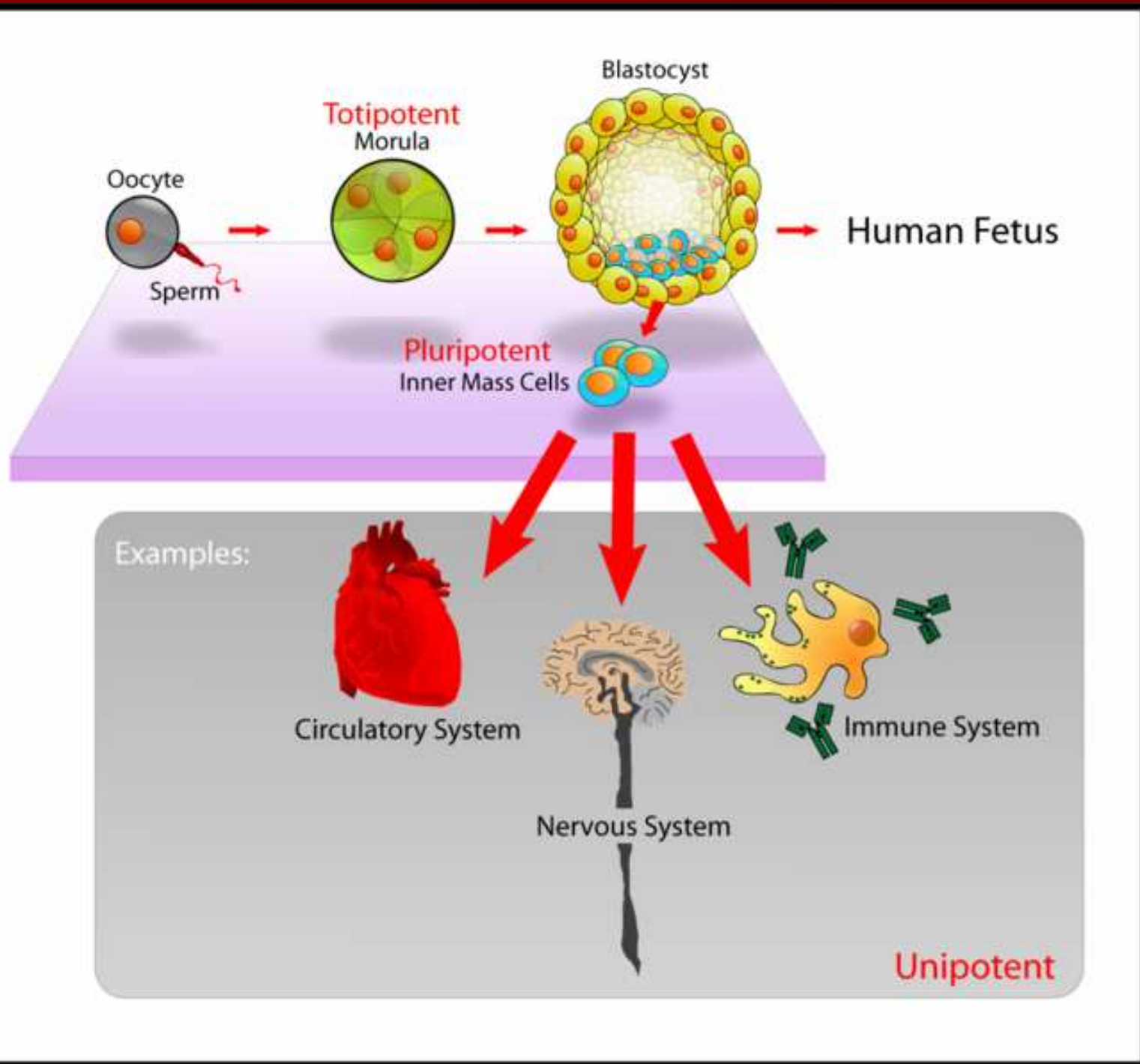
