

## محاضرة (1) : مقدمة عامة عن زراعة الخلايا و الانسجة الحيوانية

❖ ماذا يعني مصطلح زراعة الأنسجة Tissue culture ؟

زراعة الأنسجة (أو زراعة الخلايا) تعني فصل الخلايا من اي نسيج حيواني او نباتي ومن ثم استزراعها و انماؤها في بيئات صناعية ملائمة للنمو ، ايضا تشمل زراعة الأعضاء مختبريا في مزارع ثلاثية الابعاد 3D culture او استزراع الاعضاء داخل الجسم الحي organ explants . نوعية الخلايا المزروعة قد تكون خلايا مزالة من نسيج و معاملة بطرق انزيمية او ميكانيكية معينة لغرض تفكيكها و من ثم استزراعها في بيئة ملائمة للنمو او تكون خلايا مشتقة من خط خلايا cell line او سلالة خلوية cell strain . الغرض من تلك العملية هو ابقاء الخلايا المزروعة حية و قادرة على القيام بوظائفها الحيوية.

يجب التعرف على بعض المصطلحات الشائعة في علم زراعة الأنسجة الحيوانية:

### ❖ المزارع الاولية Primary culture :

تعني Primary culture المرحلة الزرعية التي تلي عملية فصل الخلايا من النسيج و اثارها تحت ظروف بيئية ملائمة الى ان تشغل الخلايا النامية كل المساحة السطحية المستخدمة للنمو ( كأن يكون طبق او دورق)، اي ان نمو الخلايا يصل الى ما يسمى ب confluent stage ويعني ان الخلايا اصبحت متماسة و مندمجة مع بعضها البعض. يجب بعد ذلك اعادة فصل و زرع الخلايا subculture في اطباق حاوية على اوساط زرعية جديدة لتتمكن من الاستمرار بالنمو. يطلق على هذه العملية ب cell passage .

### ❖ خط الخلايا Cell line :

بعد اول عملية subculture للخلايا، تسمى المزارع الاولية primary culture ب خط خلايا cell line او نسيلة فرعية subclone . تعد خطوط الخلايا المشتقة من المزارع الاولية ذات دورة حياة محددة finite life span . باستمرار عملية فصل الخلايا passage تصبح الخلايا ذات القدرة العالية على النمو و الانقسام هي السائدة مما ينتج عنه نمو ذا طراز وراثي و صفات مظهرية موحدة في مجتمع الخلايا النامية cell population .

❖ **سلالة خلوية Cell strain :**

هو الخط الخلوي الناتج من انتقاء خلايا من مزرعة خط خلوي ابوي بواسطة الاستنساخ أو بطريقة اخرى و هنا نجد أن صفات و مميزات معينة تظهر في هذه الخلايا ويمكن لهذه الخلايا أن تنمو كطبقة واحدة أو كمعلقات.

