



НИИ биологии

Иркутского государственного университета



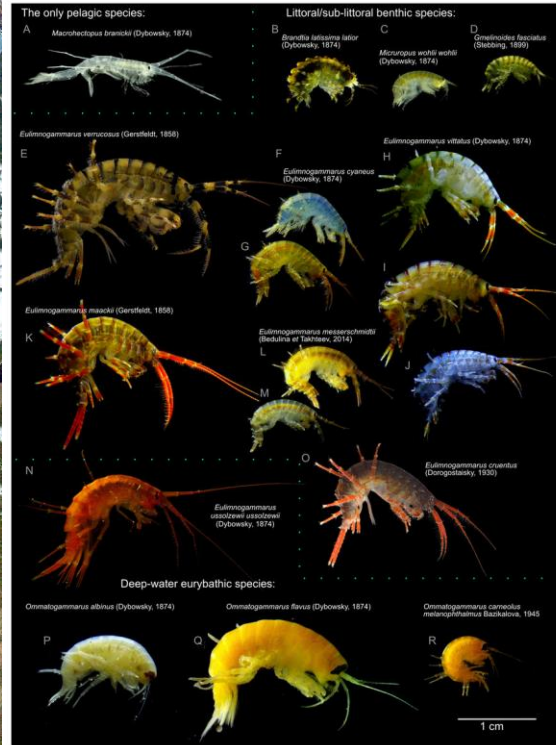
ПОЛУЧЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР КЛЕТОК РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЕЙ АМФИПОД И СРАВНЕНИЕ ИХ ВЫЖИВАЕМОСТИ С РЕАКЦИЕЙ НА ОРГАНИЗМЕННОМ УРОВНЕ

Назарова Анна А., Седова С.С., Гурков А.Н., Шатилина
Ж.М., Тимофеев М.А.

annazarova1995@gmail.com



Эндемичные байкальские амфиподы:



ECOSPHERE
AN ESA OPEN ACCESS JOURNAL

Article | Open Access |

Lake Baikal amphipods under climate change: thermal constraints and ecological consequences

Lena Jakob , Denis V. Axenov-Gribanov, Anton N. Gurkov, Michael Ginzburg, Daria S. Bedulina, Maxim A. Timofeyev, Till Luckenbach, Magnus Lucassen, Franz J. Sartoris, Hans-O. Pörtner

First published: 17 March 2016 | <https://doi.org/10.1002/ecs2.1308> | Citations: 31

www.nature.com/scientificreports

scientific reports

Check for updates

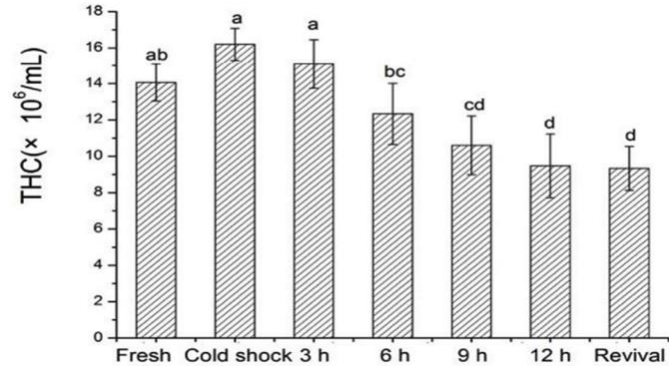
OPEN Low annual temperature likely prevents the Holarctic amphipod *Gammarus lacustris* from invading Lake Baikal

Kseniya Vereshchagina¹, Elizaveta Kondrateva¹, Andrei Mutin¹, Lena Jakob², Daria Bedulina³, Ekaterina Shchagova⁴, Ekaterina Madyarova⁴, Denis Axenov-Gribanov⁵, Till Luckenbach⁴, Hans-Otto Pörtner², Magnus Lucassen² & Maxim Timofeyev^{1,2,1*}

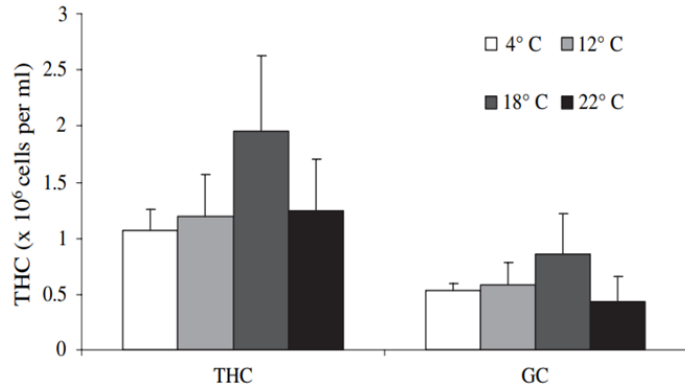
Drozdova et al., 2020; DOI 10.7717/peerj.9387

*Takhteev, 2000

Влияние температуры на гемоциты ракообразных



<https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.103413>



[doi:10.1016/j.fsi.2004.03.010](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.03.010)

- Общее количество гемоцитов (THC) - это один из показателей иммунитета ракообразных
- Общее количество гемоцитов снижается при низких температурах и повышается при повышении температуры
- Изменение может быть связано со смертностью гемоцитов вследствие апоптоза



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Comparative Biochemistry and Physiology, Part A

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cbpa



Effects of environmental factors on the cellular and molecular parameters of the immune system in decapods

Kifayatullah Mengal, Golara Kor, Pavel Kozák, Hamid Niksirat*

University of South Bohemia in Ceske Budejovice, Faculty of Fisheries and Protection of Waters, South Bohemian Research Center of Aquaculture and Biodiversity of Hydrocenoses, Vodnany, Czech Republic

