



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



# ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Νικόλαος Μπαλατσός



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



# ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ
2. ΥΛΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
3. ΜΟΛΥΝΣΕΙΣ
4. ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ

Νικόλαος Μπαλατσός



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

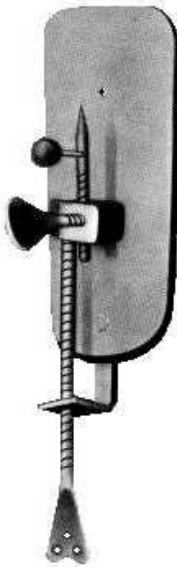


# ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Νικόλαος Μπαλατσός

### Το μικροσκόπιο του A. van Leeuwenhoek



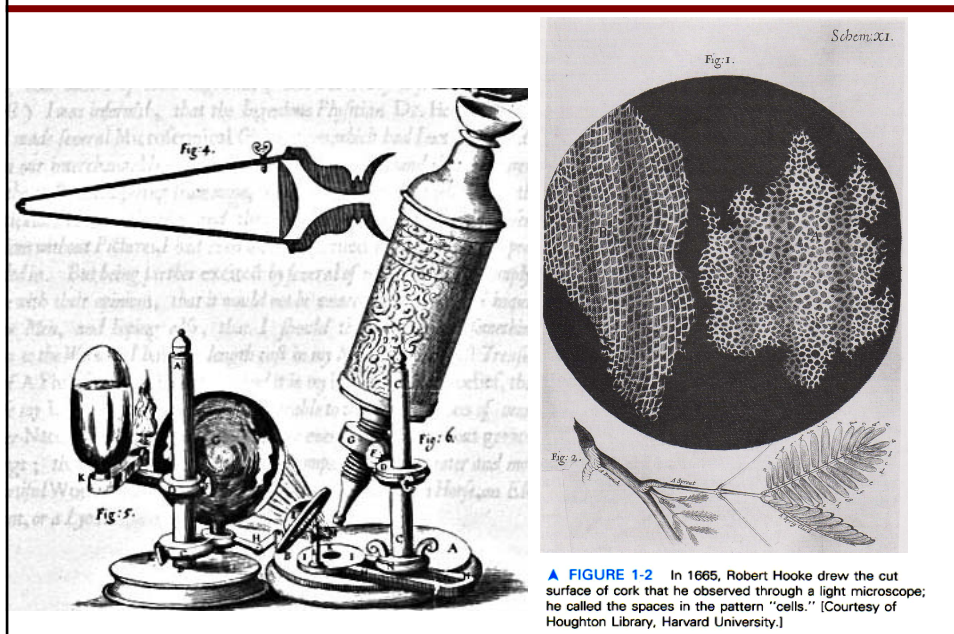
Μεγένθυση 70-250x

## Οι παρατηρήσεις του A. van Leeuwenhoek



▲ FIGURE 1-1 Antoni van Leeuwenhoek's drawings represent the first look at microscopic creatures, revealing a world of microorganisms, some of which we now know are single celled. [By permission of the President and Council of the Royal Society.]

## Το οπτικό μικροσκόπιο του Robert Hooke



▲ FIGURE 1-2 In 1665, Robert Hooke drew the cut surface of cork that he observed through a light microscope; he called the spaces in the pattern "cells." [Courtesy of Houghton Library, Harvard University.]

## Κυτταρική Βιολογία

- 1665 Robert Hooke: εισαγωγή του όρου «κύτταρο».  
1896 E.B. Wilson: "The Cell in Development and Heredity"  
1906 Βραβείο Νόμπελ στους C. Golgi και S. Raymon y Cajal  
για πρώτη φορά σε μελέτες κυτταρικής βιολογίας.  
1925 E.B. Wilson: «...το κλειδί σε κάθε βιολογικό πρόβλημα  
πρέπει τελικά να αναζητηθεί στο κύτταρο».

Διεύρυνση μελετών από μονοκύτταριους οργανισμούς σε κύτταρα πολυκύτταρου οργανισμού, κυτταρικές σειρές απομονωμένες από ιστούς ενηλίκων και εμβρύων και κυτταρικά οργανίδια

- 1945 A. Claude, K Porter και E. Fullam: Φωτογραφία κυττάρου από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.  
1974 Βραβείο Νόμπελ στους A. Claude, C. de Dune και G. Palade για τη σύνδεση μεταξύ οργάνωσης κυτταρικής δομής και βιοχημικών λειτουργιών κύριων κυτταρικών οργανιδίων

## Πλεονεκτήματα

- Τα κύτταρα είναι ορατά στο μικροσκόπιο.  
Χρήση ζωτικών κυττάρων κατά το πείραμα.  
Κατάσταση πειραματόζωου.
- Ομογενής πληθυσμός με ίδιο γενετικό υλικό σε ίδιο περιβάλλον.  
Τροποποίηση συνθηκών περιβάλλοντος  
(pH, θ/σία, συγκ/ση αμινοξέων, κλπ)
- Αποτελέσματα από πολύ λίγα κύτταρα.
- Χρήση ραδιενεργών ιχνηθετών, φαρμάκων, ορμονών κλπ.  
Χορήγηση σε μικρότερες ποσότητες από ότι σε ολόκληρο ζώο.  
Αποφυγή μεταβολισμού, αποθήκευσης ή απομάκρυνσης.  
Αποτελέσματα για ρυθμούς ενσωμάτωσης/μεταβολισμού.



## Βιοχημεία - Μοριακή Βιολογία (αρχές δεκαετίας '40)

Πληθώρα δεδομένων

DNA/γονίδια,  
RNA, διεργασίες RNA  
πρωτεϊνοσύνθεση  
λειτουργία πρωτεϊνών.



Μεταγραφή, Διεργασίες RNA,  
Πρωτεϊνοσύνθεση, ενζυμικές λειτουργίες

Γίνονται σε μάλλον  
αδιαμόρφωτους  
χώρους



αλλά...



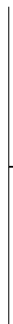
Η μικροσκοπία έδειξε ότι όλα αυτά γίνονται σε  
μικροπεριοχές (microdomains)  
από σημαντικές δομικές πρωτεΐνες.



