

## О КОЛЛЕКЦИИ ПОСТОЯННЫХ ЛИНИЙ КЛЕТОК БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

**З.Н. Сайфутдинова, В.А. Васильев**

ГНУ ВНИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко (ВИЭВ), Москва,

[zsaifutdin@yandex.ru](mailto:zsaifutdin@yandex.ru)

Изложена история, основные направления и итоги работы за последние пять лет Всероссийской специализированной коллекции постоянных линий клеток беспозвоночных.

**Ключевые слова:** специализированная коллекция, постоянные линии клеток, первичная культура клеток, криобанк, беспозвоночные.

Получение первой перевиваемой линии из эмбриональных клеток плодовой мухи *Drosophila melanogaster Oregon RC* в 1967 году в Радиобиологическом отделе Института атомной энергии им. И.В.Курчатова послужило началом организации коллекции постоянных линий клеток беспозвоночных в нашей стране. Организатором, а в дальнейшем единственным

и бессменным руководителем этой коллекции был Какпаков В.Т. (1937—2012 гг.). В 1978 году Всероссийская специализированная коллекция постоянных линий клеток беспозвоночных (ВСКПЛК БП, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН) вошла в состав Всероссийской (а затем Российской) коллекции клеточных культур (РККК), основоположником и координатором деятельности которой был профессор, д.б.н., заслуженный деятель науки РФ Г.П. Пинаев. В 2008 году ВСКПЛК БП передана в ГНУ ВНИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко (ВИЭВ) в связи с переходом на работу руководителя коллекции д.б.н. В.Т. Какпакова.

Коллекция содержит 20 постоянных линий клеток от шести видов беспозвоночных, из них, восемь — депонированных, четыре — объекты промышленного значения (1). Информация о фондах Коллекции представлена в Международном Каталоге клеточных линий Human and animal cell lines catalogue, 1993 (Interlab project), а данные о Коллекции включены в Международную базу данных Всемирной Федерации Коллекций Культур.

Основные методы хранения коллекции — сохранение в жидком азоте и пересевы живых культур клеток. Степень защищенности коллекции — дублирование в криоколлекциях и параллельное культивирование в лабораториях других организаций РАСХН и РАМН.

Профиль коллекции — поддержание, получение новых и сохранение постоянных линий клеток беспозвоночных; использование их в качестве объекта клеточной биологии и генетики соматических клеток; создание тест-систем для экологического цитомониторинга; разработка криобиологических технологий для сохранения гамет, соматических клеток и целых эмбрионов, необходимых для сохранения уникальных генетически чистых линий и биоразнообразия редких и исчезающих видов; изучение вирусов и других инфекционных агентов беспозвоночных в культурах клеток, удовлетворение заявок из других научных центров на получение постоянные линии клеток.

За прошедшие пять лет со времени перевода коллекции в ВИЭВ были продолжены и проведены работы по поддержанию, развитию и сохранению криоколлекции культур клеток в объеме, представленном в Каталоге (2). В криобанк заложены новые постоянные линии эмбриональных клеток тараканов *Blattella germanica* — BgE1 и Bg E2 (из Франции); постоянная сублиния эмбриональных клеток дрозофилы — S3 безвирусная (исходная линия из США). Размножена и заложена культура клеток шинельной моли Sf9k на разных питательных средах (среда Какпакова — C-46 и среда LPL).

Начаты опыты по первичному культивированию генеративных тканей неплодных маток медоносной пчелы: подобраны условия стерильной эксплантации, оптимальные питательные среды и определен возраст маток-доноров, пригодных для получения клеточного материала, отвечающего условиям получения постоянных линий клеток медоносной пчелы. Получена 90-дневная первичная культура из яичника неплодных маток раннего возраста (несколько часов после выхода из куколки).

Продолжены исследования по оптимизации хранения при низких температурах постоянных линий клеток дрозофилы и спермы трутней медоносной пчелы. Показано, что после хранения в криобанке (45 лет — линия клеток дрозофилы 67j25 Dm и более 20 лет — сперма трутней медоносной пчелы *Apis mellifera*) клетки стабильно сохраняют основные генетические параметры. В криобанк включены новые образцы спермы трутней медоносной пчелы приокской породы.

Постоянные линии клеток шинельной моли *Spodoptera frugiperda* (Sf9) и тутового шелкопряда *Bombix mori* (BmN), адаптированные к отечественной среде С46 (среда Какпакова), являются базой для развития инновационной клеточной биотехнологии и получения генноинженерных биопродуктов для медицины и сельского хозяйства. С целью выращивания вирусов-инсектицидов и вирусов медоносной пчелы была создана новая сублиния культур клеток шинельной моли, способная длительно культивироваться в среде Какпакова С46 без сыворотки — сублиния Sf9kSF.