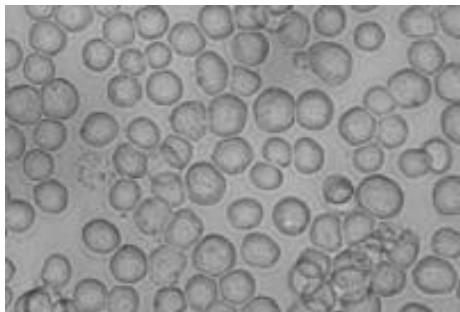


Клеточная культура

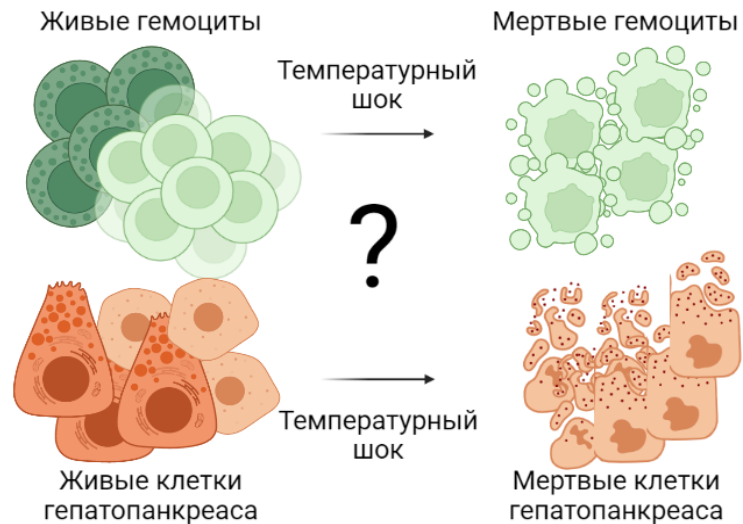
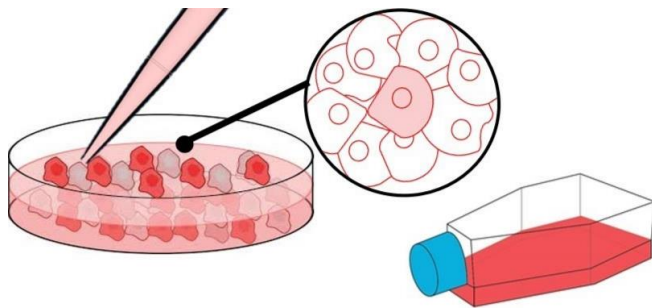
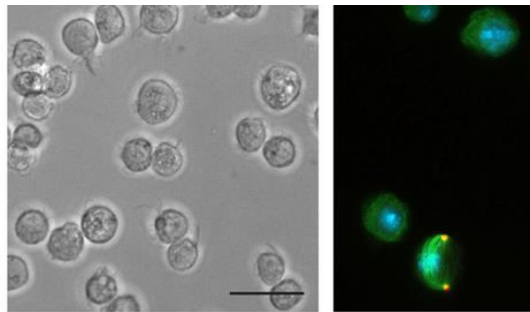


- это гомогенная популяция клеток, содержащихся в контролируемых условиях
- важна для изучения реакции организма на негативные факторы среды на клеточном уровне

Клеточная линия *Spodoptera frugiperda* (Sf9)



Клеточная линия *Drosophila melanogaster* (S2)





Цель работы:

Исследование влияния повышенной температуры на байкальских эндемичных и палеарктических амфипод на клеточном уровне

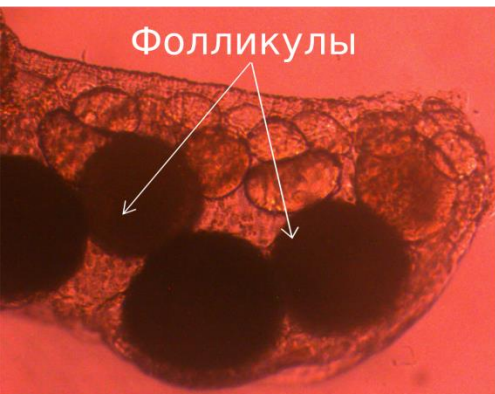
Задачи:

- Оценить возможность выделения клеток из различных тканей амфипод на примере байкальского вида *Eulimnogammarus verrucosus* (Dybowsky, 1874).
- Подобрать оптимальные условия содержания разных типов клеток амфипод *E. verrucosus* в первичной культуре.
- Сравнить влияние повышенной температуры на выживаемость клеток из разных тканей организма и целого организма байкальского *E. verrucosus* и палеарктического *Gammarus lacustris* Sars, 1863.

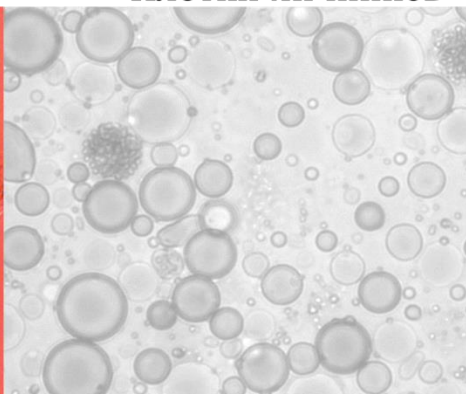
Тестирование выделения и содержания первичных культур клеток разных тканей амфипод



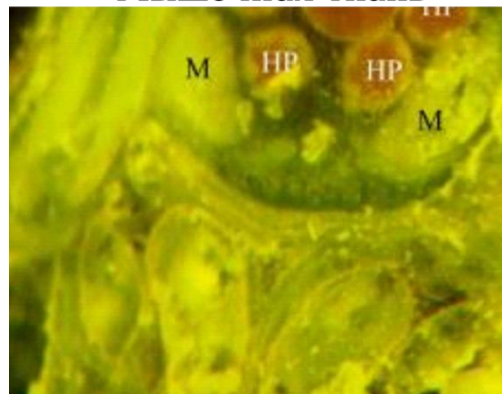
Яичники



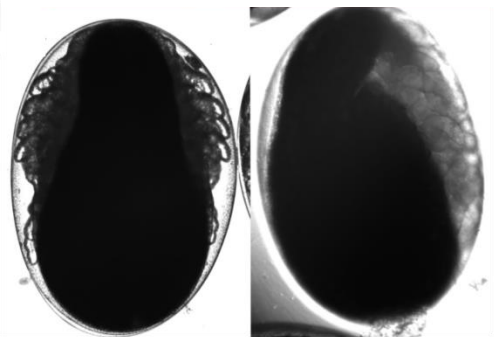
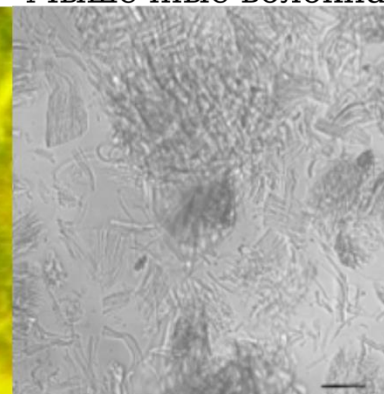
Клетки яичников