Οι σχέσεις μεταξύ τέτοιων δομών  
είναι η βάση για την  
κατανόηση της λειτουργίας

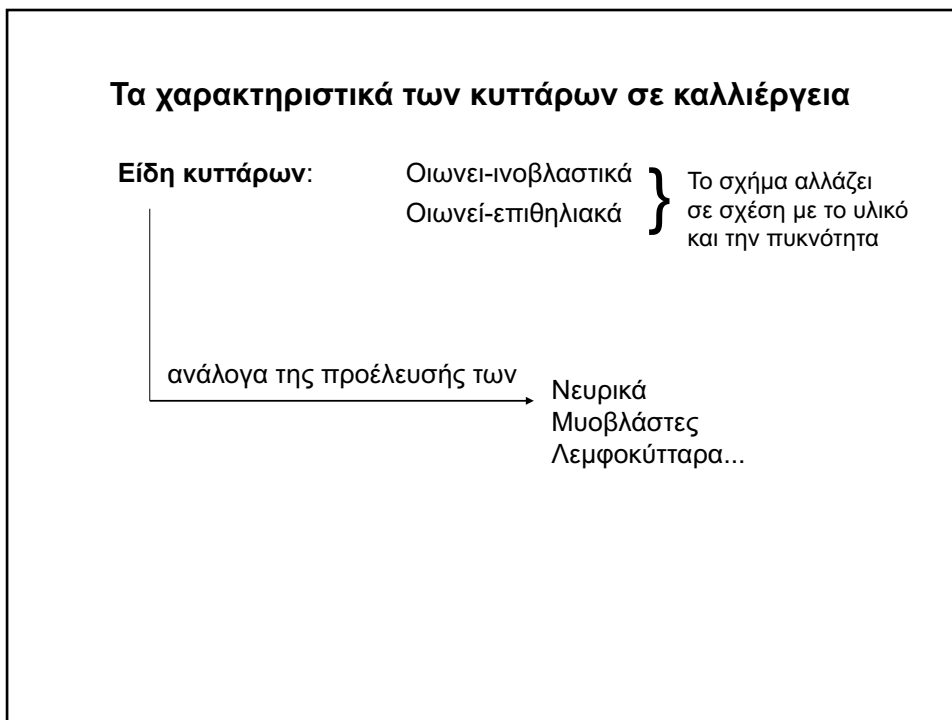
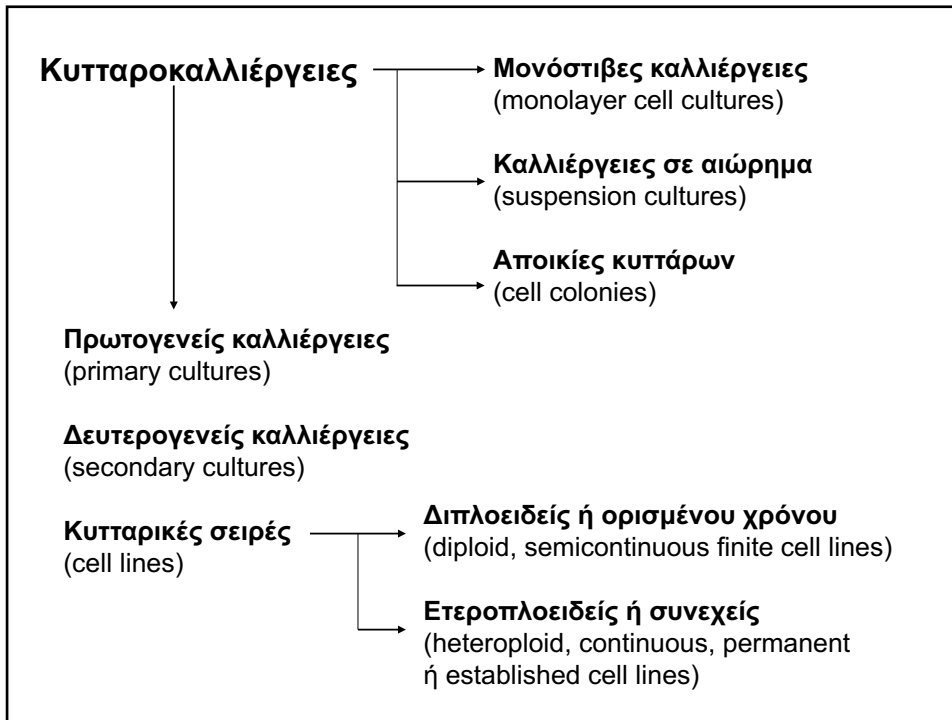
→ **Μοριακή Κυτταρική Βιολογία**

**Ιστοκαλλιέργειες:** Διατήρηση ή ανάπτυξη κυτάρων  
(Tissue culture) ιστών ή οργάνων in vitro για  
περισσότερες από 24 ώρες.



→ **Κυτταροκαλλιέργειες (cell cultures):**  
τα κύτταρα δεν διατηρούν τη χαρακτηριστική  
οργάνωση του ιστού από όπου προέρχονται.

→ **Οργανοκαλλιέργειες (organ cultures):**  
Διατήρηση διαφοροποίησης ή δομής ή λειτουργίας



## Αποικίες κυττάρων



◀ **FIGURE 6-1** (a) Colonies of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* growing on a plate of agar containing only glucose, adenine, and salts. Each colony is a clone of cells. (b) Close-up view of two yeast colonies. As the cells in the colonies grew, a mutation affecting adenine biosynthesis occurred in some cells; as a result, an orange pigment derived from one of the biosynthetic intermediates accumulated. The orange sectors in these colonies are "subclones," the descendants of the original mutant cells. [See N. A. Levin, M-A. Bjornsti, and G. F. Fink, 1993, *Genetics* **133**:799. Courtesy of Dr. Nikki Levin.]

## Ινοβλάστες

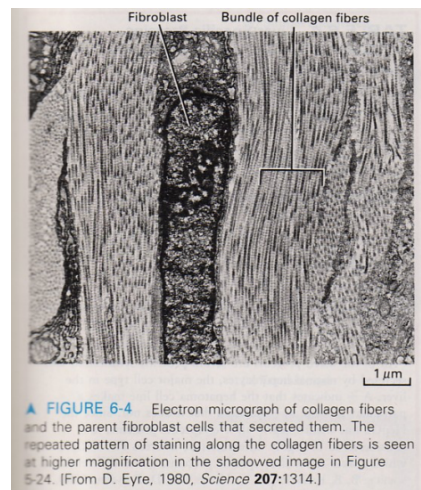
Ο κύριος τύπος κυττάρων σε πρωτογενείς καλλιέργειες

Βρίσκονται στο χώρο μεταξύ άλλων κυττάρων, στο συνδετικό ιστό

Εκκρίνουν πρωτεΐνες εξωκυττάρου χώρου, π.χ. Κολλαγόνο

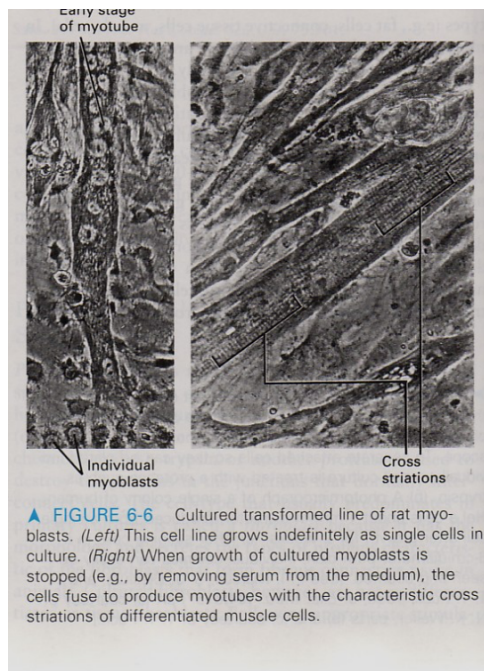
Δεν συνδέονται ισχυρά μεταξύ τους, αλλά κυρίως με ένα υπόστρωμα (π.χ. Επιφάνεια ανάπτυξης, γειτονικά κύτταρα)

Βασικός ρόλος στη θεραπεία πληγών του δέρματος.

