الجلسة الأولى

الزراعة الخلوية Cell culture

بالرجوع إلى جميع المراجع العلمية نلاحظ ذكر المزرعة الخلوية بشكل متكرر ويعود هذا إلى عدة أسباب:

1- بفضل المزرعة الخلوية نستطيع الحصول على كميات هائلة من الخلايا وبطريقة سهلة المنال.

2- معظم المزارع الخلوية تحوي نوع واحد من الخلايا.

3- إمكانية دراسة واسعة لعدد كبير من نشاطات الخلية مثل الانقسام، الحركة، العبور الغشائي، تركيب الجزيئات الكبيرة.....

4- قدرة الخلايا على تمايزها في المزارع الخلوية.

5- قدرتها على الاستجابة للمعالجة الدوائية، مثل الهرمونات، عوامل النمو، ومواد أخرى فعالة.

لقد حصلت زراعة الخلايا على أهمية كبيرة في المجال الطبي، و خاصة بعد تطوير طرق عديدة لزراعة خلايا مرضى يعانون من خلل في خلايا خاصة عندهم.

أول محاولة ناجحة لزراعة خلايا حية فقارية خارج جسم الكائن الحي كان عام 1907 من قبل العالم Ross Harrison. و في غضون عشر سنوات لاحقة استطاع الباحثون الوصول إلى الشروط المثالية التي تمكن من استنبات (زراعة) الخلايا الحيوانية خارج جسم الكائن الحي، وتجنب تلوثها من قبل الميكروبات.

بالتعريف:

المزرعة الخلوية: وهي تقنية مخبريه للحفاظ على الخلايا حية في المخبر، من مختلف الأنواع والأصول، بتغيير خصائصها أو زيادة عددها للحصول على كميات كبيرة منها من أجل العمل المخبري، إن زراعة الخلية ليست غاية في حد ذاتها بل أداة لا غنى عنها لبيولوجية الخلايا حقيقية النواة.

هدف الجلسة:

1- التعرف على طرق استنبات الخلايا في المختبر (*In vitro*).

2- السماح لإنتاج الخلايا أو إعادة إنتاجها بكميات كافية من أجل استخدامها في التجارب المخبرية.

ملاحظة: الصعوبة الرئيسية في زراعة الخلية هي قابليتها للتلوث، ويجب أن يتم ذلك تحت ظروف معقمة في معظم الحالات.

1- طرق الحصول على الخلايا المزروعة:

هناك مصدرين للحصول على الخلايا

- إما الخلايا المعزولة من سوائل الجسم مثل الدم.
- أو الخلايا المعزولة من الأعضاء أو النسج التي يجب فصلها عن بعضها البعض.

❖ *حالة الخلايا السارية (مثل الخلايا الليمفاوية)*

تفصل الخلايا الجارية في السوائل باستخدام تقنية الطرد المركزي بسبب الفرق بين كثافتها، وأيضاً يمكن استخدام تقنية فرز الخلايا.

❖ *حالة الخلايا المعزولة من الأعضاء أو النسج*

يتكون العضو من مجموعة من الأنسجة، وكل نسيج مكون من مجموعة من الخلايا التي ترتبط مع بعضها ارتباطا وثيقا، مثل الأنسجة الظهارية و غيرها، ففي هذه الحالة يتم تقطيع النسيج بشكل ميكانيكي أو بشكل أنزيمي للحصول على المعلق المطلوب ومن ثم تنقيته واستخدامه في المزرعة الخلوية.

"التفكك الأنزيمي يمكن أن يحدث":

إما في 4 درجة مئوية عندها التفكك يكون بطيئاً.

أو **37** درجة مئوية في هذه الحالة التفكك يكون سريعاً، يجب في هذه الحالة مراقبة دقيقة جدا لعمل الأنزيم، لأنه إذا ترك لمدة طويلة جداً على سبيل المثال، سوف يهاجم البروتينات الغشائية للخلايا.

الأدوات والمعدات المستخدمة:

- قفازات مخبريه، نظارات واقية مخبريه، حمام مائي، أوساط الزرع، حاضنة، غرفة الزرع (Hood)، أطباق زرعيه خاصة عقيمة تسمى flasks أو أطباق بتري أو صفائح الزرع، الميكروبيبت لقياس الأحجام الصغيرة، الأوتوغلاف لتعقيم السوائل، فرن باستور لتعقيم الزجاجيات و غيرها.....

خطوات العمل:

1 - يتم الحصول على النمط الخلوي المراد تنميته في الزجاج In vitro

2 - زراعة الخلايا تحتاج إلى استخدام أطباق زرعيه خاصة عقيمة تسمى flasks أو أطباق بتري و من ثم يضاف الوسط المغذي الملائم للخلية

3 - توضع الخلايا في حاضنة ذات درجة حرارة 37 درجة مئوية و 5% CO2

4 - يتم تبديل الوسط المغذي للخلية كل 2-3 أيام و ذلك بهدف المحافظة عليها حية، و تجري هذه العملية (كما هي الخطوات 1 و 2) في غرفة الزرع التي تسمى Hood

5 - عندما تصل الخلايا النامية لمرحلة تغطية كامل السطح الذي تنمو عليه في الوسط الزرعي يكون من الضروري إجراء عملية إعادة زرع لهذه الخلايا كي تبقى حية splitting و يتم ذلك باستخدام أنزيمات هاضمة للبروتينات مثل التربسين الذي يعمل على تفكيك الوسط الرابط بين الخلايا و من ثم نأخذ جزءاً من هذه الخلايا، و يعاد زرعها على flask مناسب و هكذا يتم المحافظة على الخلايا حية لفترة أطول. يمكن أيضاً تجميد الخلايا المتبقية من عملية الـ splitting حيث تحفظ في الآزوت السائل (- 178)، و يمكن العودة إليها و زرعها عند الحاجة برفع درجة حرارتها إلى درجة حرارة الغرفة و وضعها مجدداً في flask مناسب و وسط زرعي مغذي مناسب.

2- التأكد من استمرارية الخلايا على قيد الحياة:

إما باستخدام الملونات الحيوية مثل الصباغ الأحمر المحايد الذي يتغلغل داخل الجسيمات الحالة في الخلايا الحية.
أو باستخدام ملونات أزرق التريبان الذي يتخلخل داخل الخلايا الميتة.