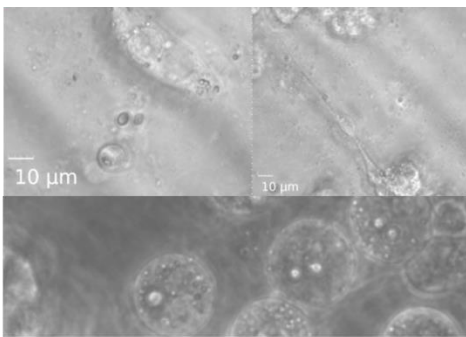
Мышечная ткань



Мышечные волокна



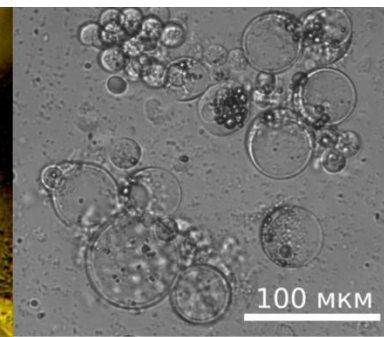
Эмбрионы



Эмбриональные клетки



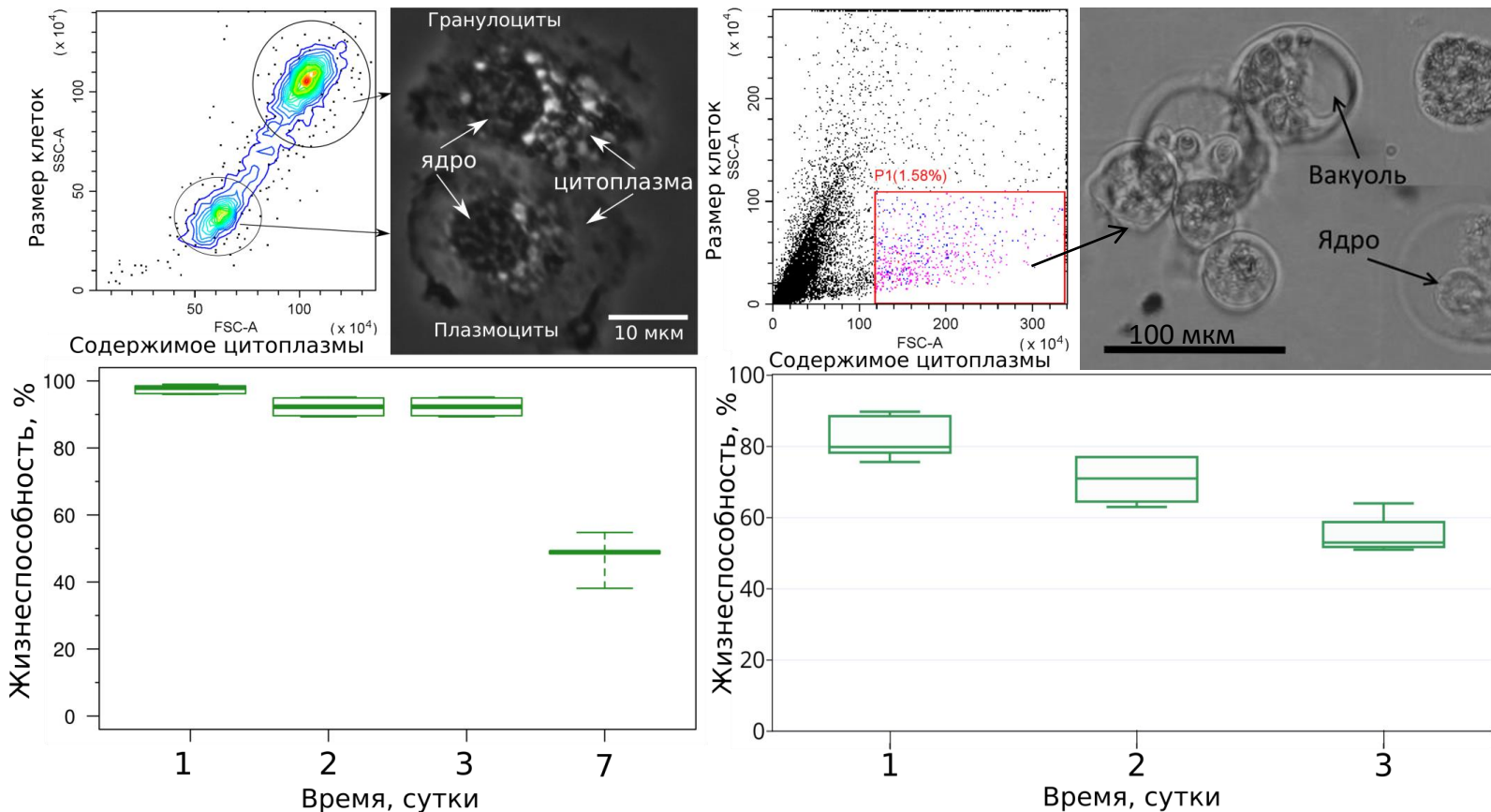
Гепатопанкреас



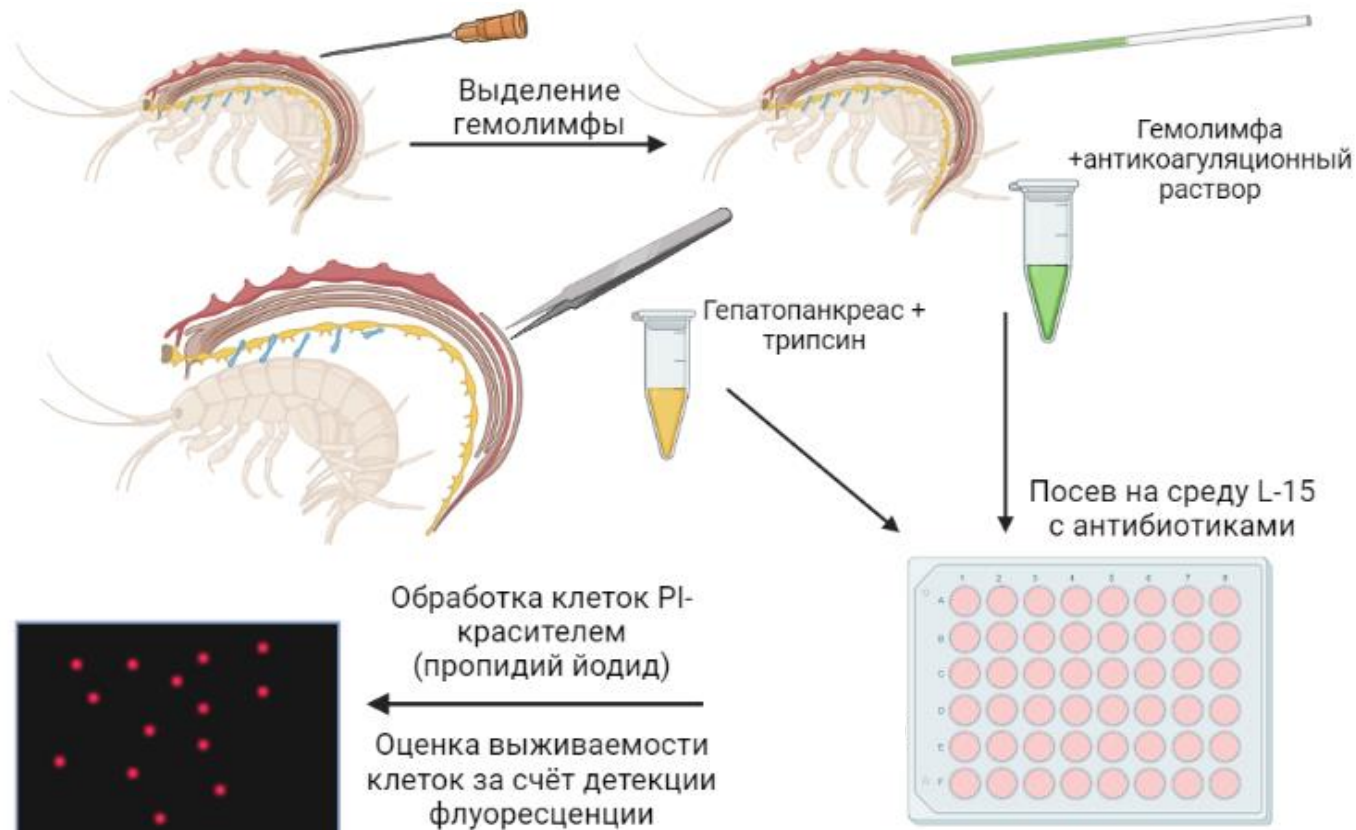
