

[Akceptuje](#)

W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej [Polityce Prywatności](#)

[Portal](#) [Informacje](#) [Katalog firm](#) [Praca](#) [Szkozenia](#) [Wydarzenia](#) [Porównania międzylaboratoryjne](#)
[Kontakt](#)



[Laboratoria](#)
[.net](#)
[Innowacje](#)
[Nauka](#)
[Technologie](#)

[Logowanie](#) [Rejestracja](#) [pl](#)

Newsletter

[zapisz się](#)

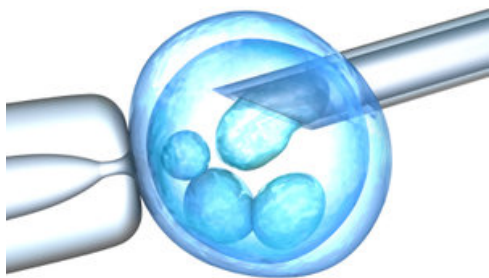


- [Nowe technologie](#)
- [Felieton](#)
- [Tygodnik "Nature"](#)
- [Edukacja](#)
- [Artykuły](#)
- [Przemysł](#)

[Strona główna](#) > [Artykuły](#)

Hodowle komórkowe - czy da się oszukać naturę?

Hodowla komórek *in vitro* polega na utrzymaniu funkcji życiowych komórek poza organizmem w sztucznie przygotowanych warunkach. Czas „życia” komórek w „pełnoprawnej” hodowli powinien przekroczyć 24 godziny. Samo sformułowanie hodowla komórek jest pojęciem dosyć ogólnym. W szerszym znaczeniu obejmuje takie kategorie jak, hodowle eksplantów - czyli wycinków tkankowych, hodowle narządowe, czy też hodowle przestrzenne/ukierunkowane stanowiące bazę do stworzenia modeli tkankowych i narządowych. W świecie hodowli komórek funkcjonują również takie pojęcia, jak pierwotne hodowle komórkowe i hodowle linii oraz szczepów komórkowych. Te dodatkowe podziały ułatwiają precyzyjniejsze określenie typu prowadzonej hodowli. [1].



Ciekawym typem hodowli komórkowych są ko kultury, czyli hodowle mieszane. Najczęściej kokulturę prowadzi się z wykorzystaniem dwóch rodzajów komórek. Przed założeniem kolokultury, poszczególne typy komórek są hodowane oddzielnie. Dopiero po ich rozhodowaniu, umieszcza się je w jednym naczyniu hodowlanym, we wspólnej pożywce. Komórki mogą pozostawać w bezpośrednim kontakcie [1], albo zostają odseparowane siatkami lub błonami, które dzielą naczynie na dwie części [2]. Płytki do hodowli komórkowych mają różną ilość dołków (od 4 do 96, wraz ze wzrostem liczby dołków zmniejsza się ich powierzchnia hodowlana). W eksperymentach kokulturowych dodatkowo zastosowanie znajdują inserty z dnem w postaci membran o różnej średnicy porów. Otwory są na tyle duże, by zapewniały wymianę substancji produkowanych przez komórki i na tyle małe, by uniemożliwiały „przechodzenie” komórek z jednej komory do drugiej[1].

W celu zapewnienia komórkom optymalnego wzrostu i rozwoju należy im dostarczyć szeregu substancji odżywczych i regulatorowych. W każdej z prowadzonych hodowli, istotne jest zachowanie odpowiedniego stosunku ilościowego poszczególnych składników kultur. Narzuca to, konieczność regularnego monitorowania przebiegu procesu hodowli. Zarówno w naturalnych jak i sztucznych komórki podlegają stałym procesom, takim jak: wzrost, dojrzewanie, proliferacja i różnicowanie. Na końcu osiągają ostateczny etap starzenia się jakim jest śmierć komórek [1], [3]. Komórki ulegają śmierci w wyniku jednego z dwóch procesów: apoptozy lub nekrozy [4].

