

Министерство образования и науки Самарской области  
государственное бюджетное профессиональное образовательное учреждение  
Самарской области «Усольский сельскохозяйственный техникум»

**Дата** 01.06.2020

**Дисциплина:** Основы микробиологии

**Преподаватель:** Торхова О.И. эл.почта: torhova1958@yandex.ru

**Специальность** 36.02.01 Ветеринария

**Курс** 2 группа 21В

**Урок** № 25 Лабораторная работа 10

**Тема:** Культивирование клеток куриных фибробласт.

**Культивирование клеток** представляет собой процесс, посредством которого *in vitro* отдельные **клетки** (или единственная клетка) **прокариот** и **эукариот** выращиваются в контролируемых условиях. На практике термин «культура клеток» относится в основном к выращиванию клеток, относящихся к одной ткани, полученных от многоклеточных эукариот, чаще всего животных. Историческое развитие технологии и методик выращивания культур клеток неразрывно связаны с выращиванием тканевых культур и целых органов.

### **Выделение клеток**

Для культивирования вне организма живые клетки могут быть получены несколькими способами. Клетки могут быть выделены из крови, но к росту в культуре способны только лейкоциты. Моноядерные клетки могут быть выделены из мягких тканей с помощью таких **ферментов**, как **коллагеназа**, **трипсин**, **проназа**, разрушающих **внеклеточный матрикс**. Кроме того, в питательную среду можно поместить кусочки тканей и материалов.

Культуры клеток, взятых непосредственно от объекта (*ex vivo*), называются первичными. Большинство первичных клеток, за исключением опухолевых, имеют ограниченный срок использования. После определённого количества делений клетки такие **стареют** и прекращают делиться, хотя могут при этом сохранить жизнеспособность.

Существуют иммортализованные («бессмертные») линии клеток, способные размножаться бесконечно. У большинства опухолевых клеток эта способность является результатом случайной **мутации**, но у некоторых лабораторных клеточных линий она приобретена искусственно, путём активации гена **теломеразы**.

## Культивирование клеток

Клетки выращивают в специальных питательных средах, при постоянной температуре. Для культур растительных клеток используется регулируемое освещение, а для клеток млекопитающих обычно необходима также специальная газовая среда, поддерживаемая в инкубаторе клеточных культур. Как правило, регулируется концентрация в воздухе углекислого газа и паров воды, но иногда также и кислорода. Питательные среды для разных культур клеток различаются по составу, pH, концентрации глюкозы, составу факторов роста и др. Факторы роста, используемые в питательных средах для клеток млекопитающих, чаще всего добавляют вместе с сывороткой крови. Одним из факторов риска при этом является возможность заражения культуры клеток прионами или вирусами. При культивировании одной из важных задач является исключение или сведение к минимуму использование заражённых ингредиентов. Однако на практике это бывает достигнуто не всегда. Наилучшим, но и наиболее дорогостоящим способом является добавление вместо сыворотки очищенных факторов роста.

Клетки можно выращивать в суспензии, либо в адгезивном состоянии. Некоторые клетки (такие, как клетки крови) в естественных условиях существуют во взвешенном состоянии. Существуют также линии клеток, искусственно изменённых таким образом, чтобы они не могли прикрепляться к поверхности; это сделано для того, чтобы увеличить плотность клеток в культуре. Для выращивания адгезивных клеток требуется поверхность, например, культура ткани, или пластик, покрытый элементами внеклеточного матрикса для улучшения адгезивных свойств, а также для стимулирования роста и дифференцировки. Большинство клеток из мягких и твердых тканей адгезивны. Из адгезивного типа культуры выделяются органотипические культуры клеток, которые представляют собой трёхмерную среду, в отличие от обычной лабораторной посуды. Эта система культивирования физически и биохимически наиболее сходна с живыми тканями, но имеет некоторые технические сложности в обслуживании (например, нуждается в диффузии). С целью обеспечения необходимых физических условий для культивирования адгезивных культур и заселения объёма внеклеточного матрикса тканеинженерных конструкций используются системы динамического культивирования на основе роторных и вихревых биореакторов, биореакторов с непосредственным на скаффолд: компрессионных биореакторов, биореакторов с механическим натяжением и гидростатическим давлением, специальных биореакторов для электростимуляции клеток и тканей, а также комбинированных биореакторов.