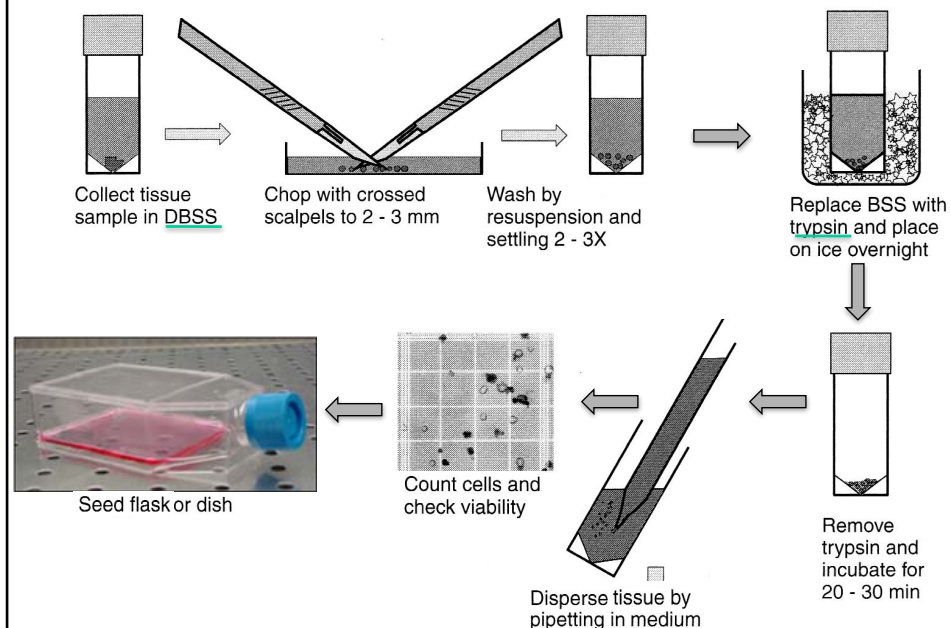


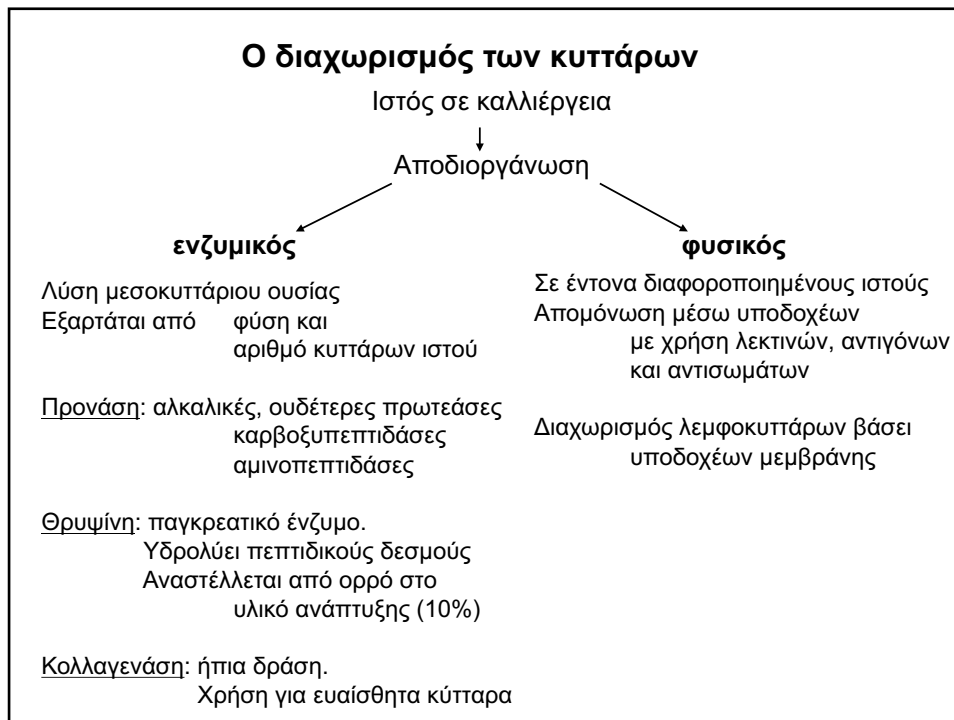
▲ **FIGURE 6-4** Electron micrograph of collagen fibers and the parent fibroblast cells that secreted them. The repeated pattern of staining along the collagen fibers is seen at higher magnification in the shadowed image in Figure 5-24. [From D. Eyre, 1980, *Science* **207**:1314.]

## Καλλιέργεια μυοβλαστών



## Διαχωρισμός ιστού σε κύτταρα





## Τεχνικές διαχωρισμού κυττάρων (I)

**Ο διαχωρισμός των κυττάρων από ιστό ή από μονόστιβη καλλιέργεια γίνεται με διαλύματα πρωτεασών:**

-Θρυψίνη

είτε καθαρή, είτε μίγμα με χυμοθρυψίνη και ελαστάση

-Προνάση

κυρίως σε πρωτογενείς καλλιέργειες

-Κολλαγενάση

κυρίως σε καλλιέργειες κλώνων

-Δισπάση

Ουδέτερη πρωτεάση από *Bacillus polymyxa*.

Χρήση κυρίως για διάσπαση ιστών. Απαιτεί παρουσία  $Ca^{2+}$ .

-EDTA.

ή...

