

Влияние физических факторов на рост фибробластов

Николаева М. В.

Ленинградский государственный университет имени А. С. Пушкина
Лужский институт (филиал)

Клеточные технологии с каждым годом находят все большее применение в самых разнообразных областях биологии, медицины, ветеринарии и сельского хозяйства. Культуры клеток используют при решении таких общебиологических проблем, как выяснение механизмов дифференцировки и пролиферации клеток, взаимодействия их со средой, адаптации, старения, злокачественной трансформации и т.д. [1].

Цель исследований: изучить влияние электрического тока на рост и развитие фибробластов и возможность заморозки на полиимидных пленках и дальнейшее использование как трансплантат.

Задачи:

- изучить методику анализа жизнедеятельности клеток в режиме реального времени;
- изучить методику использования МТТ теста для оценки выживаемости клеток при различных воздействиях.

Объектом исследований являлись фибробласты человека. Исследования проведены в лаборатории полимерных материалов для тканевой инженерии и трансплантологии института высокомолекулярных соединений РАН.

Система анализа жизнедеятельности клеток проводилась в режиме реального времени. В приборе iCelligence используется неинвазивный мониторинг для количественной оценки пролиферации клеток, изменения морфологии и качества прикрепления без использования меток в режиме реального времени [3].

В ходе эксперимента проверяли действие электрического тока на рост и развитие фибробластов. Изначально поместили одинаковое число клеток в лунки, и поставили ячейку в инкубатор в прибор iCelligence на 48 часов. Клетки росли равномерно. Затем среду разлили в три чашки Петри и действовали на них электрическим током разной продолжительности. Продолжительность воздействия электрического тока на образец № 1 составляла 10 с, образец № 2 – 20 с, образец № 3 – 30 с. Во все образцы внесли плазму. Получившуюся среду с плазмой добавили к фибробластам, которые росли в течение двух дней. Предварительно удалив из клеток среду, в которой они росли. Контрольную пробу электрическим током не обрабатывали. Поставили все образцы и контрольную пробу в инкубатор и наблюдали за поведением клеток в режиме реального времени с помощью прибора iCelligence.

Самые высокие показатели жизнедеятельности клеток у образца № 2, на который действовали электрическим током в течение 20 с. На втором месте действие электрического тока в течение 10 с оказало влияние на образец № 1. Далее идет контрольная проба и только за ней действие электрическим током в течение 30 с. Оптимально подобранное время, а именно 20 с, является стимулятором для роста и развития фибробластов. Чрезмерное или недостаточное действие электрическим током снижает рост и развитие фибробластов, пагубно сказывается на их жизнедеятельности.

МТТ тест использовали для оценки выживаемости культур клеток при различных воздействиях. В основе метода лежит реакция восстановления желтой соли тетразолия (МТТ) митохондриальными дегидрогеназами живых клеток до пурпурных кристаллов формазана, которые нерастворимы в водной среде обитания клеток. Кристаллы формазана (МТТ-ф) растворяют в ДМСО или в смеси HCl-изопропанол и определяют

колориметрически. Эта процедура убивает живые клетки, то есть МТТ-тест является конечной точкой исследования [2].

В качестве подложки для культуры клеток использовались полиимидные пленки, полученные методом электроформования. Предполагалось проверить, возможность замораживания фибробластов на полиимидных пленках для дальнейшего использования в качестве трансплантата. На полиимидные пленки посадили клетки фибробластов, которые пролиферировали на пленках два дня. Затем часть образцов положили на заморозку на **неделю**, а на другой части образцов провели МТТ тест. Через неделю сделали МТТ тест на пленках, которые достали после замораживания.

В результате проведенного эксперимента оказалось, что самый высокий показатель выживаемости был у контрольного образца, самый низкий показатель у образца, который подвергся заморозке, образцы на полиимидных пленках, имели промежуточный показатель выживаемости. После заморозки количество жизнеспособных клеток снизилось, но это произошло в пределах допустимой нормы.

Таким образом, замораживание культур клеток на полиимидных пленках не снижает жизнеспособность фибробластов, что дает возможность в дальнейшем использовать их в качестве трансплантатов.

Список использованных источников

1. Блажевич О.В. Культивирование клеток. - М.: БГУ, 2004. – 78 с.
2. МТТ тест для оценки выживаемости клеток. <https://www.fundamental-research.ru/ru/article/view?id=36378> (дата обращения 6.02.19).
3. iCelligence. <https://www.aceabio.com/products/icelligence/> (дата обращения 6.02.19).

Декан биотехнологического факультета

В.Б. Сбойчаков

Научный руководитель

О.В. Решетникова

Автор

М. Николаева