Mini słownik

Stopień uorganizowania strukturalnego komórek stanowi ogólnie przyjęte kryterium podziału na typy hodowli. Najważniejsze pojęcia to:

- hodowla komórek stanowi najbardziej podstawowe pojęcie i odnosi się do utrzymywanych przy życiu komórek, w odpowiednich warunkach, gdzie komórki nie tworząc wyżej zorganizowanych struktur tkankowych;
- hodowla tkanek oznacza hodowlę określonej tkanki;
- hodowla narządu -uzyskuje się ją poprzez pobranie z dojrzałego organizmu całego narządu lubembrionalnych zawiązków narządów;
- hodowla pierwotna -powstaje na baziebezpośredniego pobrania materiału z organizmu (nie zależnie od tego czy są to komórkiczy tkanki);
- linia komórkowa powstaje po pasażu (przeniesieniu) części komórek pochodzących z hodowli pierwotnej do nowego naczynia hodowlanego ze świeżą pożywką;
- ustalona linia komórkowa -niezbędnym warunkiem jej otrzymania są kolejne pasáže komórkowe;
- diploidalna linia komórkowa -aby dana linia komórkowa nosiła takie miano, minimum 75% komórek musi wykazywać diploidalną liczbę chromosomów;
- heteroploidalna linia komórkowa charakteryzujesię nieograniczonym czasem wzrostu, co przekłada się na łatwość do ulegania transformacjom nowotworowym; w tym wypadku mniej niż 75% komórek posiada diploidalną liczbę chromosomów;
- szczep komórkowy w jego skład wchodzi wyłącznie wyselekcjonowane komórki o konkretnych,

pożądanych i utrwalonych cechach (takich jak: zdolności do produkcji specyficznego związku chemicznego, braku określonego enzymu, braku wrażliwości lub posiadaniu nadwrażliwości na daną toksynę, specyficzne cechy antygenowe lub ilość posiadanych chromosomów); szczep komórek można wyprowadzić z hodowli pierwotnej lub linii komórkowej np. poprzez zastosowanie odpowiednich podłoży selekcyjnych;

- klon komórkowy powstaje na drodze wielokrotnych podziałów pojedynczej komórki macierzystej, w wyniku których wyłaniają się kolejne populacje komórek o tych samych cechach;
- kokultura - hodowla, do utworzenia której niezbędne są minimum dwa typy komórek [1], [3].

Czego komórki potrzebują do życia?

Niezależnie od tego, czy komórki zostały bezpośrednio wyizolowane z żywej tkanki, czy też pochodzą z komercyjnie dostępnej linii komórkowej, należy im zapewnić odpowiednie warunki hodowlane. Nowe środowisko życia komórek, powinno jak najlepiej zastępować warunki panujące *in vivo*. Główne wymagania jakie musi spełnić hodowla komórek *in vitro* to: dostarczenie właściwych składników odżywczych, utrzymanie odpowiedniej temperatury, pH oraz wilgotności powietrza. Nie należy również zapominać o zapewnieniu sterylnych warunków [1].

Komórki zwierzęce w porównaniu do komórek bakteryjnych czy drożdżymają znacznie wyższe wymagania co do ilości i jakości składników odżywczych, dlatego też, ich wykorzystanie w hodowli jest trudniejsze. Właściwie dobrana pożywka hodowlana gwarantuje prawidłowy wzrost i różnicowanie komórek oraz ich adhezję do podłoża. Media hodowlane można podzielić na naturalne (zawierające sporą ilość niezdefiniowanych składników) oraz na pożywki o ściśle określonym składzie chemicznym [1], [5]. Do pożywek naturalnych należy zaliczyć między innymi osocze, surowicę oraz wszelkiego rodzaju wyciągi tkankowe. W procedurach laboratoryjnych, ze względów praktycznych, najczęstsze zastosowanie znajdują podłoża sztuczne. Firm handlowe oferują szereg gotowych pożywek, np. podłoże Eagle'a, Dulbecco, Hanksa oraz wiele innych. Sztuczne podłoża zawierają określone ilości takich składników jak:

