

6. Пономаренко О. Е. Теоретичні аспекти фінансової безпеки підприємств / О. Е. Пономаренко. – Економіка розвитку. – 2010. – №1 (53) – С. 77–80.
7. Реверчук Н.Й. Управління економічною безпекою підприємницьких структур: монографія / Н.Й. Реверчук. – Львів: ЛБІ НБУ, 2004. – 195 с.
8. Сусіденко О. В. Фінансова безпека підприємства: теорія, методи, практика: монографія / О. В. Сусіденко. – К.: Центр учбової літератури, 2015. – 128 с.
9. Шершньова З. Є. Антикризове управління підприємством: навч.-метод. посібник / З. Є. Шершньова, С. В. Оборська. – К.: КНЕУ, 2006. – 196 с.

The article interpretation of maintenance of concept " isconsidered home and foreign scientists financial safety of enterprise ". The primary functional purposes of financial safety of enterprise are certain.

Key words: concept, economic security, financial safety of enterprise.

УДК 57.085.23

Максименко Олена Сергіївна
Шкуропат Анастасія Вікторівна

ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ РОСТУ КУЛЬТУРИ КЛІТИН ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ПУХЛИНИ

Досліджували особливості параметрів росту культури клітин гомеоендотеліосаркоми залежно від фази життя культури клітин та на основі отриманих показників будували криву росту. З'ясували, що перші 13 днів тривала lag-фаза, з 14 дня відбулося подвоєння кількості клітин, що свідчило про перехід до log-фази, на 42 день концентрація клітин почала падати, культура вийшла у фазу плато, після чого відбулася деградація культури клітин.

Ключові слова: крива росту, культура клітин, гемоендотеліосаркома.

Методи біотехнології останнім часом набули широкого поширення та постійно удосконалюються [1, 2]. Тому культивування клітин *in vitro* є одним з ключових етапів розвитку цієї галузі, і з кожним роком все більше застосовується у прикладних галузях біології, медицини та сільського господарства. Цей метод використовують при вирішенні таких загальнобіологічних проблем, як з'ясування механізмів диференціювання і проліферації, взаємодії клітин із середовищем, адаптації, старіння, біологічної рухливості, злоякісної трансформації [3].

Тому на сучасному етапі розвитку культивування клітин постає питання не лише про виділення та підтримання життєдіяльності певних клітин, але про можливість маніпулювання та зміни клітини у культурі для наукових чи практичних потреб. Під час роботи з культивованими клітинами актуальним є вивчення міжклітинної взаємодії, морфогенезу, паракринного та аутокринного впливу, кінетики клітинної проліферації, для чого використовуються як однотипові клітини, так і моделі співкультивування різних типів клітин [4].

На сьогодні метод культивування клітин *in vitro* вивчає особливості проліферації, диференціювання, міграції, метаболічної активності, біохімічних і молекулярно-біологічних механізмів старіння та загибелі окремої клітини, популяції генетично подібних клітин, для яких підтримуються всі їх властивості в штучно створених умовах з урахуванням особливостей культурального середовища, відповідно до типу експланту та забезпеченням всіх необхідних правил асептики [5,6].

Одним з кількісних параметрів культури клітин *in vitro* є ріст, а саме дослідження кількості клітин на різних стадіях існування культури. Необхідність дослідження біології культивованих клітин, зокрема їх ростових показників, полягає у подальшому визначенні напрямку розвитку методики, планування проведення досліду, коригування умов існування клітин та вивчення особливостей дії середовища культивування, визначення рівня

виживання клітин різних експлантів за однакових умов або у разі зміни показника як зовнішнього, так і внутрішнього середовища [7].

Метою нашої роботи було дослідження динаміки кількісного параметру, а саме росту, залежно від фази життя культури клітин та побудова кривої росту.

Матеріали та методи. Для дослідження ми відібрали білих мишей, які були хворі на ендотеліосаркому. Була виділена культура пухлинних клітин з подальшим субкультивуванням. Для виявлення особливостей параметрів кривої росту ми посіяли культуру клітин злоякісної гемоендотеліосаркоми в 12 культуральних флаконів у поживне середовище. Попередньо клітини були трипсинізовані. Посівна концентрація складала концентрації 100×10^3 кл./мл. В якості культурального середовища використовували поживне середовище Sigma, USA – 50мл, з 10% вмістом телячої сироватки. Для попередження мікробної контамінації застосовували антибіотик каноміцин (у концентрації: 40 мкг/мл). Культивування проводилося при температурі 37C°.

Підрахунок кількості клітин виконували у камері Горяєва з попереднім диспергуванням клітин у трипсині. Кожен з 12 флаконів відкривали через 72-96 годин з моменту початку дослідження та виконували підрахунок кількості клітин. Дослідження тривало протягом 42 днів. Після завершення дослідіу нами була проаналізована динаміка росту культури клітин гемоендотеліальної саркоми та виокремлені lag-фаза, log-фаза і фаза плато.

Окрім підрахунку концентрації клітин постійно спостерігали за кольором поживного середовища та наявністю контамінації. У разі необхідності проводилася заміна поживного середовища.