## Τεχνικές διαχωρισμού κυττάρων (II)

...ή με μηχανικά μέσα

όταν η χρήση θρυψίνης δεν είναι επιθυμητή λόγω:

- α. Μελέτες στην κυτταρική μεμβράνη,  
λόγω απώλειας μεμβρανικών πρωτεϊνών  
(γλυκοπρωτεϊνών και αντιγόνων)
- β. Κινητικές δράσης φαρμάκων, ραδιοιχνηθετών, ορμονών, κ.λπ

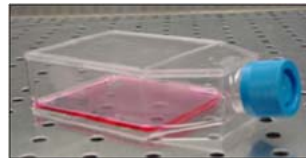


## Δείκτες συμπεριφοράς κυττάρων σε κυτταροκαλλιέργειες

Μετά το διαχωρισμό τα κύτταρα συνήθως προσκολλώνται στην επιφάνεια που τους προσφέρεται

Η τάση προσκόλλησης (anchorage dependence) είναι χαρακτηριστική των κυττάρων

Η συμπεριφορά και η επιβίωση των κυττάρων εξαρτάται και από:  
τη φύση του υλικού προσκόλλησης,  
τη σύσταση του θρεπτικού υλικού

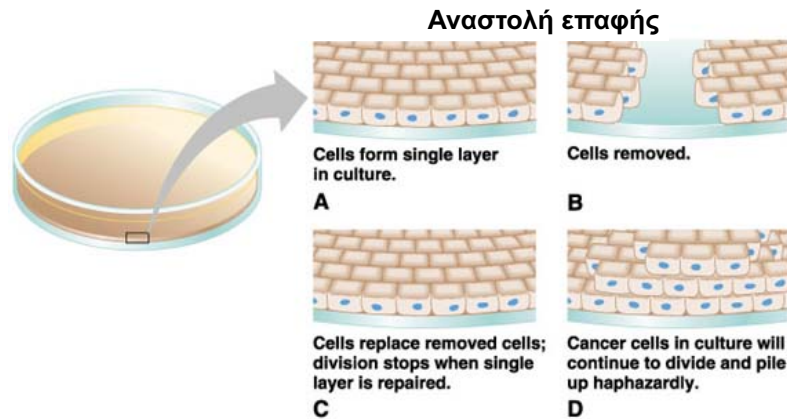




## Αναστολή επαφής (contact inhibition), I

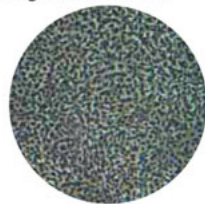
Τα κύτταρα αναπτύσσονται, πολλαπλασιάζονται και καλύπτουν την επιφάνεια που τους προσφέρεται

Όταν καλυφθεί η επιφάνεια τα κύτταρα ακουμπούν μεταξύ τους και σταματά η ανάπτυξη (αναστολή επαφής)

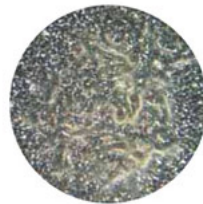


## Αναστολή επαφής (contact inhibition), II

Cells know to stop growing when they touch each other (contact inhibition). Cancer cells lose contact inhibition and growth control.



Normal cells  
arrest when dense



Cancer cells  
grow in piles on top of each other

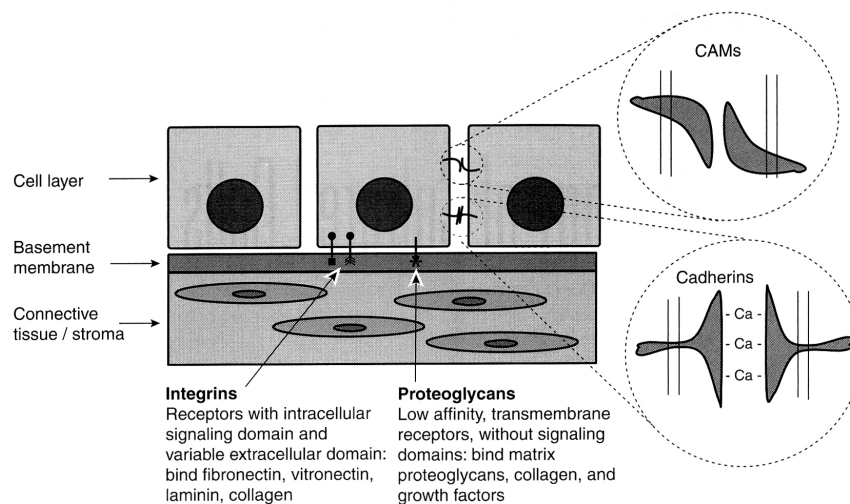
Photograph by Leigh Ann Kridle  
Laboratory of James Pisas  
Department of Biological Sciences  
University of Pittsburgh

## Συγκράτηση κυττάρων σε καλλιέργεια

Τα κύτταρα σε μονόστιβες καλλιέργειες συγκρατώνται μεταξύ τους και με το υπόστρωμα (substratum) με μυκοπρωτεΐνες και με κολλαγόνο (μερικές φορές). Συχνά απαιτείται και η παρουσία δισθενών ιόντων ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ )

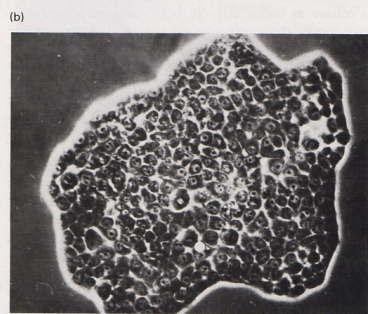
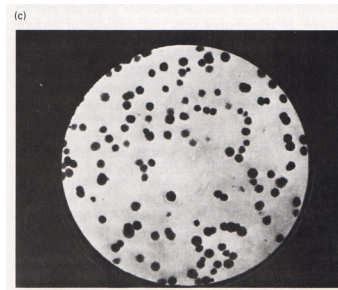
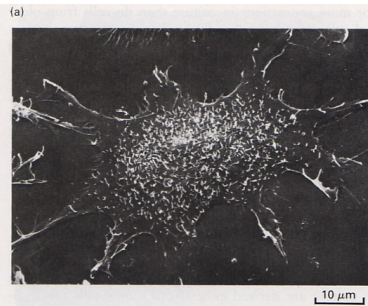


## Κυτταρική επικόλληση



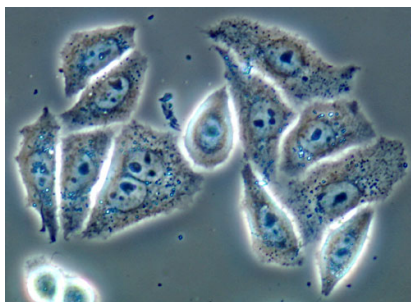
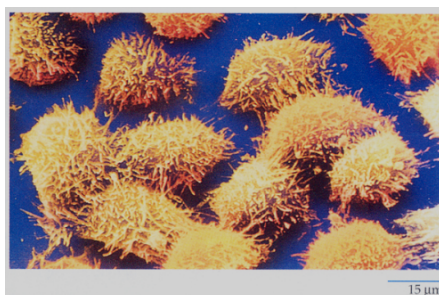
*Fig. 3.1. Cell Adhesion.* Diagrammatic representation of a layer of epithelial cells above connective tissue containing fibrocytes and separated from it by a basal lamina. CAMs and cadherins are depicted between like cells, integrins and proteoglycans between the epithelial layer and the matrix of the basal lamina.

