

RAPORT ȘTIINȚIFIC ȘI TEHNIC NR. 4

- rezumat -

Obiectivul acestei faze l-a constituit *întocmirea băncii de celule somatice, activitățile* concrete presupunând: *prelevarea biopsiilor tisulare, inițierea culturilor celulare primare, menținerea în culturi pentru multiplicare, izolarea fibroblastelor din cultură, evaluarea și conservarea lor.*

Celulele somatice adulte reprezintă un depozit al fondului genetic propriu fiecărui organism. Informația stocată în nucleul fiecărei celule somatice este identică cu cea a tuturor celulelor care alcătuiesc organismul.

Metodele moderne de biotehnologii în reproducție permit multiplicarea organismelor altfel decât via gameți (celule haploide). Astfel, pornind de la celule somatice se poate activa genomul acestora și obține o entitate embrionară capabilă să dezvolte un organism. Biotehnologia respectivă este cunoscută sub denumirea de clonare și apelează la nuclee ale celulelor somatice embrionare sau adulte.

În organismul animal sunt peste 200 tipuri de celule diferențiate, răspândite în țesuturi care la rândul lor formează organele. Ca și o caracteristică generală, celulele diferențiate sau specializate nu proliferază, ci sunt înlocuite în organism la moartea lor de alte celule nou diferențiate și care provin din celule tinere. În culturi, pierderea diferențierii celulare poate conduce la câștigarea capacității proliferative. Cu toate acestea, nici o celulă nu „câștigă” o totipotență celulară, astfel încât singura cale cunoscută până acum de obținere a unui organism pornind de la o celulă adultă este tehnologia celulelor somatice și transferul nuclear (**SCNT – somatic cell and nuclear transfer technologies**) sau clonarea.

Din întreaga pleiadă de tipuri celulare întâlnite în organismul animal, fibroblastele sunt preferate aplicațiilor de clonare datorită rezistenței crescute la variațiile condițiilor de mediu, pretențiilor scăzute față de mediul de cultură, ratei de multiplicare ridicate și altor caracteristici similare. În aceste condiții, păstrarea fondului genetic al unui organism adult este posibilă și prin conservarea de lungă durată a fibroblastelor.

Pentru stocarea de lungă durată a fibroblastelor, se apelează la metode specifice culturilor de celule animale *in vitro* (crioconservării liniilor celulare) sau criobiologiei tisulare (crioconservarea țesuturilor). O astfel de biotehnologie presupune: prelevarea biopsiilor tisulare, inițierea culturilor celulare primare, menținerea în culturi pentru multiplicare, izolarea fibroblastelor din cultură, evaluarea și conservarea lor. Fibroblastele dezvoltate în culturile celulare primare se păstrează în criotuburi, plasate în azot lichid. Pentru crioconservarea fibroblastelor provenite de la populația de Mangaliza luată în studiu au fost trecute pe medii de cultură bogate în ser fetal de vițel și agenți crioprotectori (dimetil sulfoxid). Congelarea inițială s-a făcut cu o rată de aproximativ 1°C/min până la -80°C, după care tuburile au fost plonjate în azot lichid. Criotuburile individualizate au fost apoi introduse în cutii care s-au plasat în suporturile containerului cu azot lichid în vederea stocării îndelungate.