- Węglowodany, aminokwasy, peptydy, białka, kwasy tłuszczowe i lipidy - pełnią funkcję substancji odżywczych, energetycznych i budulcowych. Wśród monosacharydów najczęściej dodawanym jest glukoza. Natomiast dodanie odpowiedniej ilości glutaminy stymuluje produkcję ATP.
- Sole mineralne - ich jony odpowiadają za utrzymanie właściwego ciśnienia osmotycznego, a jako kofaktory wspomagają reakcje enzymatyczne. Media hodowlane bywają wzbogacane o mikroelementy: selen, miedź, cynk i żelazo.
- Witaminy - zapewniają prawidłowe funkcjonowanie procesów metabolicznych zachodzących w komórce. Z reguły do pożywek dodaje się witaminy takie jak: ryboflawina, biotyna, czy tiamina (czyli witaminy z grupy B).

Powszechną praktykę w pracy laboratoryjnej dodawanie surowicy do podłoży podstawowych. Wzbogacenie o 5-20% surowicy gwarantuje satysfakcjonujący wzrost komórek. Atrakcyjność surowicy polega na tym, że zawiera zestawienie wielu mikro- i makrobiocząsteczek. Mieszanina ta zapewnia dostarczenie czynników i hormonów pobudzających komórki do wzrostu, czynników adhezyjnych, soli mineralnych, białek nośnikowych licznych hormonów, lipidów i węglowodanów. Właściwości surowicy przekładają się na jej rolę w zapobieganiu zmianom środowiska, np. ułatwia utrzymanie optymalnego pH, ponadto neutralizuje toksyczny wpływ ze strony metali ciężkich [1], [3]. Chcąc prowadzić hodowle komórkowe, należy zadbać o spełnienie wymagań dotyczących temperatury, stężenia CO₂ i wilgotności. Odkąd zaczęto używać inkubatorów CO₂, zapewnienie

optymalnych warunków środowiskowych stało się dziecinnie proste. Standardowe stężenie CO₂ we wnętrzu inkubatora wynosi 5% i podlega automatycznemu monitorowaniu. Właściwą temperaturę dobiera się do typu linii komórkowej. Dla większości linii komórkowych pochodzących od ssaków (w tym od ludzi) optymalna temperatura wynosi 37°C. Należy mieć na uwadze, że nawet niewielkie wahania temperatury mogą mieć negatywny wpływ na prawidłowe funkcjonowanie komórek utrzymywanych w hodowli. Również wilgotność powietrza powinna być utrzymywana na wysokim i stałym poziomie. Dodatkowo odpowiedni inkubator warunkuje utrzymanie właściwego pH pożywki. [3].

Właściwie wyposażony pokój hodowlany powinien zawierać komorę z laminarnym przepływem powietrza. Ten element gwarantuje zachowanie sterylnych warunków pracy z komórkami. Komory laminarne są zaopatrzone w filtry, przez które przechodzi powietrze zanim dostanie się do jej wnętrza. Filtry zatrzymują bakterie oraz zarodniki grzybów, co w ogromnej mierze zapobiega zainfekowaniu hodowli komórkowych. Wśród fizycznych metod, z powodzeniem zastosowanie znajdują promieniowanie ultrafioletowe - UV (ang. ultra violet). Wykorzystuje się lampy UV o długości fal 365 nm lub 245 nm. Promieniowanie UV jest czynnikiem mutagennym, który dodatkowo hamuje podziały komórkowe bakterii, ponieważ zostaje absorbowane przez kwasy nukleinowe i białka. Przy pomocy lamp UV najczęściej dezynfekuje się powietrze oraz boksy hodowlane. Stosuje się również szereg środków chemicznych w celu zniszczenia drobnoustrojów bytujących w obrębie przedmiotów, znajdujących się na wyposażeniu laboratorium. Do najczęściej stosowanych należą: aldehydy (np. aldehyd glutarowy), alkohole (np. 70-80% etanol, izopropanol), chlor, fenole oraz związki powierzchniowo czynne. Środki te wykazują różne działanie, mogą: uszkodzić błonę komórkową, doprowadzić do koagulacji białek lub uszkodzić kwasy nukleinowe mikroorganizmów [1].

