

Лабораторна робота № 11
Тема: Ствобурові клітини та 3D біопрінтинг

Мета: Ознайомитися із різновидами ствобурових клітин та 3D-біопрінтингом

Питання для обговорення:

1. Доставка гену в клітину
2. Можливості клітинних технологій
3. Ембріональні ствобурові клітини та індуковані плюрипотентні ствобурові клітини
4. 3D-культури
5. Застосування клітинних технологій у медицині

Завдання 1.

1. Розгляньте схему походження ствобурових клітин від утворення зиготи до дорослої особини на рисунку 1.

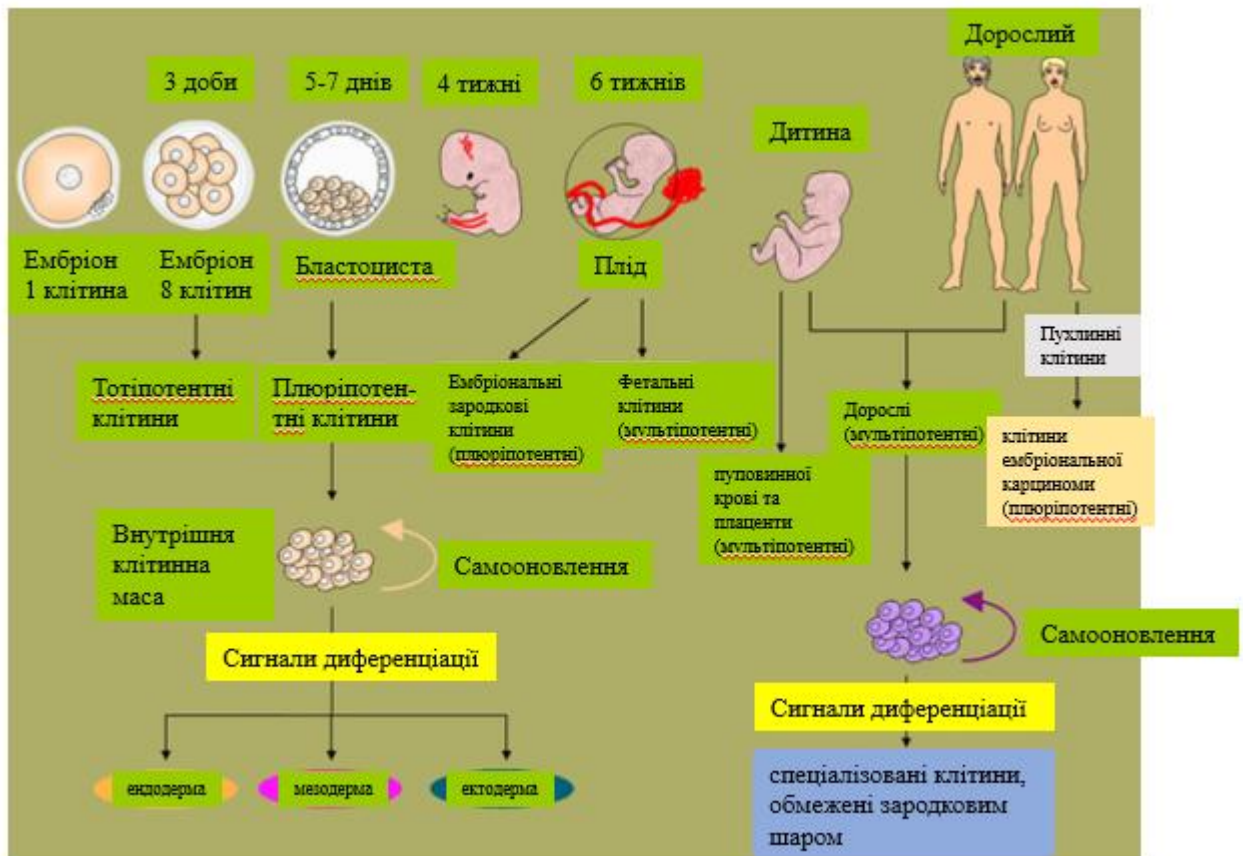


Рисунок 1. Походження ствобурових клітин від утворення зиготи до дорослої особини.

(https://www.researchgate.net/publication/282303521_Using_adipose_tissue_as_therapeutics_from_plastic_and_reconstructive_surgery_to_cell_therapy_Application_to_the_regeneration_of_tendons_in_horses/figures?lo=1)

2. Ознайомтеся з матеріалом статті «Вступ до біології ствобурової клітини» (автори Сукач О.М., Іонов І.А., Всеволодська С.О.) за посиланням https://moodle.znu.edu.ua/pluginfile.php/1042127/mod_resource/content/1/%D0%A1%D1%83%D0%BA%D0%B0%D1%87%20%D0%9E.%D0%9C.%2C%20%D1%81%D1%82%D0

<https://dpspace.hnpu.edu.ua/server/api/core/bitstreams/739b9f1a-dcca-4b4b-98d1-4ea8c6473dd6/content>

3. Дайте визначення поняттям: тотіпотентні, плюрипотентні, мультипотентні, олігопотентні, уніпотентні стовбурові клітини
4. Утворення яких тканин надають перелічені клітини?
5. Які речовини продукують стовбурові клітини?
6. Яким чином ідентифікують стовбурові клітини?
7. Завдяки якому процесу регулюється диференціювання стовбурових клітин?
8. Яким чином ідентифікують стовбурові клітини?

