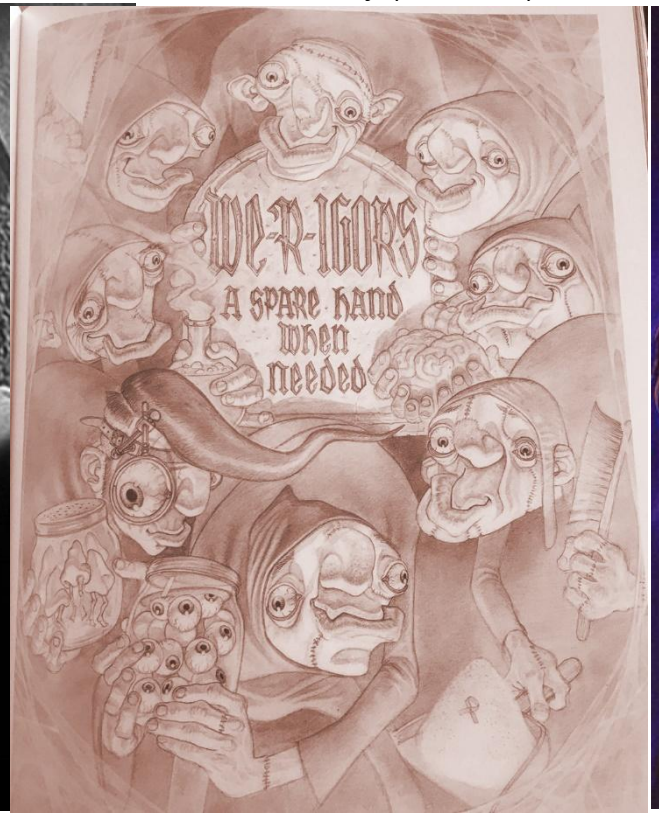
Laboratoř Tkáňových Kultur (LTK)

Mgr. Petr Hainz

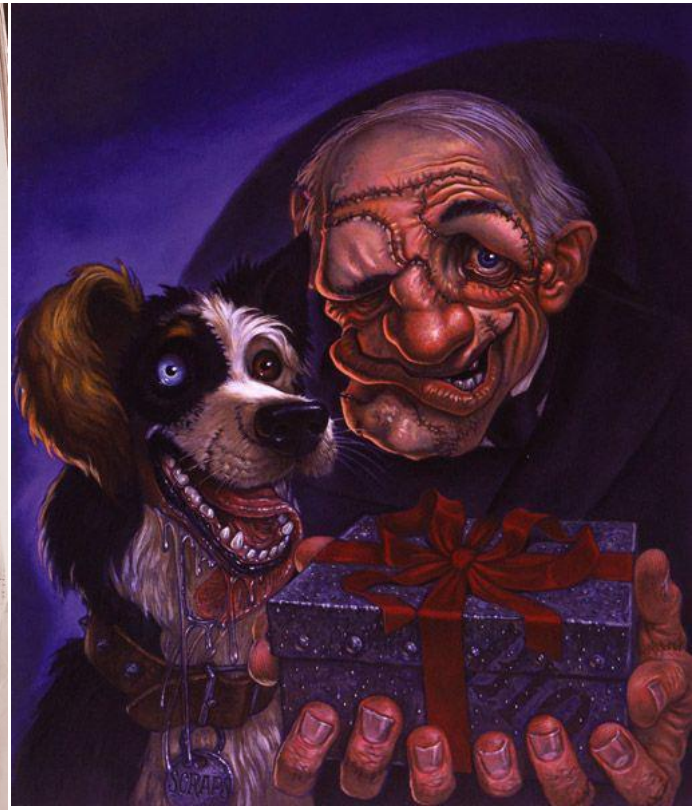
Pro Ústav provádíme servis v rámci pěstování a následného výdeje savčích buněk (včetně lidských) dalším laboratořím pro diagnostické i experimentální účely

foto - YouTube - Young Frankenstein

obr. Paul Kidby (Pinterest)

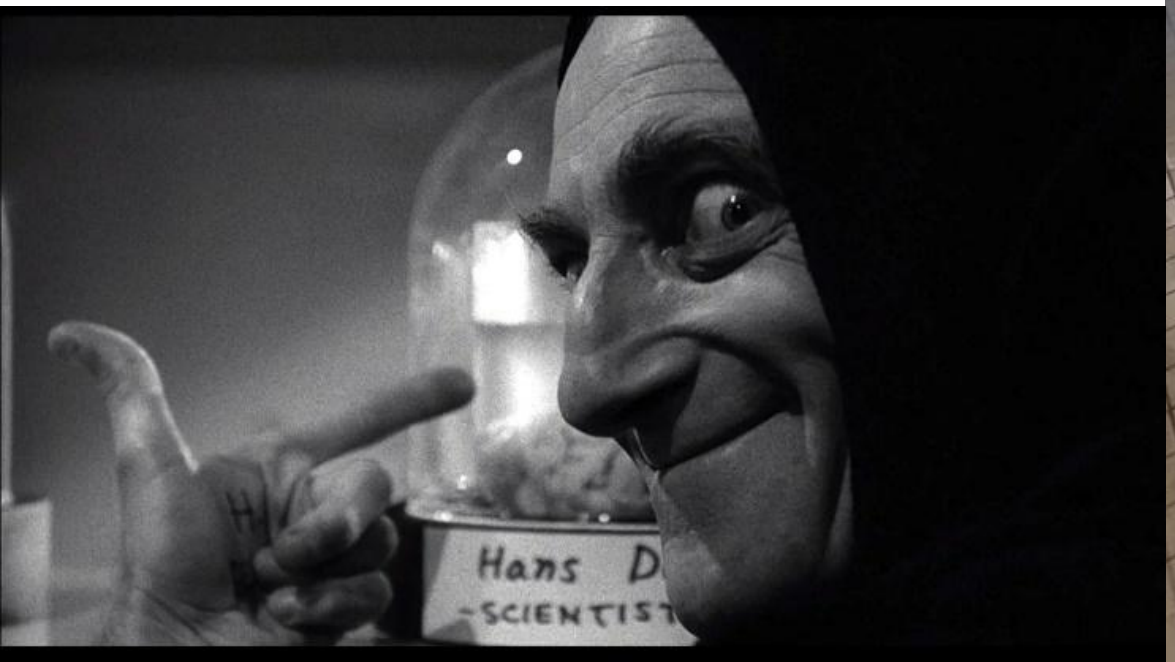


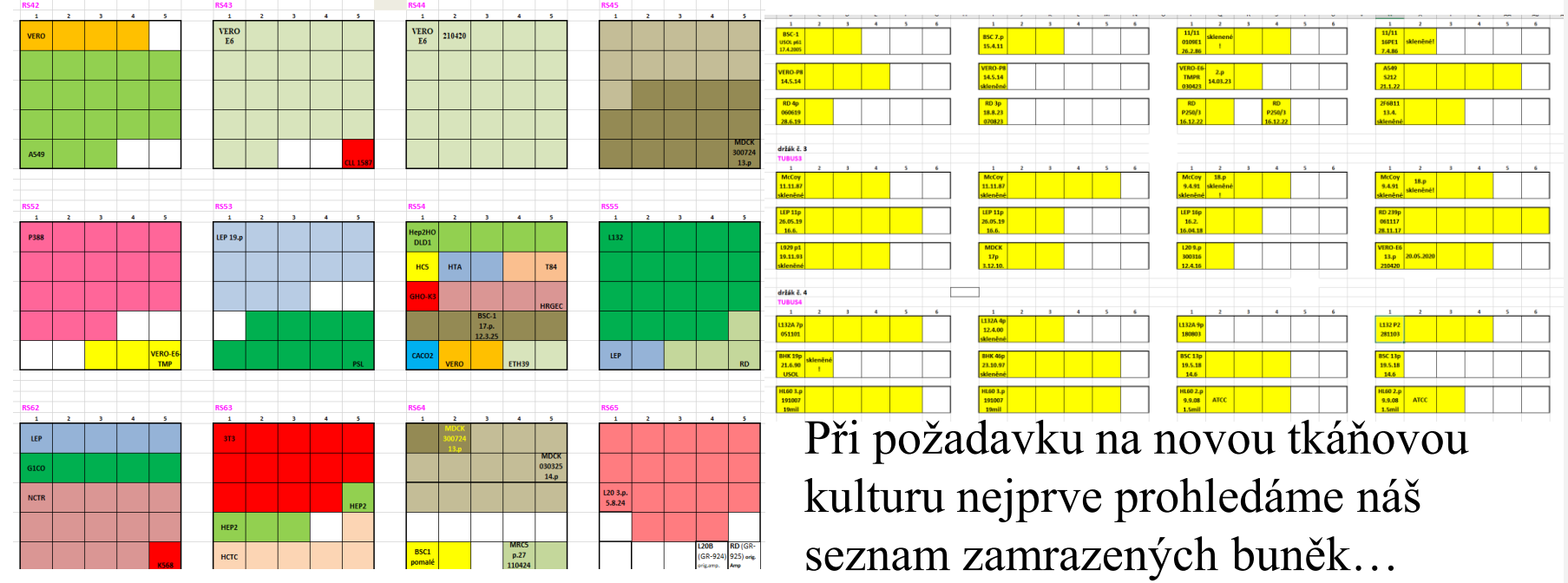
obr. Paul Kidby (Pinterest)



V tekutém dusíku máme k dispozici sbírku několika desítek linií tkáňových buněčných kultur, ale v “plném provozu“ je jich momentálně deset, ne všechny současně

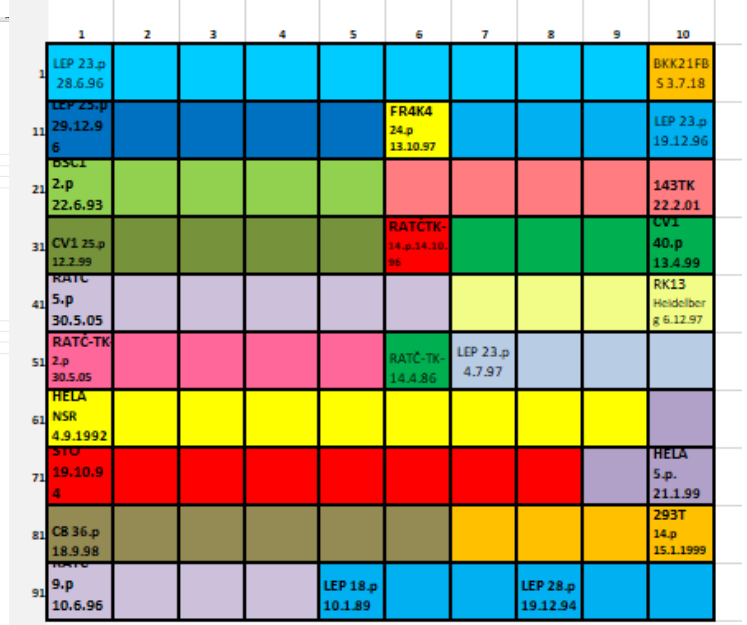
foto - Pinterest - Young Frankenstein



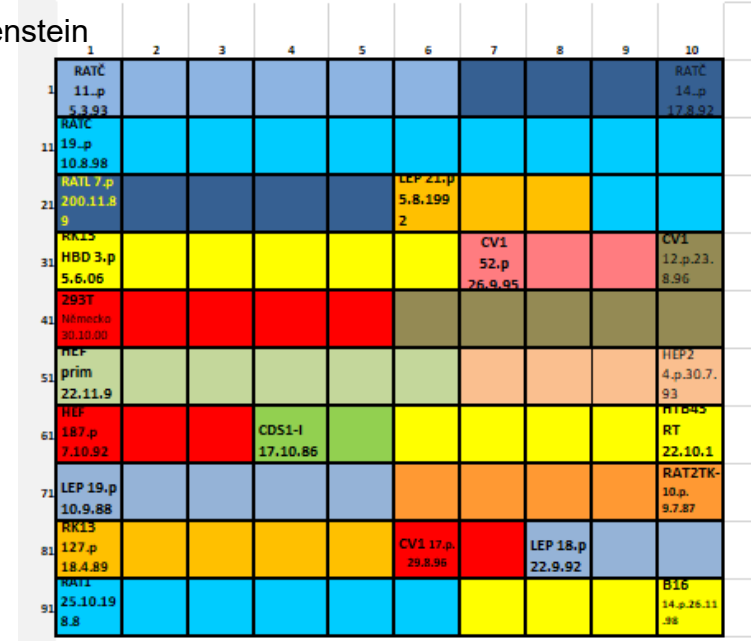


Při požadavku na novou tkáňovou kulturu nejprve prohledáme náš seznam zamrazených buněk…

foto - Pinterest
- Young Frankenstein



67



Pokud jsou požadované buňky v naší sbírce, stačí vypsat objednávku a dohodnout s námi termíny. Před výdejem nové (dlouhodobě nepoužívané) tkáňové kultury bývá nutné ověřit růstové vlastnosti a také zadat test na vyloučení přítomnosti mykoplazmat v tkáňové kultuře, časový horizont výdeje pak závisí na růstových vlastnostech konkrétní kultury a také na vytíženosti naší laboratoře…
Pro kontakt je doporučený

E-mail:ltk@szu.gov.cz

foto - Pinterest - Young Frankenstein

Laboratoře CEM, laboratoř pro tkáňové kultury

Vedoucí: Ing. M. Růžková, Ph.D., E-mail ltk@szu.gov.cz

Dlouhodobá objednávka tkáňových kultur

(včetně zkoušky sterility životnosti a růstových vlastností)

Zadavatel

Pracoviště

Jméno kontaktní osoby

Telefon e-mail

Kód nákladového střediska/kód činnosti

Objednávku vystavil (jméno, podpis)

Datum vystavení objednávky

Razítko

Zadání

Druh buněk Množství (miliony)

Interval odběru 1x týdně 2x týdně Jiný (specifikujte)

Den odběru Po Út St Čt Pá
(nutno domluvit s laboratoří)

Kultivační médium ANO NE Množství (ml)

Další specifikace (stáří kultury, nejvyšší možná pasáž apod.)

Zakázku přijal

Datum hod.

Číslo zakázky Přijal a přezkoumal:

Jméno pracovníka pověřeného vyřízením zakázky:

Laboratoře CEM, laboratoř pro tkáňové kultury

Vedoucí: Ing. M. Růžková, Ph.D.,E-mail ltk@szu.gov.cz

Jednorázová objednávka tkáňových kultur

(včetně zkoušky sterility životnosti a růstových vlastností)

Zadavatel

Pracoviště

Jméno kontaktní osoby

Telefon e-mail

Kód nákladového střediska/kód činnosti

Objednávku vystavil (jméno, podpis)

Datum vystavení objednávky

Razítko

Zadání

Druh buněk Množství (miliony)

Datum odběru
(nutno domluvit s laboratoří)

Kultivační médium ANO NE Množství (ml)

Další specifikace (stáří kultury, nejvyšší možná pasáž apod.)

Zakázku přijal

Datum hod.

Číslo zakázky Přijal a přezkoumal:

Jméno pracovníka pověřeného vyřízením zakázky:

Poznámky*

Objednání nové tkáňové kultury, která není uložena v našich sbírkách znamená bohužel zpravidla zdržení o 4 až 6 měsíců a další byrokratické komplikace

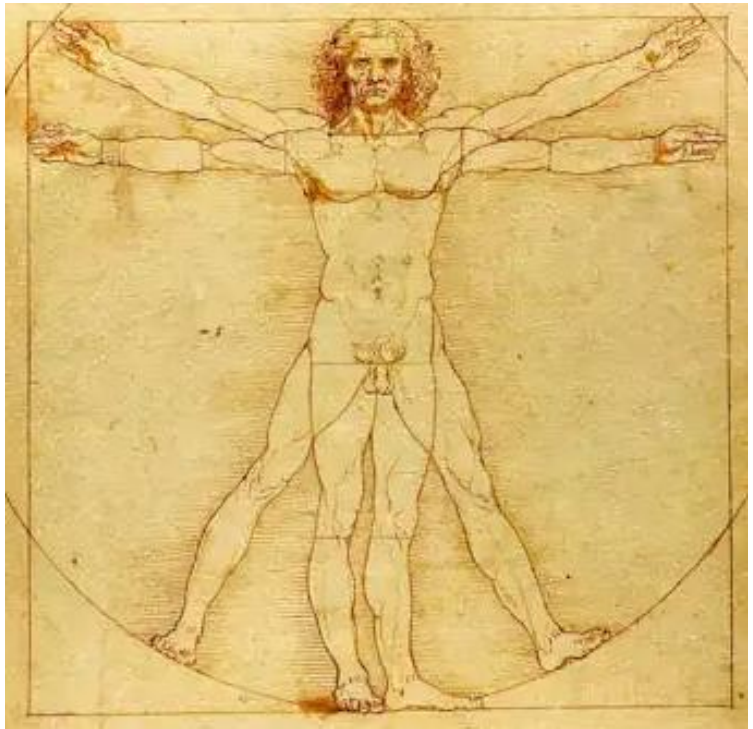
Sem zadejte text

foto - Pinterest
- Young Frankenstein

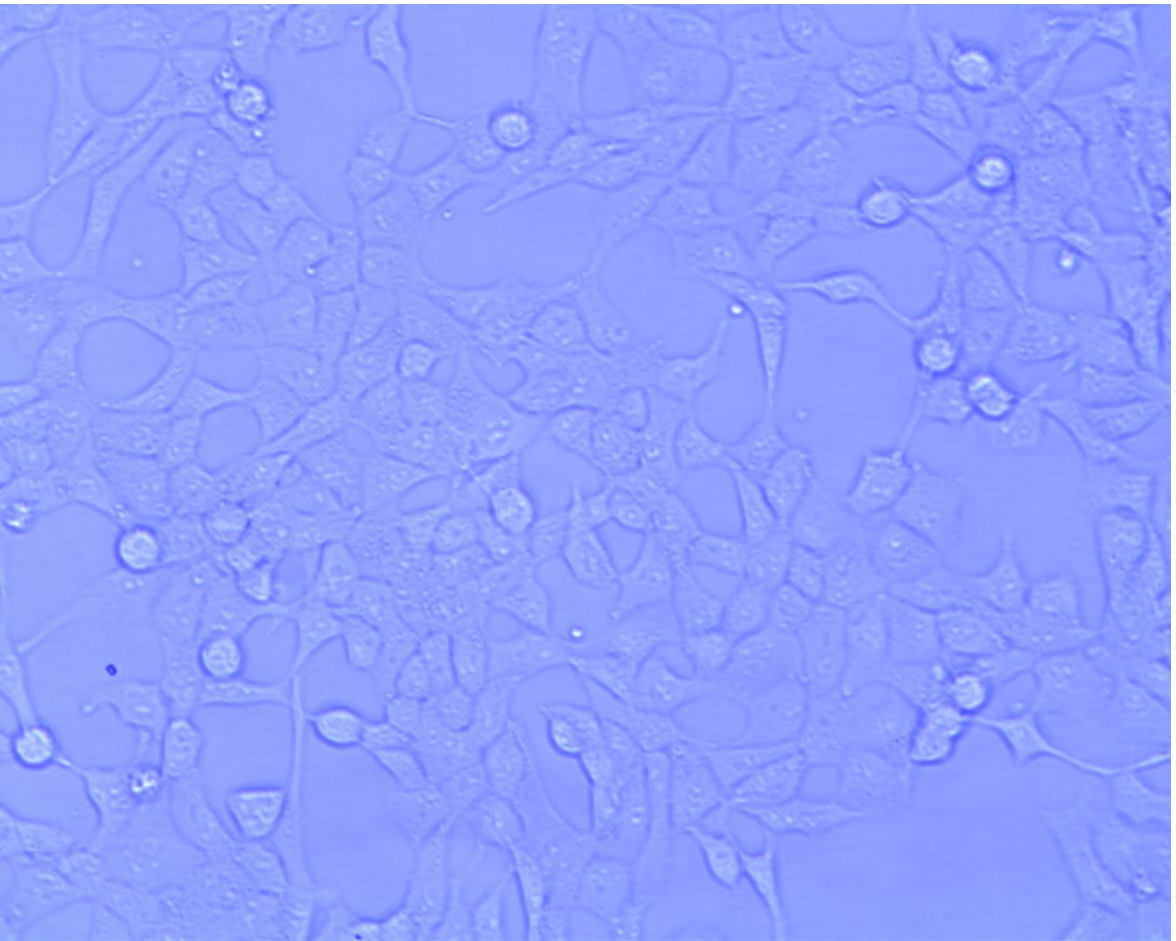
Významný počet tkáňových kultur nikoli překvapivě pochází z našeho vlastního druhu, tedy “Člověk moudrý“ *(Homo sapiens)*
Naše laboratoř má k dispozici například buněčné linie z lidských potratů – buňky lidských embryonálních plic (LEP, MRC-5), z rhabdomyosarkomu (RD-cells), nádoru čípku hrdla děložního (carcinom cervixu – HeLa), keratinocyty (HACAT) a suspenzně rostoucí linii lidských B-lymfoblastů (pacient s hereditární sférocytozou – linie WIL2-S)