Ponadto standardowo do pożywek dodawane są antybiotyki (penicylina, streptomycyna, chloramfenikol, mykostatyna). Zadanie antybiotyków polega na zabezpieczeniu hodowli komórkowych przed rozrostem bakterii i grzybów [1].

Jaki system prowadzenia hodowli wybrać?

Prowadzenie hodowli komórkowych jest obwarowane licznymi procedurami. Dobrze przeprowadzone badania z udziałem komórek, powinno wpisywać się w pewien, ogólnie przyjęty schemat postępowania. Do uzyskania spójnych, wiarygodnych i powtarzalnych wyników, niezbędnym elementem jest przygotowanie przemyślanego planu badań, jeszcze przed rozpoczęciem pracy w laboratorium [1].

Obecnie producenci oferują szeroką gamę naczyń hodowlanych do wysiewania i namnażania komórek. W praktyce najczęściej stosuje się plastikowe butelki hodowlane z płaskim dnem. W zależności od potrzeb inkubacja może być otwarta lub zamknięta. Taką dwojakość rozwiązań zapewnia konstrukcja korka, który posiada dwa otwory. Na małą skalę, komórki można również hodować na płytkach z dołkami o różnej średnicy. Czasami powierzchnię naczyń powleka się warstwą agaru, agarozы lub kolagenu. Warstwa kolagenu zwiększa przyczepność komórek nabłonkowych do podłoża. Z kolei, zastosowanie agaru może utrudnić przyczepianie się komórek. To powoduje tworzenie się agregatów, np. w hodowli komórek hematopoetycznych [1]. Opracowano technikę, w której pokrycie dna stanowią same komórki (z języka angielskiego - feeder layer). W tej technice wykorzystuje się zazwyczaj fibroblasty, stanowiące warstwę odżywczą dla komórek, które w innych warunkach słabo proliferują [6].

Tkanki lub komórki, w zależności od ich naturalnych zdolności do wzrostu, można kultywować w postaci zawiesiny lub po związaniu ze stałym podłożem. Poniżej przedstawiono krótki opis wybranych systemów hodowli:

- Hodowle w systemie monolayer – komórki rosną przyczepione do podłoża tworząc pojedynczą warstwę, do uzyskania stanu konfluencji, czyli do momentu, w którym pokryją całą powierzchnię naczynia.
- Hodowle w zawieszynie – komórki pozostają stale rozproszone, poprzez stworzenie warunków, które zapobiegają ich adhezji do podłoża.
- Hodowla na mikronośnikach – polega na wprowadzeniu do hodowli zawieszinowej mikronośników dla komórek np. kulek dekstranowych. Dzięki temu systemowi możliwe jest szybkie namnażanie komórek, na skalę masową.
- Hodowle w rolerze – w tej technice medium hodowlane pozostaje w ciągłym ruchu, co zmniejsza zużycie pożywki w porównaniu z zastosowaniem systemu stacjonarnego [1], [3].

Nie zależnie od wybranego systemu hodowli, komórki po dziesiątym podwojeniu swojej populacji można zamrozić. Najważniejsza zasada tego procesu to: zamrażanie komórek powinno być wielostopniowe. Optymalny spadek temperatury wynosi 10C w ciągu minuty. W ciekłym azocie zamrożone linie komórkowe można najdłużej przechowywać (w temperaturze: -1960C). Przed samym zamrożeniem, komórki należy umieścić w medium krioprotekcyjnym, którego zadanie polega na ochronie struktur komórkowych w trakcie zamrażania. Do najczęściej stosowanych krioprotektantów należą: mieszaniny glicerolu lub dimetylosulfotlenku - DMSO (ang. dimethyl sulfoxide) z surowicą. Zamrożone komórki w każdej chwili można rozmrozić. W tym celu stosuje się np. łaźnię wodną. Wynika to z faktu, że najważniejszą zasadą przy rozmrażaniu komórek jest to, że komórki powinny podlegać szybkiemu rozmrażaniu. Świeżo rozmrożone komórki należy umieścić w nowym medium hodowlanym [1] [6] .