Клетки гепатопанкреаса



Выживаемость клеток в питательной среде L-15 с добавлением 15% фетальной бычьей сыворотки

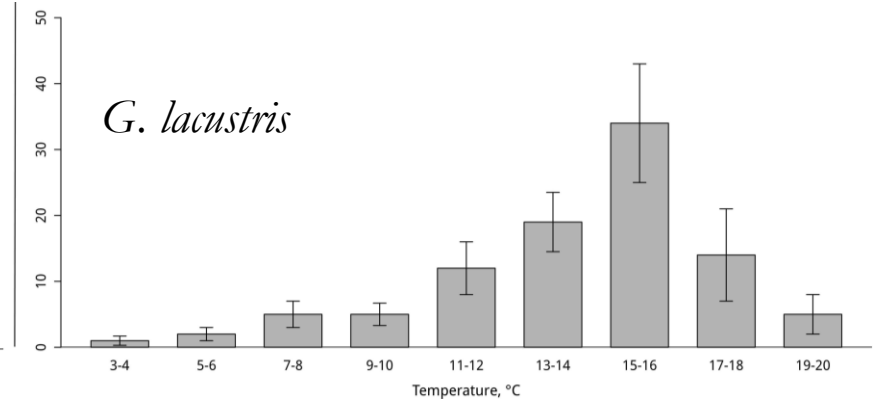
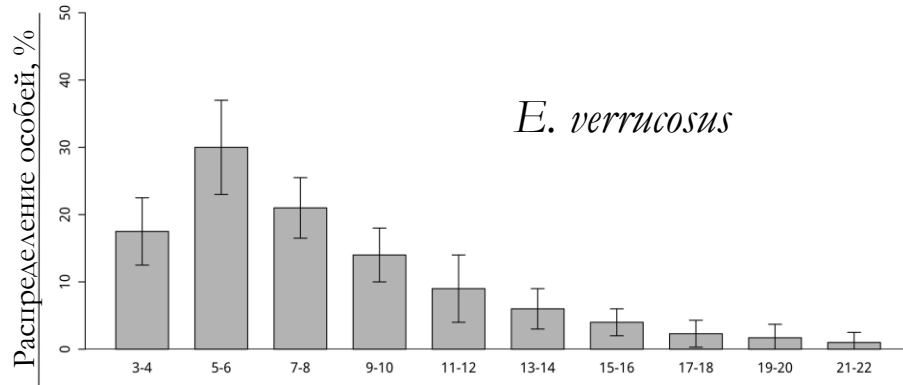
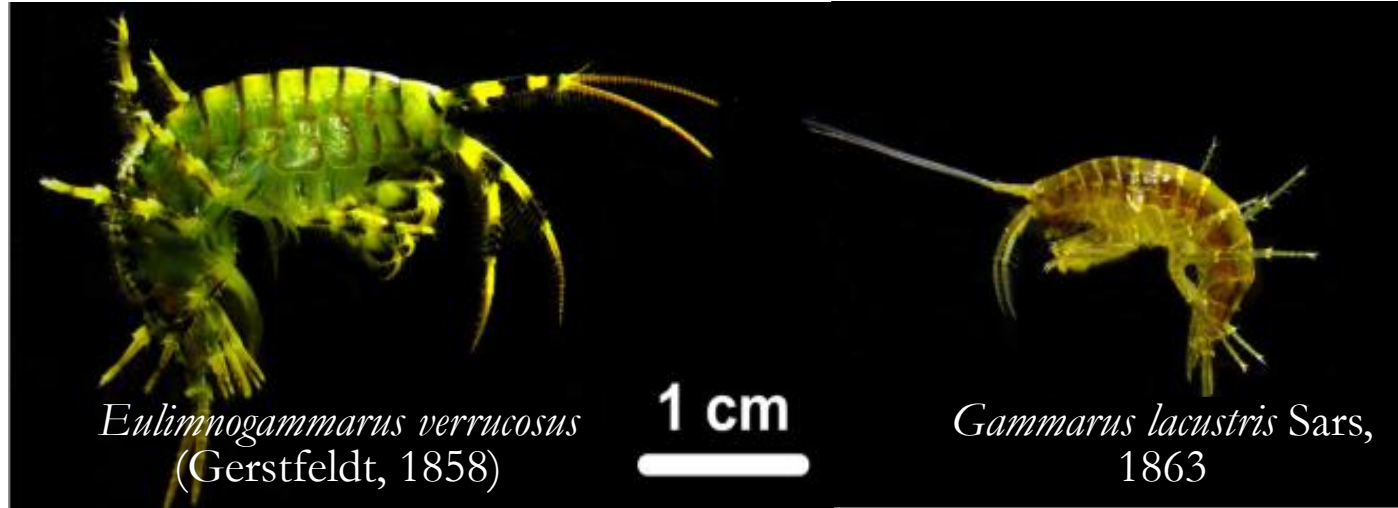