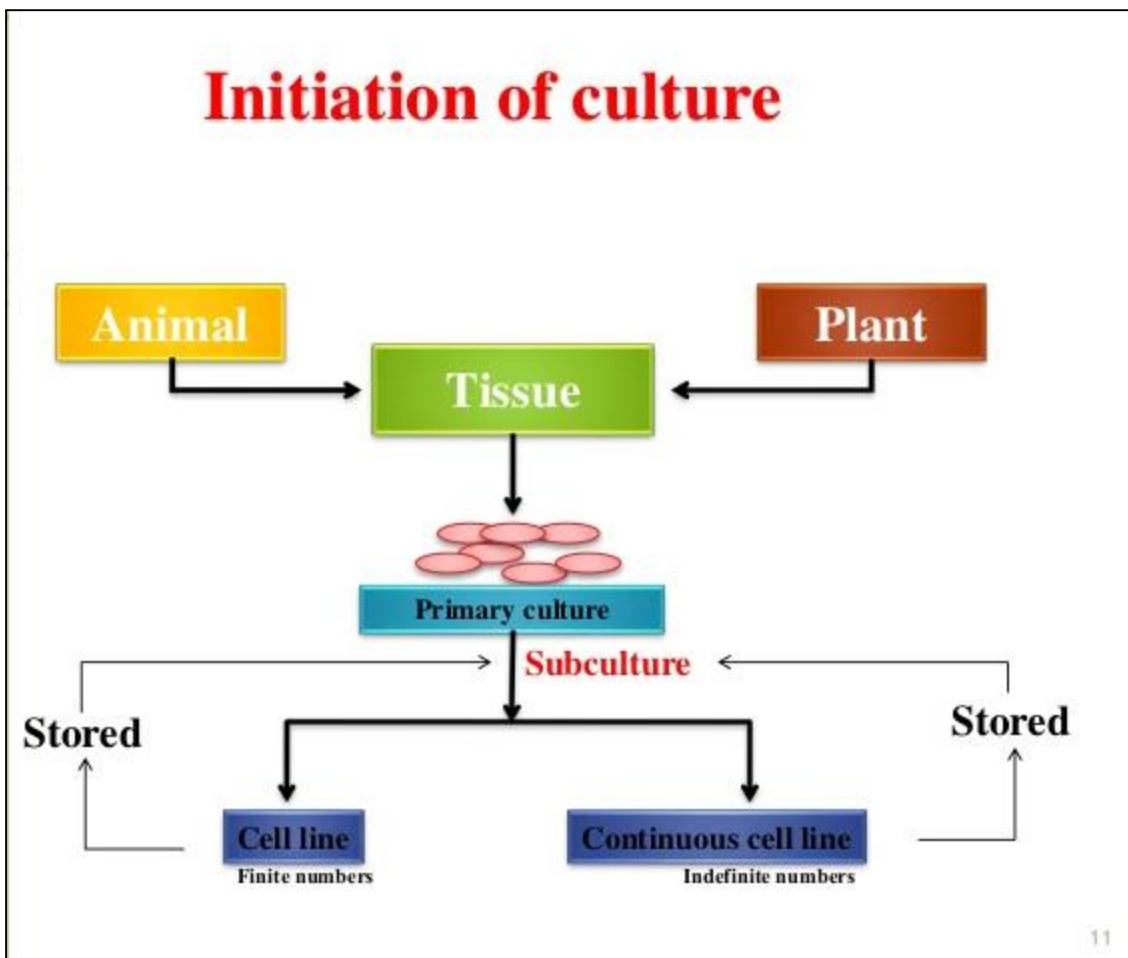
❖ تسمى مجموعة الخلايا في المزرعة المختبرية **Homogeneous population** اذا كانت الخلايا في المزرعة متجانسة المنشأ

❖ تسمى مجموعة الخلايا في الزراعة **Heterogeneous population** اذا كانت الخلايا في المزرعة متغايرة المنشأ

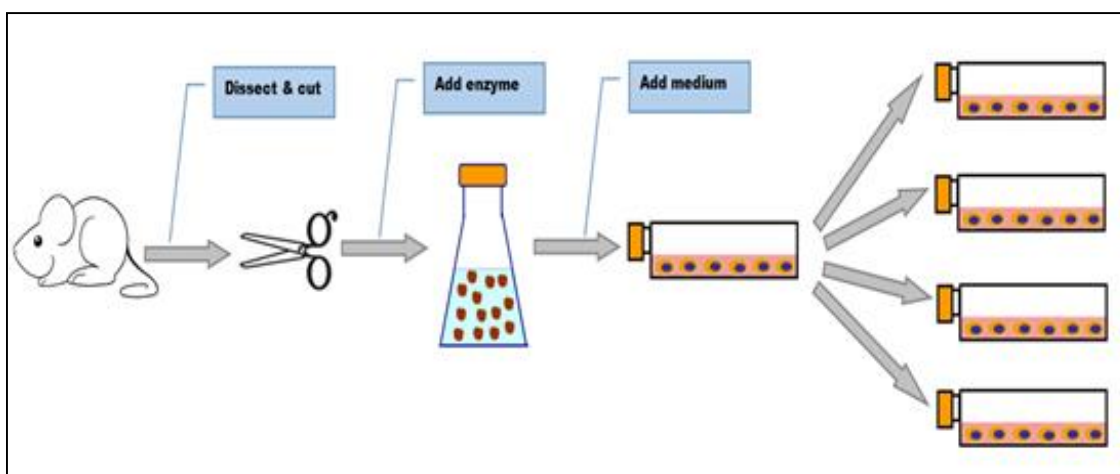
❖ **Clone** مجموعة خلايا متجانسة المنشأ نشأت من خلية أم واحدة و بالتالي تكون هذه الخلايا متطابقة وراثيا.

❖ **خطوط الخلايا محدودة النمو finite و المستمرة النمو continuous cell line:**

تمتلك الخلايا الطبيعية قدرة محدودة على النمو و الانقسام (اي انها تعاني من عدد محدد من الانقسامات الخلوية) الى ان تصل الى عمر معين تفقد فيه القدرة على الانقسام و تصل الى مرحلة الشيخوخة senescence. تسمى مثل هذه الخلايا بـ finite cell line . على الرغم من ذلك، قد تصبح بعض خطوط الخلايا معمرة immortal بواسطة عملية التحول الوراثي transformation والتي قد تحدث بصورة ذاتية او تستحث باستخدام طرق فايروسية او كيميائية معينة. تصبح خطوط الخلايا مستمرة continuous cell lines بعد عملية التحول الوراثي و التي يكسبها صفة الانقسام المستمر.



