

Литература:

1. Цаплина О.А., Ефремова Т.Н., Кевер Л.В. и др. Выявление актизназной активности протеализина. *Биохимия* 2009; 74 (6): 797–804.
2. Цаплина О. Участие поверхностного белка *Serratia proteamaculans* OmpX в адгезии бактерий к клеткам эукариот. *Цитология* 2018; 60(10): 817–20.
3. Mirgorodskaya O., Kazanina G., Mirgorodskaya E. et al. Proteolytic cleavage of melittin with the actin-digesting protease. *Prot. Pept. Lett.* 1996; 3(2): 81–8.
4. Vogt J., Schulz G.E. The structure of the outer membrane protein OmpX from *Escherichia coli* reveals possible mechanisms of virulence. *Structure* 1999; 7(10): 1301–09.

А.А. Чадаева*, С.П. Живодеров, Ю.П. Моргун, Д.Ю. Морозова, О.Л. Колбасова, С.Г. Юрков

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА КРИОБАНКА СУБКУЛЬТУР ПЕРВИЧНЫХ КЛЕТОК ТЕСТИКУЛЯРНОЙ ТКАНИ КОЗЛЕНКА

Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, Владимирская область, п. Вольгинский, Россия

A.A. Chadaeva*, S.P. Zhivoderov, Yu.P. Morgunov, D.Yu. Morozova, O.L. Kolbasova, S.G. Yurkov

OBTAINING AND CHARACTERISTICS OF THE CRYOBANK OF SUBCULTURES OF PRIMARY CELLS OF A GOATLING'S TESTICULAR TISSUE

Federal Research Center for Virology and Microbiology (FRCVM), Vladimir region, Volginsky, Russia

*a_doct_or@mail.ru

Первичные культуры клеток являются наиболее востребованной лабораторной моделью для выделения полевых изолятов вирусов. Основные проблемы использования этих клеточных систем связаны с необходимостью получения исходной ткани с высоким содержанием клеток-мишеней и возможностью эндогенной вирусной контаминации.

Для некоторых возбудителей особо опасных вирусных инфекций крупного и мелкого рогатого скота установлен высокий уровень перmissивности первичных культур клеток тестикул козленка, изготовление которых не связано с убоем животных доноров ткани, однако ограничения накладывает сезонность (весенний период) получения ткани, т.к. показано, что для сохранения чувствительности к вирусам культур необходимо использовать тестикулярную ткань от доноров не старше 1,5 месяцев.

В ряде работ показано, что на ранних пассажах субкультуры первичных клеток частично сохраняют клеточные характеристики исходной ткани и могут быть использованы для выделения полевых вирусов.

Целью исследований явилось получение и оценка биологических свойств субкультур клеток тестикул козленка (ТК).

Стандартной трипсинизацией тестикулярной ткани 1,2-месячного козленка зааненской породы получена первичная культура клеток ТК. Конфлюэнтный монослой культуры был представлен клетками преимущественно фибробластоподобного типа, которые формировали направленные клеточные «потoki» с островками эпителиоподобных клеток.

Последовательными пересевами в среде Игла-МЕМ с 10% фетальной сыворотки КРС получены субкультуры, которые на уровне 3, 5, 7 пассажей криоконсервированы в жидкий азот.

Методом ПЦР установлено отсутствие контаминации клеток вирусами медленных инфекций мелких жвачных — артрита-энцефалита коз, аденоматоза легких овец и вируса висна-маеди овец.

Изучение чувствительности субкультур клеток ТК показала их перmissивность к вирусу чумы мелких жвачных животных и вирусу заразного узелкового дерматита КРС, который с использованием субкультуры четвертого пассажа впервые изолирован от мухи-жигалки, отобранной в эпизоотическом очаге.

Работа выполнена в рамках государственного задания.