Выделение гемоцитов и клеток гепатопанкреаса амфипод



Объекты исследования и их термопреферендумы

*Axenov-Gribanov et al., 2016, Plos One 11(10): e0164226.



Дизайн физиологического эксперимента по влиянию повышенных температур на амфипод

9

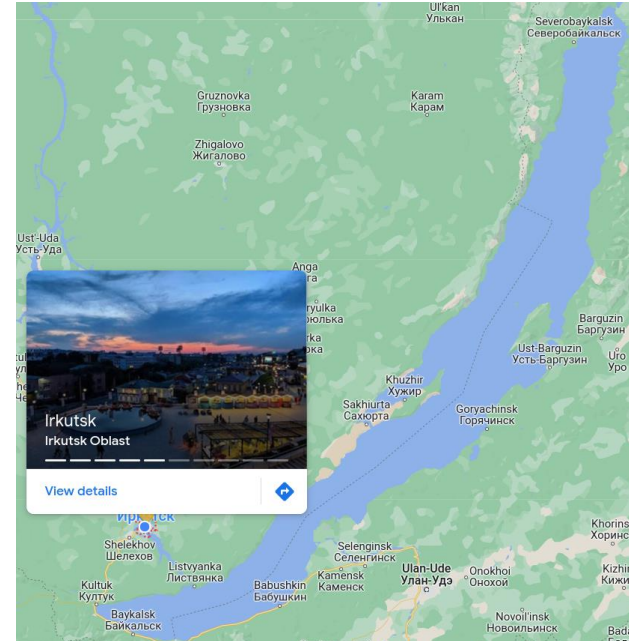
1. Отлов амфипод

E. verrucosus - п. Листвянка $T_{\text{отлова}} = 7,7^{\circ}\text{C}$

Сезон размножения

G. lacustris - г. Иркутск $T_{\text{отлова}} = 4,8^{\circ}\text{C}$

Состояние губернии



Дизайн физиологического эксперимента по влиянию повышенных температур на амфипод



2. Акклимация к лабораторным условиям (3 дня) 6°C

3. Параллельная группа при 6°C

3. Повышение температуры от 6°C до 18°C на 1°C в сутки

E. verrucosus

G. lacustris

E. verrucosus

G. lacustris

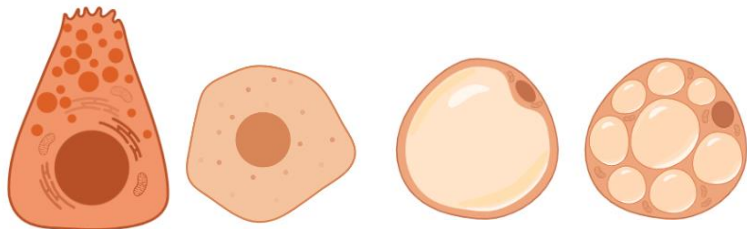


4. Длительное содержание при 6°C и 18°C в течение 26 дней

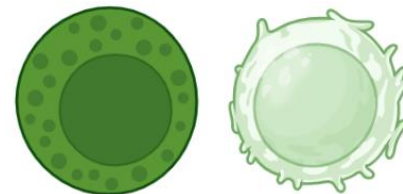
Дизайн эксперимента

5. Выделение клеток

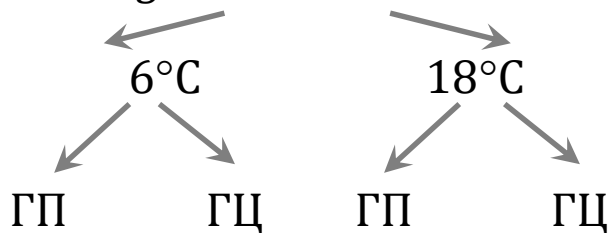
Клетки гепатопанкреаса (ГП)



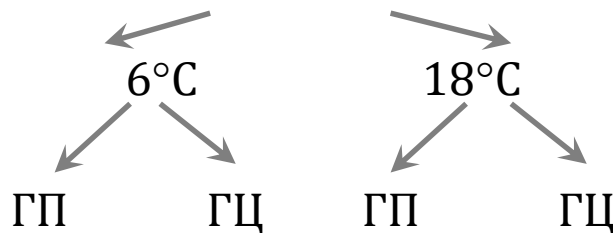
Гемоциты (ГЦ)



Eulimnogammarus verrucosus



Gammarus lacustris

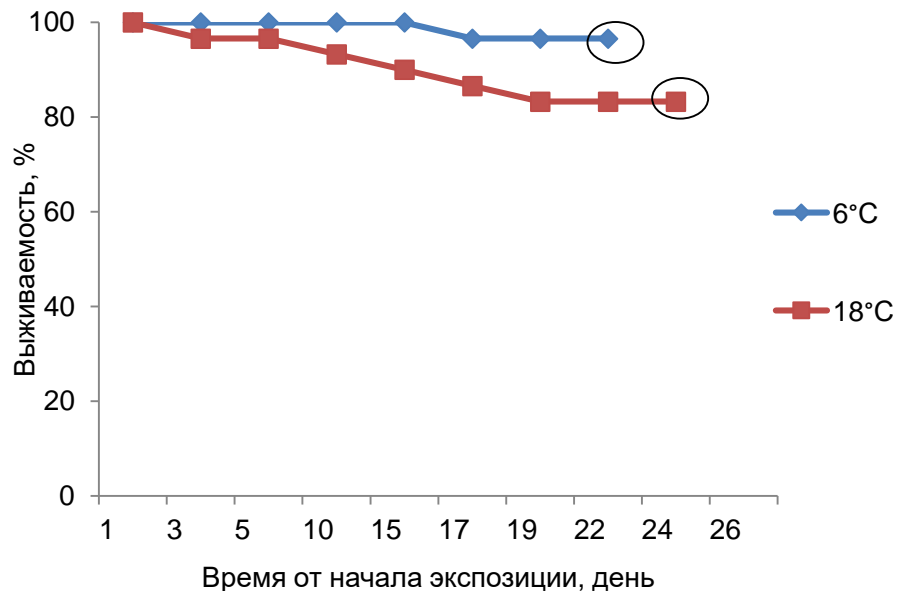


6. Выживаемость клеток через сутки инкубации при температуре акклимации организма