صورة (1): توضح كيفية انشاء المزارع الخلوية



صورة (2): انشاء المزارع الاولية Primary cultures

### ❖ ظروف الزرع Culture Conditions :

تتنوع ظروف زرع الخلايا بشكل واسع اعتمادا على نوع الخلايا، لكن عموما، تتمثل بيئة الزرع الاصطناعية المستخدمة في زرع الخلايا بأوعية زرع مناسبة تحتوي على وسط زرعي يوفر كل المغذيات الأساسية (متمثلة بالأحماض الأمينية، الكربوهيدرات، الفيتامينات و المعادن)، عوامل النمو، الهرمونات و الغازات (متمثلة بغازي الأوكسجين و ثاني أوكسيد الكربون)، و تكون الظروف الفيزيوكيميائية للوسط ثابتة (متمثلة بالأس الهيدروجيني، الضغط الأوزموزي و الحرارة). معظم الخلايا المستزرعة تكون ذات طبيعة ملتصقة على الأوعية الزرعية اذ يجب أن تزرع على أسطح صلبة أو شبه صلبة (تسمى خلايا ملتصقة adherent أو مزرعة أحادية الطبقة monolayer culture )، في حين تنمو بعض الخلايا بشكل معلق في الوسط الزرع suspension cultures

### ❖ تجفيد الخلايا Cryopreservation :

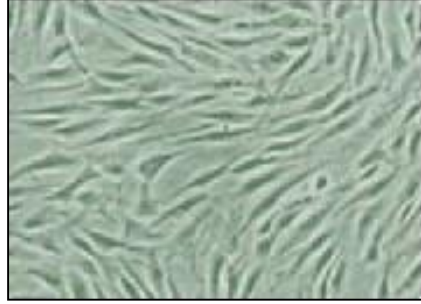
عند توفر فائض من الخلايا نتيجة إعادة الزرع المتكرر، فإن الخلايا تعامل بمادة حافظة مناسبة ( مثل ال DMSO او Glycerol ) و من ثم تحفظ في درجات حرارة منخفضة أقل من  $-130^{\circ}\text{C}$  الى حين الحاجة للاستعمال، تسمى هذه العملية بالحفظ بالتجميد Cryopreservation.

### ❖ الصفات المظهرية للخلايا في المزرعة الخلوية Cells Morphology in culture

يمكن تقسيم الخلايا في المزرعة الخلوية الى ثلاث اصناف رئيسية اعتمادا على صفاتها المظهرية Morphology في المزرعة:

#### 1. الخلايا الليفية (Fibroblastic (or Fibroblast-like) :

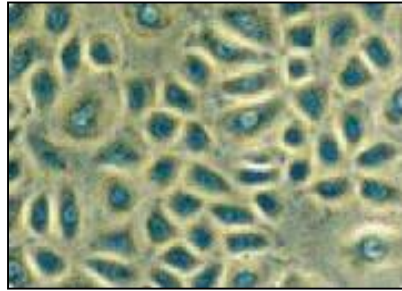
الخلايا ذات شكل مغزلي متطاول ثنائي القطب bipolar أو متعددة الأقطاب multipolar و تنمو ملتصقة adherent على الطبق الزرع.



صورة (3) الخلايا الليفية

2. الخلايا شبه الطلائية **Epithelial-like cells** :

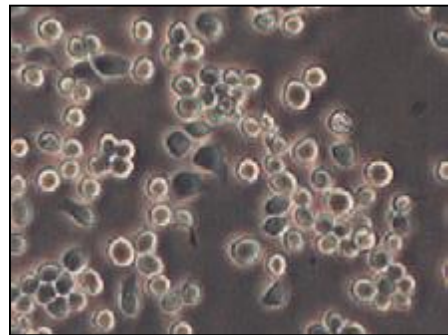
الخلايا ذات شكل متعدد الأضلاع ذو ابعاد متساوية و تنمو ملتصقة adherent على سطح الطبق  
الزرعي بشكل بقع متفرقة



صورة (4): الخلايا شبه الطلائية

3. الخلايا شبه اللمفاوية **Lymphoblast-like cells** :

الخلايا كروية الشكل و تنمو بشكل معلق خلوي suspension



صورة (5): الخلايا شبه اللمفاوية