Испытаны шесть клеточных штаммов позвоночных и беспозвоночных — гибридная линия клеток A4L (свинья × лошадь), Vero (почка африканской зеленой мартышки), ЛПК (легкое плода коровы), СПЭВ (почка свиньи), клетки дрозофилы и шинельной моли — на чувствительность к вирусу мешотчатого расплода пчел (ВМР) и к вирусу деформации крыла (ВДК). Вирус ВМР обнаружен с помощью метода ПЦР только в двух первых пассажах на культуре A4L и Vero, а в вирус ВДК — в культурах ЛПК и Sf9k.

Постоянные линии клеток и первичные культуры являются тест-системой для разработки и использования принципов нанобиотехнологии при создании профилактических и лекарственных препаратов для оздоровления и регуляции численности насекомых. В результате использования клеточных тест-систем Sf9k и 67j25Dm подобраны компоненты корма для пчел, необходимые для выращивания эмбрионов медоносной пчелы в химически определенной питательной среде, что необходимо для решения фундаментальной проблемы современного пчеловодства — коллапса пчелиных семей (КПС) (3).

Изучено действие биологически активных продуктов пчеловодства (БАПП — мёд, пыльца, перга, маточное молочко) на культуры клеток позвоночных и беспозвоночных. Выявлено, что мед в концентрации 0,0001% обладает наибольшим ростстимулирующим действием на клетки насекомых по сравнению с концентрацией 0,1%. Небольшое содержание радионуклида (кобальт 40) в меде достоверно снижает его ростстимулирующее действие на клетки культуры позвоночных и беспозвоночных животных (4). Проведена оценка действия различных концентраций пыльцы, перги и маточного молочка на культуры клеток СПЭВ (эмбриональная почка свиньи), 67j25DK (дрозофила) и Sf9k (шинельная моль). Обнаружено, что малые дозы маточного молочка также обладают наивысшим эффектом воздействия на пролиферацию клеток позвоночных, но особенно сильное воздействие показано на культуре клеток беспозвоночных (5).

Проведенные эксперименты по разработке клеточных тест-систем на модели постоянной линии клеток дрозодилы и шинельной моли, адаптированных к питательной среде Какпакова С46, были важны для оптимизации питательных сред с целью получения первичных культур клеток, для выявления качества и безопасности продуктов пчеловодства (6) для использования БАПП в экологическом мониторинге (апимониторинг) (7). Планируется дальнейшее использование и развитие Коллекции культур клеток беспозвоночных для решения прикладных и фундаментальных задач.

### Список литературы

1. Каталог. Всесоюзная коллекция клеточных культур. Ответственный редактор **Г.И. Пинаев**. Л.: Наука, 1991, 120 с.
2. **Гулюкин М.И., Дьяконов Л.П., Какпаков В.Т., Гальнбек Т.В., Акиншина Г.Т., Киселева Д.Р., Завьялова Е.А.** Каталог клеточных культур позвоночных и беспозвоночных животных (3-е издание), Москва, ЗАО «Корпорация Знак» 2011, 155 с.
3. **Какпаков В.Т., Сайфутдинова З.Н., Васильев В.А., Ярошевич Г.С.** Модернизированный корм для медоносной пчелы *Apis mellifera*. Ветеринария и кормление. 2012, 4: 38—39.
4. **Sayfutdinova Z.N., Galnbek T.V.** Cell Biotechnological Approach to Beekeeping, XXXXIII International Apicultural Congress, 29 September — 04 October 2013, Kyiv, Ukraine, p. 337.
5. **Сайфутдинова З.Н., Гальнбек Т.В., Васильев В.А.** Влияние продуктов пчеловодства (пыльцы, перги и маточного молочка) на рост культуры клеток позвоночных и беспозвоночных животных. Ветеринария и кормление. 2013, 4: 54—55.
6. **Васильев В.А., Какпаков В.Т., Сайфутдинова З.Н.,** Влияние продуктов пчеловодства на рост культуры клеток. Пчеловодство. 2011, 7: 48—49.

7. **Монахова М.А., Сайфутдинова З.Н., Васильев В.А., Гальнбек Т.В.** Пчела медоносная (*Apis mellifera*) в экологическом мониторинге. Доклады по экологическому почвоведению. 2013, 18, 1: 327—337.