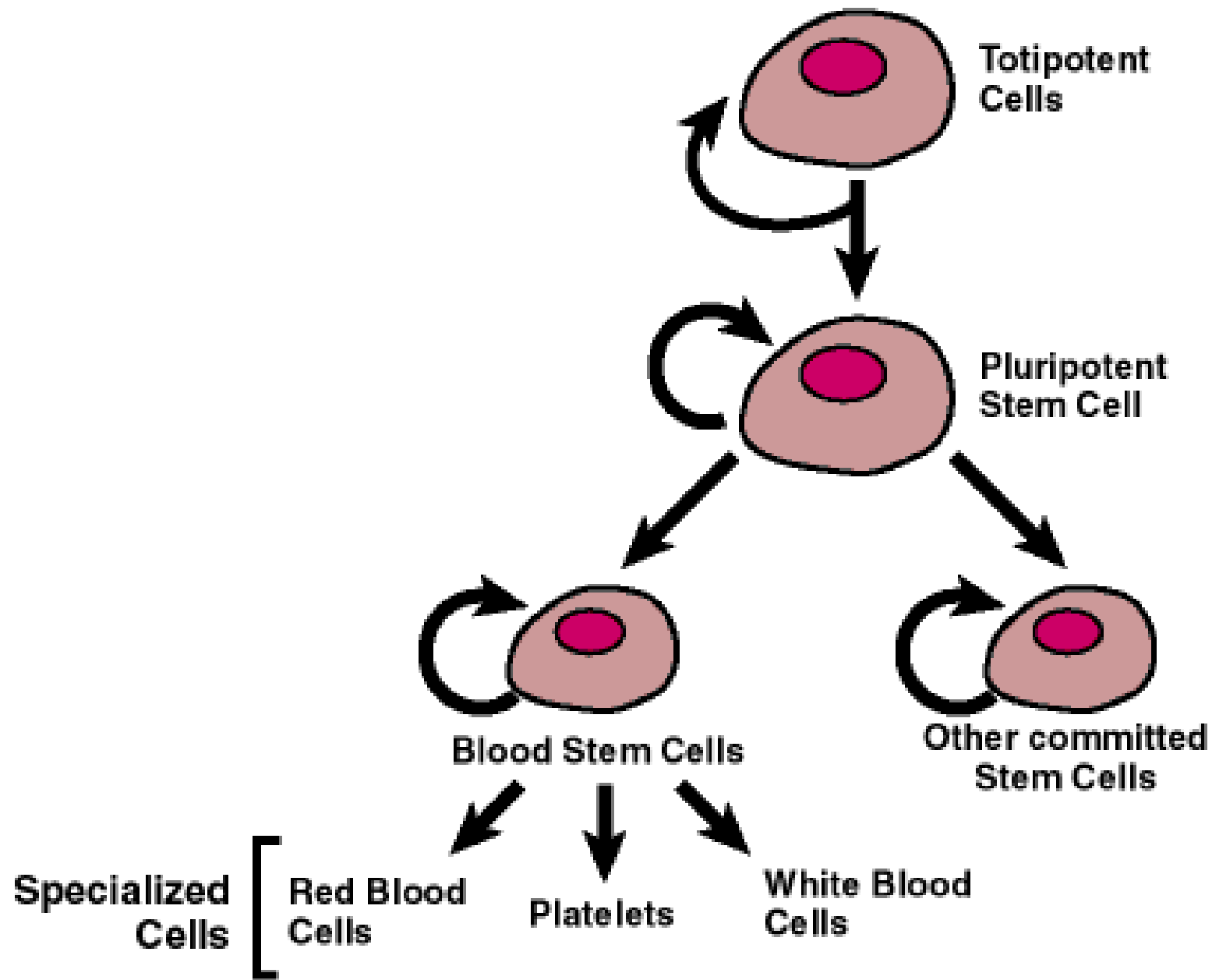