А.А. Чадаева*, О.С. Поголяева, С.П. Живодеров, Е.Ю. Пивова, А. Живодерова, А.В. Луницин, С.Г. Юрков

СУБКУЛЬТУРЫ ПЕРВИЧНО-ТРИПСИНИЗИРОВАННЫХ КЛЕТОК ПОЧКИ И КОЖИ ПЛОДА КРОЛИКА ДЛЯ ВИРУСОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ

Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, Владимирская область, п. Вольгинский, Россия

A.A. Chadaeva*, O.S. Povolyaeva, S.P. Zhivoderov, E.Yu. Pivova, A. Zhivoderova, A.V. Lunicyn, S.G. Yurkov

SUBCULTURES OF PRIMARY TRIPSINIZED CELLS OF KIDNEY AND SKIN OF THE RABBIT'S FETUS FOR VIROLOGY AND BIOTECHNOLOGY

Federal Research Center for Virology and Microbiology, Vladimir region, Volginsky, Russia

*a_doct_or@mail.ru

В практической вирусологии и биотехнологии как субстрат для репродукции вирусов нашли широкое применение различные типы культивируемых клеток. Определяющим критерием возможности использования тех или иных культур клеток в данном направлении является их чувствительность к вирусам. Целью исследований явилось получение и оценка перmissивности субкультур клеток почки и кожи плода кролика к выделенному в РФ вирусу заразного узелкового дерматита КРС и оценки перспектив использования этих культур в биотехнологии получения защитных препаратов против миксоматоза кроликов.

Методом ферментативной дезагрегации тканей почек и кожи плода кролика калифорнийской породы получены первичные культуры клеток почек плода кролика (ППКр) и кожи плода кролика (КПКр). В результате последовательных пересевов в среде DMEM с 10% фетальной сыворотки КРС (FBS) получены субкультуры, которые на уровне 3, 6, 9 пассажей криоконсервированы в жидкий азот. После размораживания на нулевом пассаже жизнеспособность клеток по тесту витального окрашивания трипановым синим составляла от 78 до 85%, монослой культуры ППКр был представлен эпителиоподобными клетками, а культуры КПКр — клетками фибробластоподобного типа.

Изучение чувствительности субкультур клеток ППКр и КПКр показало их перmissивность к вирусу заразного узелкового дерматита КРС (Волгоградский изолят) и максимальные титры инфекционной активности вируса отмеченные на 5 день культивирования составили 5,0 Ig ТЦД_{50/см3} и 5,5 ТЦД_{50/см3} соответственно. Для

вируса миксомы кроликов (вакцинный штамм В82) развитие ЦПД сопровождалось деструкцией моно-слоя, округлением и отслоением клеток от субстрата на 3–4 день культивирования с накоплением вируса в культуре КПКр до $5,83-6,16 \text{ ТЦД}_{50/\text{см}^3}$, а в культуре ППКр — $5,5-5,83 \text{ ТЦД}_{50/\text{см}^3}$.

Полученные данные свидетельствуют о возможности использования полученных субкультур охарактеризованных клеток почек плода и кожи плода кролика из криобанка для проведения вирусологических и биотехнологических исследований.

Работа выполнена в рамках государственного задания.

И. Чистякова¹, И. Гин^{1,2}, В. Зенин¹,
С. Кошкин^{1*}, Г. Тимин¹, А. Мусорина¹,
Ю. Лахина², В.А. Поспелов¹, Е. Толкунова¹

**СТРОМАЛЬНЫЕ И ОПУХОЛЕВЫЕ
КЛЕТКИ ГЛИОМЫ СО СХОЖИМИ
ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ИМЕЮТ РАЗЛИЧИЯ
В ЭКСПРЕССИИ И ЛОКАЛИЗАЦИИ ГЛАДКОГО
МЫШЕЧНОГО АКТИНА**

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

I. Chistyakova¹, I. Gin^{1,2}, V. Zenin¹,
S. Koshkin^{1*}, G. Timin¹, A. Musorina¹,
Y. Lahina², V. Pospelov¹, E. Tolkunova¹