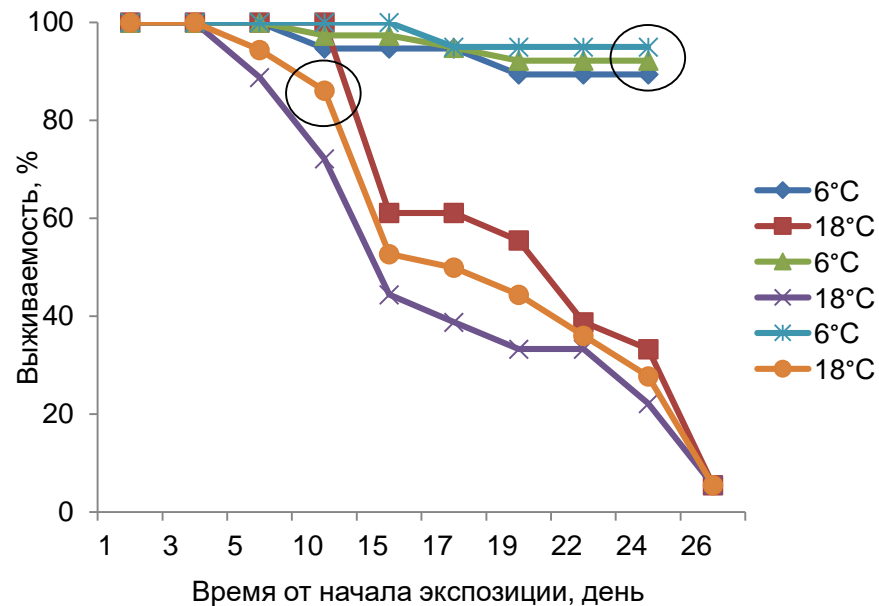
Выживаемость амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* и *Gammarus lacustris* при длительном содержании при разных температурах