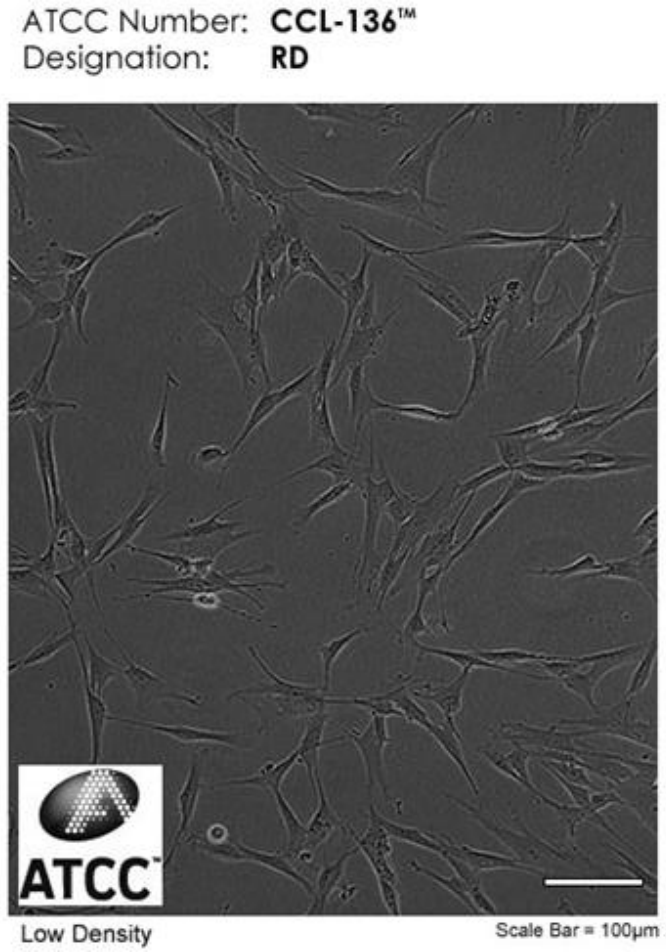
foto - Pinterest - Young Frankenstein

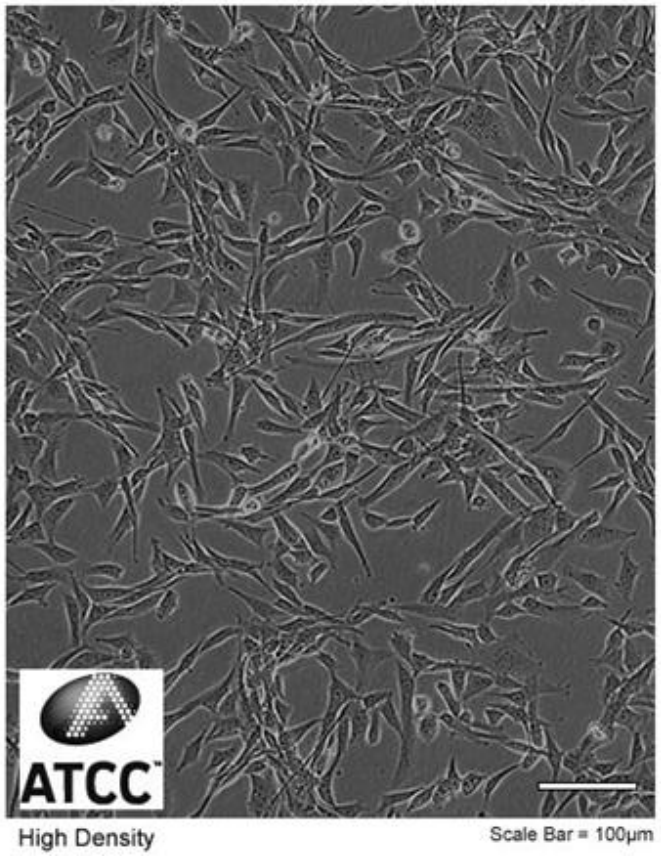
obr. Leonardo DaVinci - Virtuvianský muž



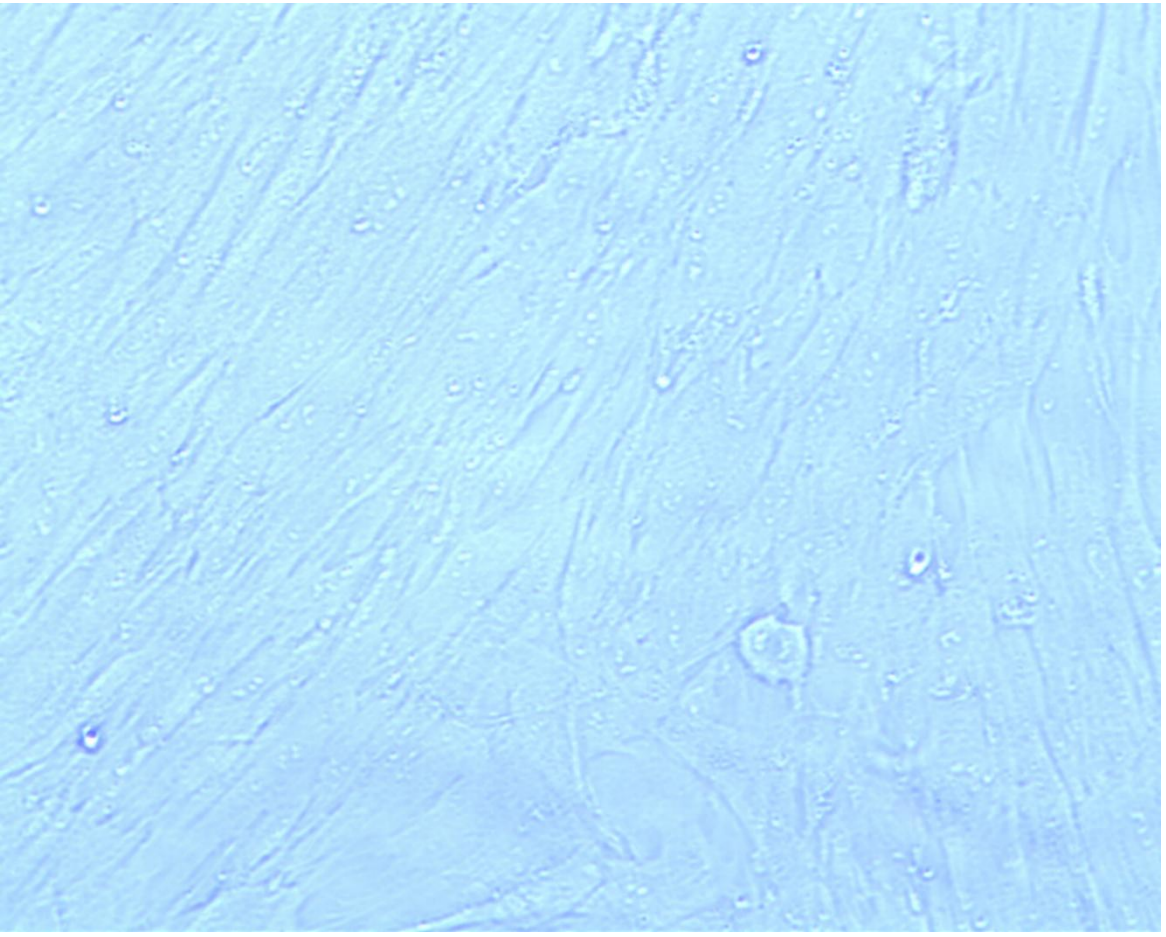
RD – z rhabdomyosarkomu 7-leté pacientky, velmi rychle se množící linie, objednávka od NRL pro Enteroviry



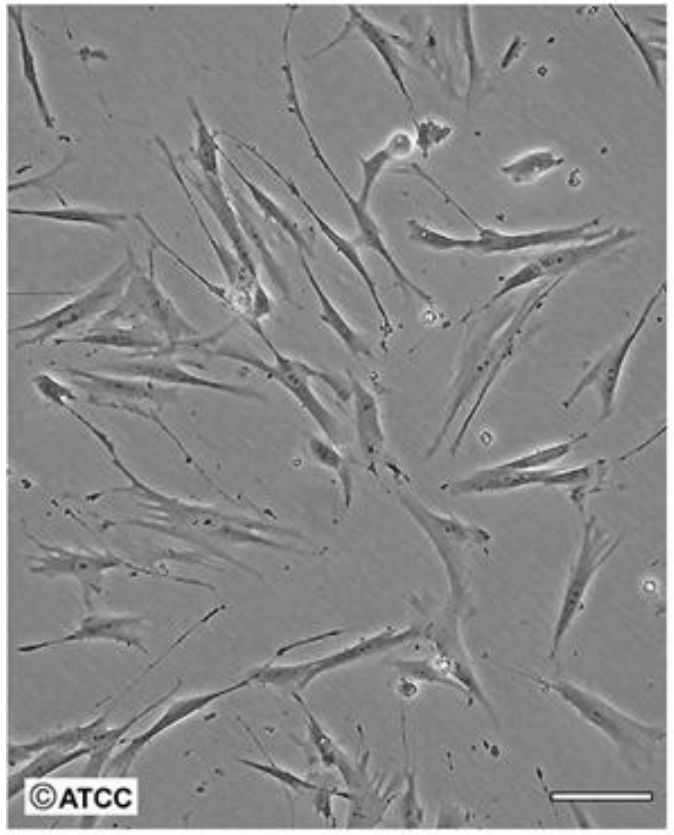




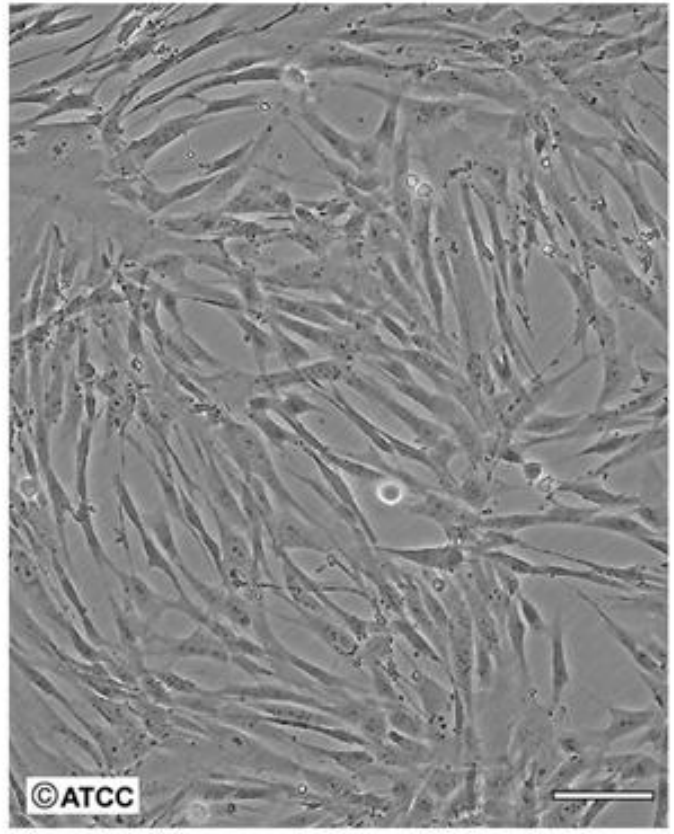
LEP a MRC-5 – fibroblastoidní linie z plicní tkáně lidských embryí. Pod běžným optickým mikroskopem nejsou obě linie vzhledově rozlišitelné. Využívá je více laboratoří.



ATCC Number: **CCL-171**
Designation: **MRC-5**

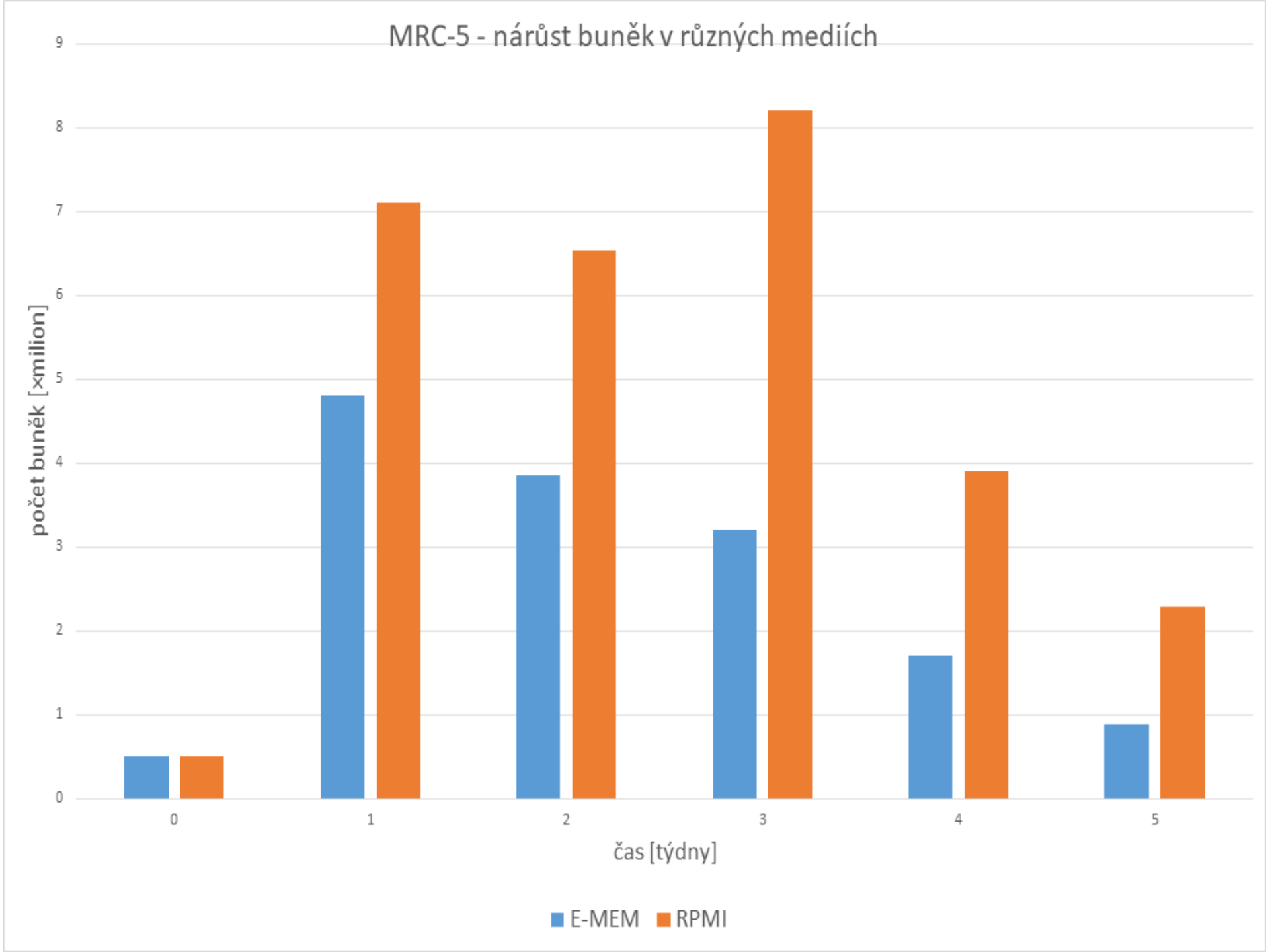


Low Density Scale Bar = 100µm



High Density Scale Bar = 100µm

ATCC pro buňky MRC-5 doporučuje medium E-MEM, pokusně jsme porovnávali kinetiku buněk v tomto médiu i v RPMI. Podle našich výsledků byly buňky dodané z ATCC pravděpodobně již v dost vysoké pasáži.