Niezmienne prawa natury

Wszystkie organizmy wielokomórkowe łączy wspólna cecha, jaką jest proces starzenia. Zjawisko to wiąże się ze stopniowym, postępującym z upływem czasu spadkiem wydajności procesów funkcjonalnych. Starzenie definiuje się na wiele różnych sposobów. W oparciu o definicję strukturalno-funkcjonalną, proces ten należy rozumieć jako ograniczenie prawidłowych funkcji komórek do jakich dochodzi w wyniku, nagromadzenia się charakterystycznych zmian ich fenotypu zachodzącym wraz z wiekiem. Proces ten nie został w pełni poznany i zdefiniowany. Podobnie jak w przypadku wielu innych procesów zachodzących w żywych komórkach, problem starzenia się komórek tłumaczy się w oparciu o informacje zawarte w genomie. Jedna z teorii wskazuje, iż istnieje genetyczny program komórkowy, odpowiedzialny za kontynuację programu rozwoju embrionalnego [7].

Zapewnienie kulturze, nawet najbardziej zbliżonych do naturalnych warunków hodowlanych, nie sprawi, że prawidłowe komórki będą kontynuowały swój wzrost bez końca. Dzieje się tak, ponieważ komórki podlegają starzeniu replikacyjnemu. W trakcie tego procesu następuje wyczerpanie zdolności komórek do podziałów oraz trwałe zatrzymanie cyklu komórkowego. W tym wypadku długość życia i okres starzenia się komórek wyznacza liczba podziałów, a nie czas kalendarzowy. Chromosomy zakończone są telomerami, czyli powtarzającymi się sekwencje nukleotydów - TTAGGG. Powszechnie uznaje się, że starzenie replikacyjne postępuje w wyniku stopniowego skracania telomerów, po każdym kolejnym podziale komórkowym. W sytuacji gdy skrócenie telomerów przekroczy określoną krytyczną wartość, DNA ulega uszkodzeniu. Komórka z wadliwym materiałem genetycznym dochodzi do punktu kontrolnego regulowanego przez białko p53, gdzie cykl komórkowy zostaje zatrzymany. Zarówno komórki ludzkie jak i zwierzęce utrzymywane w hodowli posiadają ograniczoną zdolność do dzielenia się [8], [9].

Poza czynnikami stymulującymi proliferację, komórki potrzebują sygnałów pochodzących od innych

komórek również do przeżycia. W momencie, gdy komórki zostaną pozbawione takich czynników przeżyciowych, następuje aktywacja śródkomórkowego programu samobójczego. W efekcie komórki giną na drodze apoptozy, w tak zwanym procesie programowanej śmierci [4]. Apoptoza jest procesem fizjologiczny, warunkującym prawidłowe funkcjonowanie organizmu już na etapie rozwoju embrionalnego i w trakcie całego okresu życia organizmu. Proces apoptozy rozpoczyna się od odizolowania pojedynczej komórki od otoczenia, co jest jednoznaczne z utratą wszelkich połączeń między komórkowych. Istotnym etapem w procesie programowanej śmierci jest cięcie DNA na odcinki o długości odpowiadające rozmiarom nukleosomu (ok. 180-200 pz.). Kolejnymi etapami następującymi po sobie są: kondensacja chromatyny, fragmentacja jądra oraz obkurczenie cytoplazmy. Końcowym etapem procesu jest formowanie ciałek apoptotycznych, czyli struktur utworzonych w wyniku fragmentacji cytoplazmy i rozdziału organelli komórkowych. Ciałka apoptotyczne podlegają procesowi fagocytozy, co zapobiega wywołaniu odczynu zapalnego. W wyniku apoptozy komórka zmniejsza swoją objętość. Odwrotnie niż w przypadku apoptozy, nekroza (martwica) wiąże się ze zwiększeniem rozmiarów komórki. Martwica to proces patologiczny. W wyniku nekrozy dochodzi do negatywnych zjawisk takich jak uwolnienia składników komórkowych, w tym enzymów litycznych. W związku z czym sąsiednie komórki ulegają uszkodzeniu. Nekrotyczna śmierć komórek powoduje szerzenie się procesu zapalnego [4], [8], [9].