Надати відповіді на питання та зробити висновок щодо ролі стовбурових клітин, як важливого інструменту для розуміння органогенезу і регенераційної здатності організму.

Завдання 2.

1. Ознайомитися з представленим нижче матеріалом:

Одним з найперспективніших і найдинамічніших регенеративних напрямків в медицині є біодрук органів.

Біодрук (3D біопринтинг) – це технологія пошарового створення живих тканин. Візуально технологія ідентична роботі будівельного чи промислового 3D принтера.

Використання ДНК пацієнтів у створенні «живого» тривимірного об'єкта (шкіра, хрящ, кровеносна судина або кістка) на 3D принтері дозволяє вирішити такі завдання: у максимально короткі терміни виготовити необхідний фрагмент або орган і забезпечити повну сумісність.

Процес біодруку складається із трьох етапів:

- pre-processing. Створення моделі майбутнього об'єкта і підготовка матеріалів для друку. Дані для цифрової моделі можна отримати в ході магнітно-резонансної або комп'ютерної томографії або задати вихідні параметри самостійно. Також на цьому етапі підбираються матеріали: гідрогелі (натуральні, синтетичні), біочорнила (живі клітини). Гідрогелі можуть бути натуральними (наприклад, колаген, фібрин або гіалуронова кислота) або синтетичними (наприклад, поліетиленглікольдіакрилат або поліакриламід), але вони обов'язково повинні бути біосумісними: клітинам повинно бути комфортно всередині них. Гідрогелі допомагають клітинам формуватися і стабілізуватися в правильну форму.



Процес біодруку

<https://mentamore.com/covremennye-technologii/cto-takoe-biopechat.html>

- processing. Процес пошарового нанесення компонентів імітує природну будову органів. У 2009 році розроблено технологію NovoGen: використовувався перший серійний принтер з двома голівками (під гідрогель та біологічний матеріал).

Процес біопринтингу:

Перша друкуюча голівка фактично викладає крапельки з клітинами в потрібному порядку. Друга голівка використовується для розпилення підтримуючої основи – гідрогелю на цукровій основі, який не взаємодіє і не прилипає до клітин. Протягом декількох годин органічний об'єкт будується з великої кількості дуже тонких шарів. Як тільки друк закінчено, отриману структуру залишають на один-два дні для того щоб краплі «сплавилися» один з одним.

Перший вдалий експеримент зі створення органів на 3D принтері відбувся в 2006 році. Група біоінженерів з Wake Forest Institute for Regenerative Medicine розробила і надрукувала для сімох піддослідних пацієнтів сечові міхури.

Лікарі використовували стовбурові клітини пацієнтів для створення штучного органу. Зразки донорської тканини в спеціальній герметичній камері за допомогою екструдера нанесли поверх макета сечового міхура, нагрітого до природної температури людського тіла. Через 6-8 тижнів у ході інтенсивного зростання і подальшого поділу клітини відтворили людський орган, який було успішно трансплантовано.



3D біодрук тканин

<https://www.facebook.com/watch/?v=2587084454642769&ref=sharing>

- post-processing. Важливим етапом є створення відповідного середовища. Для цього надрукований матеріал розміщується в біореакторі, де орган «дозріватиме/набиратиме оптимальні показники» до процедури імплантації. На цьому етапі можна впливати на різні характеристики конструкції, що задають його механічну міцність, біологічні та функціональні властивості.

Розвиток тканини керується градієнтами біомолекул, які спрямовують ріст, міграцію та диференціацію клітин. Біомедичні інженери зацікавлені у відтворенні цих градієнтів розвитку у дорослих осіб, щоб сприяти росту нової тканини у місцях, які зазнали пошкоджень. Тепер дослідники стали на крок ближче до цієї мети завдяки створенню нових 3D-друкованих каркасів, які дозволяють дослідникам вивільняти біомолекули в організм з винятковим контролем.



Каркас, надрукований на 3D-принтері, забезпечує контрольоване вивільнення біомолекул в організмі

<https://www.youtube.com/watch?v=gXaagHdaVhE>

2. У 3D біодруці як матеріал для друку використовуються живі клітини або клітинні агрегати. В результаті виходять мікроорганізми або, як їх називають вчені, тканинні чи органні конструкції. Знайдіть приклади отримання таких конструкцій, опишіть їх (посилання на відео вітається):

- а) у медицині
- б) у фармакології
- в) у біології для наукових досліджень
- г) у дослідженнях харчових технологій
- д) у космосі тощо

Завдання 3.

Крім створення тканинних і органних конструкцій в лабораторії з метою їх наступної пересадки пацієнтам, можливе і безпосереднє заміщення дефектів тканин і органів в процесі операції. Наприклад, біодрук безпосередньо на шкірний дефект (рану) у щурів. В ході експерименту в якості біочернил використовувався спеціально розроблений колагеновий матеріал



Біодрук імплантата для заміщення шкірних дефектів.

<https://www.youtube.com/watch?v=CV5BB4sPUVk>

Подумайте, які переваги та недоліки має такий підхід біодруку.