

# ПОЛЕЗНЫЕ ЗАМЕТКИ

Улучшение функциональности CO<sub>2</sub>-инкубаторов Thermo Scientific благодаря технологическим особенностям.



# ВОПРОС

## Какие параметры инкубации наиболее важны для правильного роста и экспрессии клеток?

Важны все параметры. Правильные температура, концентрация газа (CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>) и влажность взаимодействуют для обеспечения оптимальных условий роста клеток. Быстрое восстановление заданных параметров представляет собой критический фактор во всех случаях, когда необходимо имитировать условия *in vivo*.

Задача размещения клеток в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при температуре тела (37 °C/98,6 °F) очевидна: клетки млекопитающих лучше растут при естественной для них температуре. Углекислый газ CO<sub>2</sub> служит для поддержания уровня pH *in vivo*, аналогично функции CO<sub>2</sub> в кровотоке. Высокая влажность предотвращает испарение влаги из питательной среды. Все эти параметры действуют совместно с целью получения нормальных клеток, которые корректно экспрессируют белки. Правильное культивирование особенно важно для чувствительных стволовых клеток.

Каждый раз, когда открывается дверь CO<sub>2</sub>-инкубатора, оптимальные условия внутри инкубатора нарушаются обменом атмосферой с окружающей средой. После закрывания двери CO<sub>2</sub>-инкубатор восстанавливает предустановленные параметры внутренней среды. Таким образом, период нахождения клеток в заданных методикой условиях зависит от того, насколько длительно и часто открывалась дверь CO<sub>2</sub>-инкубатора, а также от конструкции и инженерных решений, используемых в оборудовании. Различные технологии и конструктивные особенности могут давать в итоге существенно отличающееся время восстановления рабочих параметров CO<sub>2</sub>-инкубатора. Технология активного воздушного потока THRIVE™ Thermo Scientific™ в сочетании с двумя датчиками температуры, высокотехнологичным датчиками концентрации CO<sub>2</sub> и уникальным закрытым встроенным резервуаром для поддержания влажности предназначена для восстановления всех рабочих параметров внутри камеры CO<sub>2</sub>-инкубатора в течение всего 10 минут после открытия двери на 30 секунд.



# Почему необходимо учитывать все параметры?

## Различные технологии дают разные результаты

Хотя CO<sub>2</sub>-инкубаторы могут выглядеть одинаковыми снаружи, их внутренние конструкционные особенности могут оказывать существенное влияние на результаты. Конструкция датчика измерения концентрации углекислого газа и его расположение внутри камеры, локализация точки подачи CO<sub>2</sub>, скорость и направление воздушного потока и кропотливая инженерная работа – все это обеспечивает идеальные условия для роста и поддержания здоровья клеток.

## Температура

Клеточные функции очень чувствительны к температуре. Например, куриные зародыши демонстрируют высокую смертность при отклонении температуры всего на 1 °C<sup>1</sup>. Метаболизм и рост замедляются при низких температурах. Таким образом, важную роль играет быстрое восстановление значения температуры до заданного значения после открытия двери, но также важно не допускать превышения заданной температуры, поскольку высокие температуры оказывают даже более пагубное воздействие на клетки и их жизнеспособность.

