

Cell Culture

Cell Culture

□ **الخلية** وحدة بناء الكائنات الحية: هي صغيرة ومعقدة ، لذا فإنه من الصعب جداً معرفة تركيبها ، ومكوناتها ومعرفة وظيفتها ووظيفة مكوناتها .

Cell Culture

□ العديد من التقنيات المعملية تم تطويرها
لدراسة الخلية ، مثل ؟

(١) الـ Microscope : بعض أنواع الميكروسكوبات تساعد
على رؤية والتعرف على تركيب الخلية الدقيق الذي يختلف
بإختلاف أنواع الخلايا .

Cell Culture

□ العديد من التقنيات المعملية تم تطويرها لدراسة الخلية :

Cell Fractionation (٢) تجزئة الخلية :

Ultracentrifuge (a): الطرد المركزي الفائق السرعة الذي يستخدم لفصل المواد معتمدا على إختلاف مكونات وعضيات الخلية بوزنها الجزيئي (حجمها) و كثافتها .

Chromaography (b): تقنية تستخدم لفصل المواد معتمدا على الإختلاف في الوزن الجزيئي والإختلاف في الذوبانية للمكونات الكيميائية للخلية .

Electrophoresis (c): تقنية تستخدم لفصل المواد معتمدا على الإختلاف في الوزن الجزيئي والشحنات الكهربائية لجزيئات الخلية المختلفة .

Cell Culture

□ العديد من التقنيات المعملية تم تطويرها لدراسة الخلية :

(3) تمييز جزيئات الخلية بالنظائر المشعة

(3) Tracing Cellular Molecules with Radioactive Isotopes

• أي جزيء من جزيئات الخلية المختلفة (دهون ، بروتينات، كربوهيدرات ، هرمونات) يمكن تمييزه عن الجزيئات الأخرى عن طريق إضافة له (لمكوناته) ذرة أو أكثر من الذرات المشعة (Labelling)

- هذا يساعد على تتبع المسارات الأيضية ومعرفة مواقع الجزيئات المختلفة في الخلية بواسطة جهاز يسمى (Autoradiography) .

- مثال : استخدام الـ I_2 (اليود Iodine) المشع لمعرفة وظيفة الغدة الدرقية .

Cell Culture

Recombinant DNA Technology (٤)

□ يساعد في فصل الـ DNA عن مكونات الخلية الأخرى
ودراسة جين معين في هذا الـ DNA أي دراسة ترتيب
محدد من النيوكليوتيدات التي تكونه و ذلك لإن هذه
التقنية تؤدي إلى إنتاج كميات كبيرة من هذا الجين المراد
دراسته وبالتالي معرفة وظيفته.

Cell Culture

Cell Culture (٥) : العديد من الخلايا الحيوانية والنباتية تستطيع

العيش والتكاثر وإظهارها خصائصها المختلفة في **Tissue Culture**.

- **Tissue Culture** يحدث خارج الكائن الحي أي In Vitro، أي زراعة الخلايا الحية خارج الكائن الذي أخذنا منه هذه الخلايا.
- هي عملية تنمو من خلالها الخلايا في وسط يتم التحكم به.

- **Cell Culture** يستخدم لـ :

- i. دراسة تركيب و وظيفة الخلية .
- ii. دراسة تأثير إضافة أو إزالة جزيئات مختلفة مثل الهرمونات أو Growth Factors على تصرف الخلايا .
- iii. دراسة مدى وكيفية التفاعل بين نوع من الخلايا ونوع آخر.
- iv. للحصول على عينة متجانسة من الخلايا تستخدم في التحليل الكيميائي الحيوي .

Cell Culture

□ النتيجة المستخلصة من زراعة الخلايا هي مقارنة
تصرف الخلايا المزروعة مع تصرف الخلايا الموجودة
في البيئة الطبيعية للخلية داخل جسم الكائن الحي .

أنواع الزراعة Type of Cultures

□ هناك نوعين من أنواع زراعة الأنسجة

□ There are 2 Types of Cell Culture

(١) Primary Culture الزراعة الأولية:

وفيه؛ جعل الخلايا تنمو في Culture محضرة مباشرة من أنسجة الكائن الحي .

