

СОЗДАНИЕ И РАЗВИТИЕ РОССИЙСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ЧЕЛОВЕКА, ЖИВОТНЫХ И РАСТЕНИЙ

Г.П. Пинаев, Г.Г. Полянская

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; poljansk@mail.cytspb.rssi.ru

ВВЕДЕНИЕ

Развитие наиболее важных и перспективных фундаментальных и прикладных исследований в области молекулярной и клеточной биологии, генетики, эмбриологии неразрывно связано с широким использованием культур клеток человека, животных и растений.

Такие центральные общебиологические проблемы как дифференцировка, канцерогенез, клеточная подвижность, пролиферация, передача наследственной информации, регуляция экспрессии генов и другие решаются, в основном, на клеточных культурах. Клеточные культуры имеют также большое значение для решения прикладных задач медицины, сельского хозяйства, биотехнологии и биологической промышленности. К основным задачам следует отнести массовое промышленное производство вакцин и физиологически активных соединений, получение моноклональных антител методами гибридомной технологии, лечение тяжелых заболеваний методами генотерапии и клеточной заместительной терапии, повышение продуктивности сельскохозяйственных животных и выведение новых сортов растений, сохранение биоразнообразия генофонда путем криоконсервации соматических и половых клеток животных и растений.

Клетки в культуре подвержены высокой наследственной изменчивости при длительном культивировании под действием меняющихся условий внешней среды. Успешное сохранение исходных или направленно измененных свойств клеточных линий достигается путем соблюдения строго выдерживаемых условий культивирования и криоконсервации клеточных культур. Поддержание исходных клеточных свойств и контроль за их состоянием осуществляют Национальные коллекции разных стран.

Межведомственная объединенная коллекция клеточных культур (Российская коллекция клеточных культур - РККК), состоит из 9 специализированных коллекций, расположенных в научно-исследовательских институтах РАН, РАМН, РАСХН, Минздравсоцразвития РФ. Научно-методическим центром коллекции является Институт цитологии РАН (Отдел клеточных культур).

Координацию работы специализированных коллекций и выработку единых требований к коллекционной работе, а также обеспечение информационной службы осуществляет Межрегиональная общественная научная организация «Ассоциация специалистов по клеточным культурам» (АСКК).

ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА

В 70-х годах в период бурного развития молекулярной и клеточной биологии, молекулярной генетики и биотехнологии выявилась невозможность интенсивного развития в нашей стране исследований с широким использованием клеточных культур в связи с отсутствием централизованной коллекции клеточных линий и с отсталостью материально-технической базы. Существовавшие в отдельных институтах коллекции клеточных культур были невелики по объему, а по способу организации не предназначены для обеспечения клеточным материалом ведущих в стране исследований. Клеточные линии и штаммы, хранившиеся в коллекциях, были, как правило, недостаточно охарактеризованы.

29 мая 1978 года Межведомственный научно-технический совет по проблемам молекулярной биологии и молекулярной генетики при Государственном комитете Совета Министров СССР по науке и технике и Президиуме Академии наук СССР принял решение о необходимости создания Всесоюзной коллекции клеточных культур путем организационного объединения уже имевшихся в отдельных институтах коллекций клеток человека, животных и растений.

Перед Всесоюзной коллекцией была поставлена задача сбора и сохранения клеточных культур человека, животных и растений и обеспечения ими научных учреждений СССР.

Руководство и координацию работы Всесоюзной коллекции клеточных культур осуществляла комиссия Межведомственного научно-технического совета под руководством директора Института цитологии АН СССР, член-корр. АН СССР Афанасия Семеновича Трошина и его заместителей Раисы Георгиевны Бутенко и Георгия Петровича Пинаева. Институт цитологии АН СССР был определен научно-методическим и информационным центром Всесоюзной коллекции клеточных культур.

В течение 1979 и 1980 годов комиссия осуществила первые организационные мероприятия по созданию объединенной Коллекции и провела оценку состояния имеющейся в стране материально-технической базы клеточных культур.

Первыми членами будущей Всесоюзной коллекции клеточных культур стали коллекции Института цитологии АН СССР (под руководством Г.П.Пинаева и И.И.Фридлянской), Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева АН СССР (возглавляемой Р.Г.Бутенко), Института

вирусологии им. Д.И.Ивановского АМН СССР (руководимой Р.Я.Подчерняевой) и Свердловского Института вирусных инфекций МЗ РСФСР (под руководством Н.П.Глинских). В дальнейшем к ним присоединились коллекции Института медицинской генетики АМН СССР (созданной К.Н.Гринбергом), Института общей генетики АН СССР (руководимой В.Т.Какпаковым), НИИ гриппа МЗ СССР (под руководством А.А.Сомининой) и Института экспериментальной ветеринарии им. Я.Р.Коваленко ВАСХНИЛ СССР (организованной Л.П.Дьяконовым).

Постановлением от 13 февраля 1981 г. за № 24/25/13 Государственный комитет СССР по науке и технике, Госплан СССР и Президиум Академии наук СССР утвердили программу работ на 1981-1985 годы по решению научно-технической проблемы 0.74.05, в рамках которой было утверждено задание 10Н12 «Создать Всесоюзную коллекцию клеточных культур и разработать методы характеристики, низкотемпературной консервации, контроля загрязнений клеточных линий, а также консервации геномов исчезающих и редких видов животных». Головным учреждением по проблеме был определен Институт цитологии АН СССР.

26 августа 1985 года Постановлением ЦК КПСС и Совета министров СССР за №807 была утверждена программа работ по дальнейшему развитию биологии и биотехнологии на 1986-1990 годы. В число основных направлений входило «Развитие работ по созданию коллекции клеточных культур».

С 1991 по 1998 год работа по развитию и совершенствованию уже Российской коллекции клеточных культур проводилась в рамках Государственной научно-технической программы России «Средства обеспечения исследований по физико-химической биологии и биотехнологии» по направлению 05.0002Н «Развитие и поддержание коллекций культур клеток». Работы по развитию Коллекции были также поддержаны Государственной научно-технической программой «Приоритетные направления генетики» в 1992-1994 гг., а также КП НТП СЭВ в 1981-1990 гг. – направление 5.5.5. – «Создание информационных банков данных».

С 1999 по 2001 год работа по развитию Коллекции проводилась в рамках подпрограммы «Биологическое разнообразие» ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники гражданского назначения». В настоящее время эта программа не существует.

Таким образом, двадцатилетняя работа по созданию и развитию Всесоюзной коллекции клеточных культур проводилась в рамках Государственных научно-технических программ по заданию правительства и имела целевое финансирование, которое в настоящее время прекратилось.

I. СТРУКТУРА РОССИЙСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

Всесоюзная, а затем Российская коллекция клеточных культур человека, животных и растений была создана на основе организационного объединения уже существовавших коллекций при научных учреждениях различных ведомств (АН СССР, АМН СССР, ВАСХНИЛ, МЗ СССР и МЗ РСФСР).

Объединение существовавших коллекций на основе сохранения автономности имело важный практический смысл. Оно позволило в результате длительной совместной работы выработать общую стратегию и тактику развития Коллекции, ревизовать имевшийся в фондах коллекций клеточный материал, унифицировать требования к паспортизации, контролю качества и хранению клеточного материала на уровне современных международных требований, а также разработать общие правила работы с клеточными культурами.

Сохранение специализированных коллекций при научных учреждениях соответствующего профиля, располагающих высококвалифицированными специалистами в соответствующих областях биологии, медицины и сельского хозяйства, позволило с самого начала поддерживать высокий профессиональный уровень сотрудников коллекций. Кроме того, это обеспечило тесную связь коллекционной работы с фундаментальной наукой и с разработками новых наукоемких клеточных технологий.

В настоящее время Российская коллекция клеточных культур человека, животных и растений состоит из 9 специализированных коллекций. В скобках рядом с полным названием коллекции приведена аббревиатура, используемая в Каталоге РККК.

1. Коллекция культур клеток позвоночных (ИНЦ РАН) –

Центральный банк Российской коллекции клеточных культур.

Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург.

Руководитель коллекции: д.б.н., в.н.с. Полянская Галина Георгиевна.

Профиль коллекции: Постоянные клеточные линии человека и животных. Изучение фундаментальных основ биологии клетки в культуре. Исследование влияния факторов внешней среды на изменчивость клеточных линий, на изменение кариотипа. Выведение новых клеточных линий, создание гибридом. Депонирование клеточных культур человека и животных, имеющих промышленное значение. Создание банка клеток для целей клеточной заместительной терапии. Выпуск каталогов Российской коллекции и осуществление информационной службы совместно с

Межрегиональной общественной научной организацией «Ассоциация специалистов по клеточным культурам».

2. Специализированная коллекция генетически - трансформированных корней высших растений (КГТКР).

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, 127276, Москва.

Руководитель коллекции: к.б.н., в.н.с. Кузовкина Инна Николаевна.

Профиль коллекции: Поддержание в культуре генетически трансформированных корней ценных лекарственных и сельскохозяйственных растений с целью их использования в качестве источника физиологически активных веществ, для изучения взаимодействия с везикулярными микоризными грибами и для сохранения генофонда редких и исчезающих растений.

3. Специализированная коллекция клеток высших растений (ВКК-ВР).

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, 127276, Москва.

Руководитель коллекции: к.б.н., с.н.с. Смоленская Ирина Николаевна.