E. verrucosus

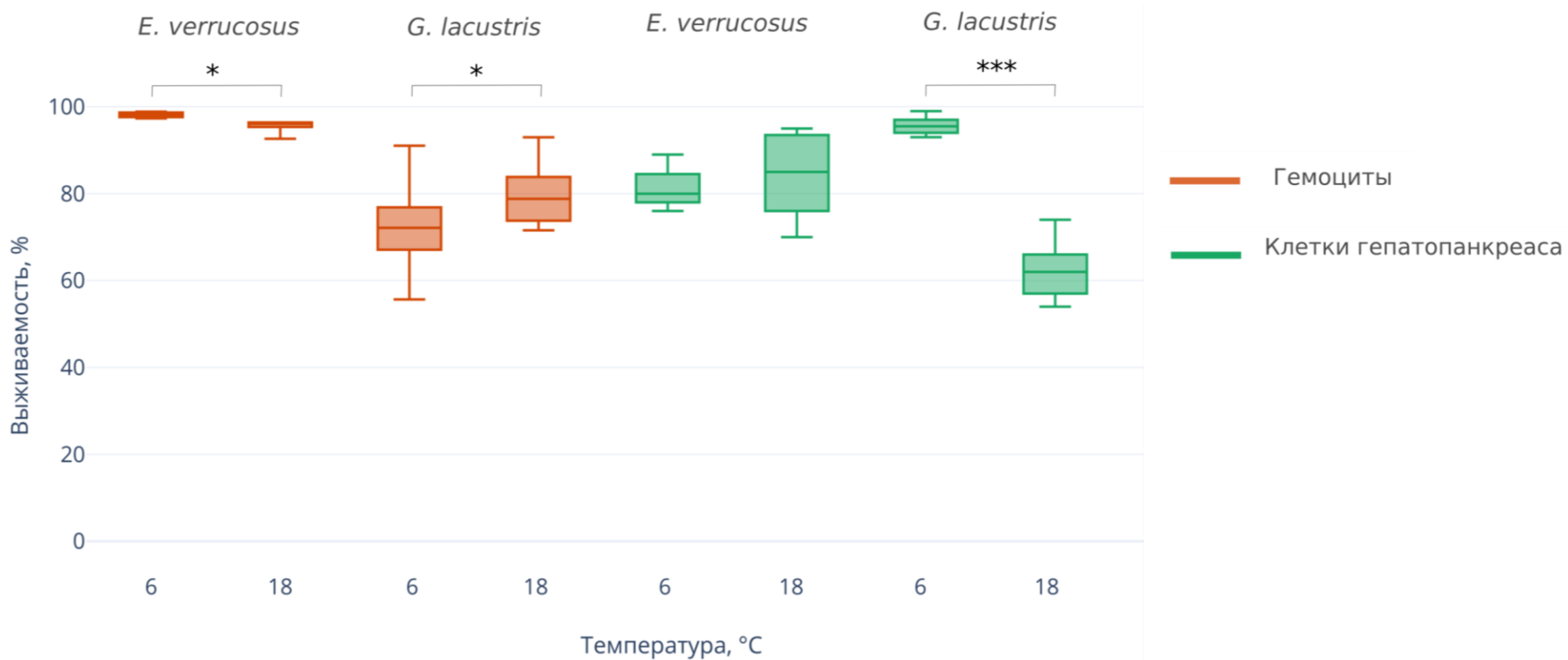


G. lacustris



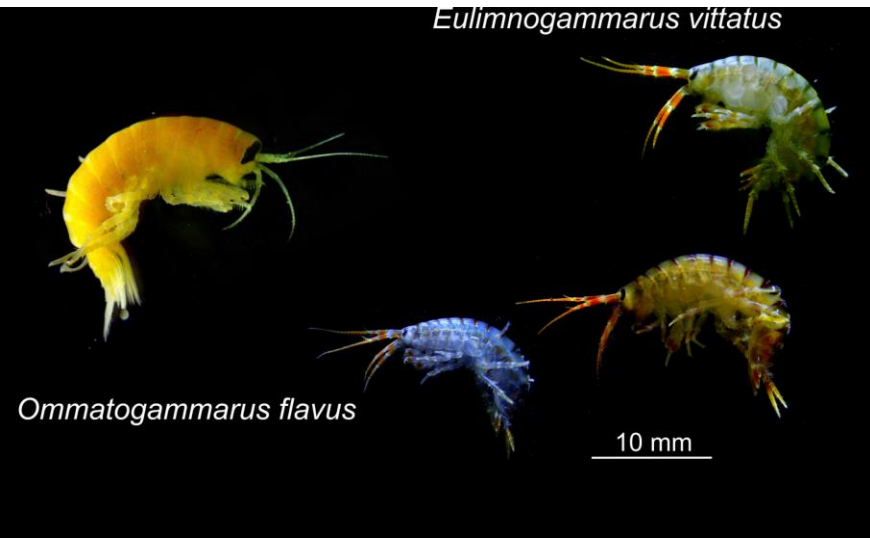
кругами указаны дни выделения клеточных культур

Выживаемость клеток через 24 часа инкубации при температуре акклимации организма



Выводы

1. Показана возможность выделения гемоцитов и клеток гепатопанкреаса байкальских амфипод.
2. Питательная среда L-15 с добавлением 15% фетальной бычьей сыворотки является подходящей для содержания гемоцитов и клеток гепатопанкреаса байкальских амфипод.
3. Выявлена сниженная жизнеспособность клеток гепатопанкреаса голарктических амфипод *G. lacustris* при акклимации к повышенной температуре, что согласуется с данными по выживаемости целого организма. В то время как для байкальского вида амфипод *E. verrucosus* такого эффекта не обнаружено.
4. С применением методов первичных культур клеток удалось показать различия в тканевой чувствительности к повышенным температурам у *E. verrucosus* и *G. lacustris*.

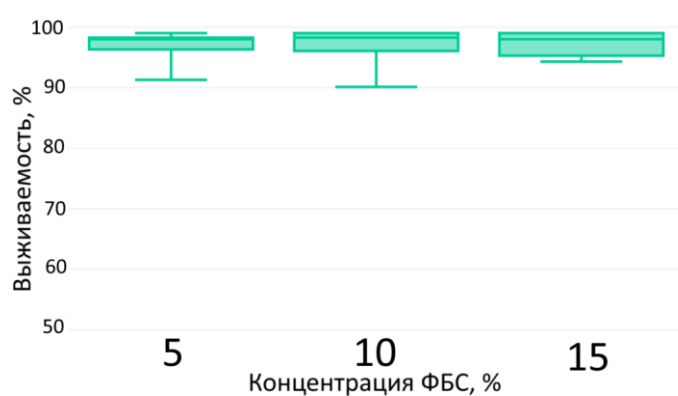


Благодарю за внимание!

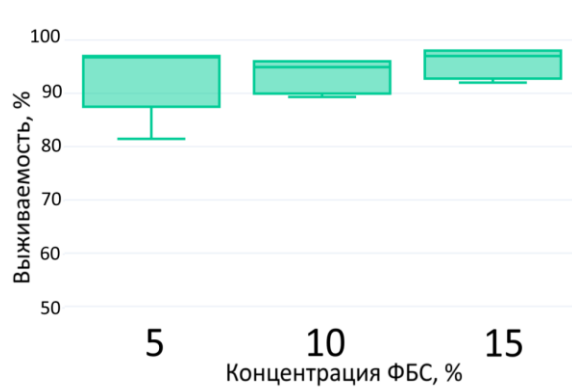


16

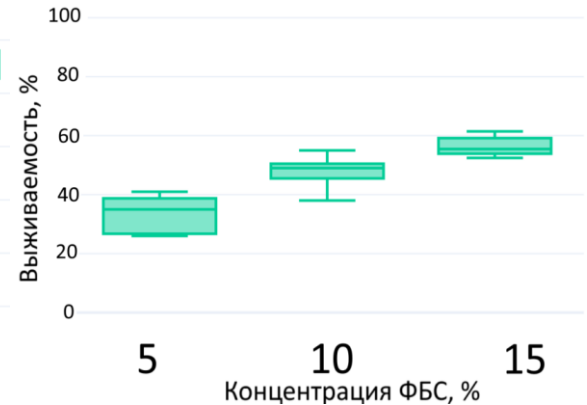
Выживаемость гемоцитов в среде L15 с разными концентрациями ФБС



