

Первичная культура гемоцитов, как инструмент для изучения клеточного иммунного ответа амфипод *Eulimnogammarus verrucosus*

Научный руководитель – Тимофеев Максим Анатольевич

Назарова А.А.¹, Гурков А.Н.², Шапова Е.П.², Дмитриев И.А.¹

1 - Иркутский государственный университет, Биолого-почвенный факультет, Иркутск, Россия; 2 - Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

Изучение иммунного ответа водных беспозвоночных актуально в контексте исследования их взаимодействия с разнообразными патогенами, а также для разработки имплантируемых оптических микросенсоров для регистрации физиологических параметров *in vivo*.

Озеро Байкал — это крупнейший пресноводный водоём, населённый уникальной и разнообразной фауной беспозвоночных. Эндемичные байкальские амфиподы (Amphipoda, Crustacea) являются важным компонентом экосистемы озера и объектом ряда исследований их взаимоотношений с паразитами [3] и экофизиологических работ с применением имплантируемых микросенсоров [2]. Известно, что существенную роль в инициации иммунного ответа ракообразных играют клетки, циркулирующие в гемолимфе, — гемоциты, однако особенности функционирования иммунной системы амфипод остаются недостаточно изученными [1].

Целью данной работы была отработка методики получения первичной культуры гемоцитов эндемичных байкальских амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstfeldt, 1858), а также тестирование чувствительности гемоцитов к микроорганизмам *in vitro*.

Условия получения первичной культуры гемоцитов *E. verrucosus* были подобраны на основе ранее предложенного протокола [4] по ряду параметров: процент потери и агрегации клеток, концентрация гранул, покинувших гемоциты, и выживаемость клеток (по окраске трипановым синим). Для исследования чувствительности первичной культуры гемоцитов использовали суспензию дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Показано, что потеря клеток во время выделения составляет не более 30 % и не менее 70 % выделенных гемоцитов сохраняют жизнеспособность в течение 24 часов. Установлено, что степень агрегации гемоцитов в культуре через 3 часа после добавления *S. cerevisiae* повышается втрое по сравнению с контрольной суспензией гемоцитов, что демонстрирует применимость полученной первичной культуры для определения иммуногенности инородных тел.

Данная работа была поддержана грантами РНФ (№17-14-01063) и РФФИ (№ 15-29-01003).

Источники и литература

- 1) Chang E.S., Thiel M. The natural history of the Crustacea, V. 4, Physiology. Oxford University Press. 2015.
- 2) Gurkov A., Shchapova E., Bedulina D., Baduev B., Borvinskaya E., Meglinski I., Timofeyev M. Remote in vivo stress assessment of aquatic animals with microencapsulated biomarkers for environmental monitoring // Scientific Reports. V. 6. 36427.
- 3) Madyarova E.V., Adelshin R. V., Dimova M. D., Axenov-Gribanov D. V., Lubyaga Y. A., Timofeyev M. A. Microsporidian parasites found in the hemolymph of four baikalian endemic amphipods // PLoS One. 2015. V. 10. e0130311.

- 4) Mastore M., Arizza V., Manachini B., Brivio M.F. Modulation of immune responses of *Rhynchophorus ferrugineus* (Insecta: Coleoptera) induced by the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Rhabditida) // *Insect Science*. V. 22. 748-760.