## Παρατηρήσεις στο μικροσκόπιο I



► **FIGURE 6-5** Cultured mammalian cells viewed at three magnifications. (a) A single mouse cell attached to a plastic petri dish, viewed through a scanning electron microscope. To separate attached cells so they can be plated individually, a cell culture is treated with a protease such as trypsin. (b) A photomicrograph of a single colony of human HeLa cells about 1 mm in diameter, produced from a single cell after growth for 2 weeks. (c) After staining cells in a 6-cm-diameter petri dish, individual colonies can easily be seen and counted. [See P. I. Marcus, S. J. Cieciura, and T. T. Puck, 1956, *J. Exp. Med.* **104**:615. Part (a) courtesy of N. K. Weller; parts (b) and (c) courtesy of T. T. Puck.]

## Παρατηρήσεις στο μικροσκόπιο II



**Figure 1.2** HeLa cells, such as the ones pictured here, were the first human cells to be kept in culture for long periods of time and are still in use today. Unlike normal cells, which have a finite lifetime in culture, these cancerous HeLa cells can be cultured indefinitely as long as conditions are favorable to support cell growth and division. (KEITH PORTER/PHOTO RESEARCHERS.)

**Πίνακας 2.** Χαρακτηριστικοί δείκτες συμπεριφοράς κυττάρων σε καλλιέργεια<sup>3</sup>

| <i>Δείκτης συμπεριφοράς</i>  | <i>Ορισμός ιδιότητας</i>  |
|--|---|
| 1. Ζωτικότητα κυττάρων (viability)   | Η αναλογία (%) ζωντανών κυττάρων της κυτταροκαλλιέργειας.   |
| 2. Χρόνος αναπαραγωγής κυττάρων (cell generation time)                     | Ο χρόνος μεταξύ δύο διαδοχικών διαιρέσεων του κυττάρου.   |
| 3. Χρόνος διπλασιασμού του κυτταρικού πληθυσμού (population doubling time) | Ο χρόνος που απαιτείται για τον διπλασιασμό δεδομένου κυτταρικού πληθυσμού.   |
| 4. Ταχύτητα ανάπτυξης (growth rate)  | Ο αριθμός των κυττάρων που παράγεται από ένα σταθερό κυτταρικό πληθυσμό μετά 5-7 ημέρες.  |
| 5. Ικανότητα εμφύτευσης (planting efficiency)                              | <p>Απόλυτη: Η αναλογία (%) κυττάρων που σχηματίζουν αποικίες ή νησίδια. Συνοδεύεται απαραίτητα από το συνολικό αριθμό των κυττάρων που εμφυτεύονται και τις συνθήκες καλλιέργειας (υλικό, θερμοκρασία, ατμόσφαιρα CO<sub>2</sub>).</p> <p>Σχετική: Η αναλογία (%) κυττάρων που σχηματίζουν αποικίες ή νησίδια σε σχέση προς ένα μάρτυρα (control) του οποίου η απόλυτη ικανότητα εμφύτευσης θεωρείται 100%. Συνοδεύεται απαραίτητα από το συνολικό αριθμό των κυττάρων που εμφυτεύονται, τις συνθήκες και την απόλυτη ικανότητα εμφύτευσης του μάρτυρα.</p> |

**Πίνακας 2.** Χαρακτηριστικοί δείκτες συμπεριφοράς κυττάρων σε καλλιέργεια (συνέχεια)

| <i>Δείκτης συμπεριφοράς</i>                | <i>Ορισμός ιδιότητας</i>  |
|--|---|
| 6. Μορφολογία κυττάρων (morphology)        | <p>α) Επιθηλιακά κύτταρα (epithelial cells): Κύτταρα συνήθως πολυγωνικά σε άμεση επαφή, σχεδόν χωρίς μεσοκυττάρια ουσία που εμφανίζουν εικόνα μωσαϊκού. Όταν δεν υπάρχει άλλο κριτήριο από την τάση των κυττάρων να συνδέονται στενά μεταξύ τους, είναι ακριβέστερο να αναφερόμεθα σε κύτταρα επιθηλιακής μορφής (epithelial like).</p> <p>β) ινοβλάστες (fibroblasts): Κύτταρα επιμήκη, ακανόνιστα, υπεύθυνα για την παραγωγή ινοπρωτεϊνών (κολλαγόνου) ταυτοποιούμενα με τα καθιερωμένα ιστολογικά κριτήρια. Κύτταρα με μορφολογία ινοβλαστών αλλά με άγνωστη ή αμφισβητούμενη παραγωγή κολλαγόνου, πρόελευση κ.ά. αναφέρονται σαν ινοβλαστικής μορφής (fibroblast like).</p> |
| 7. Καρυότυπος (karyotype)                  | Η λεπτομερής και συστηματική ανάλυση των χρωμοσωμάτων ικανού αριθμού κυττάρων (≈ 500).  |
| 8. Καρκινογόνος ικανότητα (tumorigenicity) | Η ικανότητα των κυττάρων να παράγουν καρκίνο in vivo (σε πειραματόζωα) και συγκεκριμένα μετά ένεση των κυττάρων σ' ευαίσθητο ξενιστή. Τα in vitro ευρήματα (σελ. 18) θεωρούνται ενδεικτικά εξαλλαγής αλλά όχι αποδεικτικά καρκινογόνου ικανότητας των κυττάρων.   |

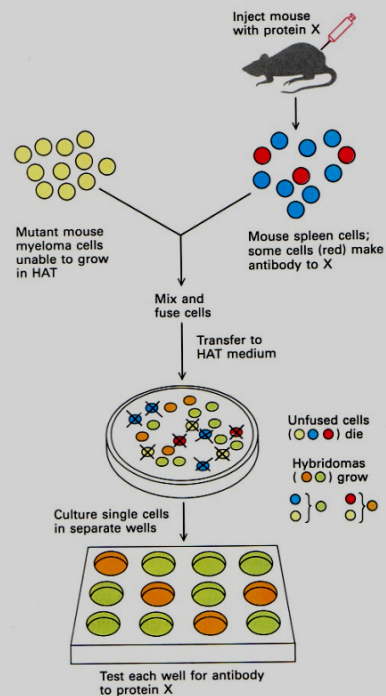
## Εφαρμογές

- Διαφοροποίηση.  
Δύσκολη σε ανώτερους ευκαρυώτες.
- Γενετική  
Παλαιότερα υπήρχαν πολλά μεταλλάγματα για πολύπλοκα πειράματα  
Τεχνικές για κλωνοποίηση, αποθήκευση, σύντηξη επιτρέπουν μελέτη γενετικής θηλαστικών κυττάρων.
- Ανοσολογία.
- Μελέτη ορμονών, παραγόντων ανάπτυξης (Growth factors)  
Χορήγηση σε μικρότερες ποσότητες από ότι σε ολόκληρο ζώο.  
Αποφυγή μεταβολισμού, αποθήκευσης ή απομάκρυνσης.  
Αποτελέσματα για ρυθμούς ενσωμάτωσης/μεταβολισμού.
- Ιολογία
- Μελέτη κυτταρικών φαινομένων,  
βιοχημικών μονοπατιών

