

ИСТОРИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЖИВОТНЫХ КЛЕТОК

Научную основу для разработки этого метода составляет представление о клетке как основном структурном элементе живых организмов животного и растительного происхождения. Идея о том, что клетки тканей животных можно выделить из организма и затем создать условия для роста и воспроизводства их *in vitro* возникла на базе концепции, принадлежащей Клоду Бернару. Он предположил, что не только живые организмы способны сохранять постоянство внутренних условий, вне зависимости от изменений в окружающей среде. Клетка вне организма животного тоже будет стремиться поддерживать свои внутренние условия. Если различия между внутренними и внешними условиями будут незначительными, то высока вероятность роста и деления клетки. Такое понимание явления приводит к необходимости разработки сред, способных поддерживать и стимулировать рост клеток вне организма.

Чуть позже, в 1885 году, У. Ру (W. Roux) показал возможность сохранения живых тканей вне организма на практике. Он сохранял в жизнеспособном состоянии оболочку куриного эмбриона в теплом физиологическом растворе. Позднее, в 1897 г., Лёб (Loeb) поддерживал в жизнеспособном состоянии клетки крови и соединительной ткани в пробирках с сывороткой и плазмой крови. Льюнгрен (1898) показал возможность поддержания эксплантатов кожи человека в жизнеспособном состоянии в кислой среде с сохранением способности к реимплантации. Дополнительные эксперименты были проведены Джолли (1903), наблюдавшим деление клетки в висячей капле, содержащей лейкоциты саламандры, а Биб и Эвинг (1906) подтвердили это при пересадке лимфосаркомной ткани собаки.

Продолжая работы Ру, Росс Харрисон усовершенствовал методику «висячей капли». Он использовал небольшие кусочки ткани, отторгнутые от медуллярного сосуда лягушки и внедренные в ее лимфатический тромб, и выдерживал их в виде капли на нижней стороне покровного стекла, расположенного поверх углубления в предметном стекле. В 1907 г. ему удалось наблюдать с помощью такой «камеры» рост нервных клеток в течение нескольких недель; он установил, что скорость роста этих клеток составляет 20 мкм за 25 мин. Барроуз в 1910 г. вместо лимфатического тромба использовал тромб плазмы курицы с использованием того же метода.

В 1913 г. Алексис Каррель применил плазму крови, обогащенную экстрактом эмбриона. Добавка такого экстракта ускоряла рост тканей. Примененная методика обеспечивала большую вероятность успеха, чем та, которую использовали Левис (1911) и Рид (1908 г.). Рид готовила культуры клеток из костного мозга морской свинки и пыталась выращивать эксплантаты на среде определенного химического состава. Инкубация клеток сердца куриного эмбриона была начата 17 января 1912 г. Пересев клеток продолжил Эблинг. Не смотря на то, что процедуры были длительными и отягощенными многими деталями, было достигнуто многое. В частности, даже при отсутствии антибиотиков он добился успеха в пересадке клеток, используя хирургическую технику для отторжения отдельных колоний и переноса их в новые условия роста. Каррель также продемонстрировал своим коллегам научное значение тех наблюдений, которые могут быть сделаны в процессе пересадки клеток.

В ходе проделанных работ был внесен ряд поправок в рецептуру среды культивирования. В частности, Тирод модифицировал раствор Рингера и в дополнение к куриной сыворотке и эмбриональному экстракту стал использовать коагулят фибрина. Для наблюдения за делящимися клетками животных Канти в 1928 г. разработал метод

кинофотомикрографии. В этот же период был разработан дополнительный и очень существенный подход в технике работы с клетками. Имеется в виду применение трипсина для высвобождения клеток из тканевой матрицы, в которой они находятся. Однако эта методика не находила признания до тех пор, пока в 1937 г. Симмс и Стилман использовали ее для пассирования клеток между культурами плазмы. Эта методика дает возможность успешно применять в культурах индивидуальные клетки, а не ткани.

Впервые клоны клеток в культуре из одиночной клетки были получены Эрлом с сотрудниками в 1948 году. Игл (1955) систематически исследовал пищевые потребности клеток в условиях. До тех пор пока в 1961 г. Хейфлик и Мурхед не выделили линию диплоидных клеток человека (НДС) WI-38, считалось, что один раз установившаяся клеточная линия имеет неограниченное время жизни. Относительно линии WI-38 было показано, что период ее существования в культуре ограничивается приблизительно 50 удвоениями популяции. Перед отмиранием популяции для клеток этой линии характерен феномен старения. Однако при отмирании эти клетки оставались диплоидными и не имели признаков злокачественных изменений. Клетки, выделенные из раковых опухолей или трансформированные в ходе культивирования, характеризуются «бессмертностью» и коррелируют с гетеропloidностью. Первые суспензионные культуры клеток животных, как правило, основывались на клетках злокачественных тканей. Это — клетки HeLa, выделенные из раковой опухоли шейки матки человека. Перевиваемая линия карциномы шейки матки была выделена еще в 1952 году Джем с сотрудниками, она используется и в настоящее время во многих лабораториях мира.