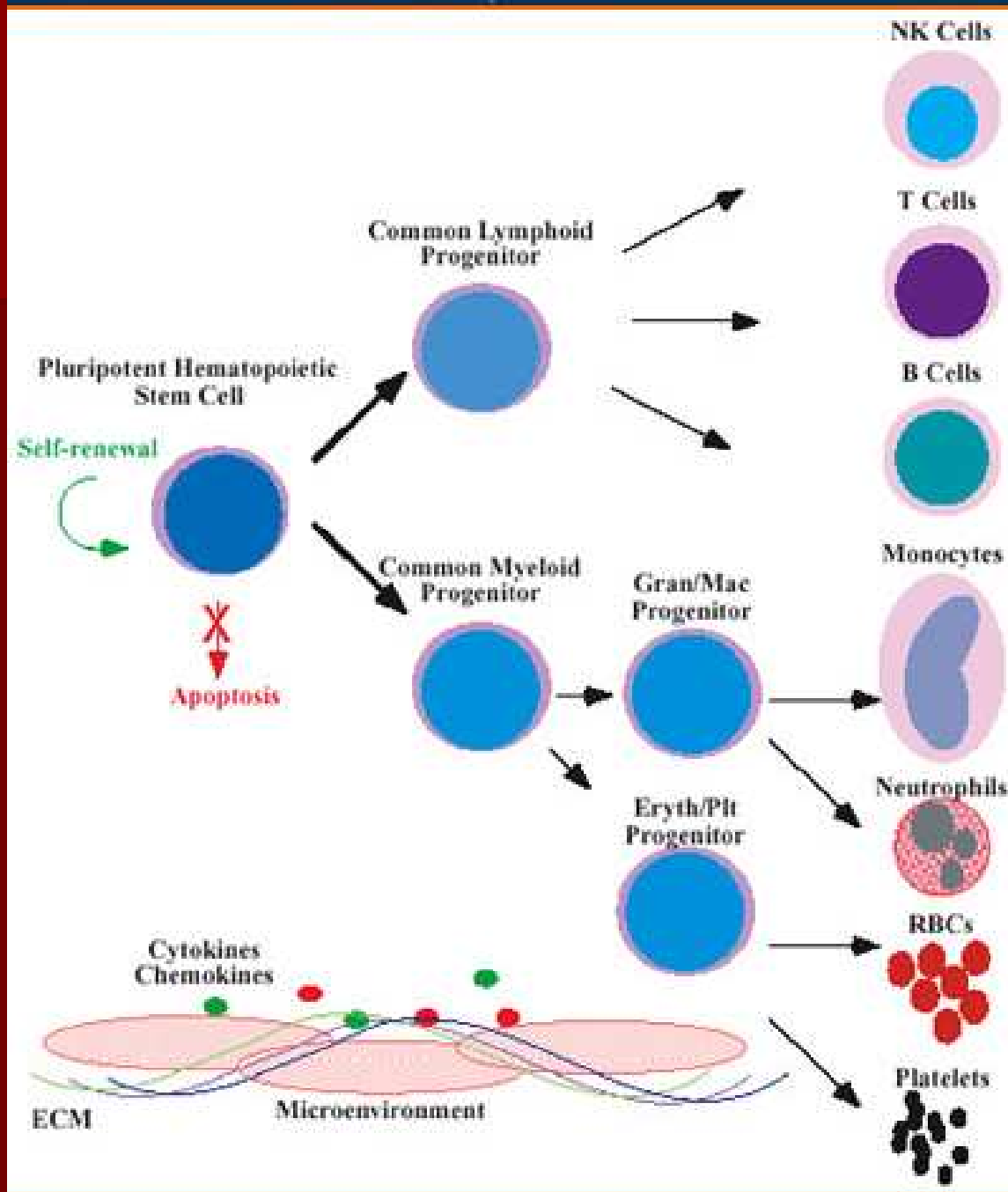