Обговорення результатів.

За даними підрахунків концентрації клітин ендотеліальної саркоми, нами побудовано криву росту культури клітин *in vitro* (рис. 1) та виокремлені фази росту культури.



Рис. 1. Крива росту культури клітин гомеодотеліосаркоми *in vitro*.

У перші 13 днів у культурі тривала lag-фаза. Ця фаза характеризується активною підготовкою клітин до проліферації. Вивчення динаміки росту культури у цій фазі демонструє повільне збільшення концентрації клітин (із 143×10^3 кл./мл до $158,8 \times 10^3$ кл./мл). У lag-фазі відбувається зміна поверхні ядра за рахунок інвагінацій, збільшення кількості рибосом, які згруповані в полісоми, та поява численних цистерн гранулярного ендоплазматичного ретикулума, збільшується концентрація ферментів.

Починаючи із 14 дня початку дослідження культура клітин ендотеліосаркоми перейшла у log-фазу. Відбулося подвоєння кількості початкової концентрації клітин (240×10^3 кл./мл на початку фази і до 280×10^3 кл./мл у кінці фази). Ця фаза характеризується підвищенням активності мітохондрій, відповідно збільшення синтезу енергії макроергічних сполук, завдяки чому відбувається активний ріст клітин.

З 21 дня культивування по 28 відбулося невелике падіння концентрації клітин, що, на нашу думку, пов'язано з необхідністю заміни поживного середовища.

На 42 день концентрація клітин почала падати (з $214,4 \times 10^3$ кл./мл на початку фази і до 201×10^3 кл./мл), культура вийшла у фазу плато. Під час цієї фази спостерігається стаціонарний ріст клітин у культурі. Цьому сприяє висока щільність популяції, поступове накопичення токсичних продуктів обміну та виснаження поживного середовища.

З 42 дня культура клітин перейшла у стадію деградації, що проявлялося у зміні кольору, обмежений простір клітин. Цьому сприяють значний дефіцит поживних речовин у середовищі, нагромадження кислот, автоліз під впливом власних ферментів.

Отже, нами з'ясовано, що культура гемоендотеліосаркоми перебуває у фазі експотенційного росту. Адаптація клітин у культурі тривала протягом 13 днів. Перше подвоєння концентрації клітин на вхід її у фазу логарифмічного росту відбувається через 13 днів з моменту початку культивування. Починаючи з 42 дня клітини переставали активно ділитися та кількість загиблих клітин почала переважати над кількістю клітин, що діляться.

Також нами досліджено, що поступово, при рості клітинної культури, один з факторів середовища стає обмежуючим або лімітуючим. Часто це відбувається в результаті виснаження поживного середовища. Швидкість росту культури сповільнюється і настає стаціонарна фаза росту. Поступово культура клітин переходить у фазу сповільнення росту та деградації. Тому особливості впливу інших факторів зовнішнього та внутрішнього середовища на параметри росту та особливості досліджуваного експланту полягають у подальшому дослідженні.

Література:

1. Методичні рекомендації до спецпрактикуму «Культура клітин та клонування» у 2 частинах Ч.І /Л. В. Гарманчук. – Київ, 2012 – С. 20-32

2. Гладка І.В. Ефективність хімічних та біологічних методів превенції розвитку бактеріозів плодів CAPSICUM ANUUM / Гладка І.В., Шкуропат А.В. // Природничий альманах. Сер.: Біологічні науки. - Херсон: ПП Вишемирський.- Вип. 23. - С.13-19.
3. Фрешни Р. Я. Культура животных клеток. Практическое руководство/ Р. Я. Фрешни. – Москва: БИНОМ Лаборатория знаний, 2010. – С.46-47
4. Karen Kirkwood CELL CULTURE BASICS [protocols]/ Karen Kirkwood. – USA: Invitrogen. Gibco, 2014. – 30 pages. Режим доступа: [<https://www.thermofisher.com/ua/en/home/references/gibco-cell-culture-basics/cell-culture-protocols.html>].
5. Karen Kirkwood CELL CULTURE BASICS [Handbook]/ Karen Kirkwood. – USA: Invitrogen. Gibco, 2014. – 62 pages.
6. Блажевич О. В. Культивирование клеток. Курс лекций/ О. В. Блажевич. – Минск, 2004. – 79с.
7. Цыренов В.Ж. Основы биотехнологии: культивирование клеток человека и животных. Учебно-методическое пособие/ В. Ж. Цыренов. – Улан-Удэ: ВСГТУ, 2005. – 48с.

Studied the characteristics of growth options for the cell culture hemeendothelialsarcoma which depending on the growth phases of cell culture and build on the basis of these indicators the curve of growth. We established that the first 13 days were the lag-phase, at 14 days there has been a doubling in the number of cells, indicating the transition to log-phase, at 42 days, the cell concentration began to fall, the culture was released in a plateau phase, followed by degradation of the cell culture.

Key words: *growth curve, cell culture, hemeendothelialsarcoma.*