HeLa – nádorová epiteloidní linie. Původně od pacientky (Henrietta Lacks) s karcinomem cervixu. Dodány do NRL pro Toxoplasmosu

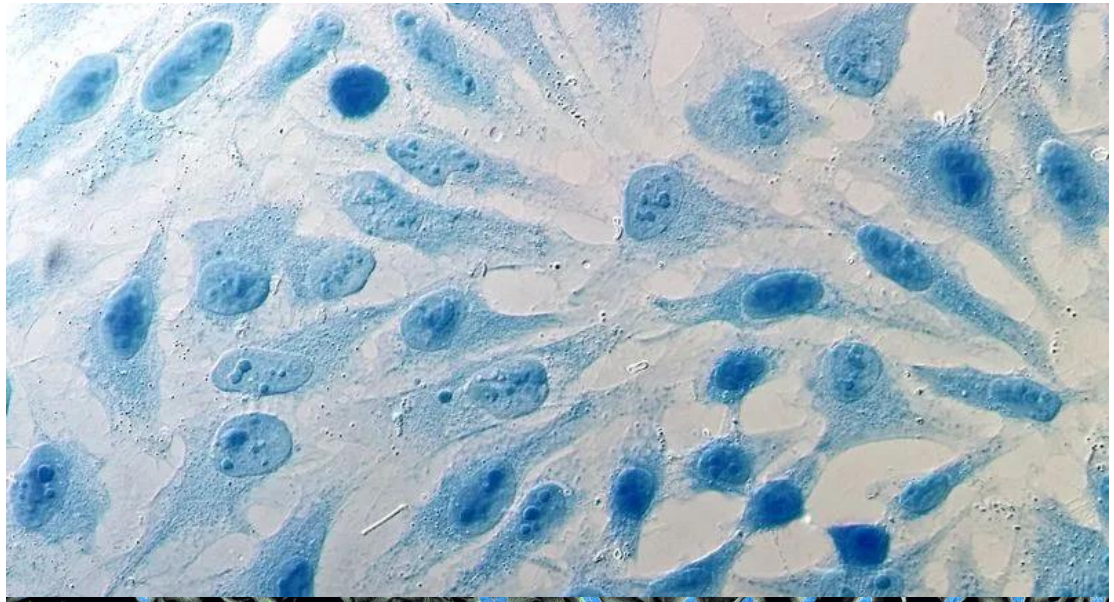
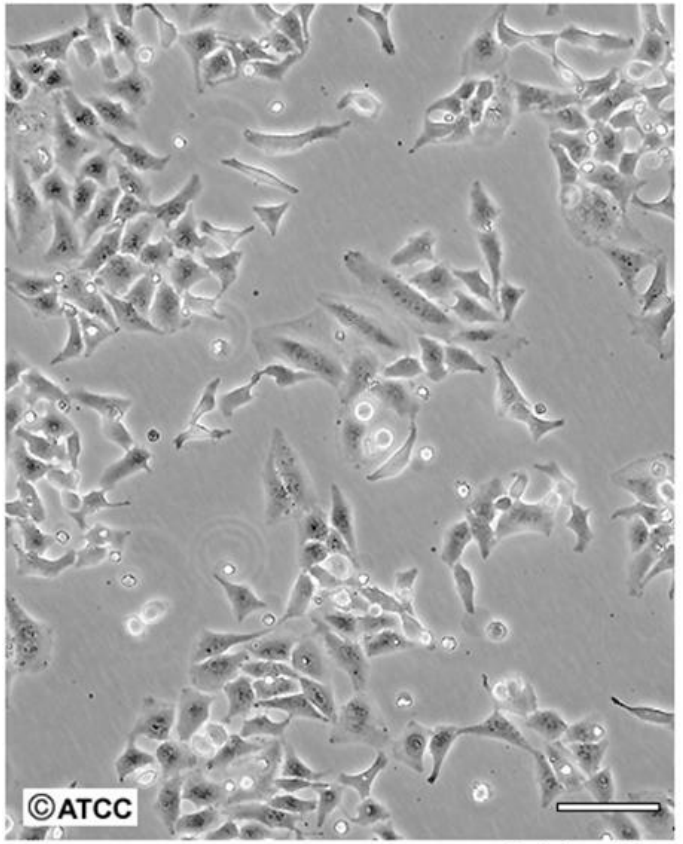


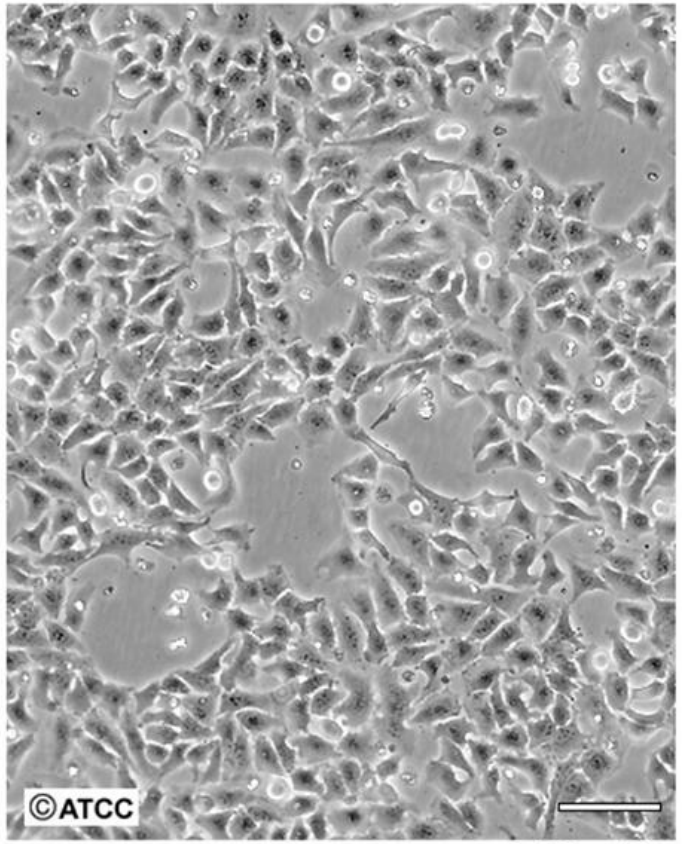
foto - The Scientist

foto - Babraham Institute

ATCC Number: **CCL-2**
Designation: **HeLa**



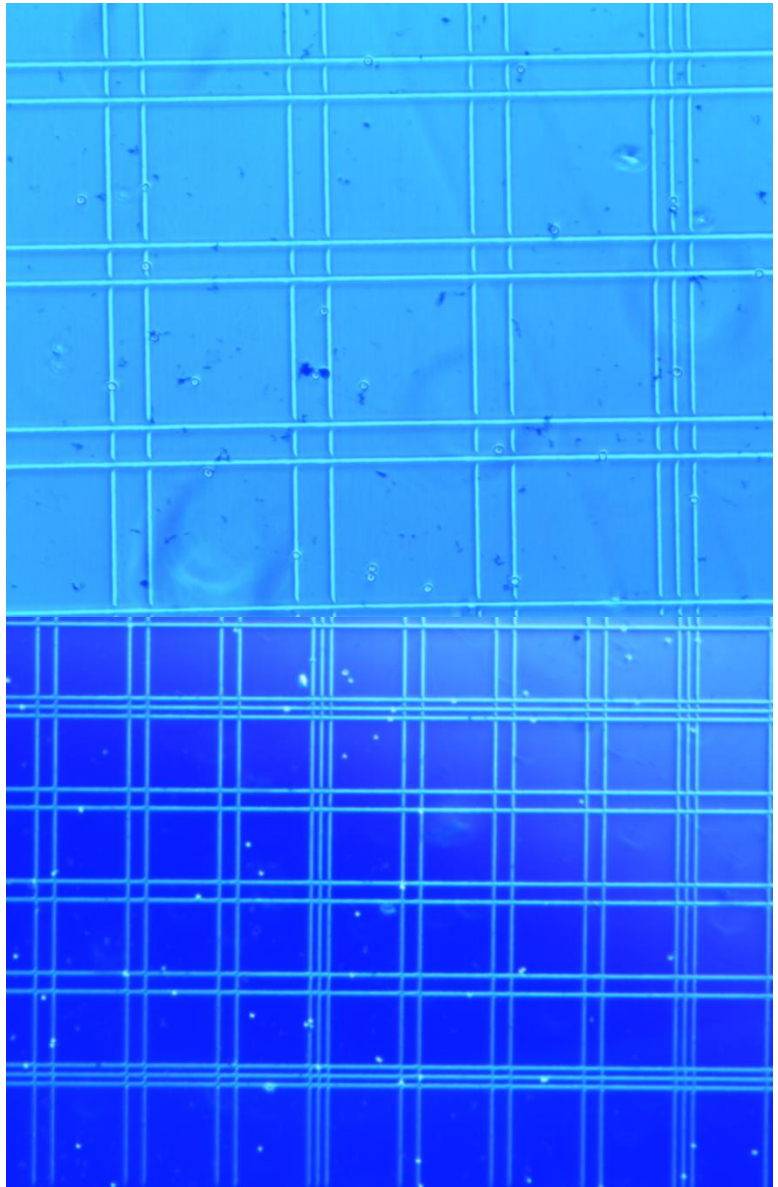
Low Density Scale Bar = 100µm

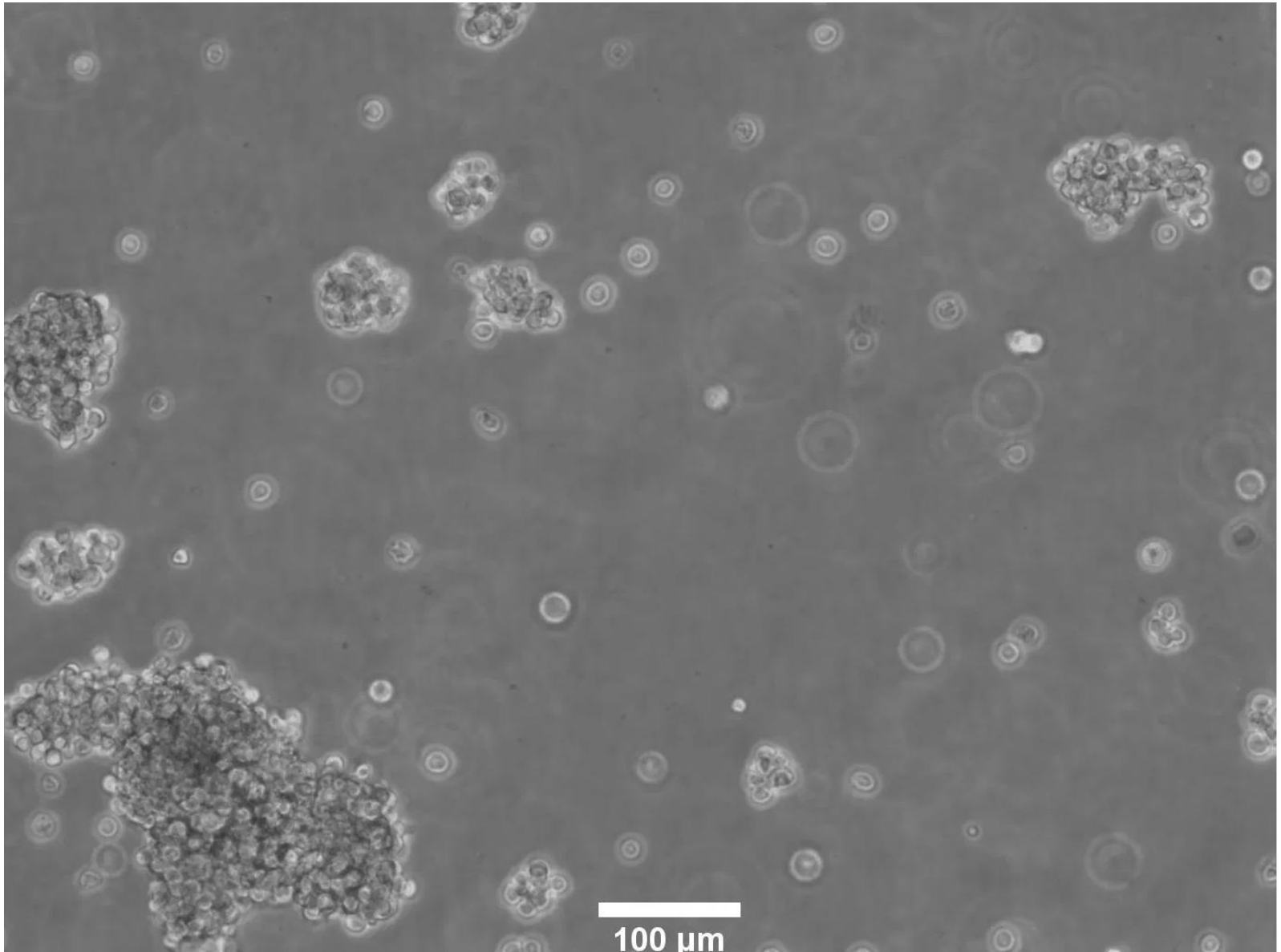


High Density Scale Bar = 100µm

WIL2-S – rychle rostoucí suspenzní linie B-lymfoblastů. Původně od pacienta s hereditární sférocytozou.

foto - Cytion





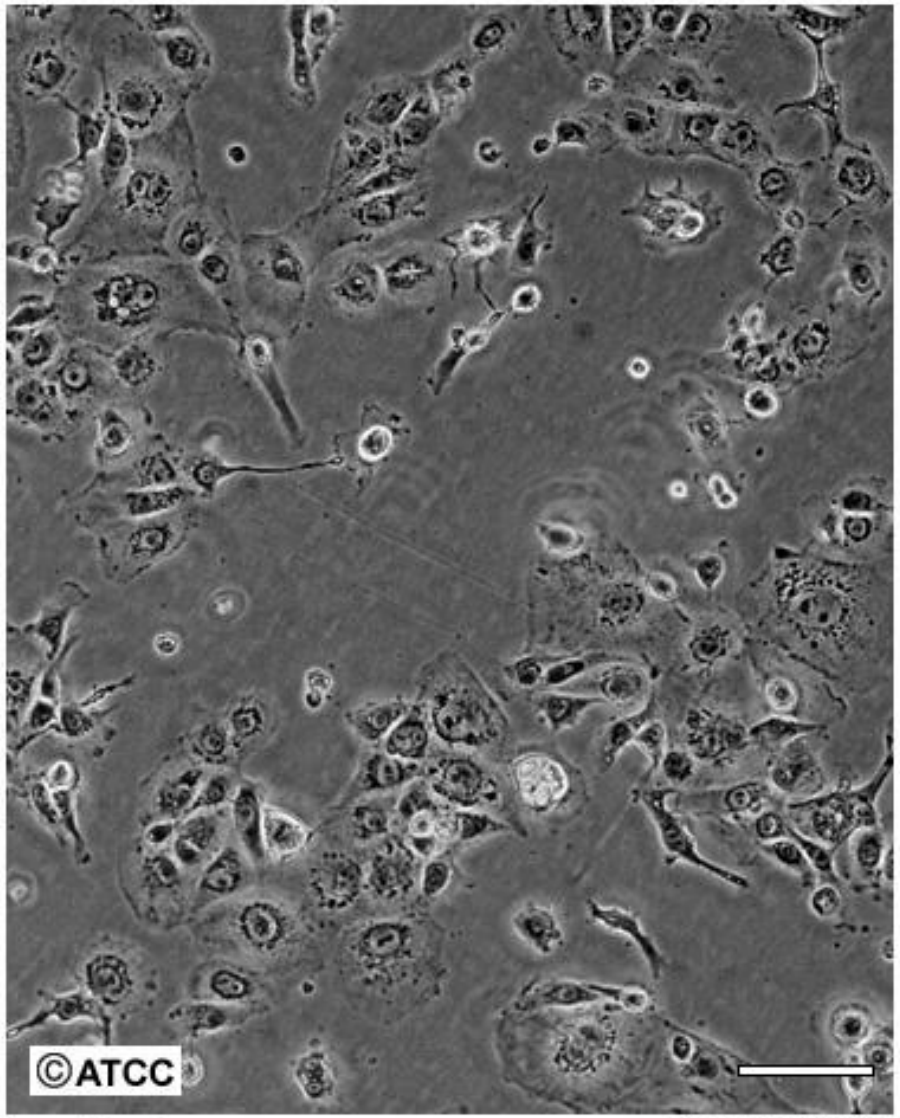
Historickou zvláštností je, že navzdory četnějšímu využití Makaka rhesus *(Macaca mulatta)* v laboratořích je více běžně používaných tkáňových kultur získaných z Kočkodana obecného *(Chlorocebus aethiops)*, známého rovněž pod anglickým označením African Green Monkey. V naší laboratorní sbírce jsou tak buňky MK2(a) a MK2(b) z ledvin Makaka oproti liniím VERO, BSC-1, CV-1 a BGM z Kočkodana, rovněž z ledvin

foto ScienceDirect

foto - Science - Boom Time for Monkey Ressearch

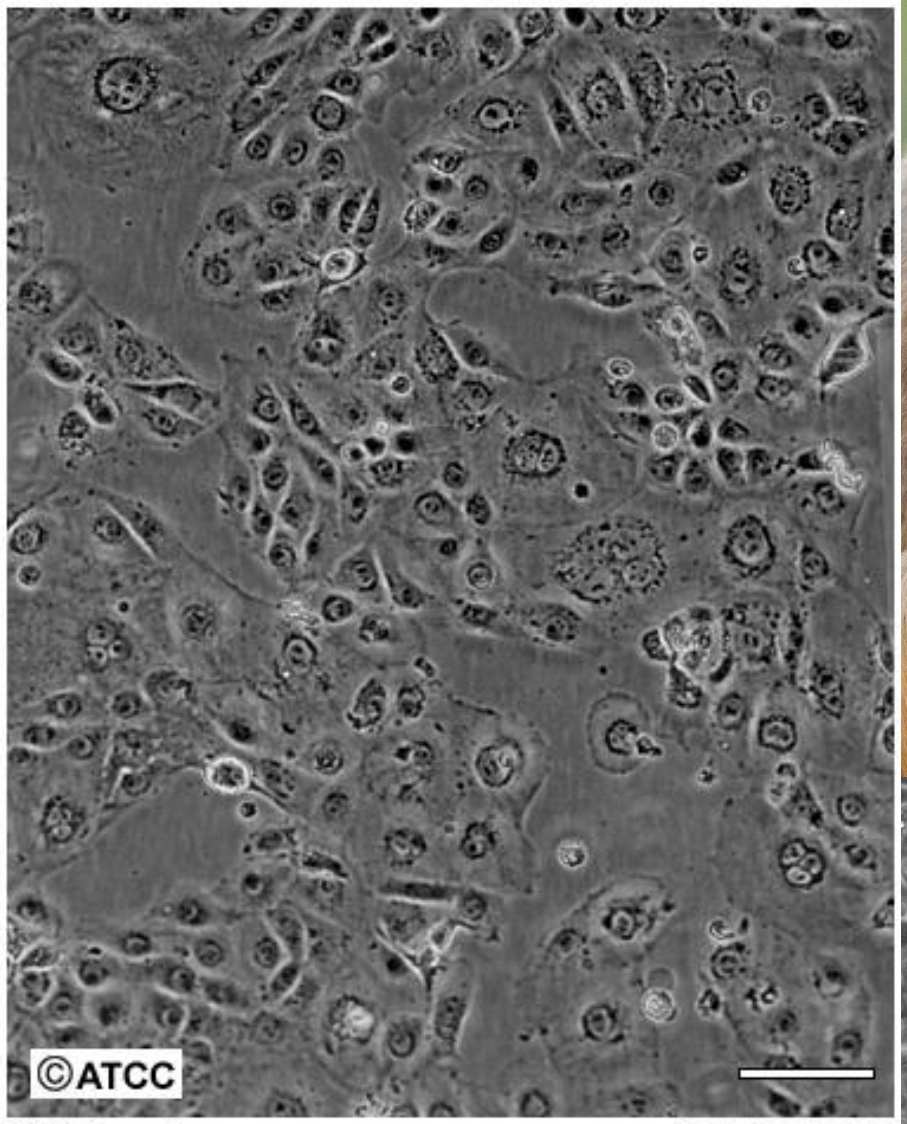
LLC-MK2 – linie z ledvin Makaka rhesuse.