Kultivace hematopoetických buňek

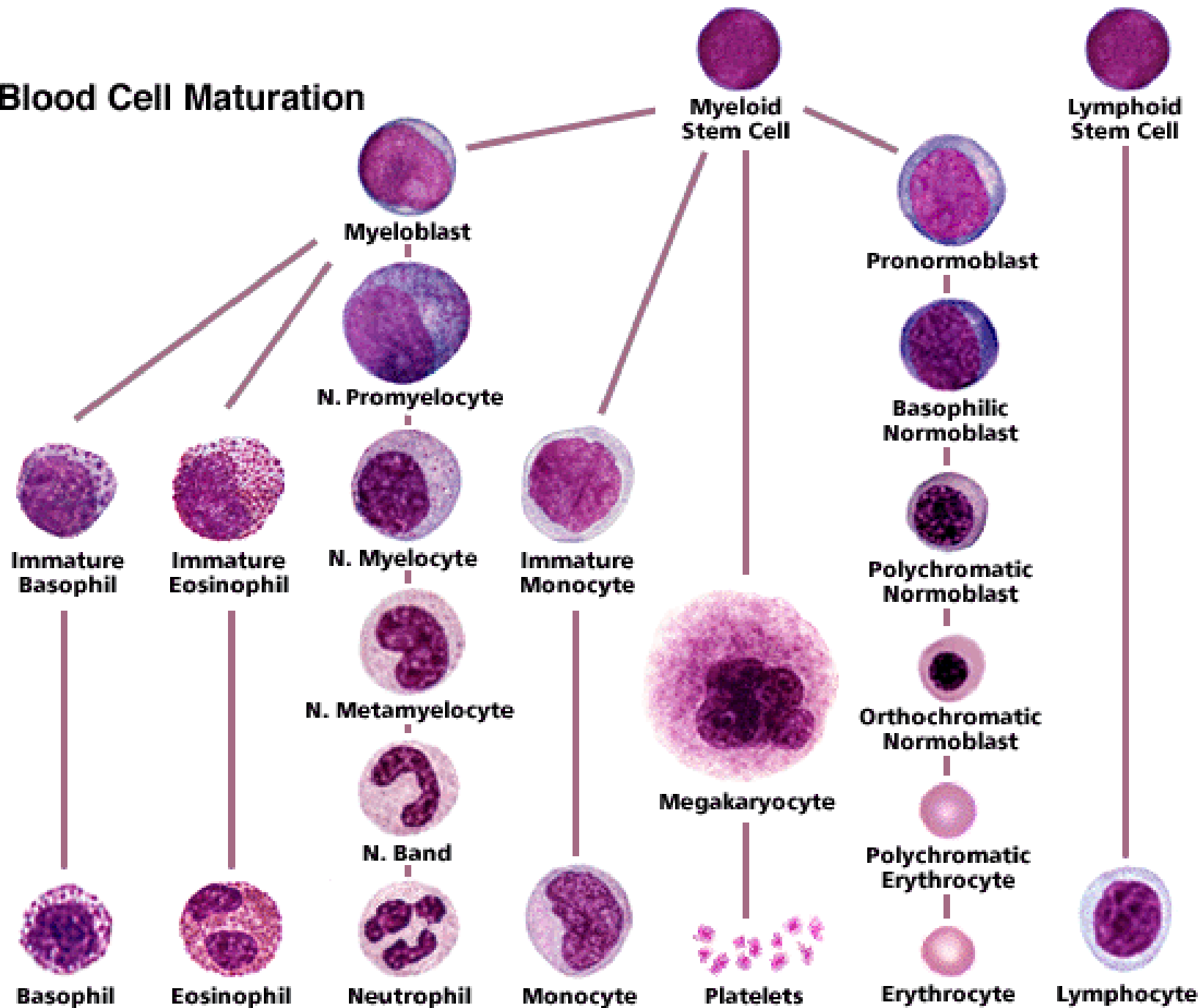
L. Bourková, OKH FN Brno







Blood Cell Maturation



Hematopoetické kmenové buňky

- v kostní dřeni i periferní krvi ve velmi nízké koncentraci
- pro svoji podobnost s lymfocyty se nedají morfologicky rozpoznat.
- morfologicky jsou rozpoznatelné až jejich další vývojová stádia - myeloblast, proerytroblast, megakaryoblast.....
- kmenové buňky se stanovují např. imunologicky pomocí povrchových antigenů a nebo funkčními testy, na základě proliferační aktivity
 - *sebeobnova: schopnost buňky dát buněčným dělením vznik dvěma dceřiným elementům, které jsou identické s buňkou mateřskou*
 - *diferenciace: schopnost buňky vyvíjet se dále ve funkčně i morfologicky odlišná vyzrálější vývojová stádia*

Základní pojmy

- **Totipotentní kmenové buňky**: jsou schopné vytvořit jakýkoliv typ buňky, který se v organismu vyskytuje. Každá totipotentní buňka obsahuje kompletní gentickou informaci pro celý organismus a má jedinečnou schopnost diferenciaci.
- **Pluripotentní kmenové buňky**: jsou schopny diferenciaci (dělení) do mnoha různých typů. Speciálním případem pluripotence je multipotence, kde je pluripotentní schopnost kmenové buňky omezena na určitý typ tkáně (případně na určitý orgán).
- **Multipotentní kmenové buňky**: jsou schopny diferenciaci (dělení) do mnoha typů buněk, ale pouze v rámci daného typu tkáně (resp. orgánu). Např. hematopoetická kmenová buňka, která se dále vyvíjí přes progenitorové a prekurzorové buňky k vyzrálým stádiím.
 - progenitorové b.: *CFU-GEMM (colony-forming unit-granulocyte, -erythrocyte, -monocyte, and -megakaryocyte), CFU-GM (colony-forming units-granulocyte/macrophage), BFU-E (burst-forming units erythrocyte)*
 - prekurzorové b.: *myeloblast, proerythroblast, megakaryoblast.....*

