

Лекция 7-8. Культивирование клеток. Получение суспензионной культуры

1. Суспензионные культуры

1. Суспензионные культуры

Под *суспензионными культурами* понимают культуры, выращиваемые в жидкой питательной среде во взвешенном состоянии и состоящие из отдельных клеток и их агрегатов.

Для поддержания клеток во взвешенном состоянии при глубинном культивировании их перемешивают с помощью различных аппаратов.



Суспензионные культуры имеют множество преимуществ по сравнению с каллусной тканью, выращиваемой на агаризованной поверхности:

- более широкие возможности для изучения влияния экзогенных факторов на метаболизм и рост клеточных популяций, поскольку клетки в одинаковой степени становятся доступными для внешнего воздействия;
- надежное длительное поддержание линии вследствие простоты процессов субкультивирования;
- удобство для проведения биохимических и молекулярно-биологических исследований, а также быстрой регенерации растений;
- возможность неограниченного набора биомассы для получения БАВ.

- Для получения суспензионных культур чаще всего используют каллусную ткань рыхлого типа, которая легко фрагментируется на отдельные клетки и небольшие агрегаты при помещении ее в перемешиваемую жидкую среду. С этой целью при культивировании каллуса из среды исключают цитокинины или снижают их концентрацию, а концентрацию ауксинов увеличивают.



Клеточные суспензии обычно требуют регулярного и более частого субкультивирования, чем каллусные культуры. Часть суспензионной культуры, используемая для пересадки на свежую среду, называется ***инокулюм***.

Для каждой линии культуры клеток существует минимальный размер инокулюма, при уменьшении объема которого культура не растёт.

Суспензия никогда не бывает однородной, состоящей только из одиночных клеток. В лучшем случае последние составляют 50–60 %, остальное приходится на долю групп из 2–10 клеток и многоклеточные агрегаты.

В зависимости от степени агрегированности выделяют

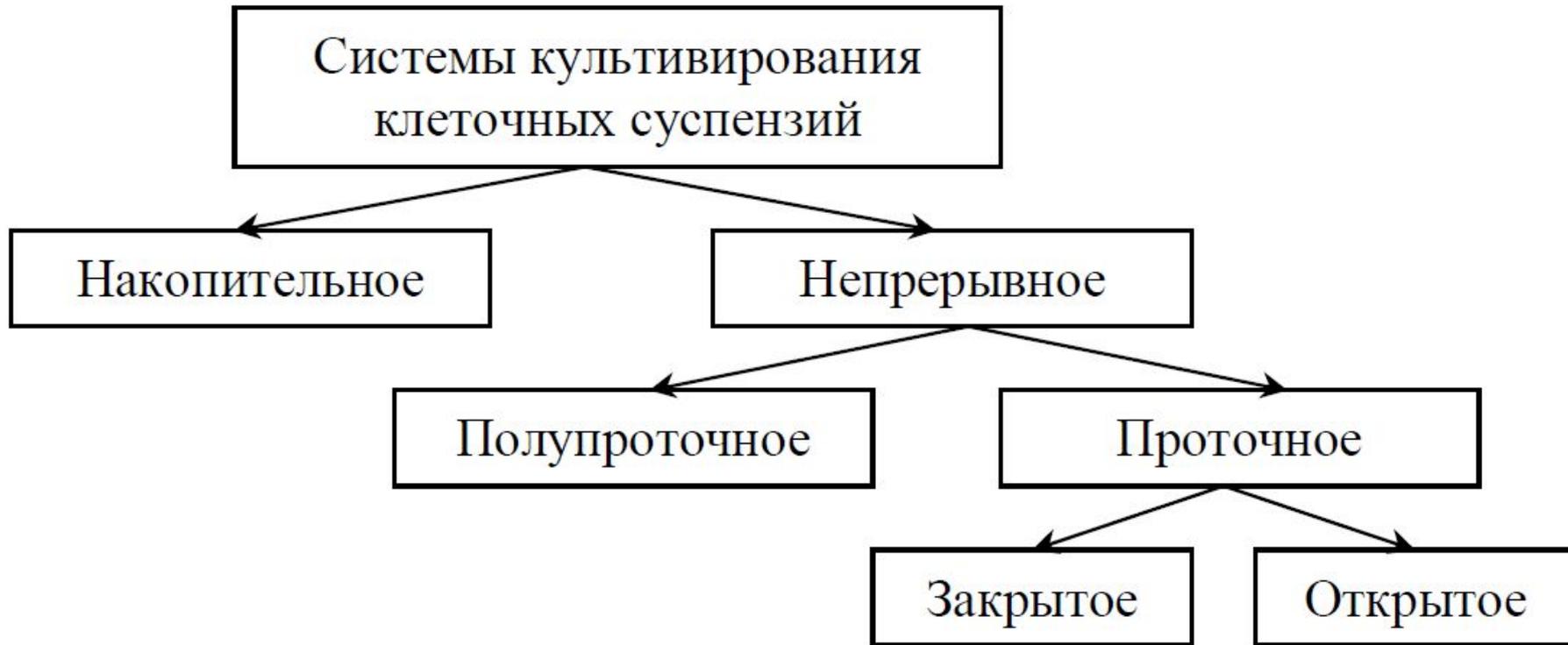
- слабоагрегированные (до 5–10 клеток),
- среднеагрегированные (более 10 клеток) и
- высокоагрегированные суспензии (более 50 клеток в агрегате).

Хорошей считается суспензия, состоящая из морфологически выравненных клеток, имеющих небольшие размеры и агрегированных в мелкие группы, включающие не более 10 клеток.



Для выращивания клеточных суспензий используют те же питательные среды, что и для каллусных культур. Однако в настоящее время создан ряд сред, предназначенных непосредственно для выращивания суспензионных культур.

Культивирование клеток в жидкой среде осуществляется несколькими способами



Наиболее простым и распространенным является накопительное или периодическое культивирование.