ATCC Number: **CCL-7**
Designation: **LLC-MK2 Original**



Low Density

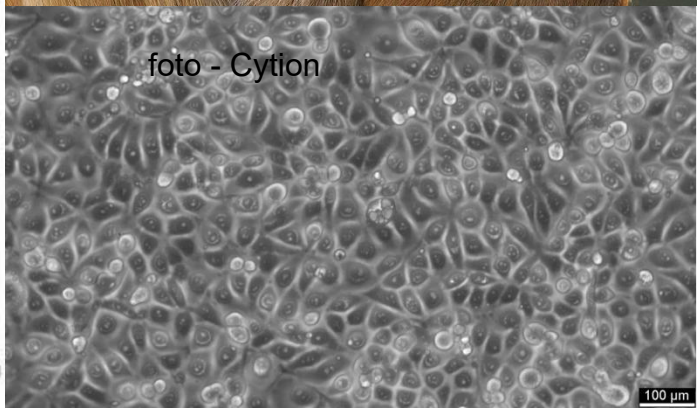
Scale Bar = 100µm



High Density

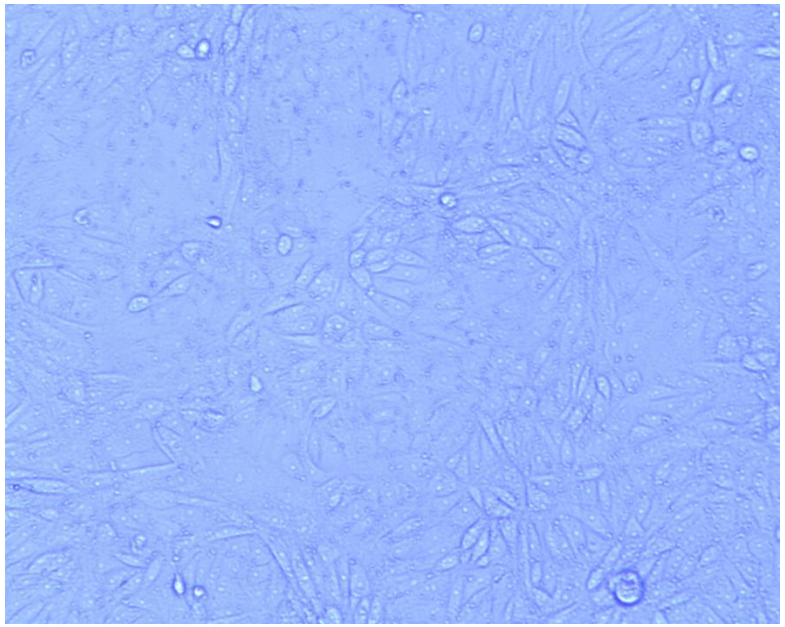
Scale Bar = 100µm

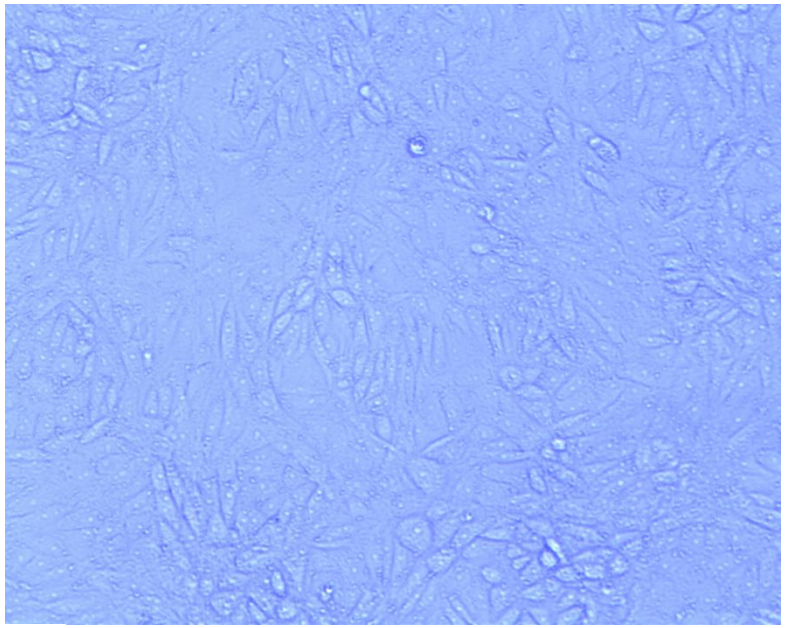
foto - Wikipedia



VERO – asi nejstarší imortalizovaná linie z ledvin Kočkodana obecného. Objednává Státní Ústav pro Kontrolu Léčiv – oddělení Biologických metod.

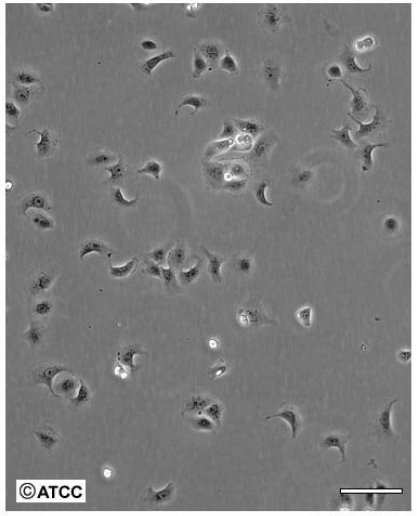
foto - ZOOINSTITUTES

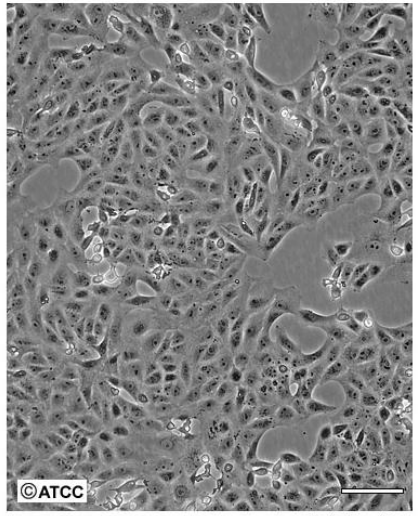


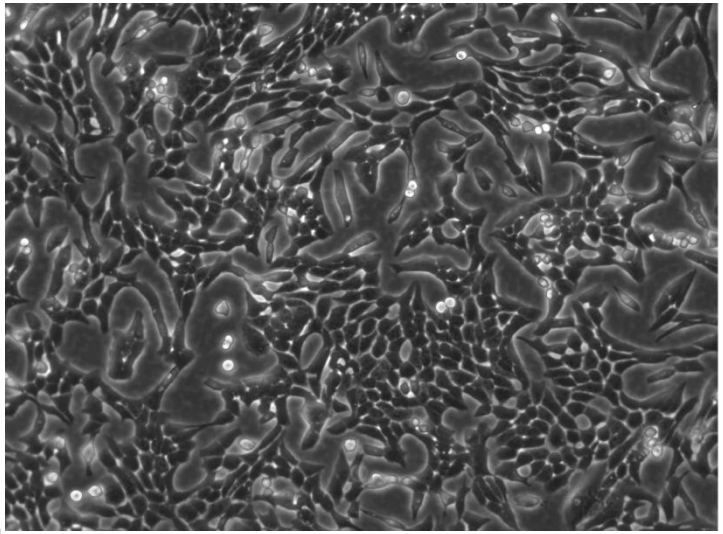


ATCC Number: **CCL-81**
Designation: **Vero**

foto - Cytion

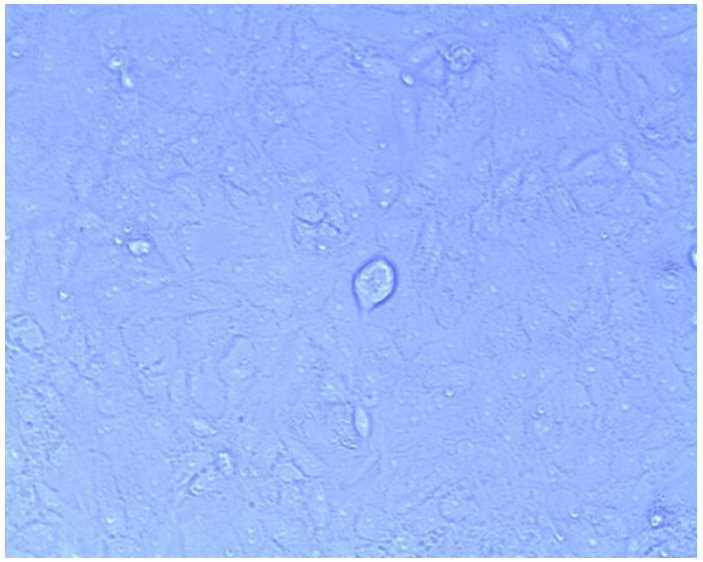






BSC-1 – linie z ledvin samice Kočkodana obecného.
Objednává NRL pro Difterie – Pertuse.

foto - Wikipedia



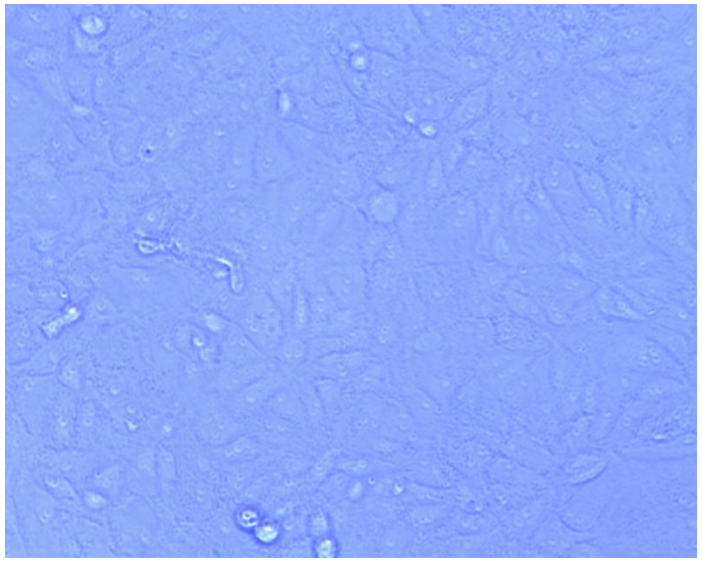
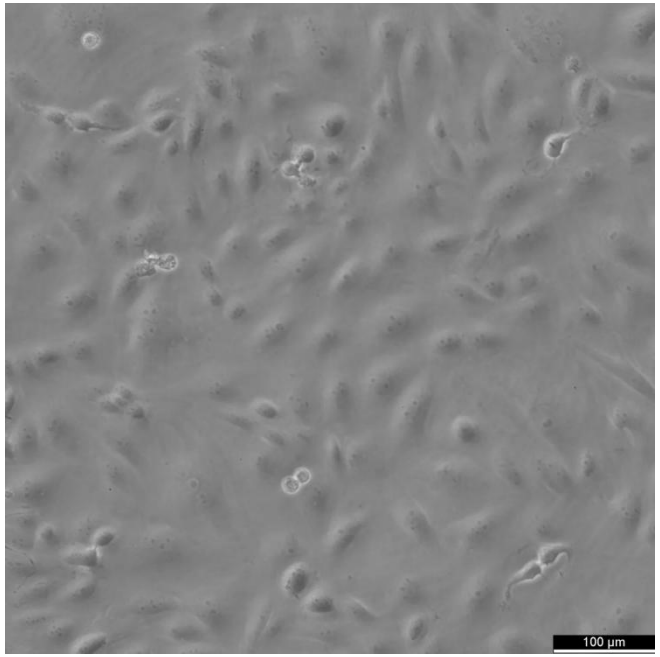
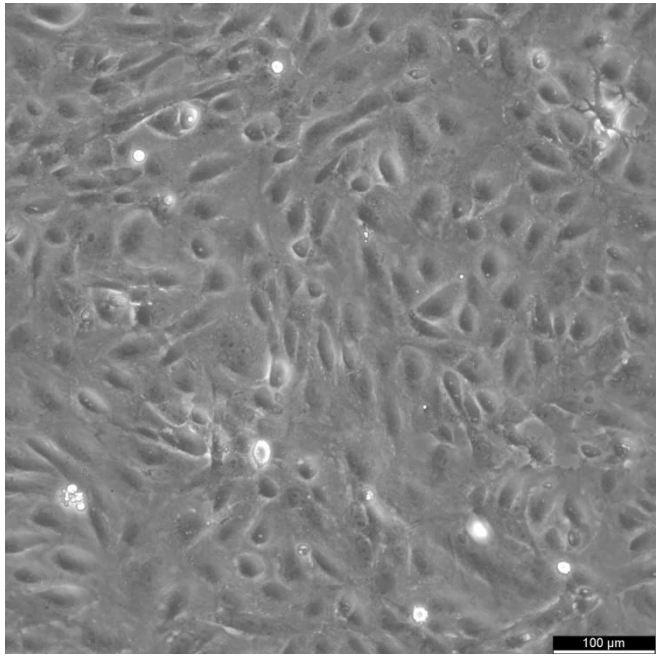


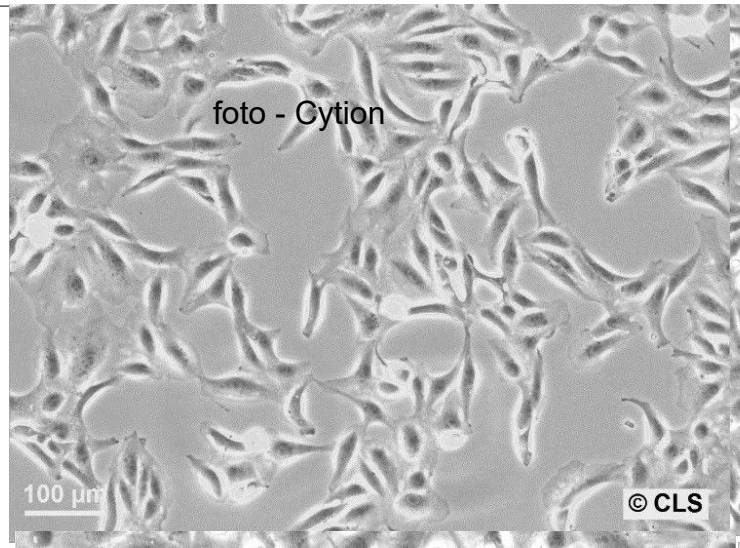
foto - Cytion

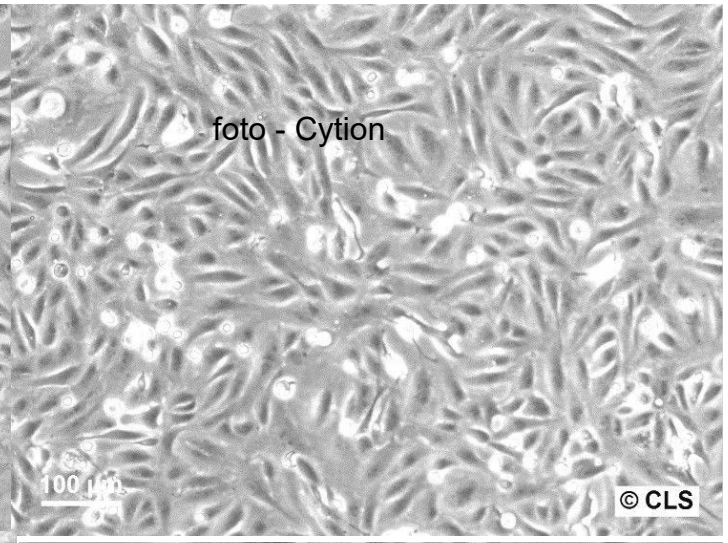


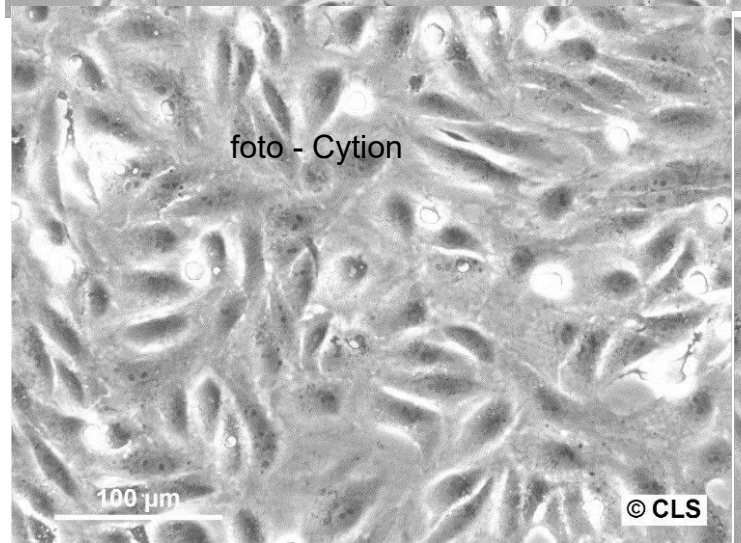


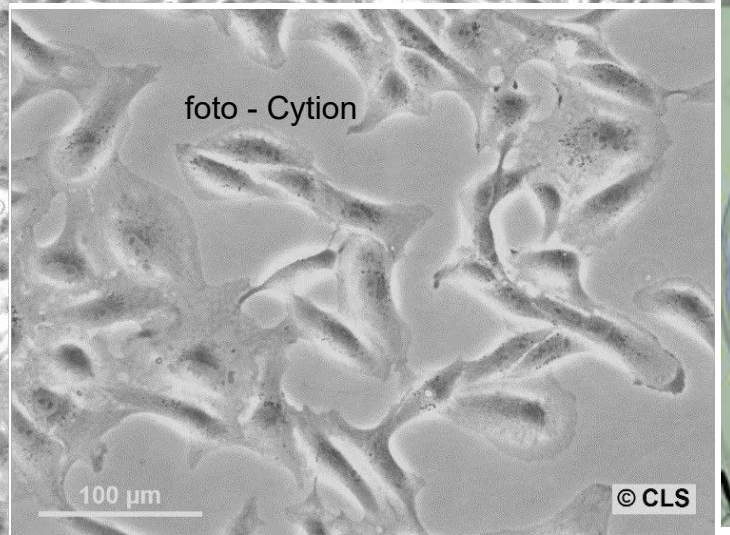
CV-1 – linie z ledvin dospělého samce Kočkodana obecného. Oproti jiným liniím stejného původu má výraznou kontaktní inhibici. Hodí se například na titrace nebo purifikace virů plakovou metodou.