Профиль коллекции: Клеточные линии, полученные из растений редких, имеющих узкий ареал распространения, и исчезающих видов; линии, представляющие собой модельные системы с маркерными признаками, и штаммы-продуценты вторичных метаболитов, в том числе фармакологического профиля. Изучение криоустойчивости растительных клеток и роли осмотических повреждений в процессе глубокого замораживания. Разработка методов криоподготовки и криоконсервации клеточных культур. Селекция и отбор штаммов - сверхпродуцентов.

4. Специализированная коллекция перевиваемых соматических клеток позвоночных (НИИ вирусологии РАМН).

Институт вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН, 123098, Москва.

Руководитель коллекции: д.м.н., проф., акад. РАЕН, Подчерняева Раиса Яковлевна.

Профиль коллекции: Клеточные линии человека и животных, используемые в области вирусологии и медицины. Выведение новых линий, чувствительных к вирусам. Разработка условий культивирования для производства вакцин.

5. Специализированная коллекция диплоидных клеток человека и животных для исследований в области вирусологии (НИИ гриппа РАМН).

Научно-исследовательский институт гриппа РАМН, 197376, Санкт-Петербург.

Руководитель коллекции: к.б.н., в.н.с. Смирнова Татьяна Дмитриевна.

Профиль коллекции: Сбор, поддержание и выведение новых культур диплоидных клеток для исследования взаимодействия вирусов с клеткой. Разработка методов тестирования вирусов, производства вакцин и диагностических препаратов.

6. Специализированная коллекция соматических клеток человека от больных наследственными заболеваниями (ККМГНЦ).

Медико-генетический научный центр РАМН. 115478, Москва.

Руководитель коллекции: к.б.н., в.н.с. Терехов Сергей Михайлович.

Профиль коллекции: Цитогенетический анализ клеток человека с хромосомными аномалиями и от больных наследственными заболеваниями. Использование культур для выявления молекулярных механизмов различных наследственных заболеваний.

7. Специализированная коллекция перевиваемых соматических клеток позвоночных медицинского назначения (ЕСКК).

Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций Роспотребнадзора Минздравсоцразвития РФ, 620030, Екатеринбург.

Руководитель коллекции: д.м.н., проф. Засл. деятель науки РФ, Глинских Нина Поликарповна.

Профиль коллекции: Обеспечение вирусологических исследований, производства и контроля иммунобиологических препаратов. Выведение новых линий, чувствительных к вирусам, для производства вакцин.

8. Специализированная коллекция перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных (СХЖ РАСХН).

Всероссийский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко Россельхозакадемии, 109472, Москва.

Руководитель коллекции: д.б.н. проф. Засл. деятель науки РФ, акад. РАЕН, Дьяконов Лев Петрович.

Профиль коллекции: Кариотипирование культур клеток, разработка методов диагностики контаминантов и деконтаминации клеточных линий. Получение новых гибридных и генетически трансформированных линий клеток.

9. Специализированная коллекция постоянных линий клеток беспозвоночных (ВСКПЛК БП).

Всероссийский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.П.Коваленко Россельхозакадемии, 109472, Москва.

Руководитель коллекции: д.б.н., гл.н.с., акад. РАЕН, Какпаков Виталий Туякович.

Профиль коллекции: Коллекция содержит клеточные линии насекомых, используемых для исследований в области генетики соматических клеток, вирусологии, криобиологии, а также как тест-системы для экологического цитомониторинга. Разработка криобиологических технологий для сохранения гамет, соматических клеток и целых эмбрионов, необходимых для поддержания биоразнообразия редких и исчезающих видов, а также уникальных генетически чистых линий насекомых.

Научно-методическим и информационным центром Российской коллекции клеточных культур является Отдел клеточных культур Института цитологии РАН.

Научным консультантом и координатором деятельности Российской коллекции клеточных культур в течение всех лет является заведующий Отделом клеточных культур Института цитологии РАН д.б.н. профессор, Заслуженный деятель науки РФ Георгий Петрович Пинаев.

II. СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ И ОСНОВНЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ КОЛЛЕКЦИИ

Работа, выполненная за период с 1978 г. по настоящее время, по созданию и развитию Российской коллекции клеточных культур состояла из следующих разделов.

1. Создание, непрерывное поддержание и развитие фондов коллекции путем сбора, выведения, паспортизации и хранения клеточных линий человека, животных и растений.
2. Разработка единых требований к качеству коллекционного клеточного материала, единых паспортов, методов анализа, хранения и контроля клеточных линий.
3. Совершенствование методов ведения коллекции и работы с клеточными линиями на основе проведения многолетних научных исследований, посвященных: изучению влияния условий культивирования, криоконсервации и контаминации на генетическую изменчивость клеточных линий; получению новых клеточных линий и гибридом; разработке новых методов криоконсервации; селекции клеточных линий, имеющих промышленное значение; разработке бессывороточных сред.
4. Депонирование уникальных клеточных линий и гибридом, патентуемых в связи с их практической ценностью.
5. Создание информационных баз данных по клеточным культурам и постоянно действующей службы информации путем ежегодного издания информационного бюллетеня «Клеточные культуры».
6. Обеспечение образцами стандартного и полностью охарактеризованного клеточного материала фундаментальных и прикладных биологических, медицинских, сельскохозяйственных и

биотехнологических исследований страны, а также биологической и медицинской промышленности России.

7. Оказание научно-методической помощи сотрудникам научных учреждений страны по методам культивирования и анализа клеточных линий путем проведения кратковременных и длительных стажировок в базовых коллекциях, а также путем издания методических руководств, проведения конференций, совещаний и школ.

Работа в вышеперечисленных направлениях проводилась силами сотрудников всех специализированных коллекций при постоянном контакте с другими научными учреждениями страны. В рамках данного описания невозможно подробно изложить результаты всей огромной рутинной коллекционной работы, поэтому в последующих разделах будут суммированы только основные результаты и наиболее важные проблемы, которые пришлось разрешать в ходе работы.

1. Расширение фондов Коллекции

Работа по созданию Всесоюзной коллекции клеточных культур была начата с ревизии фондов специализированных коллекций, которая показала, что в них не было ни одной клеточной линии, полностью охарактеризованной по международным стандартам. Только 38 линий можно было считать условно коллекционными, так как они были охарактеризованы лишь по некоторым характеристикам. Остальной клеточный материал совершенно не удовлетворял требованиям, предъявляемым к коллекционным линиям. Таким образом, первоочередными задачами коллекции были паспортизация имеющихся клеточных линий и расширение коллекционных фондов.

Пополнение и расширение фондов Коллекции осуществлялось разными способами: путем приобретения клеточных линий из Американской коллекции типовых культур (ATCC) или фирм посредников Gibco и Flow Laboratory, на основе обмена линиями с другими Национальными коллекциями, передачи в Коллекцию авторских линий из научных лабораторий и, наконец, путем выведения новых линий непосредственно в специализированных коллекциях. Были налажены постоянные связи с Американской (ATCC), Немецкой (DSM), Болгарской, Английской и Итальянской коллекциями клеточных культур.

Анализ поступающих в Коллекцию клеточных линий показал, что только линии, приобретенные в Национальных коллекциях, соответствуют указанным в паспорте характеристикам. Культуры клеток, прошедшие через исследовательские лаборатории, как правило, теряют исходные характеристики вследствие произвольного изменения условий культивирования и хранения. Ввиду отсутствия постоянного контроля качества культур клеточные линии оказываются зараженными микоплазмой или контаминированы клетками другого происхождения. Так, в начале деятельности

Коллекции из 95 проверенных клеточных линий 88 оказались зараженными микоплазмой. В связи с этим был разработан следующий порядок введения в фонды Коллекции нового клеточного материала. Все вновь поступающие линии выдерживают в карантине в течение времени, необходимого для определения чистоты культуры. Затем клетки размножают и закладывают на хранение до тех пор, пока они не будут полностью охарактеризованы согласно пунктам разработанного международного паспорта. После осуществления паспортизации клеточные линии переходят в разряд коллекционных и становятся доступными для потребителя.

Расширение фондов Коллекции определялось, в первую очередь, запросами фундаментальных исследований, потребностями биомедицинской промышленности и практическими задачами здравоохранения.

Так, например, в период расцвета биотехнологии основное внимание Коллекции было сосредоточено на приобретении и выведении клеток животных и растений-продуцентов биологически активных веществ. В связи с этими задачами именно в Коллекции под руководством и при непосредственном участии И.И. Фридлянкой были получены первые гибридомы, продуцирующие моноклональные антитела для диагностики и терапии опасных заболеваний человека. Развитие исследований по Государственной научно-технической программе «Геном человека» стимулировало значительное расширение спектра линий клеток из разных тканей человека. Необходимость обеспечения санэпидстанций качественным клеточным материалом индуцировало получение новых линий и клонов, пригодных для выявления вирусных заболеваний.

В последние годы наличие Коллекции способствовало широкому развитию работ по созданию новых наукоемких клеточных технологий для терапии обширных повреждений органов и тканей человека, неподдающихся традиционным методам лечения.

В настоящее время в фондах Российской коллекции клеточных культур содержится 2700 клеточных линий, из которых около 40% являются уникальными, полученными в Российской Коллекции клеточных культур. Около 700 референтных клеточных линий и гибридом депонировано в связи с их патентованием. Список клеточных линий представлен в Каталоге клеточных культур, изданном в 1999 году и переизданном в 2004 году в связи с большим спросом на информацию, представленную в каталоге. В настоящее время данные о фондах Коллекции размещены в Интернете на сайте Института цитологии РАН <http://www.cytspb.rssi.ru/>. Эти данные периодически обновляются.

