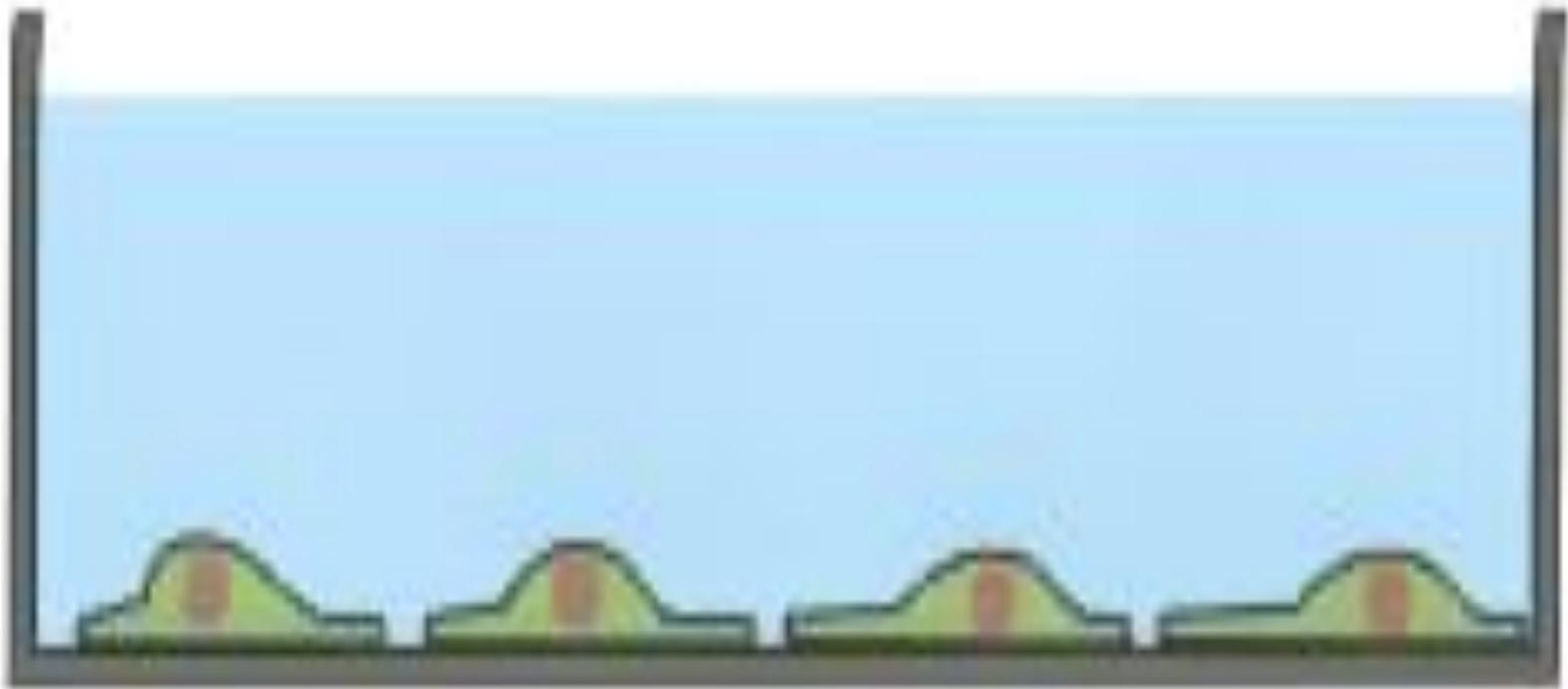
Глубинная

- Периодическое без доб. ПС
- Периодическое с доб. ПС
- Непрерывное

ПОВЕРХНОСТНАЯ ФЕРМЕНТАЦИЯ



**Прикрепление эукариотических
клеток к субстрату**

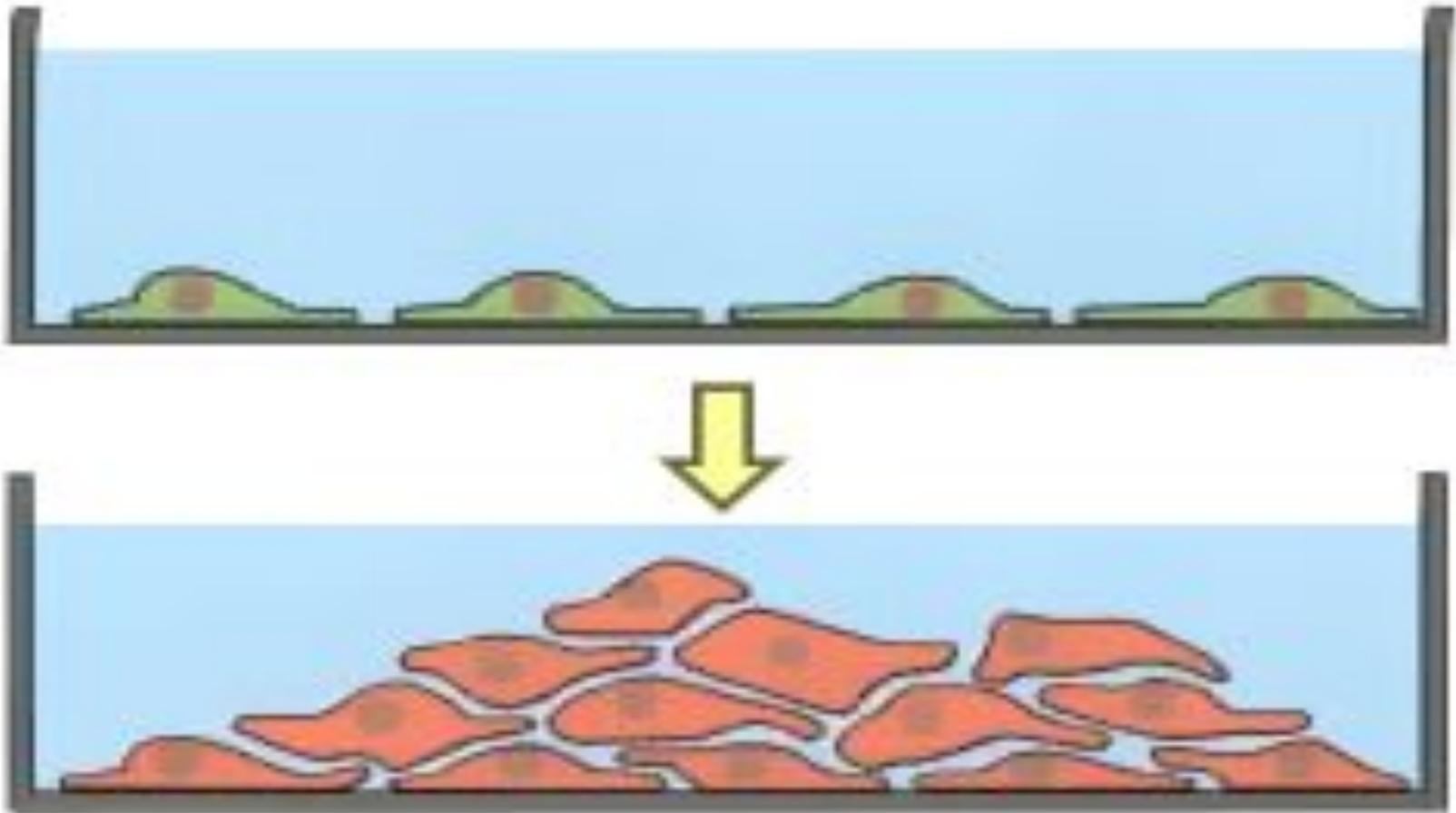


Монослой, образуемый соматическими клетками макроорганизма при культивировании