foto - Adobe









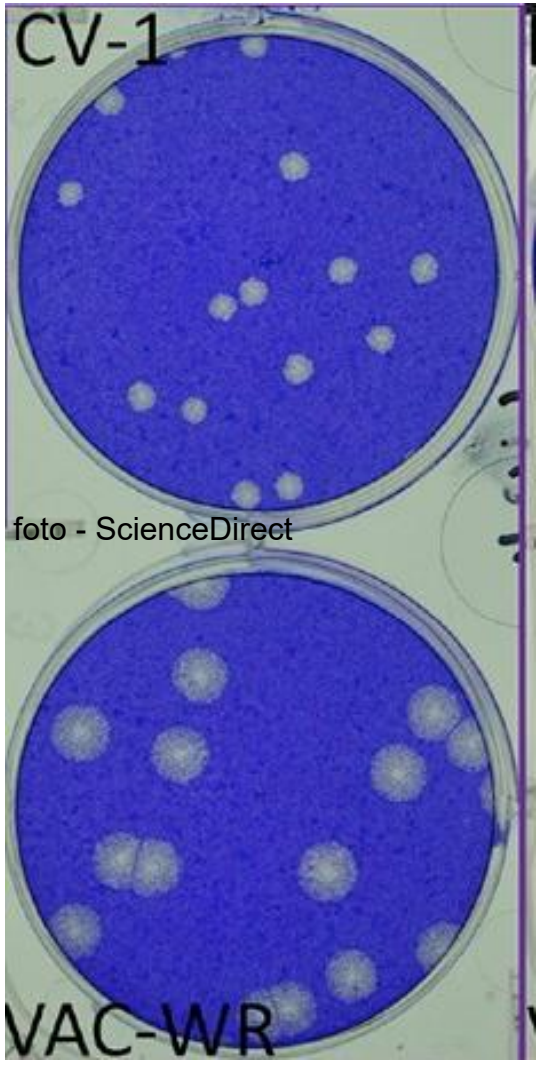


foto - ScienceDirect

MDCK – Madin-Darby Canine Kidney – původní izolát byl z ledvin kokršpaněla v roce 1958. Buňky slouží hlavně pro studium chřipkových virů. Za dobrých podmínek tyto buňky rostou velmi rychle. Objednává NRL pro Chřipky a Nechřipková Virová Respirační Onemocnění. Naše laboratoř poskytuje rovněž geneticky modifikovanou variantu MDCK-SIAT, zmíníme později.

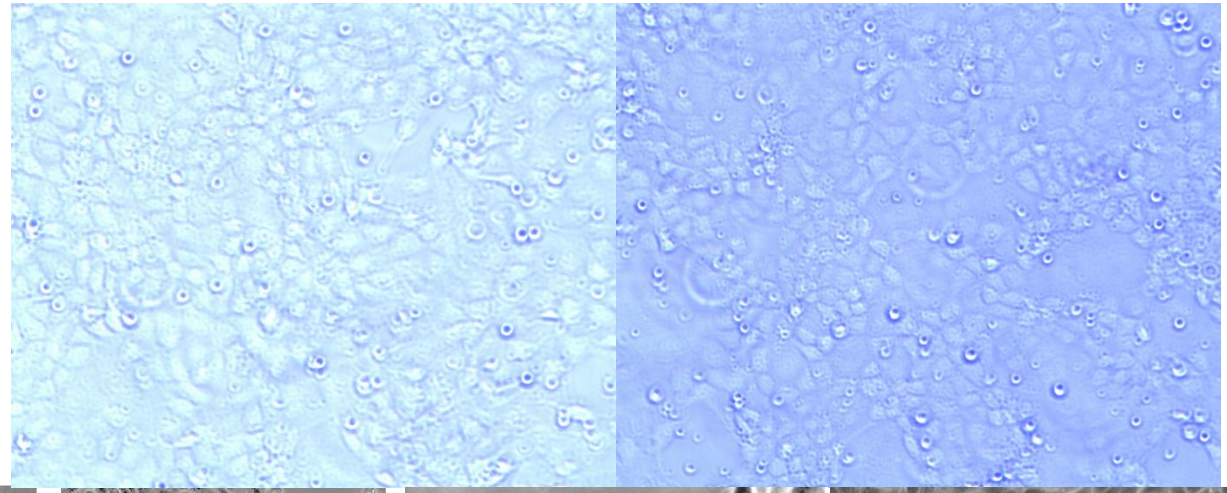
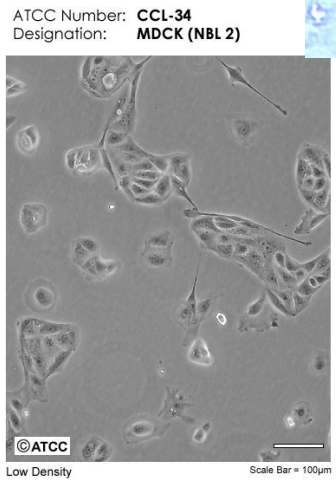
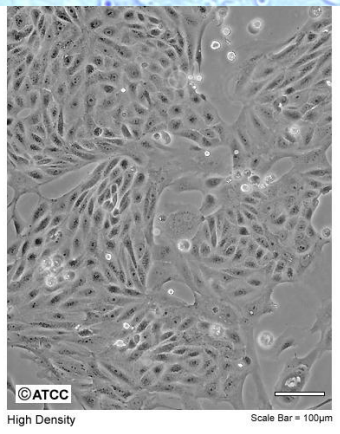
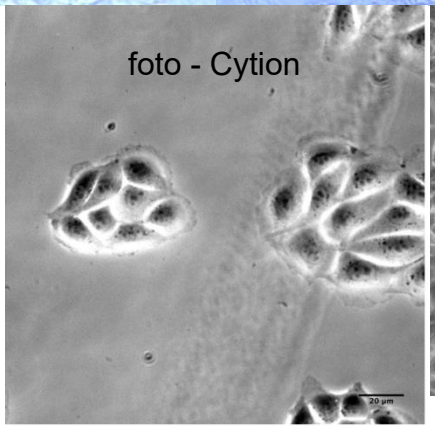
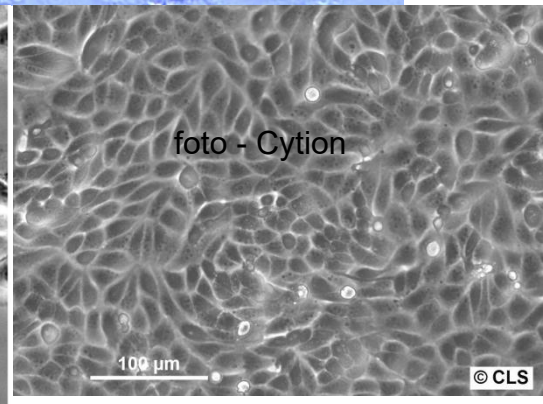


foto - Biodiverzity - Quizlet



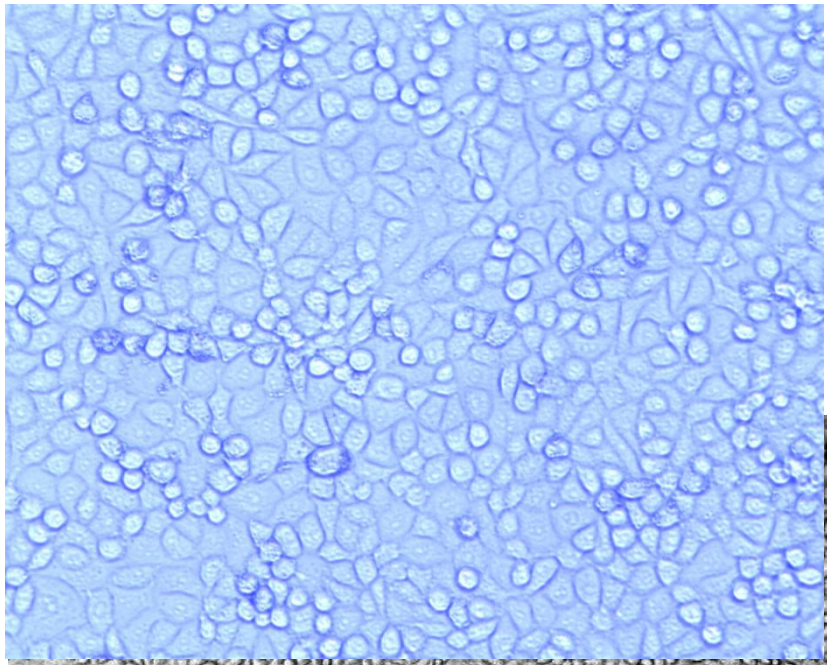


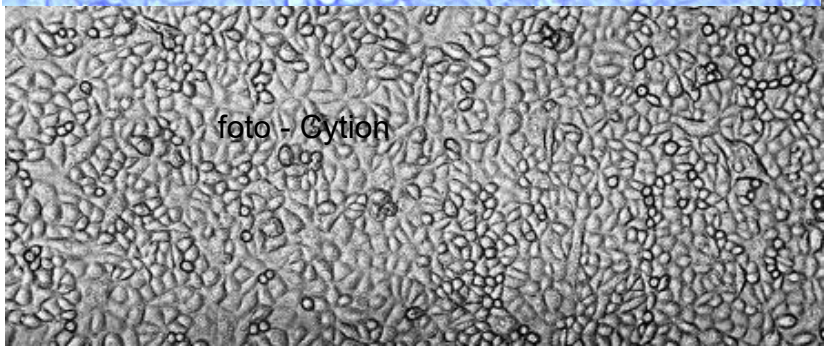


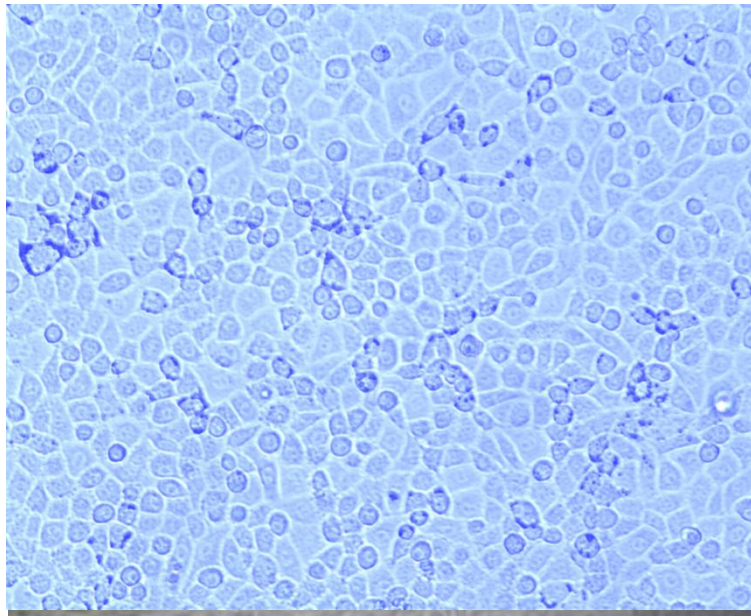


L20B – geneticky modifikovaná linie myších buněk, produkujícím lidský receptor pro poliovirus. Oproti jiným našim geneticky modifikovaným liniím nevyžaduje antibiotikum Geneticin, rostou poměrně pomalu. Objednává NRL pro Enteroviry.

foto -Webnode



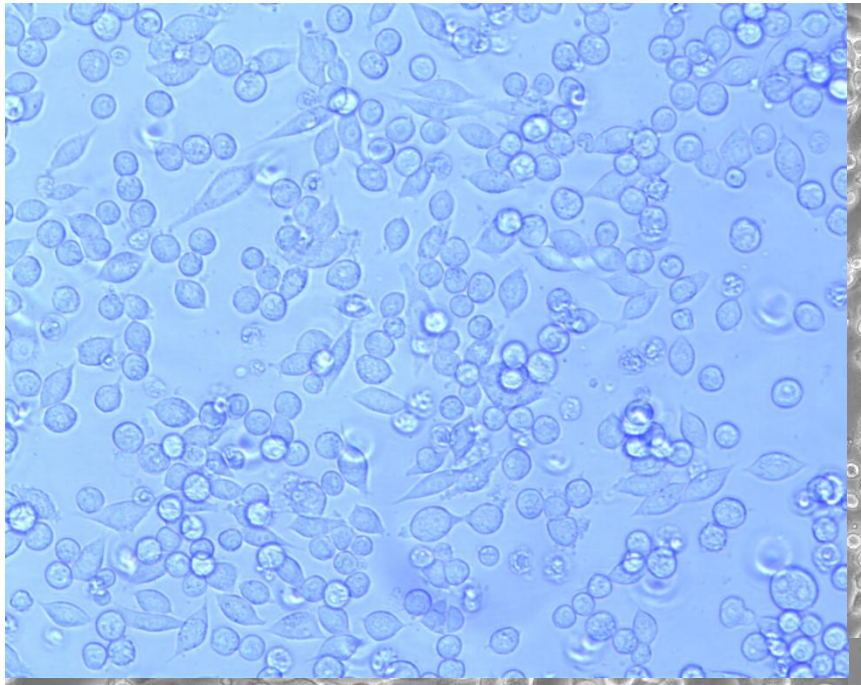


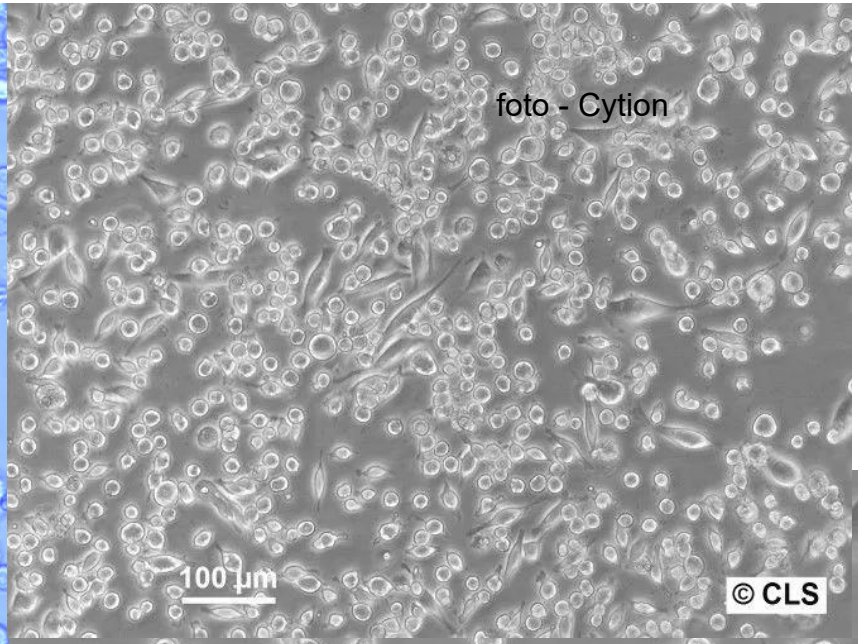


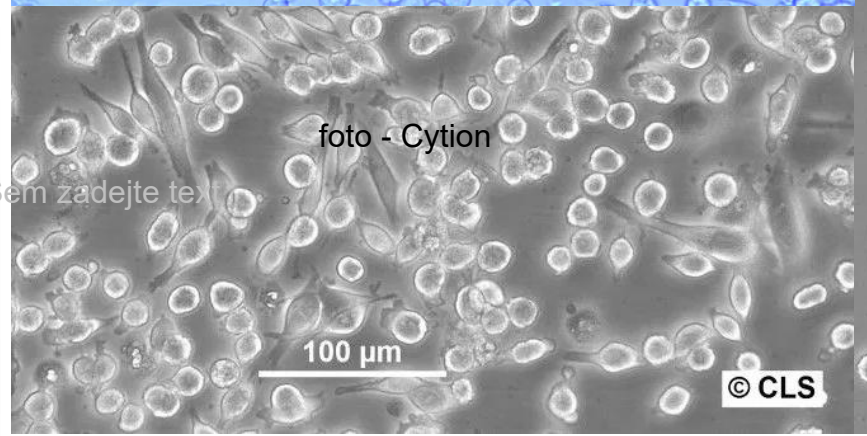
WEHI-164 – fibroblastoidní linie od BALB/c myši s fibrosarkomem vyvolaným opakovanými injekcemi 3-methylcholanthrenu. Vhodné například pro studium interakcí mezi cytokiny a nádorovými buňkami.

foto - AnimaLab

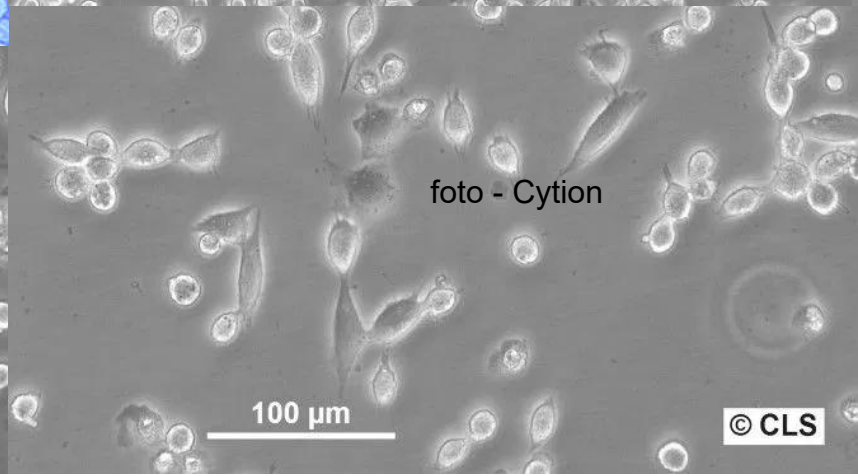
Sem zadejte text







Sem zadejte text



RK-13 – Rabbit Kidney – linie buněk z ledvin králíka, vhodné pro pomnožování některých virů, např. zarděnek.

foto - ifauna MVDr. Vlastimil Šimek PhD.