*Изучить и законспектировать материал. Отправить на почту преподавателю.*

**Тестовое задание для дифференцированного зачета.**

**1) К микроорганизмам, не имеющим клеточного строения, относятся:**

1. бактерии
2. вирусы
3. прионы
4. простейшие

**2) Впервые увидел бактерии:**

1. А.-В. Левенгук
2. Л. Пастер
3. И. И. Мечников
4. Р. Кох

**3) Бактерии, питающиеся за счет готовых органических соединений:**

1. аутотрофы
2. гетеротрофы
3. паразиты
4. фагоциты

**4) Бактерии, использующие для построения своих клеток диоксид углерода и другие органические соединения:**

1. гетеротрофы
2. паразиты
3. фагоциты
4. аутотрофы

**5) Нитрифицирующие бактерии являются:**

1. олиготрофами
2. фагоцитами
3. аутотрофами
4. гетеротрофами

**6) Основным регулятором поступления органических веществ в клетку является:**

1. цитоплазматическая мембрана
2. ядро
3. хлоропласты
4. плазмиды

**7) Микроорганизмы, которые приспособились в процессе эволюции к низким температурам:**

1. мезофилы
2. психрофилы

3. термофилы
4. сапрофиты

**8) Микроорганизмы одного вида или подвида, выращенные в лабораторных условиях на искусственных питательных средах:**

1. чистая культура
2. смешанная культура
3. клон
4. штамм

**9) Микроорганизмы почвы, способные получать необходимую им энергию от окисления минеральных соединений:**

1. олиготрофы
2. сапрофиты
3. автохтоны
4. автотрофы

**10) Бактерии, имеющие на одном или обоих концах тела пучок жгутиков, называются:**

1. монотрихами
2. перитрихами
3. лофотрихами
4. амфитрихами

**11) Скопления бактерий, напоминающие внешне грозди винограда, называются:**

1. стафилококками
2. сарцинами
3. стрептококками
4. диплококками

**12) В процентном соотношении вода в микробной клетке составляет:**

1. 80-90 %
2. до 50 %
3. 60-70 %
4. до 30 %

**13) При загрязнении органическими веществами в почве обнаруживают микроорганизмы:**

1. энтерококки
2. семейства кишечных бактерий
3. паратифа А и В
4. сальмонеллы

**14) Плесневый гриб, имеющий мицелий белого цвета с перегородками:**

1. шоколадная плесень
2. гроздевидная плесень
3. головчатая плесень
4. молочная плесень

**15) По окончании работы лицевые части противогазов и респираторов необходимо тщательно мыть:**

1. 0,1%-м раствором перманганата калия

2. 5-%-м раствором соды
3. 2-%-м раствором соды
4. 0,5-%-м мыльным раствором

**16) К химическим средствам дезинфекции относятся:**

1. термофильные микробы
2. фенолы и креоны
3. УФЛ
4. ультразвук

**17) Для чистой почвы коли-титр кишечной палочки должен составлять:**

1. до 50 мг
2. не более 10 мг
3. не более 1 г
4. 1-2 мг

**18) Перитрихи-это бактерии:**

1. с полярно расположенными пучками жгутиков
2. со жгутиками по всей поверхности клетки
3. не имеющие жгутиков
4. с двумя полярными жгутиками

**19) К осветительной системе биологического микроскопа не относится:**

1. конденсор
2. диафрагма
3. окуляр
4. зеркало

**20. Тест. ) К прямым санитарно-биологическим показателям эпидемической опасности почвы относятся:**

1. обнаружение яиц гельминтов и их личинок
2. обнаружение сальмонелл и бактерий паратифа А и В
3. обнаружение стафилококков и стрептококков
4. обнаружение патогенных энтеробактерий и энтеровирусов

**21) Актиномицеты-это:**

1. грибы
2. палочковидные бактерии
3. ветвящиеся бактерии
4. простейшие

**22) Антибиотикограмма - это:**

1. определение чувствительности микробов к антибиотикам
2. определение чувствительности антибиотиков к микробам
3. определение чувствительности животных к антибиотикам
4. определение чувствительности растений к антибиотикам

**23) Дезинфицирующее средство имеет бактериостатическое действие, когда оно:**

1. задерживает при определённых условиях рост микроорганизмов, но не приводит к их гибели
2. способно убить микробную клетку
3. вызывает в микробной клетке биохимические изменения

4. вызывает в микробной клетке морфологические изменения

**24) К основным группам микроорганизмов не относятся :**

1. Бактерии
2. Актиномицеты
3. Микоплазмы
4. Бациллы

**25) Отдалённая корневая микрофлора растений располагается :**

1. в радиусе 6-10 см от корней
2. в радиусе 2-3 м от корней
3. в радиусе 50 см от корней
4. в радиусе 1 м от корней

**26) Конечными продуктами разложения органических веществ анаэробными микроорганизмами являются:**

1. углекислый газ и вода
2. молочная кислота и спирт
3. клетчатка и лигнин
4. кислоты и спирты

**27) Термофилы-это бактерии, развивающиеся при температуре:**

1. 30-40 градусов
2. 0-10 градусов
3. 50-70 градусов
4. 70-80 градусов

**28) Микроорганизмы, занимающие промежуточное положение между плесневыми грибами и бактериями:**

1. дрожжи
2. плесени
3. микоплазмы
4. актиномицеты

**29) Система мероприятий по уничтожению патогенных или условно-патогенных микроорганизмов во внешней среде или на теле животного:**

1. дезинфекция
2. дезинсекция
3. дератизация
4. кварцевание

**30) Бактерии, образующие цепочку при делении кокков:**

1. микрококки
2. стрептококки
3. диплококки
4. сарцины

**31) Бактерии по типу дыхания подразделяются на:**

1. олиготрофы и сапрофиты
2. анаэрофобы и анаэрофаги
3. аэрофобы и анаэрофобы

4. аэробы и анаэробы

**32) К физическим средствам дезинфекции относятся:**

1. соли тяжелых металлов
2. термофильные микробы
3. гамма лучи и ультразвук
4. патогенные грибы

**33) Извитые бактерии, имеющие тонкие многочисленные завитки:**

1. Вибрионы
2. Спириллы
3. спирохеты
4. стрептококки

**34) Один из первых микроскопов изобрел в 1610 году:**

1. А.-В. Левенгук
2. Л. Пастер
3. Р. Гук
4. Г. Галиллей

**35) Микроорганизмы, разлагающие органические соединения растительного и животного происхождения - это:**

1. сапрофиты
2. олиготрофы
3. Аэробы
4. Анаэробы

**36) Микроорганизмы, развивающиеся на поверхности растений, называются:**

1. Бактериофагами
2. Олиготрофами
3. Эпифитами
4. актономицетами

**37) Микробы, поражающие и подавляющие растения, являются:**

1. Активаторами
2. Ингибиторами
3. Фагоцитами
4. Паразитами