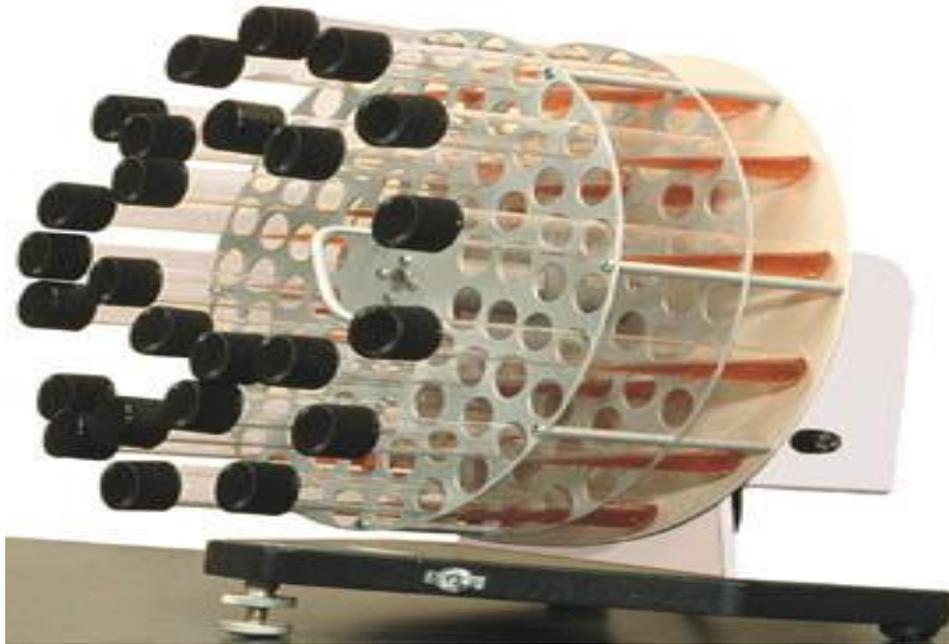
Монослой эукариотических клеток

Возобновление клеточных делений после
нанесния «раны» клеточному монослою



Раковые (иммортальные) клетки продолжают расти и после того, как заполнят всю поверхность субстрата, образуя мультислой