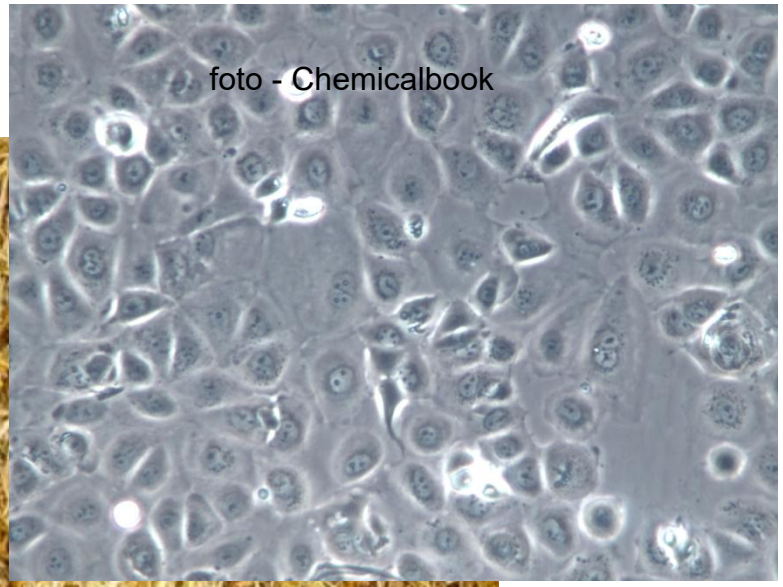


foto - Chemicalbook

foto - Chemicalbook

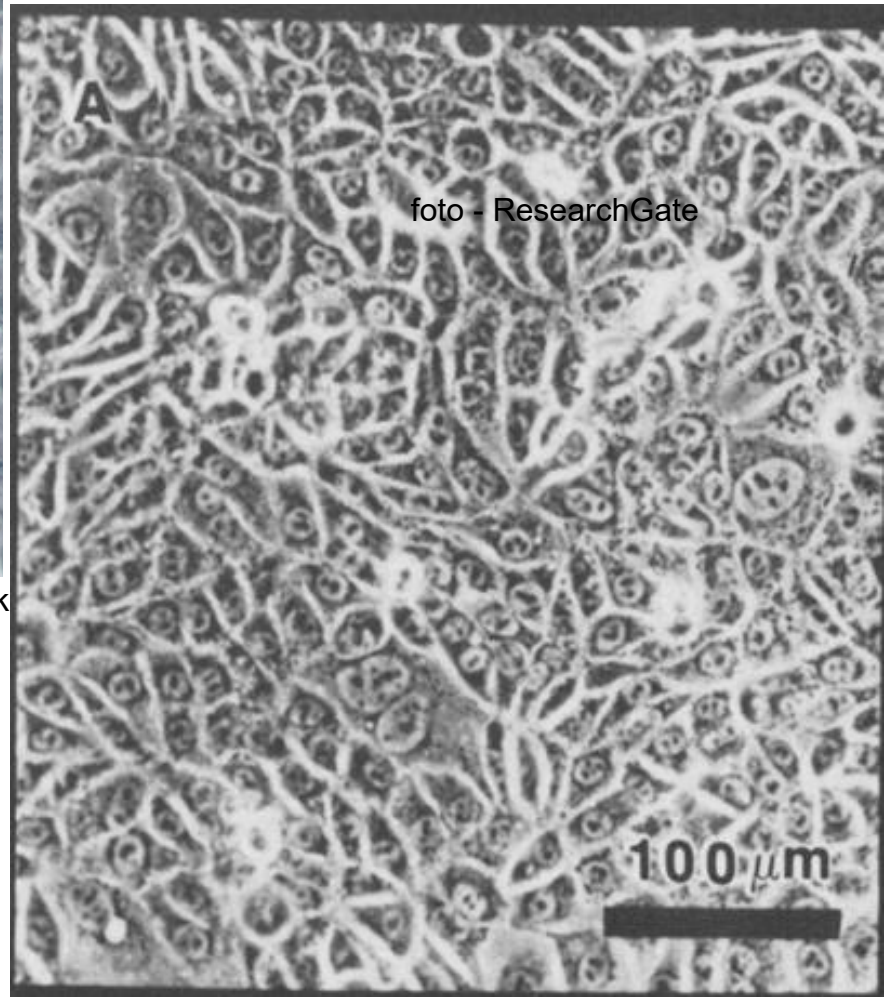
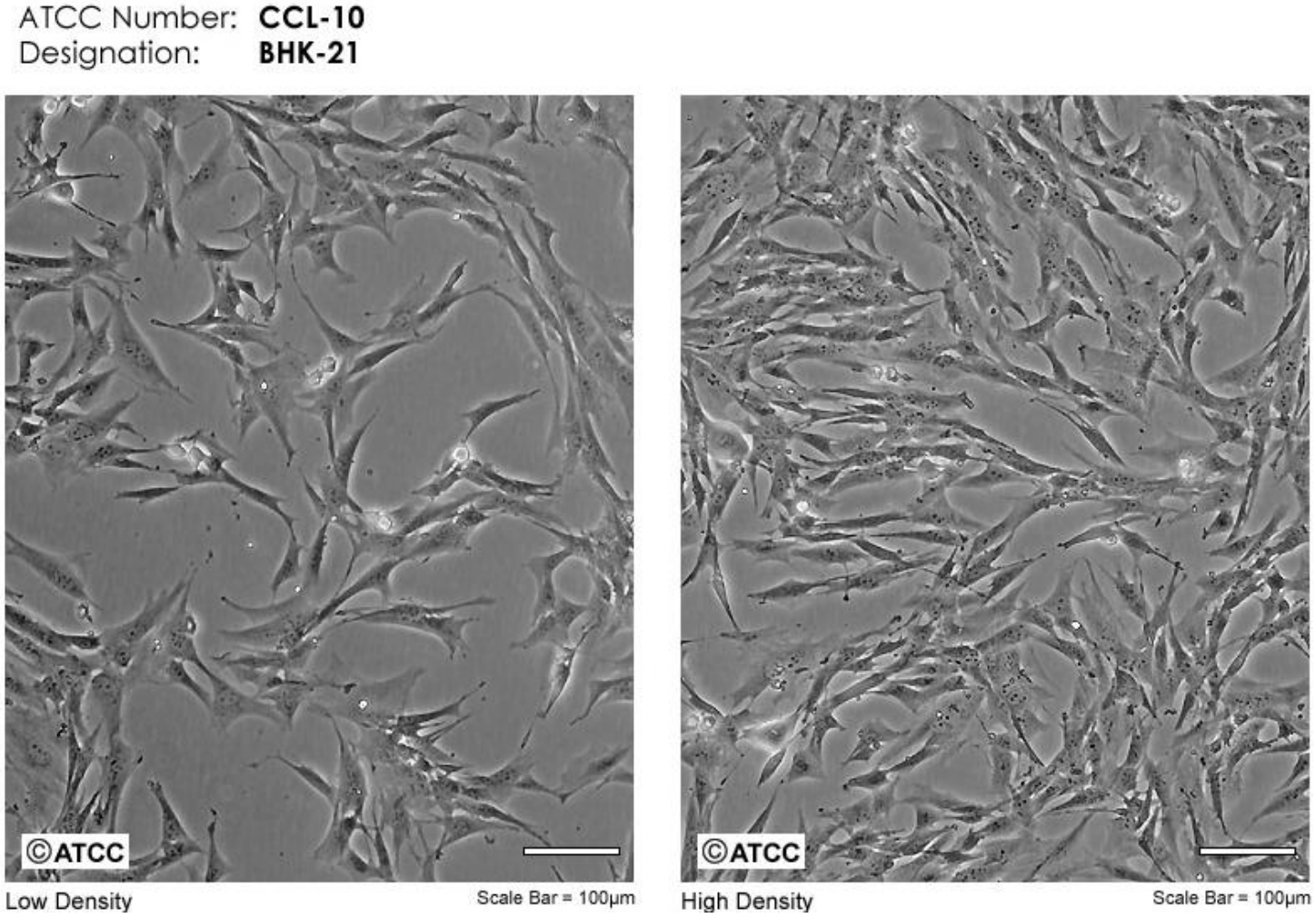


foto - ResearchGate

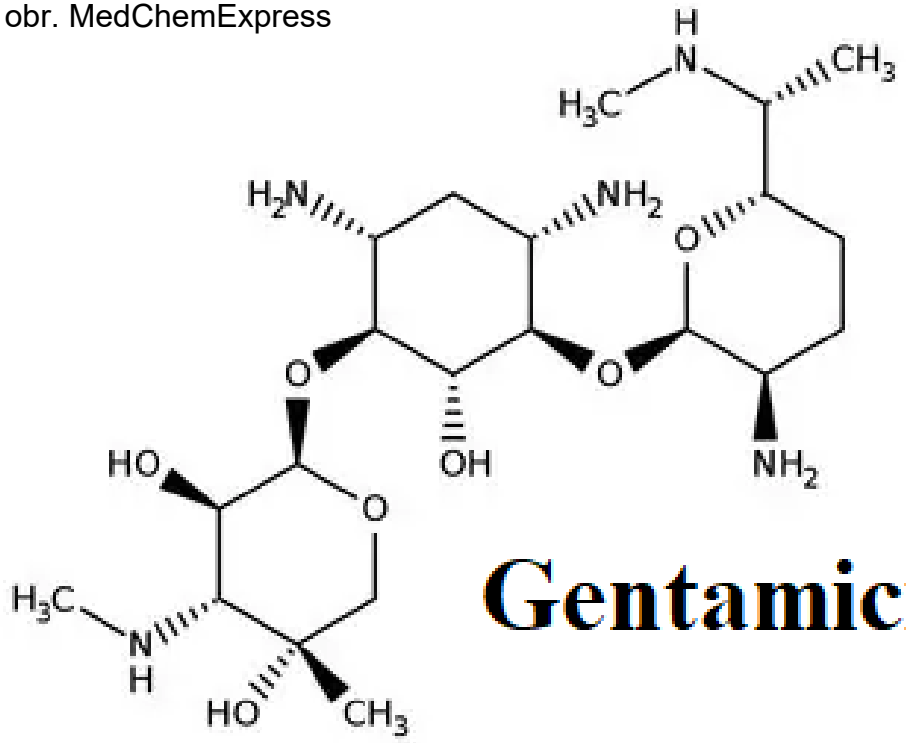
foto ResearchGate

BHK-21 – Baby Hamster Kidney – linie buněk z ledvin mláděte zlatého křečka, vhodné pro pomnožování některých virů.

foto - Washington Post

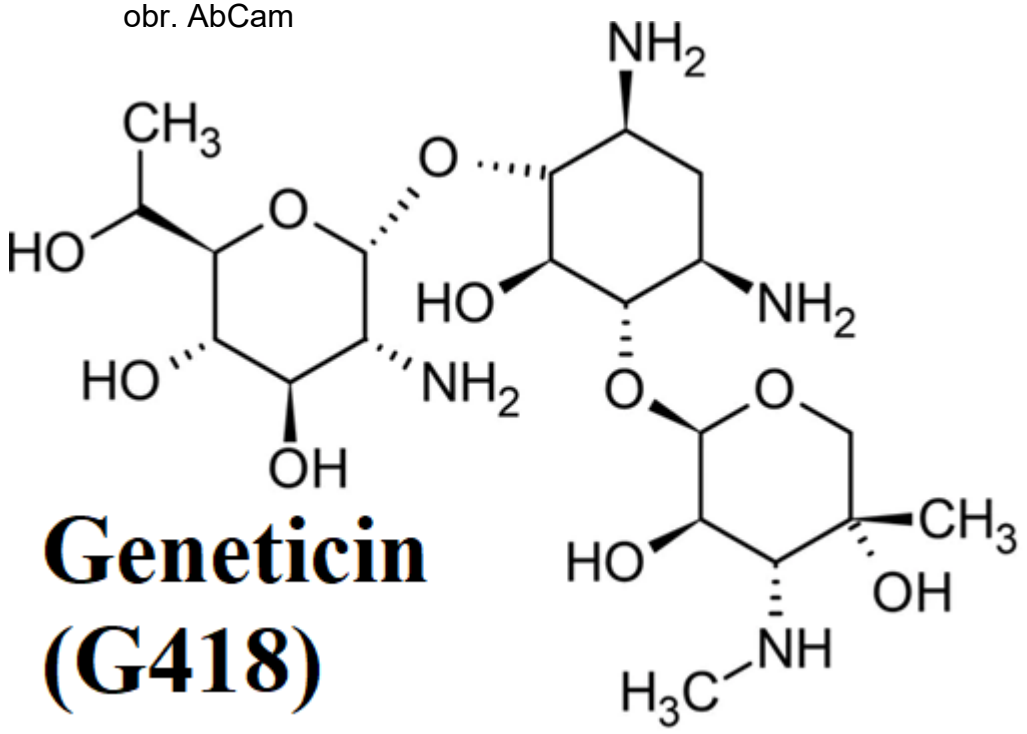


obr. MedChemExpress



Gentamicin

obr. AbCam

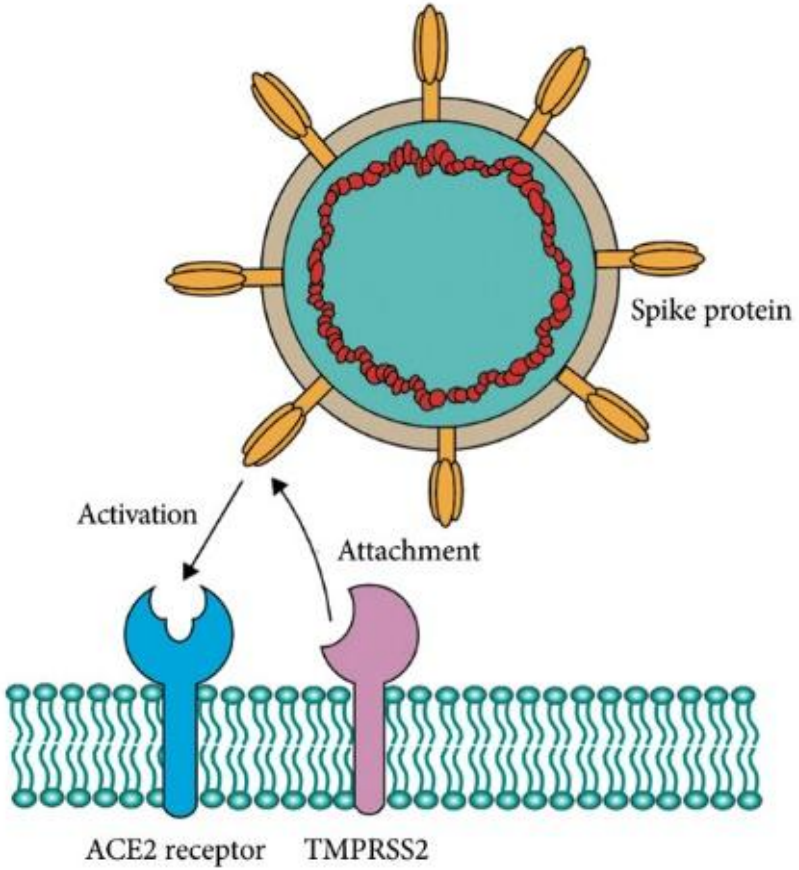


Geneticin (G418)

Dvě z používaných linií geneticky modifikovaných buněk nesou markerový gen pro neomycinovou resistenci, která u eukaryotických buněk zajišťuje jejich přežití při přítomnosti aminoglykosidu Geneticin (G-418), který je chemicky blízký Gentamycinu

Buňky VERO-E6-TMPRSS2 mají stabilní produkci lidského transmembránového proteinu TMPRSS2 (transmembránová serinová proteaza typ 2), který umožňuje vstup některých respiračních virů (včetně SARS-COVID19) do buněk

obr. ResearchGate



in A Review on Expression, Pathological Roles, and Inhibition of TMPRSS2, the Serine Protease Responsible for SARS-CoV-2 Spike Protein Activation Jyotirmoy Sarker

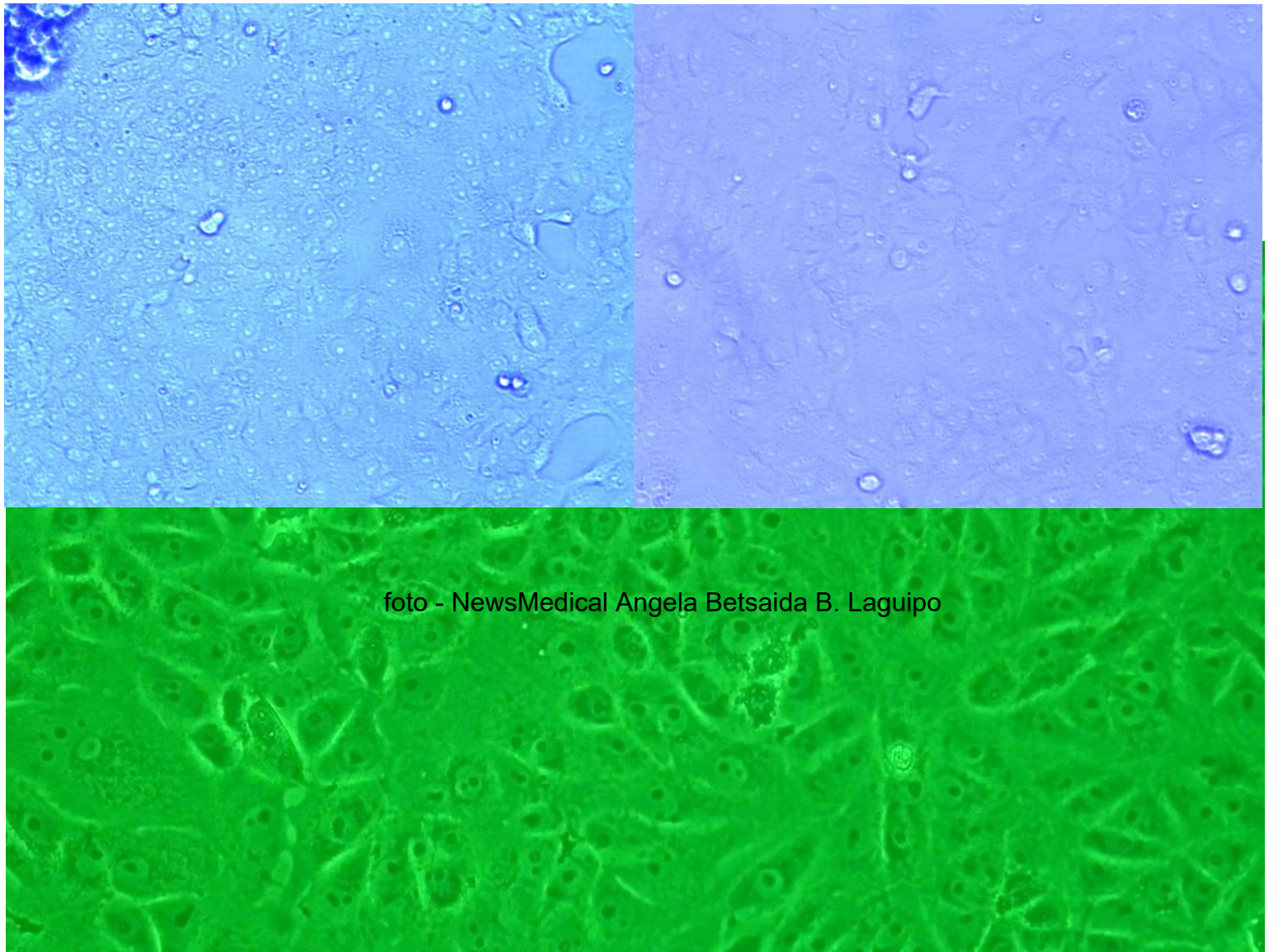
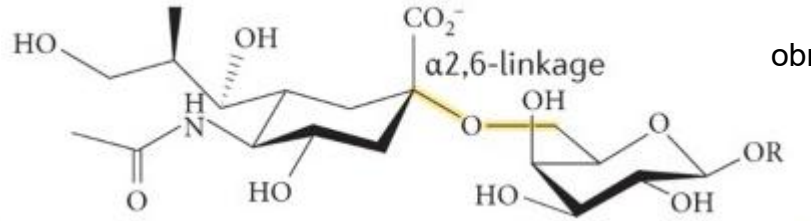