W kontekście zjawisk występujących naturalnie w komórkach należy również wspomnieć o transformacji komórek. Zjawisko to określa się jako, utratę zdolności komórek do regulacji procesów wzrostu i różnicowania się. Cechami charakterystycznymi komórki transformowane charakteryzują się między innymi intensywnymi podziałami oraz utratą tak zwanego zahamowania kontaktowego (zahamowanie ruchu i podziałów komórek, po zetknięciu się ze sobą błonami komórkowymi) [10]. Kolejnym zjawiskiem występującym w tego typu komórkach są zaburzenia chromosomowe. Nagromadzenie niekorzystnych mutacji w komórce prowadzi do inaktywacji genów supresorowych lub aktywacji protoonkogenów. W konsekwencji czego dochodzi do powstania „nieśmiertelnej” komórki nowotworowej. Komórka nowotworowa nabiera cech „nieśmiertelność” dzięki aktywności telomerazy (o charakterze rybonukleoproteiny). Enzym ten odbudowuje fragmenty telomerów, które zostały utracone w trakcie podziałów komórkowych [8], [9].

Jakie możliwości stwarza prowadzenie hodowli komórkowych?

Na dzień dzisiejszy stan wiedzy w takich dziedzinach jak, biologia molekularna, genetyka, biologia komórki, cytogenetyka, immunologia, wirusologia, onkologia, hematologia, a także szeroko pojęta biotechnologia sprawia, że hodowle komórkowe stają się podstawowym „narzędziem” w codziennej pracy naukowców na całym świecie. Główne korzyści wynikają przede wszystkim z możliwości namnażania komórek i łączenie ich ze sobą. Hodowle prowadzone w warunkach *in vitro* pozwalają na modyfikowanie komórek w obrębie ich materiału genetycznego [1]. Transfer DNA jest możliwy przy pomocy takich technik inżynierii genetycznej jak: elektroporacja, mikroiniekcja lub lipofekcja [11]. Umiejętność pracy z hodowlami komórkowymi, wspartej wiedzą teoretyczną gwarantuje szeroki wachlarz możliwości, co do ich praktycznego wykorzystania. Należą do nich m.in.:

- badanie przebiegu procesu cyklu komórkowego i funkcjonowania aparatu genetycznego komórek,
- analiza kierunku różnicowania się oraz rozwoju komórek macierzystych,
- pozyskiwanie przeciwciał monoklonalnych, a także opracowywanie nowych testów do celów diagnostycznych w oparciu o reakcje z udziałem przeciwciał,
- analiza kariotypu komórek pacjentów, mająca na celu postawienie diagnozy w obrębie chorób u podłoża których leżą aberracje chromosomowe,
- produkowanie szczepionek,
- pobieranie fragmentów skóry z autologicznych komórek pacjenta, ich namnożenie i uzupełnienie

- ubytków skóry powstałych w wyniku rozległych oparzeń,
- badanie sposobu wzajemnych oddziaływań na siebie komórek różnych typów, np. ocena skutków pod kątem zmiany profilu ekspresji genów,
 - namnażanie wirusów, w szerszej perspektywie rozpoznawanie zakażeń wirusowych,
 - ocena wpływu substancji toksycznych, rakotwórczych, regulacyjnych i leków na komórki pochodzące z różnych tkanek,
 - wykorzystywanie komórek do produkcji substancji biologicznie czynnych, takich jak insulina, interferon lub hormon wzrostu [1], [12].

Jako cel współczesnej inżynierii tkankowej stawia się utworzenie modeli *in vitro* o przybliżonych warunkach do tych, jakie panują w żywym organizmie (*in vivo*). Sytuacja, w której monowarstwa jednego rodzaju komórek porasta dno naczynia hodowlanego, nie odzwierciedla w pełni naturalnego stanu, ponieważ komórki pozostają w odizolowaniu od komórek sąsiednich tkanek (brak interakcji pomiędzy komórkami różnego typu). Być może to właśnie stosowanie kokultur umożliwi zachowanie funkcji, specyficznych dla danej tkanki. W związku z czym, kokultury komórkowe są coraz częściej stosowane jako model *in vitro* [1]. Nieustanny rozwój nauki stwarza szereg nowych możliwości. Innowacyjność rozwiązań ułatwia tworzenie coraz bardziej skomplikowanych i uorganizowanych struktur komórkowych [13].