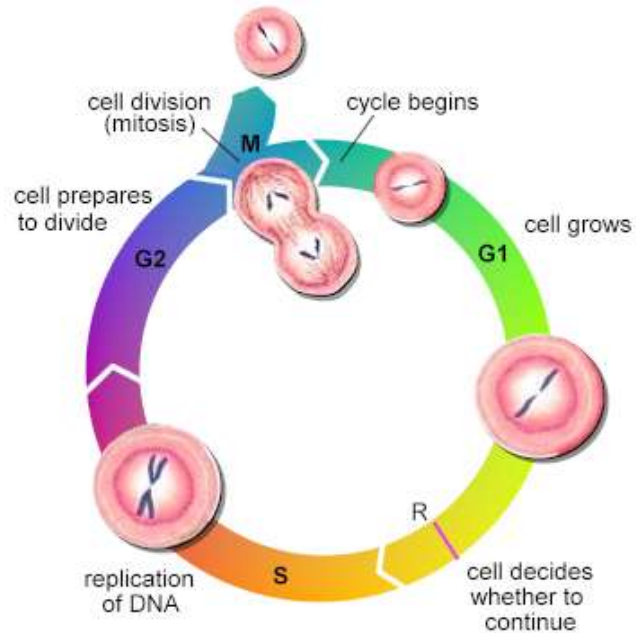
## Ανοσολογία

### Παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων

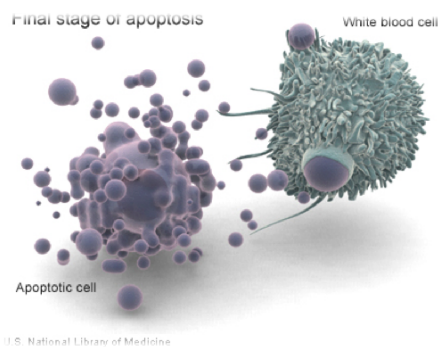
▲ **FIGURE 6-12** Procedure for producing a monoclonal antibody to protein X. Immortal myeloma cells that lack HGPRT, an enzyme of the purine-salvage pathway (see Figure 6-11), are fused with normal antibody-producing spleen cells, which can make HGPRT. When plated on HAT medium, the unfused cells do not grow: the mutant myeloma cells because they cannot make purines via the salvage pathway, and the spleen cells because they have a limited life span in culture. Thus only fused cells, called hybridomas, formed from a myeloma cell and spleen cell, survive on HAT medium. Each hybridoma cell forms a clone producing a single antibody. Once a hybridoma clone that produces a desired antibody is identified, the clone can be cultured to yield large amounts of that antibody.



## Μελέτη κυτταρικών φαινομένων:



## Μελέτη κυτταρικών φαινομένων: ΑΠΟΠΤΩΣΗ





### APOPTOSIS: A BASIC BIOLOGICAL PHENOMENON WITH WIDE-RANGING IMPLICATIONS IN TISSUE KINETICS

J. F. R. KERR\*, A. H. WYLLIE AND A. R. CURRIE†

From the Department of Pathology, University of Aberdeen

Received for publication April 1972

**Summary.**—The term apoptosis is proposed for a hitherto little recognized mechanism of controlled cell deletion, which appears to play a complementary but opposite role to mitosis in the regulation of animal cell populations. Its morphological features suggest that it is an active, inherently programmed phenomenon, and it has been shown that it can be initiated or inhibited by a variety of environmental stimuli, both physiological and pathological.

The structural changes take place in two discrete stages. The first comprises nuclear and cytoplasmic condensation and breaking up of the cell into a number of membrane-bound, ultrastructurally well-preserved fragments. In the second stage these apoptotic bodies are shed from epithelial-lined surfaces or are taken up by other cells, where they undergo a series of changes resembling *in vitro* autolysis within phagosomes, and are rapidly degraded by lysosomal enzymes derived from the ingesting cells.

Apoptosis seems to be involved in cell turnover in many healthy adult tissues and is responsible for focal elimination of cells during normal embryonic development. It occurs spontaneously in untreated malignant neoplasms, and participates in at least some types of therapeutically induced tumour regression. It is implicated in both physiological involution and atrophy of various tissues and organs. It can also be triggered by noxious agents, both in the embryo and adult animal.

## Η πρώτη περιγραφή

242

J. F. R. KERR, A. H. WYLLIE AND A. R. CURRIE

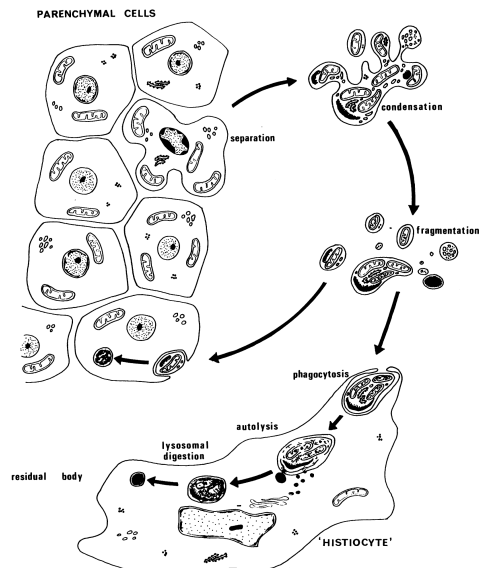
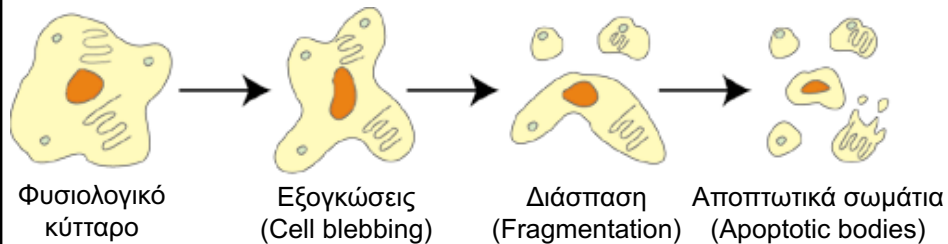
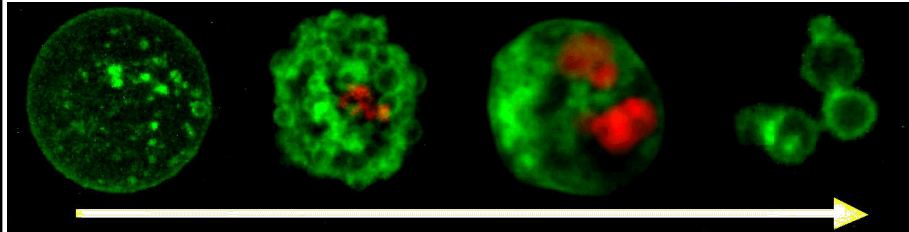


FIG. 5.—Diagram to illustrate the morphological features of apoptosis.