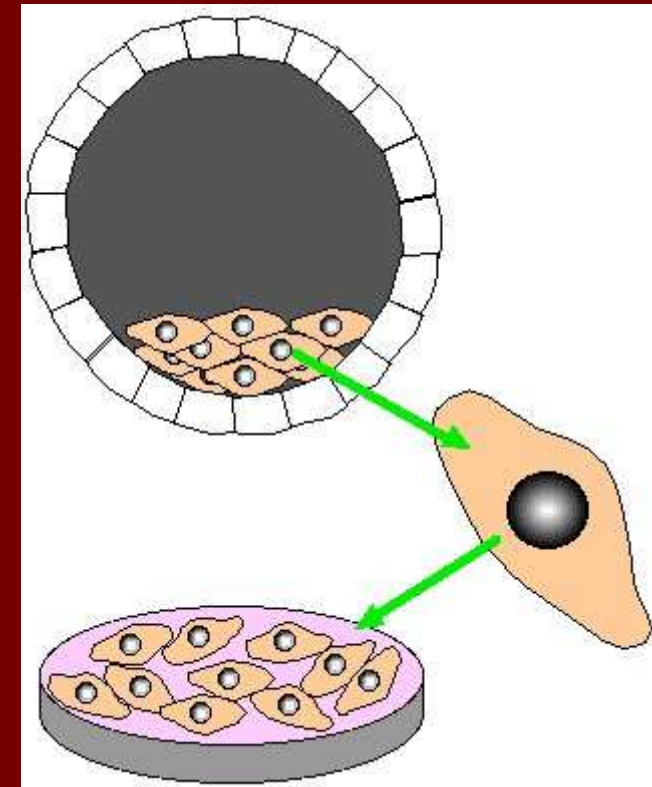
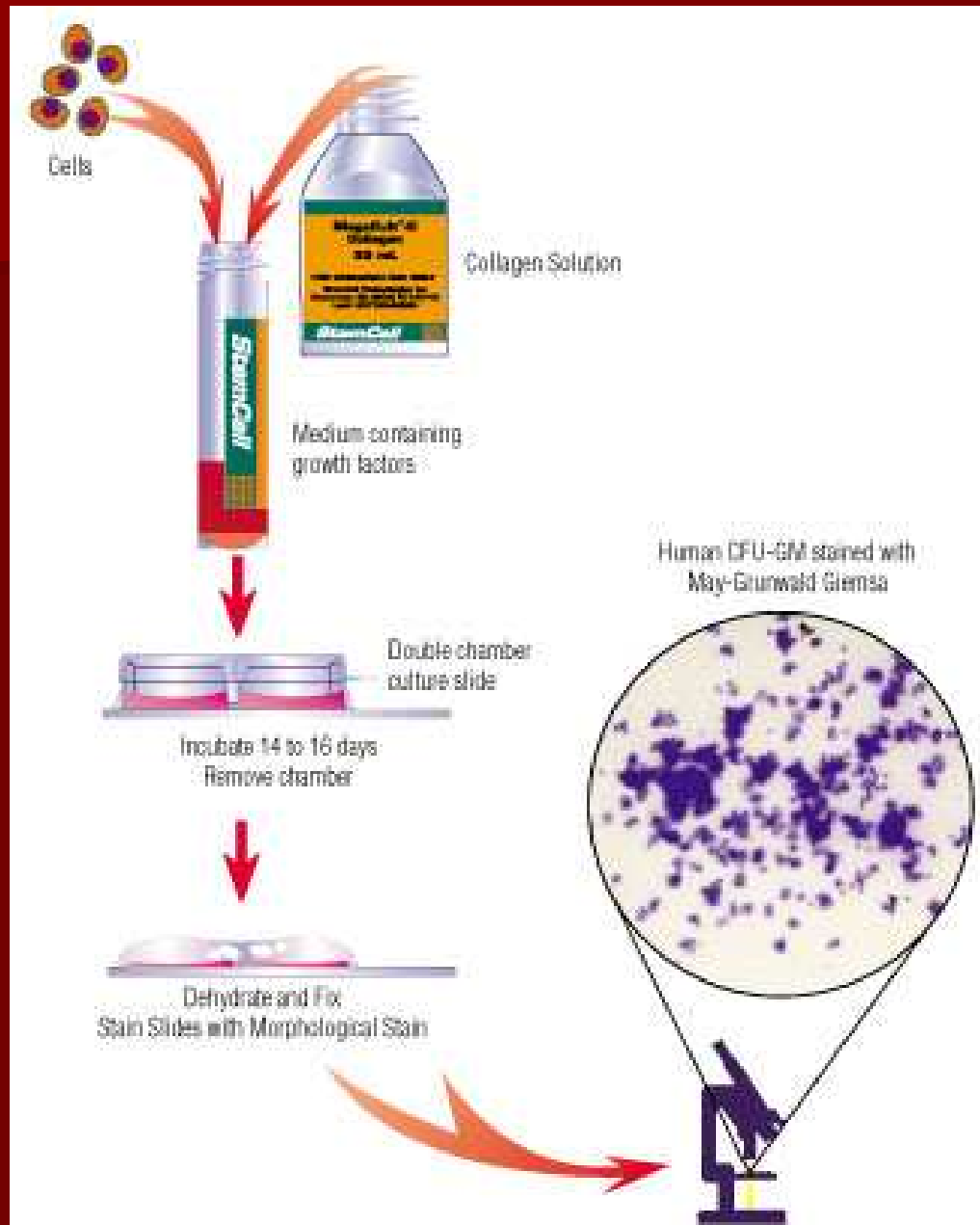
Metoda tkáňových kultivací