культивирования
клеточных тканей -
*инкубаторы клеточных
культур*



Глубинная ферментация

периодическая

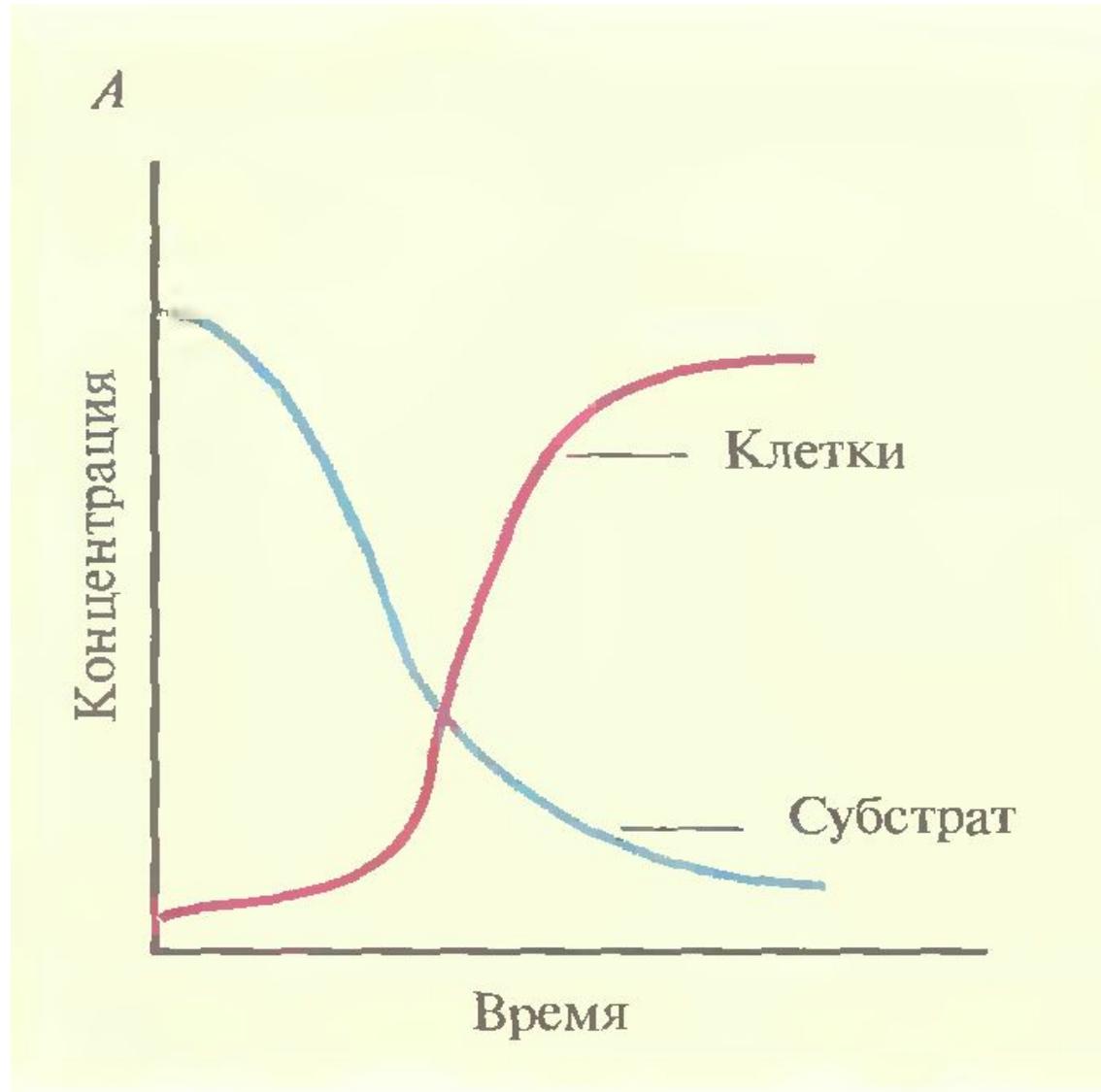
- без добавления питательного субстрата (ПС);
- с добавлением ПС

непрерывная

Кинетика периодического культивирования без добавления питательного субстрата

В ферментерах периодического действия:

- Состав культуральной среды, концентрация микроорганизмов (биомассы) изменчиво и зависит от фазы роста;
- Количество продукта изменчиво и зависит от фазы роста;
- используется только для культивирования микроорганизмов



ФАЗЫ РОСТА КУЛЬТУРЫ: периодическая ферментация без добавления ПС.

- 1 – лаг-фаза
- 2 – фаза ускорения.
- 3 – экспоненциальная фаза.
- 4 – фаза замедления.
- 5 – стационарная фаза.
- 6 – фаза отмирания