(٢) Secondary Culture الزراعة الثانوية:

وفيه؛ الخلايا تزال من الـ Primary Culture Dish ثم يسمح لها بالتكاثر لتكوين عدد كبير من الخلايا. هذه الخلايا عادة تظهر الصفات المميزة للنسيج الذي أخذت منه .

Type of Cultures

□ أمثلة على الزراعة الثانوية Second Culture

- i. **Fibroblasts** تستمر في إفراز الكولاجين .
- ii. **الخلايا المشتقة من العضلات الهيكلية الجينية** تلتحم لتكون جزيئات عملاقة تلتحم لتكون ألياف عملاقة تنقبض تلقائياً في الـ **Culture dish**.
- iii. **الخلايا العصبية** عندها محاور ممتدة التي تنقل النبضات العصبية وتكون Synapses مع الخلايا العصبية الأخرى وبالتالي الخلايا في الـ Culture تتصرف نفس التصرف كما لو كانت في جسم الكائن الحي ، وبالتالي تصرف الخلايا التي يصعب دراستها في جسم الكائن الحي يمكن دراستها في **Culture**.

المكونات المطلوبة لزراعة الخلايا

Components of Cell Culture

□ المركبات المطلوبة لزراعة الخلايا :

(١) معلق من الخلايا يؤخذ من النسيج تحت الدراسة .

(٢) السطح الدعامي Supporting Media

- معظم خلايا الأنسجة لا تستطيع النمو والتكاثر في معلق سائل ولكن تتطلب وجود سطح دعامي (ماعدا كريات الدم البيضاء فهي تستطيع أن تنمو في معلق سائل) في هذه الحالة نستخدم طبق زراعة من البلاستيك أو من الزجاج .

(٣) العوامل التي تساعد على ملائمة الوسط لنمو الخلايا ، هذا يتم بواسطة:

(A) عوامل عامة تضاف إلى كل الـ Cell Culture.

(B) عوامل خاصة تضاف فقط لنمو أنواع معينة من الخلايا .

Cell Culture

□ العوامل التي تساعد على ملائمة الوسط لنمو الخلايا :

(1) عوامل عامة : General Factors

- البيئة المناسبة للخلايا الثديية (جدول ١) تتكون من:

جلوكوز ، أحماض أمينية ، فيتامينات ، سيروم ، مضادات حيوية (لمنع نمو البكتريا) مثل البنسلين والستريبتومايسن، فينول أحمر أو كاشف آخر يبين أي تغير في قيمة الـ PH التي يجب أن تكون عند 7.4، فإذا زادت حموضة أو قلوية بيئة الخلية **Cell Culture** تغير لون الكاشف.

- الأوعية أو الطبق المخصص للـ **Cell Culture** (Culture dish) يتم تحضينها عند ٣٧° س في جو مكون من ٥% CO₂ و ٩٥% هواء .

Cell Culture

□ العوامل التي تساعد على ملائمة الوسط لنمو الخلايا :

(٢) عوامل خاصة

- بعض الخلايا لا تنمو في الـ Cell Culture إلا إذا كان طبق الـ Culture مغطى بمكونات الـ Extracellular Matrix مثل الكولاجين .
- بعض أنواع الـ Cultures تحتاج إلى بروتين خاص أو هرمون أو عامل نمو معين التي تحتاج لها العديد من الخلايا لتنمو، مثال على هذه المواد : بعض الخلايا العصبية تحتاج لكميات قليلة من Nerve Growth Factor (NGF) لتنمو كما لو كانت في جسم كائنها الحي .

مكونات البيئة النموذجية الملائمة لزراعة الخلايا الثديية

Table 1 Composition of atypical medium suitable for the cultivation of mammalian cells

Amino Acids	Vitamins	Salts	Miscellaneous
Arginine	Biotin	NaCl	Glucose
Cystin	Choline	KCl	Penicillin
Glutamine	Folate	NaH ₂ PO ₄	Streptomycin
Histidine	Nicotinamide	NaHCO ₃	Phenol red
Isoleucine	Pantothenate	CaCl ₂	Whole serum
Leucine	Pyridoxal	MgCl ₂	
Lysine	Thiamine		
Methionine	Riboflavin		
Phenylalanine			
Threonine			
Tryptophan			
Tyrosine			
Valine			