2. Унификация условий работы с коллекционными линиями

В задачу Коллекции входит не только сбор и обеспечение сохранности клеточных линий, но и их подробная характеристика или паспортизация. Подробная характеристика осуществляется на клетках ранних пассажей после размораживания криоконсервированного клеточного материала. Ввиду специфики работы с клеточными культурами в разных коллекциях, определяемой задачами исследований специализированных научных учреждений, а также наличием специалистов соответствующего профиля, характеристика свойств коллекционных линий значительно различалась.

В связи с этим была проведена большая работа по определению и согласованию необходимых и достаточных характеристик клеточных линий, в результате которой был разработан единый паспорт, соответствующий международным требованиям, с некоторыми модификациями для соматических клеток человека, животных и растений. В число абсолютно необходимых характеристик паспортизуемых клеточных линий входят:

А. Жизнеспособность клеток после их размораживания, которая определяется числом клеток, выживших после криоконсервации. Жизнеспособность клеток устанавливают по эффективности клонирования, по окрашиванию витальными красителями и по скорости увеличения клеточной массы в процессе культивирования.

Б. Морфология клеток в культуре и способ культивирования. В зависимости от тканевого происхождения морфология или тип роста клеток в культуры будет разный. Основными типами роста являются фибробластоподобный, эпителиоподобный, нейробластоподобный и лимфобластоподобный. Первые три типа культур относят к монослойному способу культивирования, т.е. клетки прикрепляются и распластаются на поверхности культуральной посуды, а последний тип относится к суспензионному или полусуспензионному способу культивирования, т.е. клетки растут в суспензии, иногда частично прикрепляясь, но, не распластаваясь на субстрате. Морфология документируется микрофотографиями живых или фиксированных культур.

В. Видовая идентификация клеточных линий. В условиях культивирования клетки различных видов животных морфологически неразличимы. Кроме того, в результате технических ошибок персонала нередко происходит перекрестное заражение клетками разных линий – явление довольно частое, особенно в условиях исследовательских лабораторий, где не осуществляется постоянный контроль качества клеточных линий. Так, при цитогенетическом обследовании фондов Американской коллекции клеточных культур было обнаружено, что некоторые постоянные

клеточные линии являются дериватами одной из самых распространенных линий человека – HeLa (карцинома шейки матки).

Первым методом определения видовой идентичности является подробный кариологический анализ, позволяющий с помощью разных дифференциальных окрасок хромосом определить видоспецифичность данной клеточной линии. Вторым, используемым для этой цели методом, является изоферментный анализ, основанный на разной электрофоретической подвижности определенных ферментов у разных таксономических групп животных и человека. Кроме того, для идентификации клеточных линий были использованы видоспецифические антисыворотки.

Г. Кариологическая характеристика. Помимо необходимости использования кариологического анализа для определения видоспецифичности, каждая клеточная линия должна иметь полную кариологическую характеристику, которая строго специфична для каждой линии и включает: определенный спектр перестроенных (маркерных) хромосом или отсутствие таковых; модальное число хромосом, пределы изменчивости по числу хромосом, количество полиплоидов. Исходя из специфичности кариологической характеристики каждой клеточной культуры, в ряде случаев кариологический анализ может помочь в идентификации конкретной линии.

Д. Контаминация культур микроорганизмами. Эта характеристика является первой и решающей для дальнейшей судьбы клеточной линии. Проводится исследование культур на присутствие грибов, бактерий, микоплазм, вирусов. Определение наличия контаминаций представляет для коллекций особую важность, так как в них культивирование клеточных линий ведется в отсутствие антибиотиков. Присутствие грибов и бактерий определяется обычными и широко распространенными микробиологическими методами.

Наибольшую опасность для клеточных культур представляют микоплазмы. Во многих случаях контаминация такого рода протекает бессимптомно. Тем не менее, латентное присутствие микоплазм существенно влияет на метаболизм клеток, вызывает хромосомные aberrации и изменяет клеточные функции. Освобождение клеточных линий от микоплазм представляет собой очень сложную задачу. Основные методы выявления микоплазм следующие: микробиологический высев на селективные питательные среды, окраска клеток флуорохромами Hoechst 33258, Dapi или оливомицином, автордиография, электронная микроскопия и ПЦР анализ. Большую трудность представляло выявление вирусов в коллекционных линиях. Эта работа была проведена на основе сотрудничества с высококвалифицированными специалистами и осуществлялась с помощью электронной микроскопии.

Кроме перечисленных основных характеристик в паспорте приводятся данные, представляющие большую важность для исследователей, пользующихся коллекционными линиями. К ним относятся:

- а) условия культивирования (тип питательной среды, сыворотки и другие компоненты, необходимые для конкретной линии клеток);
- б) среда для замораживания, способ и режим криоконсервации, тип криопротектора;
- в) чувствительность к вирусам;
- г) специфические особенности линии, включающие эффективность клонирования, туморогенность, наличие биохимических и генетических маркеров.

Таким образом, каждая, поступающая в Коллекцию клеточная культура, тщательно анализируется по многим параметрам, прежде чем ее включают в состав коллекционных линий. Примеры паспортов клеточных линий человека, животных и растений даны в **приложении № 1**. В Каталоге Российской коллекции клеточных культур, представленном на сайте Института цитологии РАН <http://www.cytspb.rssi.ru/>, даны паспорта всех имеющихся в фондах Коллекции клеточных линий.

3. Депонирование уникальных клеточных линий и гибридом

В 1987 году Государственным институтом патентной экспертизы была обоснована необходимость патентования штаммов культивируемых клеток животных и растений, представляющих практическую ценность для народного хозяйства. В число патентуемых клеточных линий входят: клетки-продуценты биологически активных веществ; клетки, используемые для производства иммунобиологических препаратов и диагностикумов, а также гибридомы, продуцирующие моноклональные антитела, которые широко применяются в научных исследованиях и в практической медицине. Все патентуемые линии должны быть депонированы в одной из официальных коллекций для хранения и выдачи образцов референтных штаммов.

В качестве официальных депонирующих организаций были утверждены две коллекции Всесоюзной (Российской) коллекции клеточных культур: Коллекция культур клеток позвоночных (ИНЦ РАН) и специализированная Коллекция перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных (СХЖ РАСХН). Начиная с 1988 года, Коллекция регулярно принимает на депонирование патентуемые клеточные линии и гибридомы. В обязанность Коллекции входит прием, регистрация и криохранение депонированных штаммов, которые должны обладать высокой жизнеспособностью и стерильностью. Коллекция обязана проверять жизнеспособность культуры в течение 30 лет с момента выдачи патента. С 1988 до 2010 год в Коллекции депонировано более 700 гибридом и авторских клеточных линий.

Список клеточных линий и гибридом, депонированных в Коллекции культур клеток позвоночных (ИНЦ РАН), и список учреждений – депозиторов дан в **приложении № 2**. При просмотре этого приложения следует обратить внимание, что номера учреждений потребителей, представленные в списке гибридом и клеточных линий, совпадают с номерами в списке учреждений – депозиторов. Цифры, стоящие в левой графе всех таблиц являются регистрационными номерами депонируемого материала. Аббревиатура в графе «вид» в списке гибридом следующая: м – мышь, к – крыса, ч – человек, би – биоспецифическая гибридома.

4. Обеспечение научных и производственных учреждений

образцами клеточных линий

Обеспечение научных и производственных организаций стандартным и всесторонне охарактеризованным эталонным клеточным материалом является одной из главных задач Российской коллекции клеточных культур. По официальным запросам учреждений Коллекция предоставляет образцы клеточных линий человека, животных и растений. В среднем в год Коллекция выдает около 6000 образцов клеточных линий. Образец клеточной культуры представляет собой 1 или 2 пластиковых флакона, содержащих от 3 до 15 млн. клеток. Перед выдачей клеточные культуры размораживают, проверяют их жизнеспособность и чистоту от контаминаций. Запросы на клеточные культуры поступают из разных городов России и зарубежных стран. Популярность Коллекции связана, прежде всего, с тем, что в ее фондах хранится много оригинальных клеточных культур, которых нет в других коллекциях мира. Услугами Коллекции пользуются более 270 научных учреждений разных ведомств из разных городов России и стран ближнего и дальнего зарубежья. Список основных учреждений-потребителей образцов клеточных линий Российской коллекции клеточных культур дан в **приложении № 3**.

Особую роль играет Коллекция в обеспечении клеточным материалом производственных учреждений. Санэпидстанции, которые используют клеточные культуры для диагностики вирусных заболеваний, но не имеют технических возможностей для постоянного поддержания клеточных культур, получают клеточные линии в виде биомассы, готовой к употреблению. Это означает, что специализированные коллекции медицинского профиля должны масштабировать размножение клеточных линий на своей базе и рассылать потребителям. Коллекция обеспечивает санэпидстанции разных регионов России. Это огромная и трудоемкая производственная работа.

Клеточные линии человека и животных поставляются также биофабрикам и другим промышленным учреждениям, производящим вакцины, фармацевтические препараты и

диагностикумы. Клеточные культуры растений используются в фармацевтической, парфюмерной и косметологической промышленности.