**STROMAL AND TUMOR GLIOMA-DERIVED
CELLS WITH SIMILAR CHARACTERISTICS HAVE
DIFFERENCES IN ALPHA-SMOOTH MUSCLE
ACTINE LOCALISATION**

¹ Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

² Federal Almazov North-West Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

*Koshkin31@mail.ru

При изучении гистологического строения глиом, как и других злокачественных солидных образований, обнаруживаются как опухолевые, так и различные стромальные клетки. В ходе данной работы нами получены первичные культуры диплоидных клеток из хирургического образца олигодендроглиомы, а также смешанно-клеточные популяции анеуплоидных опухолевых и диплоидных стромальных клеток из образцов астроцитом. Помимо этого, в работе использовались постоянные клеточные линии глиомных опухолевых клеток: A172, T98G и U251MG.

Стромальные клетки экспрессировали маркеры нервных прогениторных и мезенхимальных клеток, а также проявляли типичный для глиомных клеток дискордантный фенотип. В тоже время, часть клеток экспрессировало маркер стволовых клеток CD133. Впервые было показано, что данный тип стромальных клеток проявляет (по крайней мере в культуральных условиях) типичный для миофибробластов фенотип. Клетки экспрессировали α -SMA и формировали α -SMA волокна (α -SMA⁺ клетки), а также обладали специфической функцией, заключающейся в продукции белков внеклеточного матрикса.

В опухолевых клетках стабильных клеточных линий глиом, экспрессия α -SMA, а также синтез белков внеклеточного матрикса был нарушен.

Иммунофлюоресцентный анализ показал диффузное либо фокальное α -SMA окрашивание в цитоплазме клеток линий A172, T98G и U251MG.

В ходе работы мы обнаружили, что линия A172 содержала небольшое количество α -SMA⁺ клеток. Кроме того, сильное специфическое окрашивание α -SMA наблюдалось в ядрышках клеток и других клеточных линиях (T98G и U251MG). Однако их клетки не синтезировали электрофоретическую полноразмерную форму α -SMA, за исключением линии A172, содержащей α -SMA⁺ клетки. Таким образом, разрушение α -SMA, по-видимому, является обязательным маркером трансформации глиом, что может быть важным для дальнейшего понимания биологии этих опухолей.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 14-50-00068

А.В. Чубарь¹, Н.Ю. Семенова², В.И. Ругаль²,
А.В. Котова^{1,3,4}, О.В. Супильникова^{3,4},
Н.И. Енукашвили^{1*}

**СВОЙСТВА МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ
КЛЕТОК ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ
У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ
МИЕЛОМЫ**

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

² Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

³ ООО «Покровский банк стволовых клеток», Санкт-Петербург, Россия

⁴ ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, НИЛ клеточных технологий, Санкт-Петербург, Россия

A.V. Chubar¹, N.Yu. Semenova²,
V.I. Rugal², A.V. Kotova^{1,3,4},
O.V. Supilnikova^{3,4}, N.I. Erukashvily^{1*}

**CHARACTERISTICS OF MESENCHYMAL
STROMAL CELLS OF TUMOR
MICROENVIRONMENT FROM PATIENTS WITH
MULTIPLE MYELOMA**

¹ Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, Russia

² Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, Russia

³ Pokrovskij Stem Cell Bank, St. Petersburg, Russia

⁴ North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

*natellae@gmail.com

Множественная миелома (ММ) — это гематоонкологическое заболевание, связанное с экспансией клональных плазматических клеток (ПК) в костном мозге (КМ). В развитии заболевания ключевую роль играет взаимодействие опухолевых клеток с микроокружением КМ, представленным в первую очередь мезенхимными стромальными клетками (МСК). Изучение взаимодействий ММ и МСК КМ необходимо для прояснения механизмов поддержки роста опухоли и развития резистентности к лечению.

Цель работы: сравнить свойства МСК КМ здоровых доноров и пациентов с ММ при разной степени инфильтрации КМ.

Первичные культуры МСК КМ получали из материала стерильной пункции 2 здоровых доноров и 12 пациентов с ММ после проведенного лечения с разной степенью