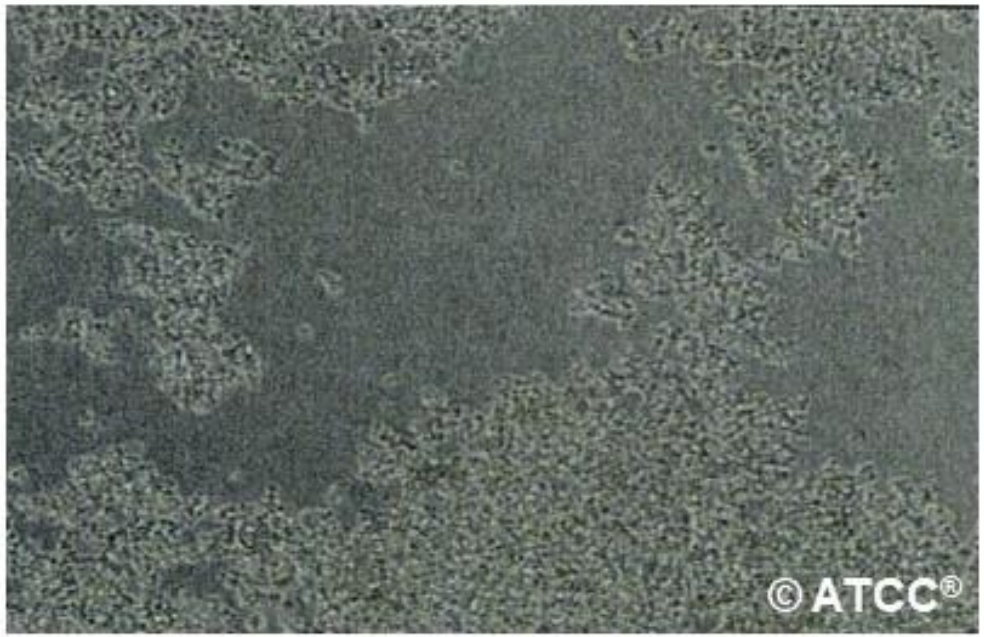
foto - NewsMedical Angela Betsaida B. Laguipo

Buňky MDCK-SIAT mají stabilní produkci lidského enzymu α-2,6-sialyltransferazy (SIAT), díky které mají buňky na povrchu zvýšenou úroveň receptorů pro kyselinu α-2,6-sialylovou, to umožňuje lepší záchyt některých chřipkových kmenů a studium vlivu neuraminidazových inhibitorů na množení chřipkových virů. Při pohledu optickým mikroskopem se zdá, že tyto buňky jsou o něco větší, než původní MDCK



obr. ScienceDirect

Uninfected host (MDCK-SIAT cells)



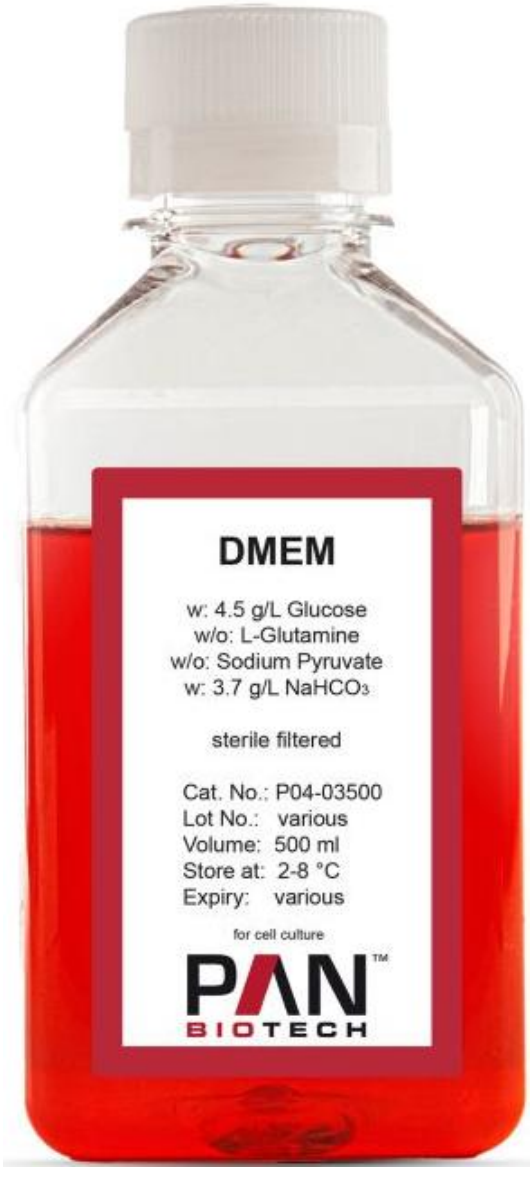
Infected host (MDCK-SIAT cells) showing CPE

E-MEM – Eaglovo Minimální Esenciální Medium

D-MEM – Dulbeccovo Modifikované Eaglovo Medium

RPMI (Roswell Park Memorial Institute) 1640 Medium

Obrázky ze stránek výrobců



V laboratoři pro zadavatele buňky tkáňových kultur pomnožíme a připravíme k výdeji

foto - American Cinematographer

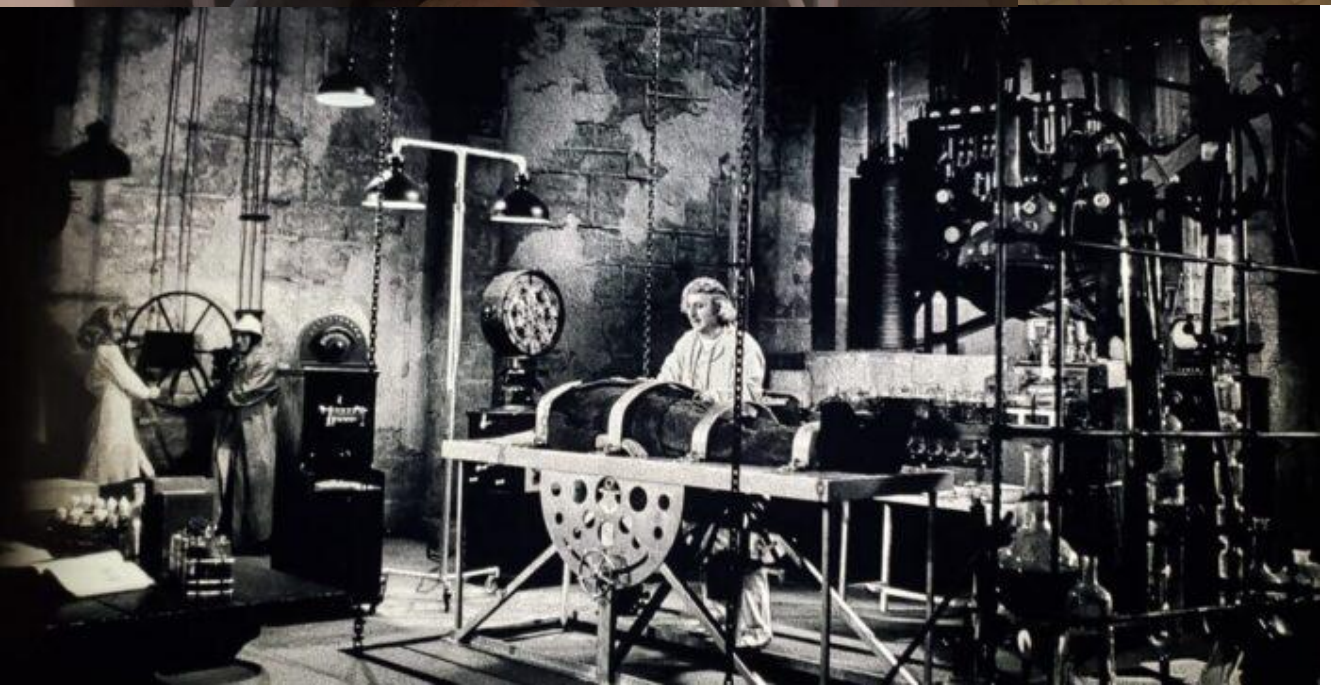
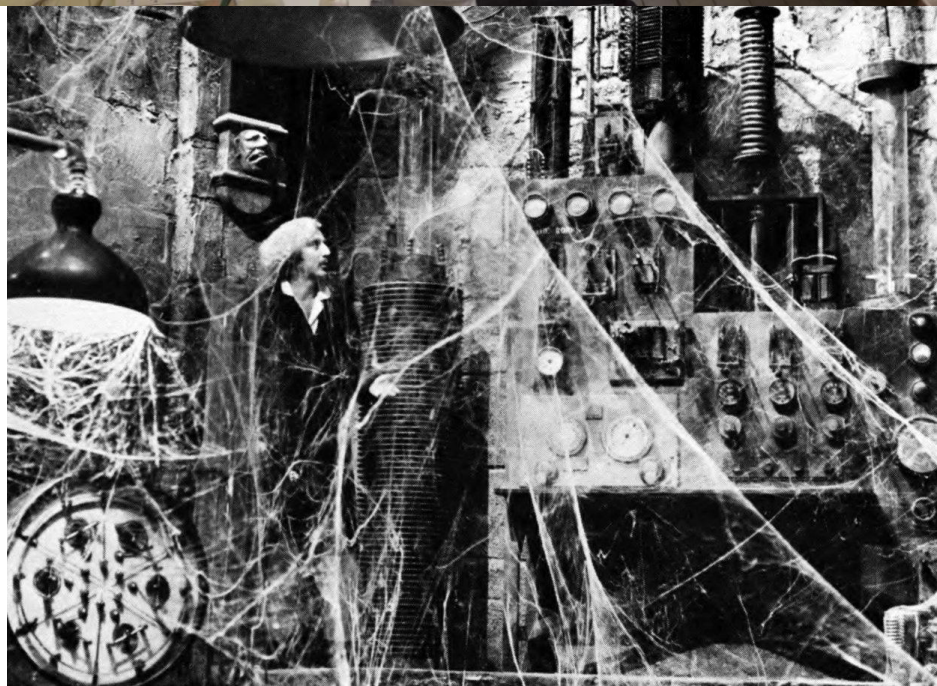


foto - American Cinematographer



Buňky standardně vydáváme ve formě spočítané buněčné suspenze ochlazené na 4℃, v objednávce je možné zadat i jinou formu, ať už narostlé lahvičky, zamrazené ampule, nebo jiné. Pokud použité medium má být bez antibiotik, je rovněž nutné toto výslovně písemně uvést v objednávce.

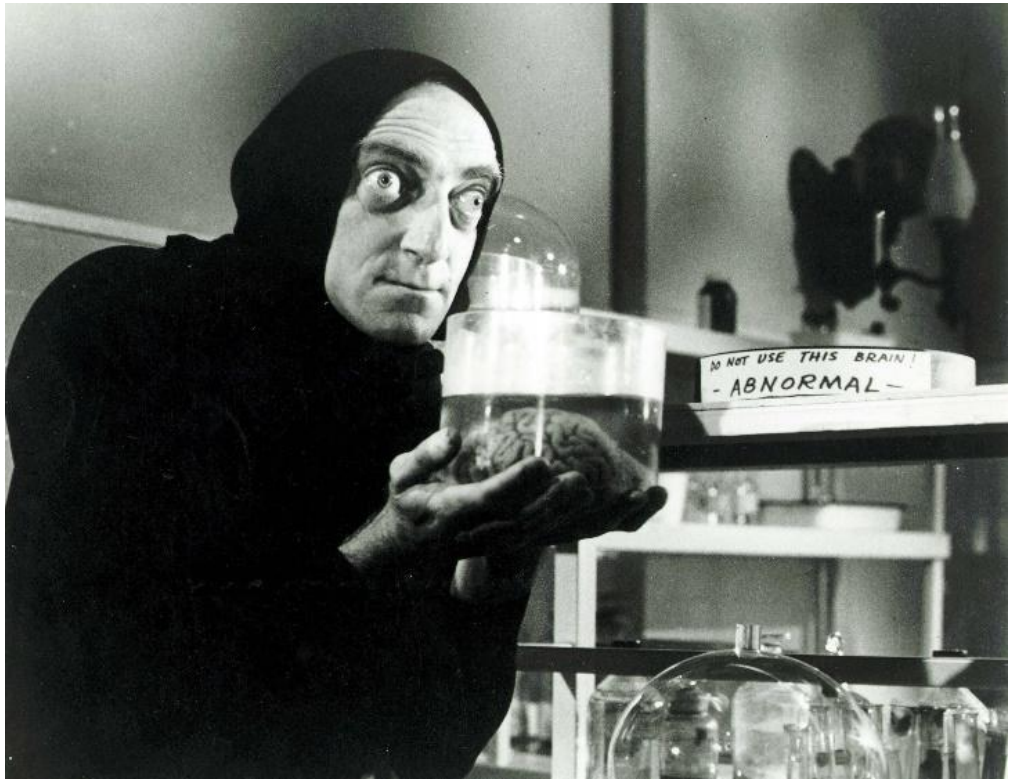
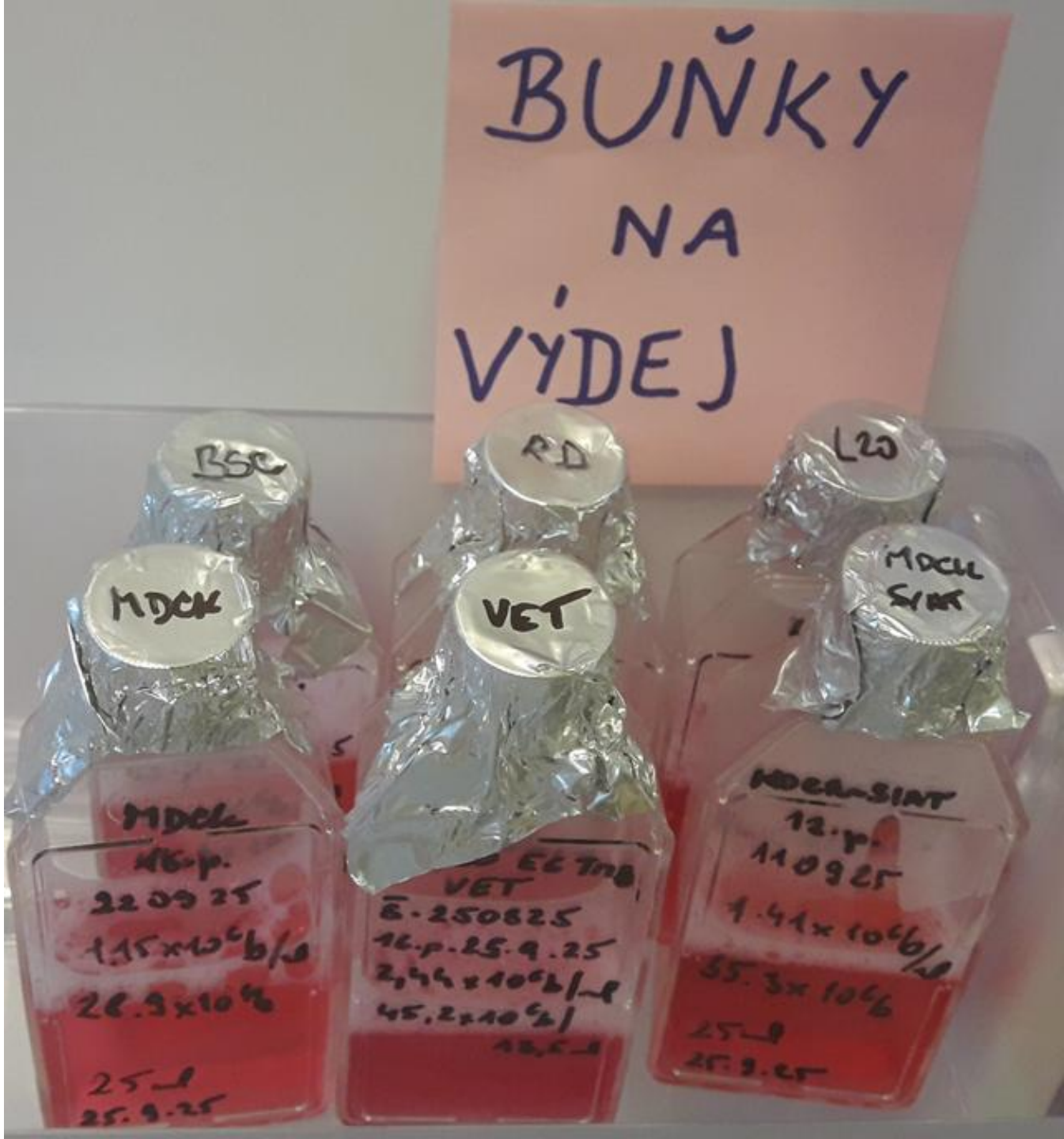
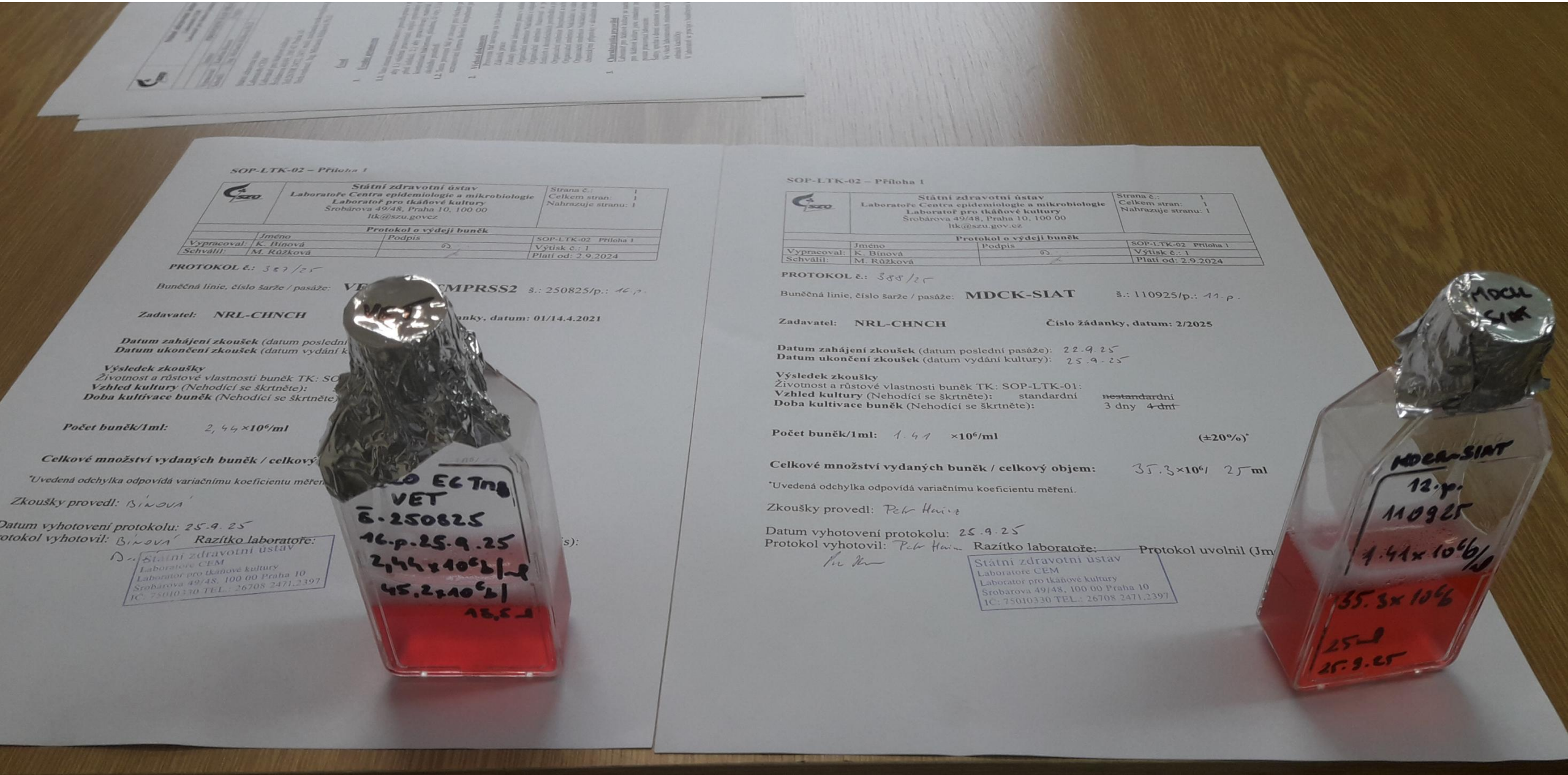