Фонды Коллекции содержат большое количество разных по своим свойствам клеточных культур. Поэтому клеточный материал широко используется для решения разнообразных фундаментальных и прикладных задач биологии, биотехнологии, вирусологии, медицины и сельского хозяйства. Для наглядности ниже приведены примеры ряда конкретных фундаментальных и прикладных задач, которые решаются с использованием коллекционных клеточных линий.

- Структурно-функциональные исследования рекомбинантного гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека.
- Изучение роли отдельных вирусных структур в иммунологическом ответе.
- Исследование ингибирующего действия тромбоспондина-1 на активацию Т-лимфоцитов.
- Исследование роли гепарансульфата протеогликанов при взаимодействии иммунокомпетентных клеток с компонентами внеклеточного матрикса.
- Изучение спонтанной нестабильности генома.
- Исследование взаимодействия между пробиотическими микроорганизмами и эпителием кишечника.
- Изучение дифференцировки мезенхимных стволовых клеток в гепатоциты в условиях *in vitro*.
- Изучение механизмов канцерогенеза при раке толстой кишки.
- Изучение онкогенного потенциала гена *LMP1* вируса Эпштейна-Барра.
- Изучение роли тканеспецифических транскрипционных факторов в регуляции дифференцировки опухолевых клеток.
- Изучение клеточного обмена кальция.
- Изучение мембранной проницаемости ряда биологически активных пептидов из Фактора Дифференцировки Лейкоцитов Человека (HLDF).
- Изучение влияния рекомбинантных цитокинов семейства ИЛ-1 на продукцию цитокинов клетками печени *in vitro*.
- Изучение механизмов множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток.
- Изучение механизмов влияния урокиназы на экспрессию α -актина в фибробластах.
- Изучение естественной цитотоксичности лимфоцитов периферической крови больных, страдающих эндометриозом.

- Проведение научно-исследовательских работ в области инфекционной иммунологии.
- Изучение закономерностей кариотипической изменчивости в клеточных культурах при длительном культивировании в разных условиях.
- Исследование молекулярных механизмов появления актин-специфической протеазы ECP32 и инвазивной активности в бактериях, подвергшихся действию нитрофуранов.
- Роль Cbl –зависимого убиквитинирования рецептора ЭФР в координации поздних этапов его эндоцитоза.
- Молекулярно-физиологические действия антиоксидантов на трансформированные клетки.
- Участие актин-связывающих белков в передаче сигнала и регуляции активности транскрипционных факторов.
- Изучение механизмов антипролиферативного действия ингибиторов гистон-деацетилазной активности на трансформированные клетки.
- Изучение кальциевого обмена в миоблстах.
- Изучение противораковой активности химических соединений *in vitro*.
- Изучение молекулярных механизмов клеточной дифференцировки.
- Изучение рецепторной специфичности энтеровирусов.
- Изучение роли Wnt-сигнального пути в развитии опухолевых заболеваний.
- Изучение апоптоза и белков теплового шока.
- Изучение влияния экзогенных и эндогенных молекул на моноциты в процессе их мобилизации в очаг воспаления или инфекции.
- Изучение иммунорегуляторного действия тромбоспондина-1, компонента внеклеточного матрикса и ингибитора ангиогенеза.
- Изучение влияния протеогликанов на взаимодействие иммунокомпетентных клеток с компонентами внеклеточного матрикса.
- Характеристики и специфические особенности постоянных линий эмбриональных стволовых клеток человека.
- Исследование ростовых характеристик клеток глиомы при контакте с титановыми имплантатами, допированными наночастицами серебра, с целью возможного использования их в экспериментальной онкологии.
- Использование клеточных культур для создания тест-систем скрининга биологически активных соединений растительного происхождения, для антимикробных пептидных препаратов;

тестирование синтезированных химических веществ на цитотоксичность и фармакологическую активность.

- Использование клеток миелом в качестве партнеров для слияния со спленоцитами иммунизированных мышей при получении гибридом; полученные моноклональные антитела используются в производстве тест-систем в ЗАО «Вектор-Бест».
- Получение гибридом, производящих моноклональные антитела к антигенам опухолей молочной железы человека и поверхностным белкам ВИЧ-1, в связи с разработкой вакцины для иммунизации против ВИЧ-1 и вакцины для терапии гормоннезависимого высокометастазирующего рака молочной железы.
- Отработка гибридомной технологии для получения моноклональных антител к растительным белкам.
- Разработка вакцины против краснухи.
- Эксперименты по скринингу соединений, синтезированных в Институте органической химии УНЦ РАН с целью поиска противоопухолевых препаратов.
- Прикладные исследования вирусов гриппа и ротавирусов человека.
- Отработка методов выявления хламидий на культуре клеток.
- Диагностика вирусных инфекций.

Таким образом, Коллекция имеет постоянную, непрерывающуюся связь с потребителями клеточных линий, что позволяет ей корректировать направление своей деятельности и учитывать потребности пользователей при анализе и характеристике клеточного материала.

5. Результаты научных исследований

Многолетние научные исследования, проводимые в рамках развития Российской коллекции клеточных культур, сосредоточены на решении проблем, которые постоянно стоят перед всеми коллекциями мира. Главные из них – сохранение исходных свойств коллекционных линий и выведение новых клеточных линий, обладающих полезными свойствами для фундаментальных исследований и для биомедицинской промышленности.

Постоянные клеточные линии, благодаря своей способности к неограниченному размножению, дают возможность экспериментаторам иметь постоянный источник клеточного материала. При этом, однако, культивируемые клетки обладают высокой изменчивостью и постепенно теряют свои исходные свойства. Утрата исходных свойств и высокая степень изменчивости являются следствием двух основных причин.

Первая причина состоит в том, что клетки, переведенные в культуру, попадают в условия жизни, значительно отличающиеся от их существования в составе многоклеточного организма. В частности, они выходят из-под контроля со стороны других клеток организма. В этом состоит принципиальное отличие клеточных культур высших животных и растений от культур микроорганизмов. Культивируемые клетки животных и растений не являются сообществом независимых единиц. Клеточные популяции *in vitro* представляют собой единые, целостные биологические системы, внутри которых происходят различные межклеточные взаимодействия. Процессы, происходящие внутри таких систем, изучены недостаточно. В связи с этим, необходимо изучать законы поведения клетки в культуре, т.е. биологию клетки в культуре, для того, чтобы поддерживать и использовать желаемые свойства культивируемых клеток.

Вторая причина заключается в непостоянстве окружающей среды. Питательные среды имеют определенный состав низкомолекулярных ингредиентов, но добавляемая к ним сыворотка крови животных вносит крайнюю неопределенность в их свойства. Состав и свойства сыворотки изменяются непредсказуемым образом и зависят от условий содержания животных-доноров. Отсюда возникает задача создания для каждого типа клеток питательных сред полностью определенного состава или, так называемых, бессывороточных питательных сред.

Кроме того, длительное культивирование клеток сопряжено с неизбежностью пересевов культуры, при которых обработка клеток ферментами приводит к нарушению межклеточных контактов, контактов с субстратом и изменению клеточной поверхности. Культивирование клеток осуществляется, как правило, при постоянном объеме среды и поддержании газовой фазы определенного состава. В связи с этим происходит постепенное изменение окружающей среды в результате накопления в ней продуктов клеточного метаболизма. Все перечисленные изменения окружающей среды приводят к непрерывному изменению свойств культивируемых клеток. Создание константных условий культивирования, приближенных к условиям существования клеток в составе организма, является центральной задачей биологии клетки в культуре. Работа в этом направлении интенсивно ведется в исследовательских лабораториях и коллекциях мира, но задача настолько сложна, что пройдут еще многие годы, прежде чем удастся достичь стабильных условий поддержания клеток в культуре.

Единственным способом надежно сохранить или зафиксировать данное состояние культивируемых клеток является их криоконсервация в жидком азоте. При постепенном и строго контролируемом снижении температуры до -196°C жизнеспособность клеток сохраняется неограниченно долго. При этом, однако, условия криосохранения весьма различны для клеток

разных типов. Поэтому центральной задачей Коллекции является поиск условий и режимов криоконсервации для клеточных культур разного происхождения.

Получение новых клеточных линий из тканей разнообразных животных и растений, помимо сложности их изоляции и введения в культуру, также сталкивается с проблемой создания постоянных условий культивирования, при которых должны проявляться их полезные свойства, необходимые для научных исследований и для решения задач практической медицины и биологической промышленности.

Таким образом, научная деятельность Коллекции направлена на изучение биологии клетки в культуре и на решение сложного комплекса проблем ведения и сохранения эталонных коллекционных клеточных линий и штаммов. Ниже приведены только основные результаты проведенных исследований по разным разделам биологии клетки в культуре.

а) Криоконсервация клеточных культур.

Известно, что постоянные клеточные линии человека и животных сохраняют удовлетворительную жизнеспособность после криоконсервации при температуре жидкого азота (-196°C). Наиболее щадящий режим замораживания: медленное охлаждение около 1°C в минуту до $- (20-30^{\circ}\text{C})$, затем $5-20^{\circ}\text{C}$ в минуту до $- (70-90^{\circ}\text{C})$, после чего быстрое снижение температуры до -196°C . В среду для замораживания добавляются 10-20% сыворотки крови и криопротекторы – глицерин или диметилсульфоксид.