## Η πορεία της απόπτωσης



## Η γέννηση μιας λέξης

APOPTOSIS: A BASIC BIOLOGICAL PHENOMENON WITH WIDE-RANGING IMPLICATIONS IN TISSUE KINETICS

J. F. R. KERR\*, A. H. WYLLIE AND A. R. CURRIE†

From the Department of Pathology, University of Aberdeen  
Br. J. Cancer (1972) 26, 239

A BASIC BIOLOGICAL PHENOMENON WITH WIDE-RANGING IMPLICATIONS 241

of degeneration like those found in *in vitro* autolysis (Trump, Goldblatt and Stowell, 1965) at an early stage of its development (Trump and Ginn, 1969). The recent discovery of a distinctly different mode of cellular death with ultrastructural features that are consistent with an active, inherently controlled phenomenon (Klion and Schaffner, 1966; Farbman, 1968; Kerr, 1969, 1971) is therefore of interest, and we have now shown that it plays an important role in the regulation of cell numbers in a variety of tissues under both physiological and pathological conditions. It can always

and we suspect that further work will confirm it as a general mechanism of controlled cell deletion, which is complementary to mitosis in the regulation of animal cell populations. Because of its important kinetic significance we suggest that it be called "Apoptosis".\*

In this paper we review the morphological changes that take place during the evolution of apoptosis, we consider some of its biological and pathological implications with particular reference to tumour growth and, on the basis of these, propose our concept of apoptosis as a vital biological phenomenon.

\* We are most grateful to Professor James Cormack of the Department of Greek, University of Aberdeen, for suggesting this term. The word "apoptosis" (ἀπόπτωση) is used in Greek to describe the "dropping off" or "falling off" of petals from flowers, or leaves from trees. To show the derivation clearly, we propose that the stress should be on the penultimate syllable, the second half of the word being pronounced like "ptosis" (with the "p" silent), which comes from the same root "to fall", and is already used to describe drooping of the upper eyelid.

## Εμβρυϊκά αρχέγονα κύτταρα

- Είναι ένα πρόσφατο “καινούριο” πεδίο της βιολογικής έρευνας
- Αδιαφοροποίητα κύτταρα
- Μπορούν να επιλέξουν μεταξύ συνεχούς πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης
- Η τύχη τους καθορίζεται από σήματα και το περιβάλλον τους.
- Βρίσκονται μόνο κατά τις πρώτες φάσεις της εμβρυϊκής ανάπτυξης και είναι ΟΛΟΔΥΝΑΜΑ.
- Μπορούν να δώσουν οποιοδήποτε ενήλικο κύτταρο.
- **Μπορούν να καλλιεργηθούν (αδιαφοροποίητα) επ’ αόριστο.**
- Μπορούν να δώσουν, θεωρητικά, απεριόριστο αριθμό ειδικών, κλινικά σημαντικών ενήλικων κυττάρων (οστά, μύες, ήπαρ, αίμα).

## Γιατί μελετούμε τα ΕΑ κύτταρα

Μερικοί λόγοι...

Κατανόηση μηχανισμών που οδηγούν τα κύτταρα στην παραγωγή συγκεκριμένων τύπων ιστών. Πιθανή θεραπεία πολλών ασθενειών

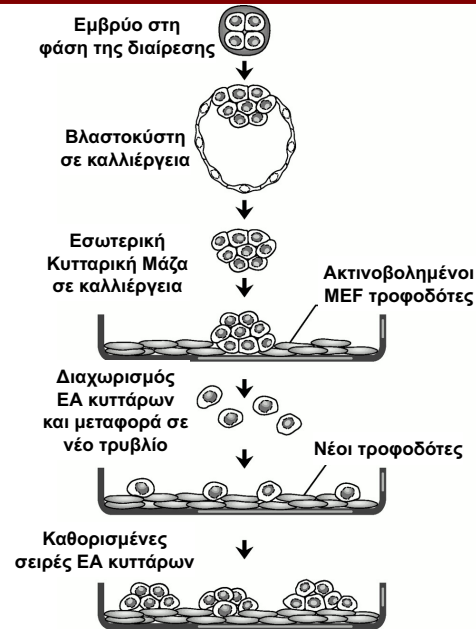
Parkinson, Alzheimer, σακχαρώδης διαβήτης, καρδικά νοσήματα, εγκεφαλικά επεισόδια, βλάβες του νωτιαίου μυελού, εγκαύματα.

Μελέτη της άνοσης απόρριψης (immune rejection) και πως αυτή θα αποφευχθεί.

## Παραγωγή/προέλευση ανθρώπινων ΕΑ κυττάρων

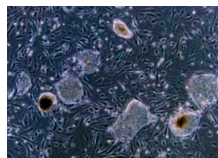
### Ανθρώπινα ΕΑ κύτταρα

- από γονιμοποιημένα ωάρια νεώτερα από μία εβδομάδα.
- από 14 βλαστοκύστες, προϊόντα εξωσωματικής γονιμοποίησης (in vitro fertilization, IVF)



## Κυτταρικές σειρές ΕΑ κυττάρων

- Ικανότητα παρατεταμένης και αδιαφοροποίητης ανάπτυξης σε καλλιέργεια.
- Διατήρηση ανάπτυξης σε ποικιλία ειδικών κυτταρικών τύπων, όπως νευρικά, μυϊκά, κύτταρα, καθώς και κύτταρα εντέρου, χόνδρων.
- Νοέμβριος 1998. Ο James Thomson καθιέρωσε τις 5 πρώτες σειρές ΕΑ κυττάρων. Ήταν η πρώτη φορά επιτυχούς απομόνωσης και καλλιέργειας ΕΑ κυττάρων.



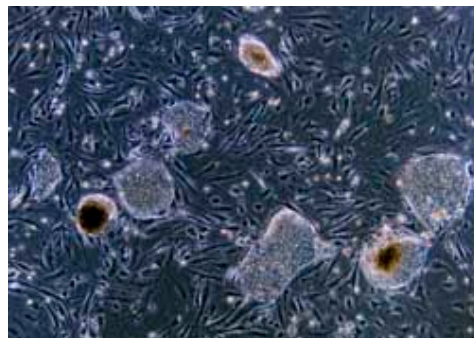
## Ιδιότητες των ανθρώπινων ΕΑ κυττάρων

- **Σχετικά επίπεδες συμπαγής αποικίες**  
διαχωρίζονται εύκολα σε ανεξάρτητα κύτταρα με θρυψίνη ή με υλικό χωρίς  $Ca^{2+}$  και  $Mg^{2+}$ .
- **Μεγαλώνουν πιο αργά από αυτά των ποντικών**  
Χρόνος διπλασιασμού:  
ανθρώπινα ΕΑ ~ 36 ώρες , / ΕΑ ποντικού: ~12ώρες
- **Απαιτήσεις για καλλιέργεια *in vitro***  
Ποντικού: LIF (leukemia inhibitory factor)  
Ανθρώπινα: στιβάδες τροφοδοσίας & υλικό με ή χωρίς ορό, bFGF
- **Ιδιαίτερα σταθερός καρυότυπος**  
φυσιολογικός XX και XY καρυότυπος.
- **Υψηλά επίπεδα έκφρασης τελομεράσης**  
Διατηρούν το μήκος του τελομερούς  
Κάτι που συνδέεται με την “αθανασία”

