



ВЫДЕЛЕНИЕ И КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИОБЛАСТОВ РЫБ КУРИЛОВ ИГОРЬ ВИТАЛЬЕВИЧ ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ КАЗАНСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА

Введение

Миобласты - это клетки, играющие основную роль в построении мышечной ткани. Выращенные *in vitro* миобласты рыб могут использоваться как для изучения различных заболеваний рыб, а также в биотехнологии для получения альтернативных клеточных мясных продуктов. *Цель исследования* – изучение особенностей получения и выращивания миоцитов мышечной ткани осетра.

Материалы и методы

В стерильных условиях проводили забор мышечной ткани со спины свежезабитой тушки осетра. Миосаттелиты выделяли ферментативным методом. Полученную суспензию клеток высевали на предварительно обработанную 0,1% раствором желатина (ПанЭко, Россия) культуральную посуду T25 (SPL, Корея). Высеянные клетки выдерживали 30 мин, после чего не прикрепившиеся клетки вместе со средой убирали и заливали новой ростовой средой. Клетки инкубировали при 20°C. Определение жизнеспособности проводили с помощью набора Annexin V Apoptosis Detection Kit согласно инструкции производителя (Santa Cruz, sc-4252 AK, США) на проточном цитофлуориметре (Guava easyCyte 8HT, США). Иммуногистохимический анализ клеток на наличие внутриклеточного маркера миобластов – десмина (sc-14026; Santa Cruz, USA) проводили по инструкции производителя. Образцы визуализировали на инвертированном флуоресцентном микроскопе Axio Vision (Zeiss, Германия) с использованием программного обеспечения AxioVision Rel.avelength.

Заключение

Таким образом, выделенные и культивируемые нами клетки осетра являются миобластами и обладают высокой жизнеспособностью, что дает возможность применять разработанную методику для получения миобластов из других видов рыб.

жизнеспособность и пролиферация клеток



Результаты

Миобласты осетра, выделенные из мышечной ткани (рис.1), через 24ч прикрепилась к подложке на культуральном пластике и активно размножались (рис.2), приобретая характерную для миобластов веретеновидную форму с центрально расположенным ядром. 100% выделенных из мышечной ткани осетра клеток окрашивались на белок десмин. Белок десмин является необходимым элементом клеточного скелета мышечных клеток и одной из ранних белковых «меток» мышечных клеток в эмбриогенезе, так как он обнаруживается в миобластах сомитов (рис.2). Жизнеспособность миобластов осетра составила 97% (рис.3). Это является хорошим показателем. По литературным данным хорошим показателем жизнеспособности клеток первичной культуры является наличие 60% живых клеток в образце.

Изображения

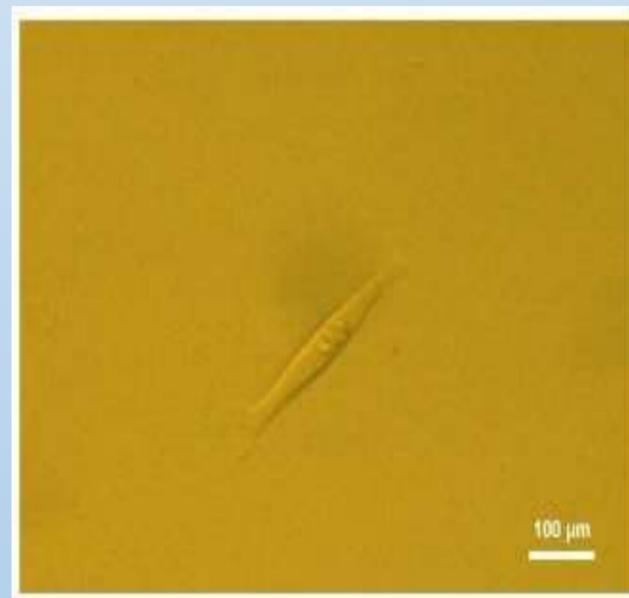


Рисунок 1. Одиночный миобласт, полученный из мышечной ткани осетра.

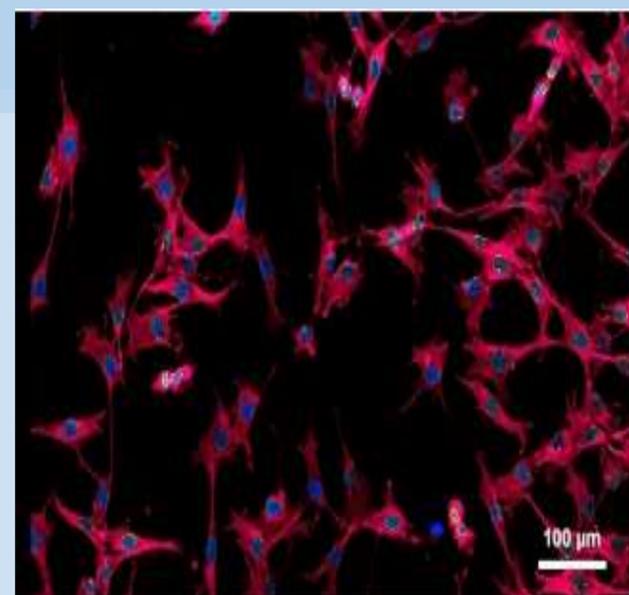


Рисунок 2. Миобласты осетра окрашенные десмином

Рисунок 3. Жизнеспособность и пролиферация клеток