Анализ результатов криоконсервации многих клеточных линий человека и животных, содержащихся в Коллекции, показал, что диметилсульфоксид обладает оптимальным защитным действием. Вместе с тем, было обнаружено, что клетки морских беспозвоночных не выдерживают условий криоконсервации, разработанных для клеток теплокровных животных. Так, например, добавление сыворотки к среде для замораживания приводило к полной потере их жизнеспособности. Клетки этих животных оставались целыми и жизнеспособными при замене сыворотки на 2 %-й раствор бычьего сывороточного альбумина и при изменении режимов замораживания.

При работе с клеточными линиями животных были установлены существенные различия между состоянием клеточной культуры сразу после размораживания и после проведения нескольких пассажей. Так, анализ синтеза ДНК показал, что после размораживания в культивируемых клетках идет усиленный внеплановый синтез ДНК, существенно превосходящий контрольный уровень, что свидетельствует о наличии множественных разрывов ДНК под действием криоконсервации. На ряде клеточных линий было показано, что восстановление целостности ДНК

наступает лишь на 12-14 сутки после размораживания клеток. Из полученных данных следует, что стабильно воспроизводимые результаты исследований, проводимых на клеточных линиях, могут быть получены только после полного восстановления целостности ДНК.

В отличие от клеток человека и животных, криоконсервация клеток растений является большой проблемой в связи с их высокой оводненностью. В Коллекции клеточных культур высших растений была проведена огромная поисковая работа с целью выявления оптимальных условий криоконсервации клеток растений. В силу высокого содержания в них воды не удавалось избежать кристаллизации клеточного льда. Применяемые обычно криофилантики не оказывали протектирующего действия. В результате многолетних исследований криоустойчивости 29 клеточных штаммов растений удалось найти оптимальные условия и режимы криоконсервации и создать криогенный банк культур клеток растений.

Впервые доказана необходимость инициации кристаллизации протектирующего раствора при медленном охлаждении клеток растений. Наибольший криозащитный эффект получен при использовании криопротектора диметилсульфоксида в смеси с разными углеводами: сахарозой, маннитом, трегалозой. Установлено, что для многих клеточных штаммов необходима подготовка к криосохранению путем холодового закаливания и предкультивирования в присутствии свободных аминокислот и сахаров. На основании результатов проведенных исследований выдвинута концепция формирования криоустойчивости клеточных штаммов тканей и микроорганов растений. Доказано, что после многолетнего криосохранения штаммы растительных клеток восстанавливают все свои основные характеристики, в том числе биосинтез вторичных соединений, а также регенерируют растения, если они обладали такой способностью до замораживания.

В связи с необходимостью распространения методов криоконсервации на большое число новых типов культивируемых клеток животных и растений, не выдерживающих общепринятые режимы замораживания, был разработан новый уникальный метод сверхбыстрого охлаждения, заключающийся во впрыскивании микрокапель суспензии клеток в азотную шугу (смесь жидкого азота и азотного льда), имеющую температуру -214°C . Данный метод в настоящее время испытывается на клеточных культурах насекомых.

б) *Влияние условий культивирования на кариотипическую изменчивость клеточных линий.*

В исследовательских лабораториях многие клеточные линии культивируют в произвольно измененных условиях. Выбор питательных сред, например, производится чисто эмпирически и диктуется, в частности, тем, какую среду использовали в лаборатории для работы с другими

клетками или другие исследователи с аналогичными культурами. Также произвольно изменяют вид сыворотки и способ культивирования. При этом предполагается, что адаптация клеточной культуры к новым условиям культивирования не сопровождается существенными изменениями клеточных свойств данной линии.

Кариотипическая структура клеточной популяции является важнейшей характеристикой любой клеточной линии. При переводе клеток в условия *in vitro* изменяются функции клеток, что приводит к установлению нового генного баланса, отражающегося в изменении той кариотипической структуры, которая свойственна клеткам в организме. Для длительного существования клеточной линии вне организма необходимо образование сбалансированной кариотипической структуры, которая выражается в определенном спектре маркерных хромосом или в их отсутствии, а также в наличии клеток с модальным числом хромосом, частотами клеток с другими числами хромосом, определенными пределами изменчивости по числу хромосом. Установлено, что для выживания клеточной популяции вне организма необходимо существование в ней в определенном соотношении клеток с разными структурными вариантами кариотипа (СВК), обусловленное определенными закономерностями. Тем не менее, лишившись многоступенчатого контроля со стороны организма, клеточные популяции *in vitro* являются динамичными системами, подверженными существенному влиянию внешних факторов. С целью изучения характера влияния условий культивирования на изменчивость клеточных культур в Коллекции были проведены многолетние систематические цитогенетические исследования ряда клеточных линий. В частности, установлено, что замена культуральной среды, применение различных типов сыворотки крови и изменение их концентрации, «терапевтические» дозы антибиотиков, изменение субстрата, на котором культивируются клетки, микоплазменная контаминация могут изменять структуру кариотипа. Причем, характер наблюдаемых изменений зависит от особенностей кариотипической структуры исследуемой линии. В клеточных популяциях *in vitro* при длительном культивировании имеет место адаптация к нарушенным, привычным условиям, выражающаяся: 1) в изменении количественных характеристик кариотипа (модальное число хромосом, пределы изменчивости по числу хромосом, соотношение разных СВК); 2) в «маркерных» линиях - в изменении состава маркерных хромосом; 3) в «безмаркерных» линиях - в появлении дицентриков (теломерных ассоциаций). Наблюдаемые формы адаптации линий к неблагоприятным условиям являются инструментами, с помощью которых устанавливается необходимый новый оптимальный генный баланс в клеточной популяции, что неизбежно приводит к изменению экспрессии генов и, соответственно, к непредсказуемому изменению свойств клеточной линии. Из результатов

проведенных исследований следует рекомендация, состоящая в том, что для сохранения эталонных клеточных линий необходимо стремиться поддерживать те условия культивирования, к которым клеточная линия была адаптирована в период ее становления.

В ходе 30-летних систематических наблюдений выявлены закономерности кариотипической изменчивости в период становления и стабилизации постоянных клеточных линий дрозофилы, поддерживаемых в стандартных условиях культивирования.

в) *Борьба с микоплазменными контаминациями клеточных линий.*

В начале работы по созданию и развитию Коллекции было установлено, что около 90% имеющихся клеточных линий заражено микоплазмой. Помимо уже имевшихся в литературе данных о существенном влиянии микоплазменной контаминации на кариотипическую изменчивость клеточных линий было показано, что микоплазмы двух видов, различающихся по механизму действия на клетку, вызывают сходные изменения кариотипа клеток в культуре. Впервые показано, что характер хромосомных нарушений зависит от структуры кариотипа каждой конкретной линии и от степени ее трансформированности. Ввиду того, что этот тип заражения оказывает сильный негативный эффект на свойства культивируемых клеток, была принята и осуществлена комплексная программа мероприятий по борьбе с микоплазмами-контаминантами клеточных линий.

Были организованы и проведены практические курсы для сотрудников специализированных коллекций по методам выявления и идентификации микоплазменной контаминации. Для облегчения проблемы идентификации микоплазм-контаминантов была создана коллекция из 18 наиболее распространенных штаммов микоплазм, хранящаяся в жидком азоте при температуре -196°C.

Ввиду трудности обнаружения микоплазм при латентной инфекции клеточных культур была проведена большая работа по созданию новых чувствительных методов выявления микоплазменной контаминации. Разработан новый метод определения микоплазм с помощью флуорохрома антибиотика оливомицина. Получены моноклональные антитела к поверхностным антигенам микоплазм. Обнаружено, что эти антитела могут быть использованы не только для выявления заражения, но также для деконтаминации клеточных культур. Разработан высокочувствительный метод выявления микоплазменной контаминации с помощью универсального и специфических ДНК-зондов для пяти наиболее распространенных микоплазм - контаминантов. Показано, что клетки линии Vero могут быть использованы в качестве универсальной тест-системы для обнаружения микоплазм в суспензионных культурах, в питательных средах и в сыворотках крови.

В случае контаминации микоплазмой широко распространенных клеточных линий наиболее эффективным способом борьбы с инфекцией является полное уничтожение зараженного материала с последующей заменой его из фондов других коллекций. Существуют, однако, уникальные клеточные линии, обладающие ценными свойствами, потеря которых невосполнима. В таких случаях усилия Коллекции направлены на проведение деконтаминации культур с помощью антибиотиков.

Детальные исследования действия на клетку различных антибиотиков, используемых для деконтаминации, показало, что даже при «терапевтических» дозах их действие может приводить к изменению хромосомного состава клеточных линий. В результате клеточные линии подвергаются селекции и изменяют свои исходные свойства. После испытания большого числа антибиотиков был найден антибиотик – ципрофлоксацин и другие антибиотики хинолонового ряда (абактал, энросепт), применение которых в определенных дозах приводит к очистке клеточных линий от микоплазм, не оказывая при этом ни цитотоксического, ни генотоксического действия на культивируемые клетки. С их помощью удалось успешно деконтаминировать ряд ценных коллекционных линий.

г) *Получение новых клеточных линий и выявление новых полезных свойств культивируемых клеток.*

В Коллекции проводится огромная и непрерывная работа по получению новых клеточных линий и штаммов, направленная на обеспечение насущных потребностей фундаментальных исследований, медицины и биологической промышленности. Работа ведется в следующих основных направлениях:

- разработка и оптимизация условий получения новых культур клеток человека, животных и растений;
- выявление клеточных линий, а также получение сублиний, клонов и генетически трансформированных клеток, обладающих полезными свойствами;
- получение гибридных клеток и гибридом.