- **Princip metodiky:**
Kultivační metoda sleduje funkční schopnosti krvetvorných buněk, které odpovídají na růstové faktory v kultivační půdě tvorbou kolonií.
- **Kultivační prostředí:**
Kultivační média představují sterilní vybalancované chemické prostředí, z něhož buňky čerpají složky pro svůj metabolismus. Kultivační atmosféra má 100% vlhkost a 5% obsah CO₂ v inkubátoru. Nosná média např. methylcelulóza, agar...
- **Schéma metodiky:**
mononukleární buňky + médium + atmosféra (14 dnů) → kolonie
- **Hodnocení:**
mikroskopem
kolonie vznikají z progenitorových buněk
kolonie CFU-GM obsahují minimálně 40 buněk, kolonie BFU-E až 1000 buněk.
- **Využití:**
diagnostika (hematologické malignity), monitorování léčby, k terapii...

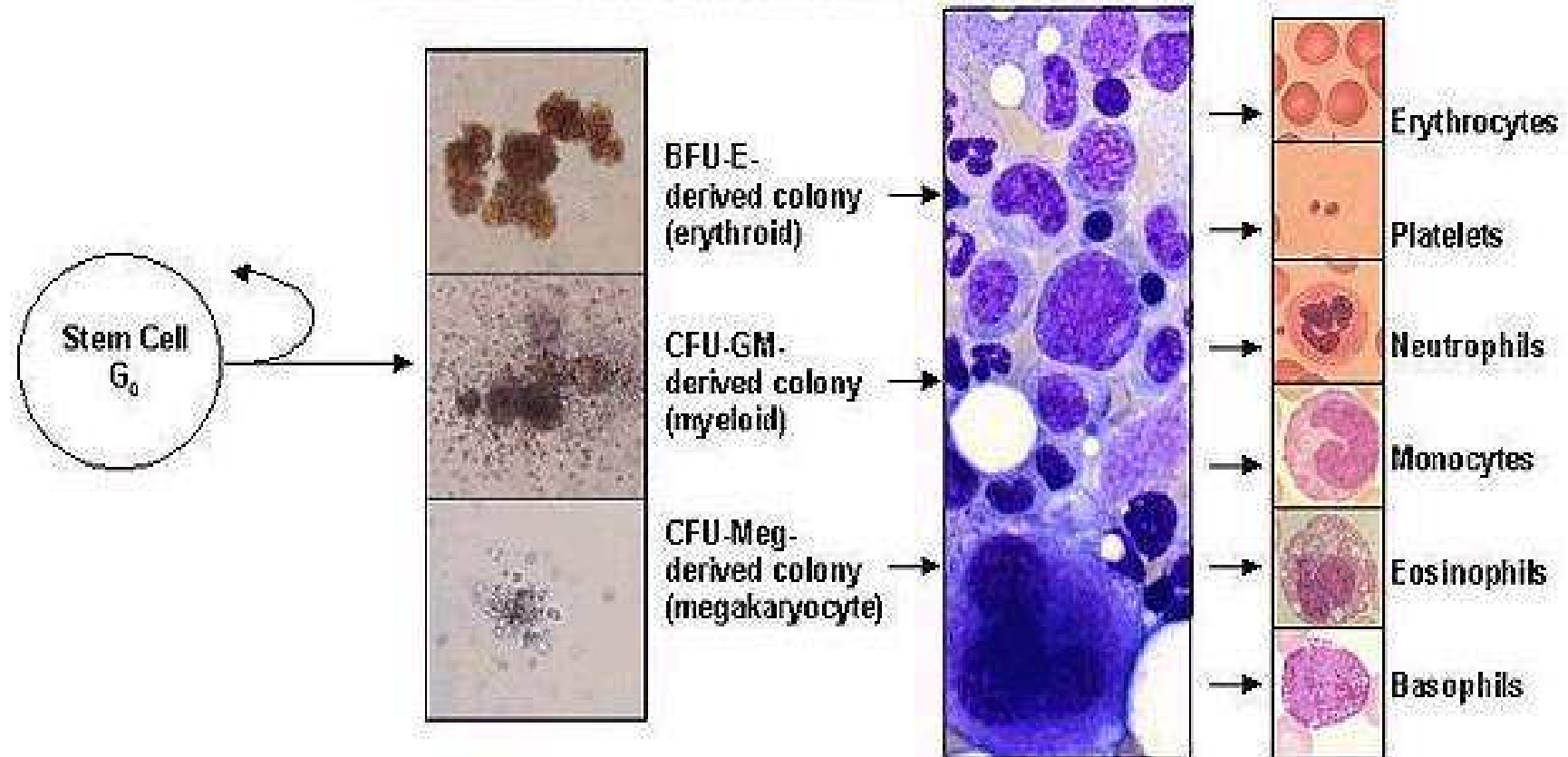
Pracovní prostředí



Tkáňové kultivace



STEM CELL MODEL OF HEMATOPOIESIS



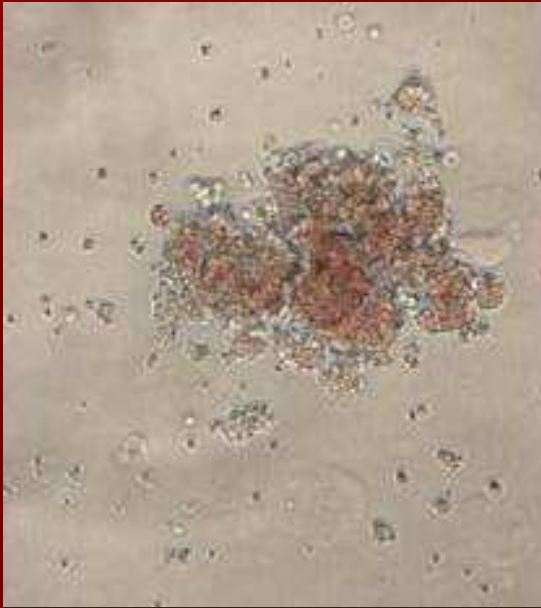
Stem Cells:
Reconstitute hematopoiesis when transplanted into a myeloablated host.

Progenitor Cells:
Expand in the presence of growth factors; can be identified by their ability to form colonies *in vitro*.

Precursor Cells:
Morphologically recognizable cells seen in the marrow aspirate.

Mature Cells:
Circulate in the blood.

BFU-E kolonie





Human BFU-E (low power)



Human CFU-GM & BFU-E (low power)



Human CFU-GEMM (high power)



Human CFU-GM (low power)



CFU-GM kolonie

CFU-GM kolonie

