

прочно связывают в ней воду. Возможно также использование других криопротекторов.

Для криоконсервации клетки ресуспендируют в смеси, состоящей из 80 % питательной ростовой среды, 10 % сыворотки крови крупного рогатого скота, 10% глицерина (или ДМСО), разливают в ампулы, вместимостью 2,0 или 5,0 мл и замораживают в сосудах Дюара с жидким азотом. При замораживании температуру снижают постепенно на 1 °С в минуту до минус 25 °С, затем до минус 70 °С. Возможно использование других методов криоконсервации. Клеточные культуры могут храниться при температуре минус 196 °С в течение 10 и более лет.

После размораживания следует исследовать жизнеспособность клеток, определяя их количество путем подсчета живых и погибших клеток после окрашивания. Для определения физиологического состояния клеток «сохранные/«поврежденные» широко применяется окрашивание 0,1 % раствором трипанового синего в гемоцитометрах.

6. Методы испытания клеточных культур

Морфология

Для морфологического изучения клеточные культуры выращивают на предметных или покровных стеклах в течение 48-72 ч, фиксируют 96 % этиловым спиртом или жидкостью Карнуа в течение 10 -15 мин при температуре от 20 до 22 °С, окрашивают гематоксилин-эозином или азур-эозином и просматривают в световом микроскопе. В нормативной документации могут быть указаны иные условия приготовления препаратов. Определяют тип роста клеток (эпителиоподобный или фибробластоподобный), гомогенность цитоплазмы, наличие эозинофильных включений, характерные особенности ядра, ядрышек и др. органелл.

Необходимо также описывать оптимальные условия и способ культивирования: стационарный, роллерный, суспензионный или псевдосуспензионный, на микроносителях (декстрановых, покрытых коллагеном или желатином, целлюлозных или полистироловых). Должны