Через 2-е суток



Через 3-е суток



Через 7 суток

Подбор питательной среды для культивирования клеток гепатопанкреаса



Тип питательной среды

Среда Грейса + 15% ФБС

Среда Грейса + 10% ФБС

Среда Грейса + 5% ФБС

2L15 + 15% ФБС

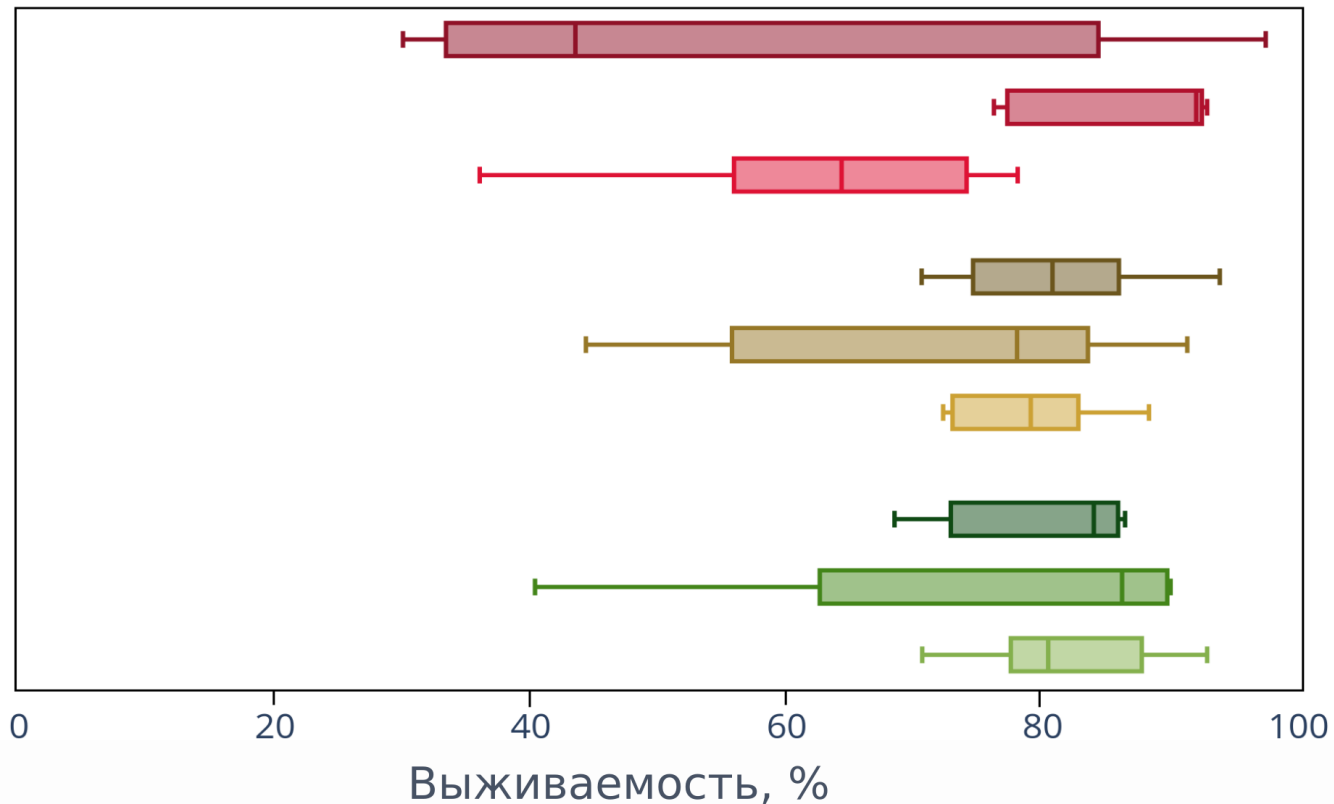
2L15 + 10% ФБС

2L15 + 5% ФБС

L15 + 15% ФБС

L15 + 10% ФБС

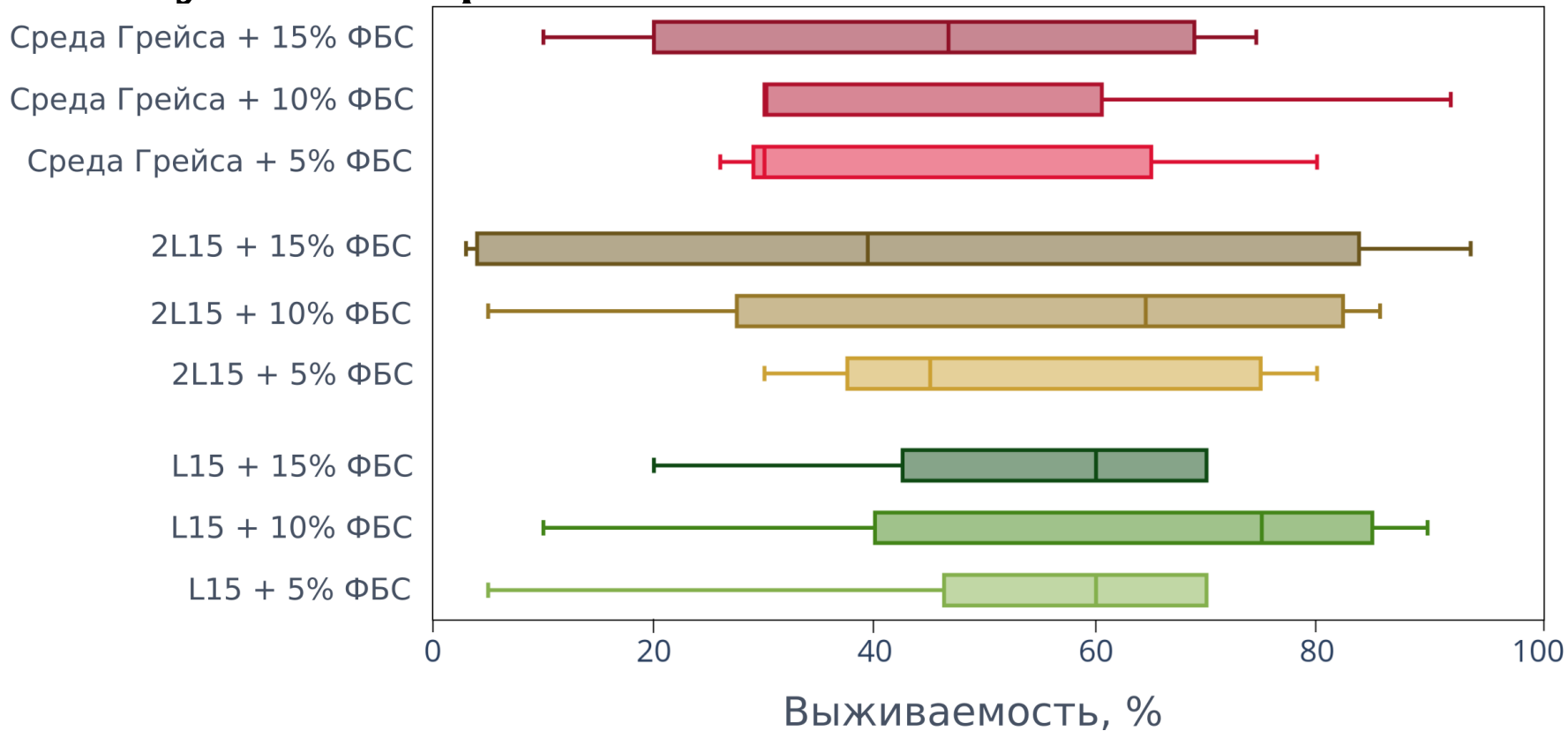
L15 + 5% ФБС



Подбор питательной среды для культивирования клеток яичников



Тип питательной среды





Выживаемость гемоцитов *E. verrucosus* при разных температурах