В рамках данного описания невозможно представить все результаты проведенной работы в этом направлении. Поэтому ниже приведены только наиболее существенные из них.

Получены и идентифицированы постоянные линии эмбриональных стволовых клеток человека (ЭСК), выделенных из предимплантационных бластоцист. ЭСК являются уникальными клеточными популяциями, которые обладают и способностью к постоянному самообновлению, и к дифференцировке в производные 3-х зародышевых листков и линию половых клеток. Благодаря этим свойствам ЭСК широко используются в фундаментальных биологических исследованиях, а

также перспективны для прикладных исследований в области медицинской трансплантологии и фармакологии (лекарственное и тератогенное тестирование).

Создан банк диплоидных клеток для заместительной терапии человека. Имеющийся в Коллекции штамм клеток ЛЭЧ-4(81) разрешен для практического применения при лечении глубоких ожогов и некоторых других поражений кожи и слизистых оболочек.

Получены диплоидные штаммы клеток человека от больных наследственными заболеваниями, обусловленными генными мутациями и хромосомными перестройками. К ним относятся лейкодиistroфия, мукополисахаридоз, фенилкетонурия, спонтанные аборт, синдром Дауна, шизофрения, талласемия и ряд других тяжелых заболеваний. Полученные клеточные штаммы имеют большую ценность для изучения молекулярных механизмов, лежащих в основе наследственных заболеваний. Разработана система анализа изображений для определения состояния клеток. Осуществлена иммортализация первичных фибробластов с помощью каталитического компонента теломеразы. Показано, что такие клетки сохраняют исходный кариотип и не проявляют других признаков трансформации.

Разработаны методы дезагрегации ткани и перевода в культуру клеток морских беспозвоночных. Оптимизированы питательные среды и режимы длительного культивирования клеток разных тканей трепанга, моллюсков, морской звезды. Такие культуры создают базу для развития исследований в области клеточной и молекулярной биологии морских беспозвоночных.

Выведенные новые клеточные линии и первичные культуры слюнных желез дрозофилы являются прекрасной тест-системой для разработки и использования принципов нанобиотехнологии при создании профилактических и лекарственных препаратов для оздоровления и регуляции численности насекомых, а также являются удобным объектом для проведения разнообразных генетических исследований.

Постоянные линии клеток шинельной моли (Sf9) и тутового шелкопряда (BmN), адаптированные к среде C46, являются базой для развития инновационной клеточной биотехнологии с целью получения генноинженерных биопродуктов для биомедицины и сельского хозяйства.

Получены штаммы – сверхпродуценты клеток растений, в число которых входят клетки женьшеня, диоскореи, мандрагоры, люцерны, мака и др. Получены и охарактеризованы следующие каллусные и суспензионные культуры клеток-продуцентов биологически активных соединений: штаммы чая (*Camellia sinensis*) – продуценты фенольных соединений; штаммы женьшеня (*Panax japonicus* var. *repens* C.A. Mey и *Panax ginseng* C.A. Mey) – продуценты гинзенозидов; штаммы

Serratula coromata и *Ajuga reptans* – продуценты экистероидов; штамм *Polyscias filicifolia* – продуцент тритерпеновых гликозидов и β -ситостерина; штамм *Stephania glabra* – продуцент алкалоида стефарин (стефаглабрин); штамм мандрагоры (*Mandragora turcomanica*) – продуцент гиосциамин и апоатропин; штамм диоскореи (*Dioscorea deltoidea*) – продуцент диосгенина и фураностаноловых гликозидов. Показано, что все исследованные линии клеток синтезируют вторичные метаболиты, по качественному и количественному составу не отличающиеся от интактного растения.

Получены культуры трансформированных рРi корней растений, обладающие высокой скоростью роста при отсутствии в среде ростовых факторов. Полученные культуры переданы в промышленность и используются в производстве парфюмерных и лекарственных препаратов. Создана специальная коллекция эндомикоризных арбускулярных грибов, которая растет в дуальной системе в условиях *in vitro*. Эта коллекция, помимо использования в чисто фундаментальных исследованиях, может быть основой для массового получения стерильного инокулята эндомикоризных грибов, что становится в настоящее время необходимым при микроклональном размножении растений.

Проведены исследования, направленные на доказательство перспективности практического использования корневой культуры шлемника байкальского в качестве альтернативного растительного сырья, которое может восполнить недостаток традиционного сырья этого исчезающего вида растений, внесенного в Красную книгу. Экспериментально доказано, что культивируемые *in vitro* корни шлемника сохраняют способность к синтезу всех флавонов, которые обуславливают фармакологическую ценность корней интактного растения, а интенсивный рост культуры компенсирует некоторое снижение содержания в них действующих веществ, сохраняя тем самым продуктивность корней *in vitro* на уровне продуктивности корней целого растения. Была экспериментально подтверждена фармакологическая (а именно, ноотропная) активность спиртовых экстрактов из культивируемых корней шлемника, что дополняет аргументацию о перспективности и целесообразности практического использования крупномасштабного культивирования корней шлемника в качестве нового типа лекарственного сырья.

Важнейшее значение для практического использования клеточных культур в здравоохранении представляет работа по выявлению клеточных линий, чувствительных к вирусам. Следует подчеркнуть, что все фундаментальные научные исследования в области вирусологии проводятся на клеточных культурах. В том числе, изучение эффективности применения химиопрепаратов для лечения ВИЧ-инфекции, гриппа, герпеса, цитомегалии и других заболеваний.

Получен ряд штаммов клеток почки эмбриона свиньи (ПЭС) и трофовариантов стабильных линий клеток СПЭВ и Vero, обеспечивающих накопление вируса клещевого энцефалита с высокой инфекционной активностью. Установлено, что можно получать длительную персистенцию вирусов гепатита А, простого герпеса и цитомегалии не только в культивируемых клетках человека и приматов, но также в клеточных линиях почки сирийского хомячка, а также в линиях фибробластов хомячка и мыши. Наиболее чувствительной ко всем вирусам оказалась сублиния клеток Vero (B), выведенная в Коллекции. Эта сублиния стабильно сохраняет полезные свойства в течение 178-200 пассажей. Она отвечает требованиям, предъявляемым ВОЗ к клеточным линиям, используемым для диагностики вирусных заболеваний человека.

Коллекционные клеточные линии человека и животных используются для определения спектра чувствительности эпидемических вирусов гриппа человека H1N1 и H3N2, а в 2005 году и птичьего вируса гриппа с 5-м типом гемагглютинина (H5N1), вызвавшего эпидемию в Новосибирске среди птиц. Было показано, что как вирусы гриппа человека последних лет изоляции, так и птичий вирус, обладают большой инфекционной активностью, т.е. способны репродуцироваться во многих клеточных линиях человека и животных.

Показано, что наиболее эффективной системой для выделения, накопления и типирования вирусов полиомиелита, аденовирусов и вирусов парагриппа является сочетанное использование нескольких клеточных линий (например, HeLa, HEp 2, ФЛЕЧ и L 41). Выявлены клеточные линии (СПС, СПЭВ, ТК-Х), высокочувствительные к вирусам свиней (паровирусу, вирусу ТГЦ, энцефаломиокардита, болезни Ауэска), а также к вирусам ринопневмонии лошадей.

Клеточные линии, сертифицированные согласно требованиям ВОЗ, использовались для приготовления противовирусных вакцин (герпетической, цитомегаловирусной, краснушной, коревой, гепатитной и др.). С этой целью была разработана и применена эффективная технология культивирования клеток на отечественных микро- и макро- носителях и в биореакторах, что способствовало увеличению клеточной биомассы в несколько раз.

В Коллекции развивались исследования по получению и анализу свойств гибридных клеток. Разработаны методы получения гибридных клеток сельскохозяйственных животных на основе слияния immortalized клеток с лимфоцитами и энтероцитами крупного рогатого скота, лошади, свиньи, кролика. Гибридные клетки обладают высокой чувствительностью к вирусам, а также являются продуцентами интерферона. В специализированных коллекциях методами гибридной технологии были получены клетки, продуцирующие моноклональные антитела к α - и γ -интерферонам человека, Hbs-антигену вируса гепатита А, к вирусу гриппа, к поверхностным

антигенам микоплазм. На основе антител к разным эпитопам интерферона созданы диагностикумы для использования в медицинской практике. Гибридомы, продуцирующие антитела на белки цитоскелета, широко используются в фундаментальных исследованиях в нашей стране и за рубежом.

Работа по получению новых клеточных линий и штаммов была неразрывно связана с разработкой оптимальных условий культивирования выделенных клеток. Были разработаны соответствующие питательные среды. Испытаны материалы и аппаратура для культивирования и анализа клеток. Значительная часть этих работ была проведена непосредственно сотрудниками Коллекции.

Найден оптимальный состав питательной среды для клеток морских беспозвоночных. Разработана рецептура бессывороточных питательных сред для культивирования гибридом и питательной среды для кератиноцитов человека. Сконструированы и испытаны питательные среды на основе гидролизатов белков для биофабрик. Разработана и производится лиофилизированная сыворотка крупного рогатого скота.

Высокая культура работы с клеточными линиями в Коллекции явилась предпосылкой для проведения на ее базе испытаний всех разрабатываемых и выпускаемых материалов, приборов, питательных сред и сывороток. Практически ни одна новая разработка не получила разрешения на массовое производство без испытания ее в Российской коллекции клеточных культур.