foto - Getty Images



Každý vzorek vydaných buněk doprovází standardní vydávací protokol



SOP-LTK-02 – Příloha 1

	Státní zdravotní ústav Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie Laboratoř pro tkáňové kultury Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00 ltk@szu.govcz	Strana č.: 1 Celkem stran: 1 Nahrazuje stranu: 1

Protokol o výdeji buněk

	Jméno	Podpis	
Vypracoval:	K. Bínová		SOP-LTK-02 Příloha 1
Schválil:	M. Růžková		Výtisk č.: 1
			Platí od: 2.9.2024

PROTOKOL č.: 357/25

Buněčná linie, číslo šarže / pasáže: VE…MPRSS2 š.: 250825/p.: 16 p.

Zadavatel: NRL-CHNCH …nky, datum: 01/14.4.2021

Datum zahájení zkoušek *(datum poslední*
Datum ukončení zkoušek *(datum vydání k…*

Výsledek zkoušky
Životnost a růstové vlastnosti buněk TK: SO…
Vzhled kultury *(Nehodící se škrtněte):*
Doba kultivace buněk *(Nehodící se škrtněte)…*

Počet buněk/1ml: 2,44 ×10⁶/ml

Celkové množství vydaných buněk / celkový…

*Uvedená odchylka odpovídá variačnímu koeficientu měřen…

Zkoušky provedl: BÍNOVÁ

Datum vyhotovení protokolu: 25.9.25
Protokol vyhotovil: BÍNOVÁ Razítko laboratoře: …s):

Státní zdravotní ústav
Laboratoře CEM
Laboratoř pro tkáňové kultury
Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10
IČ: 75010330 TEL.: 26708 2471,2397

VET EC Tm8
VET
Č.250825
16.p.25.9.25
2,44×10⁶b/…
45,2×10⁶b/
18,5…

SOP-LTK-02 – Příloha 1

	Státní zdravotní ústav Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie Laboratoř pro tkáňové kultury Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00 ltk@szu.gov.cz	Strana č.: 1 Celkem stran: 1 Nahrazuje stranu: 1

Protokol o výdeji buněk

	Jméno	Podpis	
Vypracoval:	K. Bínová		SOP-LTK-02 Příloha 1
Schválil:	M. Růžková		Výtisk č.: 1
			Platí od: 2.9.2024

PROTOKOL č.: 585/25

Buněčná linie, číslo šarže / pasáže: **MDCK-SIAT** š.: 110925/p.: 11 p.

Zadavatel: NRL-CHNCH **Číslo žádanky, datum: 2/2025**

Datum zahájení zkoušek (datum poslední pasáže): 22.9.25
Datum ukončení zkoušek (datum vydání kultury): 25.9.25

Výsledek zkoušky
Životnost a růstové vlastnosti buněk TK: SOP-LTK-01:
Vzhled kultury (Nehodící se škrtněte): standardní ~~nestandardní~~
Doba kultivace buněk (Nehodící se škrtněte): 3 dny ~~4 dny~~

Počet buněk/1ml: 1.41 ×10⁶/ml (±20%)*

Celkové množství vydaných buněk / celkový objem: 35.3×10⁶/ 25 ml

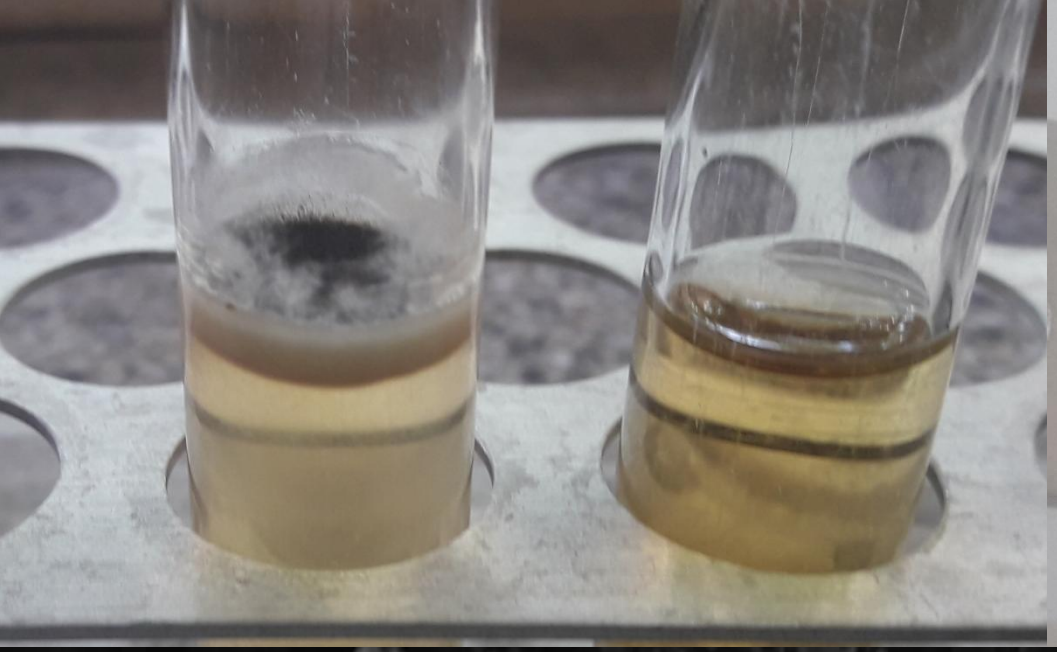
*Uvedená odchylka odpovídá variačnímu koeficientu měření.

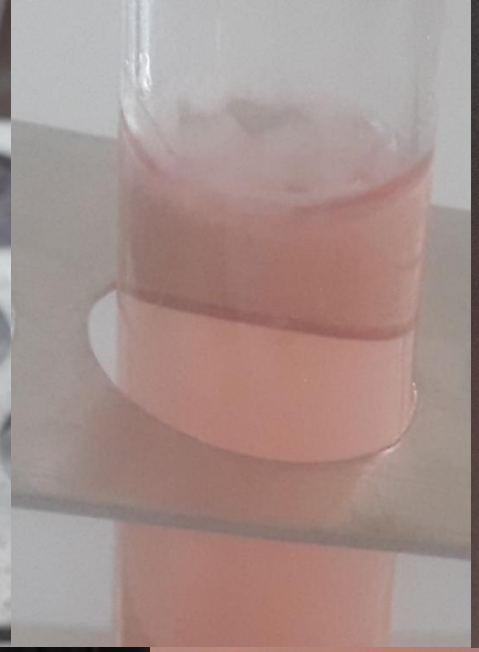
Zkoušky provedl: Petr Hanus

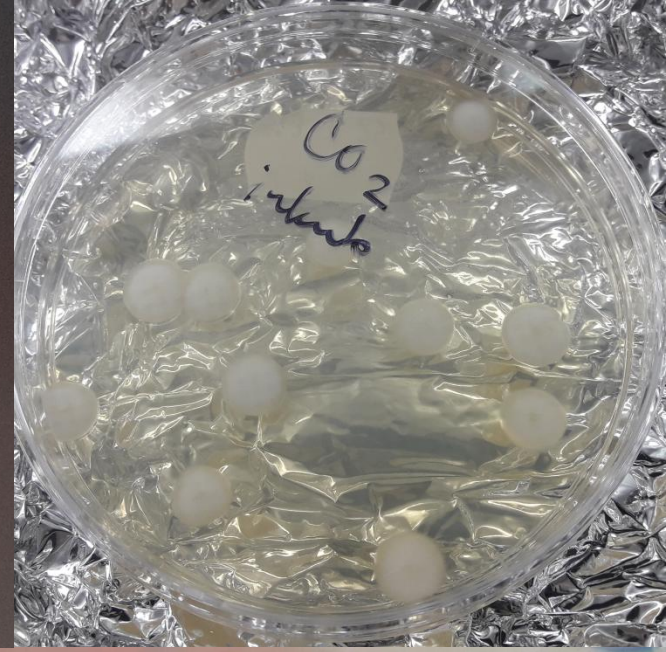
Datum vyhotovení protokolu: 25.9.25
Protokol vyhotovil: Petr Hanus Razítko laboratoře: Protokol uvolnil (Jm…

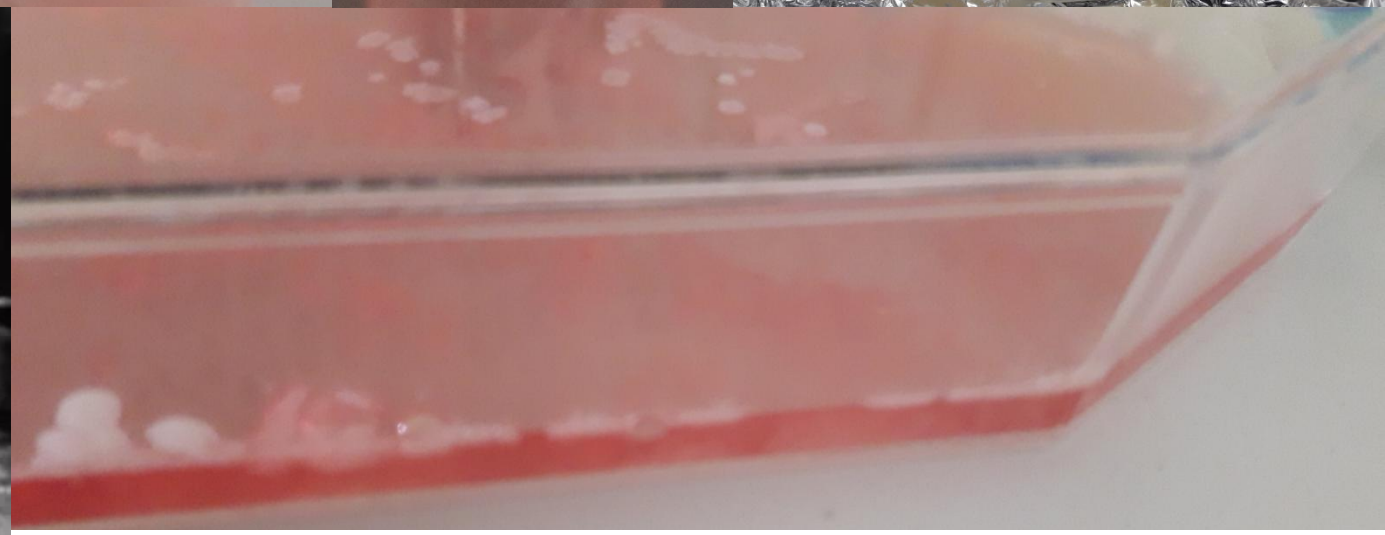
Státní zdravotní ústav
Laboratoře CEM
Laboratoř pro tkáňové kultury
Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10
IČ: 75010330 TEL.: 26708 2471,2397

MDCK SIAT
MDCK-SIAT
12.p.
110925
1.41×10⁶/…
35.3×10⁶
25…
25.9.25









Nepříjemností jsou bohužel občasné náhodné kontaminace buněk, nejčastěji jde o plísně

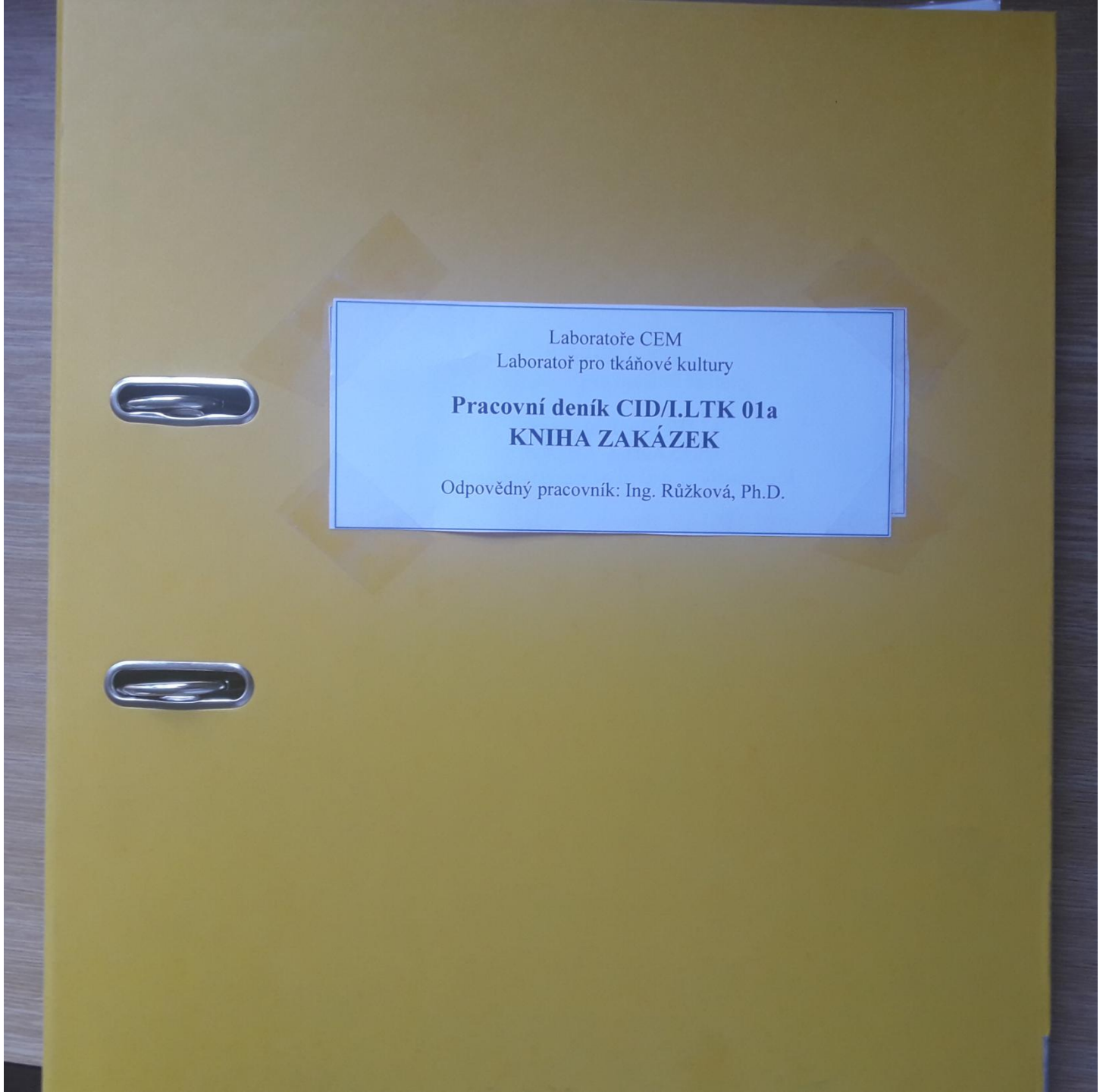
Naše laboratoř sídlí v dolní (jižní) části areálu, v budově 25.

foto - Wikipedia
Casa Adams

obr. YouTube -
Witches of Lancre Cabin

V prvním patře vás rádi uvítáme s vašimi novými objednávkami.

foto - Pinterst - Young Frankenstein



Poděkování na závěr náleží naší vedoucí Ing. Michaele Růžkové PhD, kolegyním Mgr. Markétě Pumannové a Mgr. Karolíně Navrátilové i laborantkám Kateřině Bínové a Marcele Ondrákové, pracovníkům z “varny“ (Přípravna půd), bez kterých by naše laboratoř dodávky buněk nezvládla zajistit. Dále pak našim odběratelům, bez kterých bychom neměli odůvodnění pro naši činnost, v neposlední řadě pak i Vám všem posluchačům za pozornost…

obr. DevianArt
by mac4tu
Igor from
Terry Pratchett´s
Discworld