Autor: Agnieszka Gudek

Literatura

1. Stokłosowa S. red. Hodowla komórek i tkanek. Warszawa: PWN; 2004: 1-5, 10, 12, 22-23, 36, 45-50, 53-59, 90-96, 131, 146-150, 164, 512-115.
2. Jónsson S.R., LaRue R.S., Stenglein M.D., Fahrenkrug S.C., Andresdóttir V., et al. The Restriction of Zoonotic PERV Transmission by Human APOBEC3G. Public Library of Science ONE 2007; 2(9): e893.
3. Mather J.P., Roberts P.E. Introduction to cell and tissue culture: theory and technique. New York: Plenum Press; 1998: 181-186, 189, 191-193.
4. Warzych E., Lechniak D. Apoptoza w oogenezie i wczesnym rozwoju zarodkowym ssaków. Biotechnologia 2005; 68 (1): 172-182.
5. Davis J.M. Basic cell culture. New York: Oxford University Press; 2002: 69-106.
6. Freshney R.I. Culture of animal cells: manual of basic technique. New York: Wiley-Liss 2005: 89-104 media, 321-334.
7. Myśliwski A., Kmieć Z. Starzenie się w aspekcie komórkowym. Postępy Biologii Komórki 1999; 26 (13): 1-68.
8. Stępień A., Izdebska M., Grzanka A. Rodzaje śmierci komórki. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2007; 61: 420-428.
9. Ricci M.S., Zong W.X. Chemotherapeutic approaches for targeting cell death pathways. Oncologist 2006; 11: 342-357.
10. Crane M. S. Mutagenesis and cell transformation in cell culture. Methods in Cell Science 1999; 29: 245-253.
11. Wawrzyńska M., Bednarczyk M. Modyfikacje genetyczne komórek zarodkowych ptaków. Medycyna Weterynaryjna 2007; 63 (9): 1030-1033.
12. Olszewska-Słonina D.M., Drewa T.A., Styczyński J., Czajkowski R. Hodowla komórek, inżynieria tkankowa i medycyna regeneracyjna. Część II. Wiadomości lekarskie 2006; 59(9-10): 732-737.
13. Piekarowicz A. Podstawy wirusologii molekularnej. Warszawa: PWN; 2004: 127-130, 340-349, 364-366.

<http://laboratoria.net/arttykul/13663.html>

Informacje dnia: [Nowy wskaźnik zwiększający ryzyko arytmii komorowej](#) [Nowa metoda odzyskiwania pierwiastków ziem rzadkich](#) [Publikowanie filmików płaczących dzieci to forma cyberprzemocy](#) [W poszukiwaniu furtek w prawie zamówień publicznych](#) [Na terenie Polski żyje ok. 45 tysięcy par bocianów](#) [Nadciśnienie wcześniej uszkadza nerki](#) [Nowy wskaźnik zwiększający ryzyko arytmii komorowej](#) [Nowa metoda odzyskiwania pierwiastków ziem rzadkich](#) [Publikowanie filmików płaczących dzieci to forma cyberprzemocy](#) [W poszukiwaniu furtek w prawie zamówień publicznych](#) [Na terenie Polski żyje ok. 45 tysięcy par bocianów](#) [Nadciśnienie wcześniej uszkadza nerki](#) [Nowy wskaźnik zwiększający ryzyko arytmii komorowej](#) [Nowa metoda odzyskiwania pierwiastków ziem rzadkich](#) [Publikowanie filmików płaczących dzieci to forma cyberprzemocy](#) [W poszukiwaniu furtek w prawie zamówień publicznych](#) [Na terenie Polski żyje ok. 45 tysięcy par bocianów](#) [Nadciśnienie wcześniej uszkadza nerki](#)

Partnerzy