д) Научные публикации, отражающие работу Коллекции.

Результаты проведенных исследований отражены в 8 монографиях:

Монографии

1. Биология клетки в культуре, 1984, Ленинград, Наука, Отв. редактор А.С. Трошин, 280 с.
2. Культура клеток растений и биотехнология, 1986, Москва, Наука. Отв. редактор Р.Г.Бутенко.
3. Методы культивирования клеток, 1988, Ленинград, Наука, 3. Отв. редактор Г.П.Пинаев, 313 с.
4. Биология культивируемых клеток и биотехнология растений, 1991, Москва, Наука. Отв. редактор Р.Г. Бутенко.
5. Каталог Российской коллекции клеточных культур, 1999, Санкт-Петербург Омск: ОмГПУ. Биологическая серия, вып.5 (на русском и английском яз.), Отв. ред. Г.П.Пинаев, Г.Г.Полянская, 429 с. 2004, Санкт-Петербург (переиздание на русском яз.), 314 с.
6. Животная клетка в культуре, 2000, Москва, Компания Спутник+, Отв. ред. Л.П. Дьяконов, В.И. Ситьков, 400с.

7. Методы культивирования клеток, 2008, Санкт-Петербург, Изд-во Политехнического ун-та, Ред. Г.П. Пинаев, М.С. Богданова, 278 с.

8. Животная клетка в культуре, 2009, Москва, Компания Спутник+, Отв. ред. Л.П. Дьяконов, 656 с.(2-е расширенное издание).

По результатам работы опубликовано около 300 научных статей в российских и зарубежных журналах, 30 учебно-методических пособий. Опытнo-конструкторские разработки по созданию и использованию клеточных линий, по созданию новых питательных сред, новых методов культивирования и анализа клеточных линий завершились получением 60 патентов, авторских свидетельств и фармакопейных статей. Научно-прикладные исследования, проводимые в Коллекции, регулярно обсуждаются на российских и зарубежных конференциях и симпозиумах.

6. Информационная работа и координация деятельности Коллекции.

Вышеизложенная многоплановая деятельность Коллекции не могла быть осуществлена без создания системы информации и постоянной координации работы специализированных коллекций. Эту функцию выполняла и выполняет в настоящее время Межрегиональная общественная научная организация «Ассоциация специалистов по клеточным культурам» в тесном сотрудничестве с Институтом цитологии РАН и всеми специализированными коллекциями, являющимися коллективными членами Ассоциации. Ассоциация была создана после прекращения деятельности Комиссии по клеточным культурам Межведомственного научно-технического Совета по проблемам физико-химической биологии и биотехнологии. Одной из главных задач Ассоциации является осуществление связи между Российской коллекцией клеточных культур и научными учреждениями страны, использующими клеточные культуры в своих исследованиях.

С 1986 года издано 25 выпусков Информационного бюллетеня «Клеточные культуры». В бюллетене регулярно давались сведения о составе фондов Коллекции, о новых поступлениях клеточных линий, о новых методах культивирования клеток животных и растений, а также о других вопросах технологии культивирования клеток и о разрабатываемых проблемах.

Создана информационная база данных по клеточным линиям, имеющимся в фондах Коллекции. В 1991 году был выпущен первый Каталог клеточных линий Всесоюзной коллекции клеточных культур. В 1999 году вышел из печати расширенный Каталог Российской коллекции клеточных культур в двух томах на русском и английском языках. Каталог был переиздан в 2004 году в связи с большим спросом на представленную в нем информацию. Данные о фондах Коллекции размещены в Интернете на сайте Института цитологии РАН: <http://www.cytspb.rssi.ru/>; эти данные периодически обновляются.

Информация о клеточных линиях Коллекции опубликована в Международном Каталоге клеточных линий: «Human and animal cell lines catalogue», 1993 (Interlab project), а данные об имеющихся в Коллекции гибридах включены в Международную базу данных Всемирной Федерации коллекции культур.

Координация деятельности специализированных коллекций Российской коллекции клеточных культур состоит в разработке совместных планов работы, в организации совместных исследований, в обеспечении дублированного хранения клеточных линий на случай чрезвычайных ситуаций и в разработке общей стратегии развития Коллекции.

III. ОЦЕНКА ДЕЯТЕЛЬНОСТИ РОССИЙСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

1. Новизна результатов проведенной работы,

масштабы ее практической реализации, социальная и экономическая значимость

Новизна проведенной работы состоит, прежде всего, в создании Российской коллекции клеточных культур человека, животных и растений. Подобной Национальной коллекции не существовало до этого ни в СССР, ни в России. В фондах Коллекции хранится много новых уникальных клеточных линий, которые отсутствуют в других коллекциях мира. На большом экспериментальном материале показано, что для сохранения эталонных клеточных линий необходимо стремиться поддерживать их в тех условиях культивирования, к которым они были адаптированы в период становления культуры.

Выдвинута и экспериментально обоснована концепция формирования криоустойчивости клеточных штаммов тканей микроорганов растений. Предложена система криозащиты клеточных штаммов растений и получено восстановление их исходных свойств после замораживания.

Получены первичные культуры клеток морских беспозвоночных. Разработаны новые оригинальные питательные среды.

Получены новые клеточные линии, чувствительные к различным вирусам и пригодные для использования в практической медицине.

Вся многогранная деятельность Российской коллекции клеточных культур имеет большой практический выход. Основными практическими достижениями Коллекции являются:

1. Сохранение биоразнообразия соматических клеток человека, животных и растений путем постоянного расширения состава коллекционных линий разного видового и тканевого происхождения.

2. Регулярное обеспечение научных и прикладных исследований эталонным охарактеризованным, стерильным клеточным материалом. Ежегодно выдается около 6000 образцов клеточных линий более чем 270 научным и производственным учреждениям России, а также учреждениям стран ближнего и дальнего зарубежья.

3. Депонирование и длительное хранение 700 уникальных клеточных линий и гибридом, имеющих ценные свойства для народного хозяйства. Многие депонированные клеточные линии и гибридомы были запатентованы. В качестве примера можно привести перечень патентов, полученных за последние несколько лет: патент № 226501 от 27.11.2005 года «Гибридома C10 к *Yersinia enterocolitica* 03 и 09»; патенты № 2287575, 2287576, 2287577, 2287578 от 20.11.2006 года «Меланомы человека, используемые для получения противоопухолевых вакцин».

4. Отбор и селекция клеточных линий, чувствительных к вирусам, для использования их в производстве иммунобиологических препаратов и в создании диагностических методов.

5. Обеспечение качественным клеточным материалом санэпидстанций разных регионов России для диагностики вирусных инфекций.

6. Оздоровление посадочного материала некоторых сортов малины, земляники и картофеля посредством выращивания *in vitro* изолированных меристем. Вторичные соединения, синтезируемые в суспензионных культурах клеток растений, могут использоваться в фармакологии (в качестве лекарственных препаратов и биологически активных добавок) и в косметологии.

7. Использование экстрактов корневой системы шлемника, полученных биотехнологическим путем из коллекционного штамма, в качестве альтернативного лекарственного сырья для производства новых ценных препаратов. В связи с этим на базе НИИ фармакологии ТНЦ и ИФР РАН создано ООО «Биоплант» с целью совместной разработки лабораторного биореактора для крупномасштабного выращивания корневой культуры шлемника для производства препарата с церебропротекторной и гемостимулирующей активностью и последующей проверки его действия в клинических условиях. Биотехнологический способ получения больших масс корней шлемника не имеет аналогов за рубежом. Он в состоянии обеспечить высококачественным сырьем не только медицинскую, но и пищевую промышленность, которая испытывают острую потребность в этом сырье, а также может внести свой вклад в сохранение естественно произрастающих растений шлемника. Первый подготовительный этап работы по созданию биореактора для крупномасштабного выращивания корней шлемника получил финансовую поддержку Фонда содействия развитию малых форм предприятий при Министерстве образования и науки РФ.

Результаты этой работы были представлены на симпозиуме «Фундаментальные и прикладные исследования для создания новых лекарственных средств» в июне 2008 года в Москве.

8. Проведение индуцированного мутагенеза и получение линий клеток - продуцентов с высоким уровнем биосинтеза вторичных соединений.

9. Создание криобанка спермы трутней медоносной пчелы, сохранявшей после 18 лет криоконсервации при -196°C основные генетические параметры и оплодотворяющую активность; при искусственном осеменении пчеломаток дефростированной спермой в 70-99 % случаев получают полноценные рабочие пчелосемьи. В криобанк включены также сперма амурского тигра, дальневосточного леопарда, канадского журавля, эмбрионы некоторых насекомых и рыб, что существенно для сохранения биоразнообразия редких и исчезающих видов животных.

10. Создание банка диплоидных клеток для заместительной терапии человека.

11. Создание фонда из 2100 неиммортизированных клеточных линий человека от больных наследственными заболеваниями имеет важное значение для выявления кариотипических изменений и молекулярных механизмов, определяющих различные заболевания человека.

12. Расширение фондов Коллекции за счет получения постоянных линий эмбриональных стволовых клеток человека, перспективных как для фундаментальных исследований, так и для разработки биомедицинских технологий клеточной заместительной терапии и фармакологии.