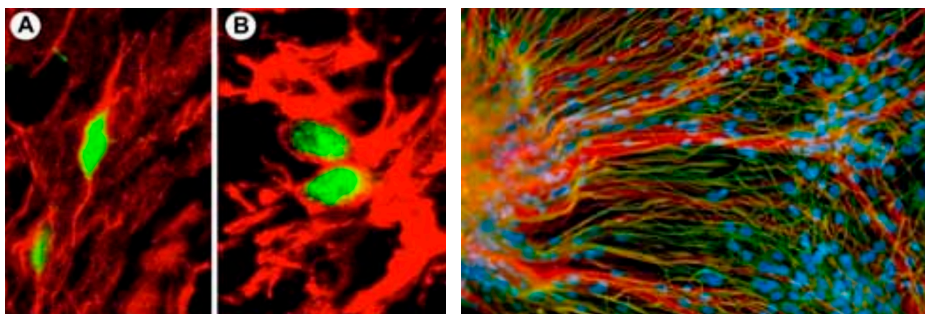
## Εφαρμογές κυτταροκαλλιιεργειών: Ρύθμιση της διαφοροποίησης των ΑΚ

### Δύο κύριοι τρόποι:

1. ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ  
όπου αναπτύσσονται.
2. ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΙΝΕΣ και  
ΑΥΞΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ



## Εφαρμογές κυτταροκαλλιιεργειών: Παραγωγή νευρικών κυττάρων



After transplantation into the brains of young mice, the neural precursor cells give rise to functioning neurons (red in A) and astrocytes (red in B), a star-shaped cell of the brain and spinal cord.

**Photo by:** courtesy Su-Chun Zhang  
**Date:** 11/01

Derived from human embryonic stem cells, precursor neural cells grow in a lab dish and generate mature neurons (red) and glial cells (green)

**Photo by:** courtesy Su-Chun Zhang  
**Date:** 11/01

## Εφαρμογές κυτταροκαλλιιεργειών: παρεμβολή RNA

### Παρεμβολή RNA (RNA interference, RNAi):

Εξειδικευμένη αναστολή γονιδιακής έκφρασης μέσω ενός μικρού δίκλωνου RNA, γνωστού ως siRNA.



## Αποσίωψη με shRNAs

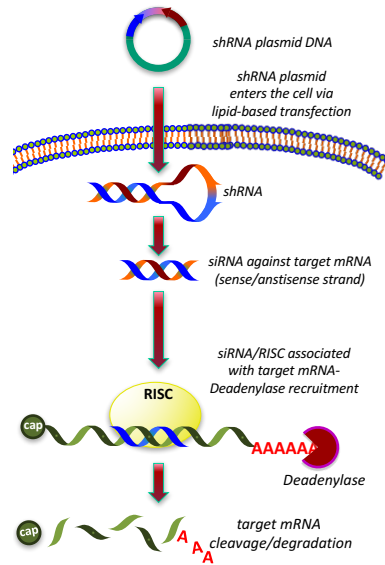
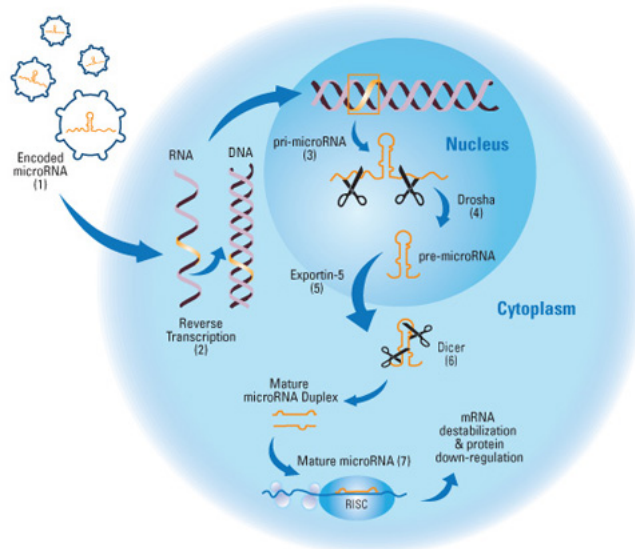


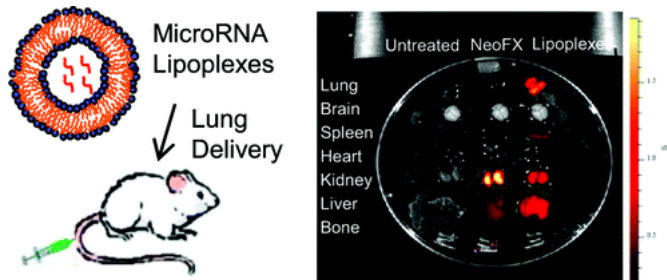
Figure 3. Silencing of gene expression with short hairpin RNAs (shRNAs)

## miRNAs και Θεραπευτικές προοπτικές



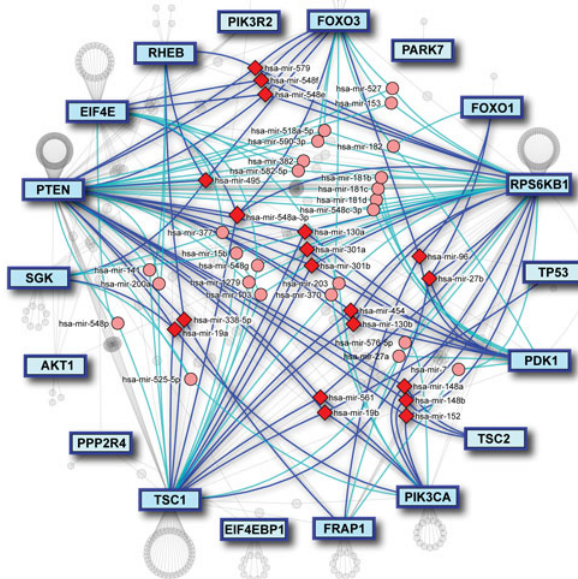
<http://www.tumblr.com/tagged/i...love-mirna>

## miRNAs και Θεραπευτικές προοπτικές



Wu et al. *Mol. Pharmaceutics* 2011; 8(4): 1381-1389

## miRNAs και Θεραπευτικές προοπτικές *mirDIP: microRNA Data Integration Portal*



<http://www.genengnews.com/gen-articles/mirna-closes-in-on-therapeutic-potential/4008/>