## Концентрация CO<sub>2</sub>

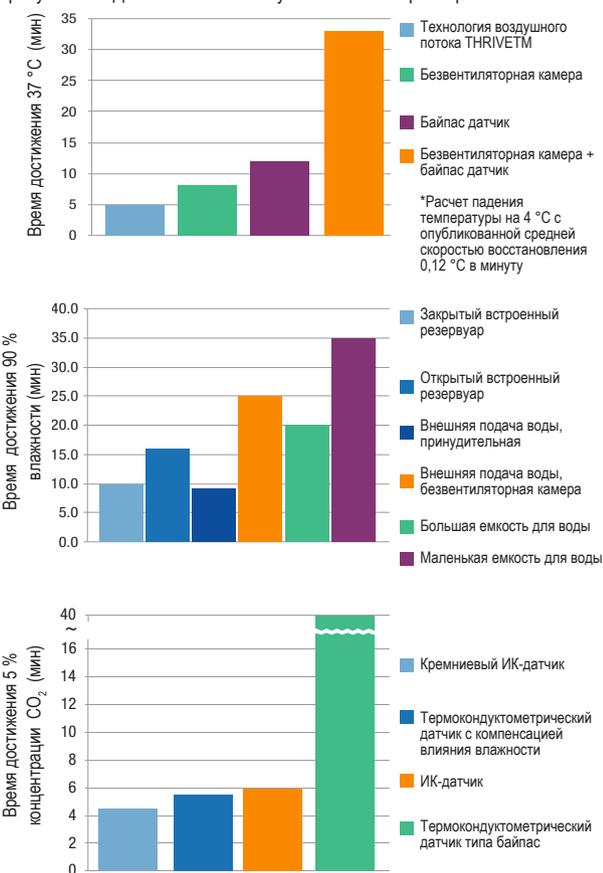
CO<sub>2</sub> действует совместно с бикарбонатом натрия для поддержания нейтрального pH 7,4 в питательной среде. Эти условия имитируют биохимию кровотока. Когда уровень pH отклоняется от нейтрального, клетки в первую очередь прекращают расти и утрачивают жизнеспособность. Необходимо проводить осмотр клеточных культур, поскольку несоответствующий pH может вызывать морфологические изменения, в частности, появление вакуолей в цитоплазме или гранул вокруг ядер.

## Влажность

Человеческий организм содержит примерно 60 % воды, а внутренние органы - 75-80 %<sup>2</sup>. При инкубации клеточных культур сбалансированная питательная среда обеспечивает влагу и питательные вещества для жизни и роста клеток. Влажность рабочей атмосферы CO<sub>2</sub>-инкубатора на уровне 85-95 % препятствует испарению влаги из питательной среды. Испарение вызывает повышение концентрации солей, минералов и т.д., что приводит к токсичности и гибели клеток. Высокая влажность представляет собой наиболее сложное для восстановления условие, но играет крайне важную роль, поскольку при влажности 80 % испарение происходит в 4 раза быстрее, чем при влажности > 93 %<sup>3</sup>.

## Рисунок 1: Влияние конструкционных особенностей CO<sub>2</sub>-инкубатора на восстановление рабочих параметров

Сравнение скорости восстановления (А) температуры (в пределах влажности 98 % от 37 °C), (В) влажности (до > 90 %) и (С) концентрации CO<sub>2</sub> (в пределах влажности 98 % от 5 % CO<sub>2</sub>) после открытия двери на 30 секунд. Различные технологии дают существенно различающиеся результаты. Данные взяты из опубликованных брошюр.



### Список использованных источников:

1. Poultry Hub: Physiology and Incubation. <http://www.poultryhub.org/most-popular/incubation>
2. Mitchell HH et al. The chemical composition of the adult human body and its bearing on the biochemistry of growth. J Biol Chem. 158:625, 1945.
3. Esser P and Weitzmann L. Evaporation from cell culture plates. Thermo Fisher Scientific TILSPNUNCBU02 0111, 2011.

## Краткие выводы

Температура, концентрация углекислого газа и влажность совместно действуют в целях имитации условий in vivo. Активный воздушный поток THRIVE Thermo Scientific, современные высокотехнологичные датчики внутри камеры и особенности конструкции способны восстанавливать все рабочие параметры в течение 10 минут или меньше (после открытия двери на 30 секунд).

000 «Диаэм»

Москва

ул. Магаданская, д. 7, к. 3 ■ тел./факс: (495) 745-0508 ■ sales@dia-m.ru

www.dia-m.ru

С.-Петербург  
+7 (812) 372-6040  
spb@dia-m.ru

Новосибирск  
+7(383) 328-0048  
nsk@dia-m.ru

Воронеж  
+7 (473) 232-4412  
vrn@dia-m.ru

Йошкар-Ола  
+7 (927) 880-3676  
nba@dia-m.ru

Красноярск  
+7(923) 303-0152  
krsk@dia-m.ru

Казань  
+7(843) 210-2080  
kazan@dia-m.ru

Ростов-на-Дону  
+7 (863) 303-5500  
rnd@dia-m.ru

Екатеринбург  
+7 (912) 658-7606  
ekb@dia-m.ru

Кемерово  
+7 (923) 158-7653  
kemerovo@dia-m.ru

Армения  
+7 (094) 01-0173  
armenia@dia-m.ru