Создание и развитие Российской коллекции клеточных культур имеет огромный социальный и экономический эффект. Поддержание коллекционных фондов на современном международном уровне, их расширение, разработка методов получения новых клеточных линий из тканей и органов разнообразных живых организмов, доступность эталонного клеточного материала – все это обеспечивает развитие биомедицинских исследований в стране, которое не зависит от коллекционных фондов других стран. Следует подчеркнуть, что около 40% полученных в РККК клеточных линий уникальны. Большая часть этих линий являются либо диплоидными неиммортизированными, либо иммортизированными, но незлокачественными. Такой клеточный материал очень ценен как для фундаментальных исследований, в которых клетки *in vitro* являются модельной системой для изучения клеточных процессов в организме, так и для решения прикладных задач в области вирусологии, производства лекарственных препаратов, клеточной заместительной терапии и трансплантологии.

Разработка научно-обоснованных правил ведения клеточных линий и создание единых требований к качеству клеточного материала способствовало выходу отечественных исследований

в области физико-химической биологии и биотехнологии на современный мировой методический уровень работы с использованием клеточных культур.

Невозможно оценить общий экономический эффект всей проведенной работы. Единственно, что поддается оценке, это объем производимых и распространяемых в стране клеточных культур. Создание и развитие Российской коллекции клеточных культур позволяет экономить стране огромные финансовые средства, создавая возможности работать на отечественном клеточном материале. Приведем ряд расчетов. В среднем в год выдается около 6000 образцов клеточных культур. Для большинства исследований образец клеточной культуры представляет собой 1 или 2 флакона, содержащих от 3 до 15 млн. клеток. Для потребностей вирусологической службы готовится большой объем биомассы, составляющий миллиарды клеток, культивирующихся в специальной культуральной посуде. Так, ежегодно для этой службы выдается более 3 млрд. клеток. Средняя стоимость одного коллекционного образца клеточной культуры составляет 3000 рублей. Если бы не было Российской Коллекции клеточных культур, то пришлось бы приобретать коллекционный клеточный материал в зарубежных Коллекциях. Наиболее крупной Коллекцией является Американская, имеющая Отделение в Европе (Англия). Стоимость одного образца клеток в этой Коллекции составляет 18500 рублей, что в 6 раз больше, чем в отечественной Коллекции. Соответственно, стоимость 6000 образцов, заказанных из нашей Коллекции, составляет 18 млн. рублей против 112 млн. рублей из зарубежной Коллекции. Стоимость доставки материала из-за рубежа дополнительно увеличивает затраты. Таким образом, экономия финансовых средств очевидна. В криобанках Российской коллекции клеточных культур содержится около 300000 единиц хранения – криопробирок, в которых находится около двух триллионов клеток. Стоимость всего клеточного материала, исходя из средней стоимости 1 образца, т.е. одной криопробирки, составляет 900 млн. рублей.

2. Сопоставление с отечественными и зарубежными аналогами.

В развитых странах функцию обеспечения эталонными образцами культивируемых клеток выполняют Национальные коллекции клеточных культур. Наиболее крупной мировой коллекций является Американская коллекция типовых культур (ATCC). Создана Европейская коллекция клеточных культур животных. Бурное развитие биоиндустрии и стремительно возрастающая ценность клеточных линий с сопутствующим ограничением международного распространения клеток, имеющих практическое применение, стимулировало создание в течение последних десятилетий ряда новых Национальных коллекций клеточных культур в Германии, Англии, Японии,

Китае, Франции, Италии, Дании. Таким образом, Национальные коллекции становятся сейчас областью государственных и деловых интересов.

Как правило, Национальные коллекции являются автономными учреждениями, получающими целевое Государственное финансирование, а также финансовую поддержку от крупных биотехнологических и фармацевтических компаний, использующих клеточные культуры для производства биологически-активных соединений.

Российская коллекция клеточных культур отличается по способу организации от выше перечисленных коллекций, что имеет свои положительные и отрицательные стороны. К положительным следует отнести несравненно более тесную связь специализированных коллекций с фундаментальной наукой соответствующих областей знания. Благодаря этому, они имеют более высокий научный потенциал, возможности использования научных и методических достижений данного научного учреждения и создания на этой основе новых современных клеточных технологий. К отрицательным – отсутствие постоянного целевого Государственного финансирования и финансовой поддержки со стороны промышленных организаций, что значительно затрудняет кооперацию работы специализированных коллекций и создает большую зависимость их положения от финансового состояния и научной политики учреждений, при которых они находятся.

По способу ведения Коллекции, методам анализа, паспортизации и криоконсервации клеточных линий Российская коллекция клеточных культур вполне соответствует международным требованиям, предъявляемым к коллекционному материалу. Об этом свидетельствует опубликование фондов Коллекции в Международном каталоге Interlab project «Human and animal cell lines catalogue», 1993, edited by B.Parodi et al., а также включение данных о депонированных гибридах в Международную базу данных Всемирной Федерации коллекций культур. Коллекция является участником работ по развитию коллекционных фондов, включенных в Соглашение между Россией и Италией по разработке важнейших направлений в области биологических и медицинских исследований.

Российская коллекция клеточных культур является членом Всемирной Федерации коллекций культур, Европейской Ассоциации коллекций культур (ECCO) и включена в число Национальных коллекций культур мира (Cell line banks and their role in cancer research, J.Cell.Biochem.Suppl., 1996, 24: 107-130).

В России аналогичных коллекций не существует. Клеточные линии, имеющиеся в небольших коллекциях при научных учреждениях, как правило, охарактеризованы только частично. Кроме того,

в функцию этих коллекций не входит обеспечение клеточными линиями и штаммами других учреждений страны.

Таким образом, длительная и чрезвычайно трудоемкая работа по созданию и развитию Национальной Коллекции клеточных культур проведена своевременно, а ее актуальность состоит в обеспечении независимости развития отечественных биомедицинских исследований от коллекционных фондов других стран и биобезопасности собственной страны в случае чрезвычайных ситуаций.

3. Перспективы дальнейшего развития

Российской коллекции клеточных культур

В последние годы интересы фундаментальной и прикладной науки в области клеточной биологии и биотехнологии постепенно смещаются в область изучения и использования стволовых и дифференцированных клеток в культуре. Одним из перспективных и интенсивно развивающихся направлений биомедицинских исследований является лечение серьезных заболеваний человека путем замены поврежденных клеток нормальными.

Широкое использование методов клеточной заместительной терапии и генотерапии требует создания банка нормальных клеток человека для их размножения и последующей трансплантации. Представляется перспективным создание профилактических банков нормальных клеток человека от людей, профессия которых связана с высокой степенью риска. Американская коллекция клеточных культур, например, получила в 1996 году от Национального института здоровья США грант размером в 3 миллиона долларов на создание коллекции нормальных клеток человека для трансплантаций.

В последние годы стало очевидным, что успешное развитие биомедицинской промышленности требует создания специальных посевных банков клеток, используемых для производства иммунобиологических препаратов. Аналоги таких банков существуют, но они не совершенны, и их фонды должны по своему уровню соответствовать качеству клеточных линий Российской коллекции клеточных культур.

Для решения проблемы сохранения биоразнообразия необходимо осуществлять направленное получение клеточных линий от редких и исчезающих видов животных и растений. Решение этой проблемы, однако, требует больших затрат на создание специальных передвижных экспедиционных лабораторий клеточных культур.

Необходимо продолжать развивать методы получения постоянных клеточных линий морских беспозвоночных. Несмотря на большие успехи в криоконсервации растительных клеток и тканей,

число культур, выдерживающих замораживание, еще не велико и требует продолжения работ в этом направлении.

Большие перспективы открываются в области использования иммортализованных клеток с направленно вызванными генетическими изменениями для изучения механизмов экспрессии генов и для получения клеток продуцентов биологически активных веществ.

Таким образом, перед Российской коллекцией клеточных культур раскрываются широкие перспективы дальнейшего развития и практического использования результатов ее деятельности в фундаментальной науке, в здравоохранении и в биологической промышленности.

Примеры паспортов клеточных линий человека, животных и растений

HL-60

Происхождение: человек, периферическая кровь, промиелоцитарная лейкемия.

Nature 1977. 270: 347-349; Blood 1979. 54: 713-733; Цитология 1992. 34: 123; Атлас хромосом постоянных линий человека и животных, С.Е. Мамаева, 2002. М. Научный мир.

Морфология: лимфобластоподобная**Способ культивирования:** суспензионный**Условия культивирования:** среда - RPMI 1640 (для инициации роста можно использовать Iscove's MDM)сыворотка - эмбриональная бычья 20%процедура посева - кратность посева 1:2, оптимальная плотность $1.0-5.0 \times 10^5$ клеток/млкриоконсервация - ростовая среда, 5% DMSO, $3.0-5.0 \times 10^6$ клеток/мл в ампуле**Жизнеспособность после криоконсервации:** 80% (окраска трипановым синим на нулевом пассаже)**Контроль контаминации:** бактерии, грибы и микоплазма не обнаружены**Контроль видовой идентичности:** кариологический, изоферментный (ЛДГ и Г6ФДГ) анализ.**Кариология:** $2n=46$, пределы изменчивости по числу хромосом 43-47, модальное число хромосом 45, количество маркеров - 7 (дифференциальная окраска), в клетках наблюдались двойные мини-хромосомы, количество полиплоидов 3%.**Эффективность клонирования:** не клонируется (ATCC)**Туморогенность:** опухоленности в мышах nude**Другие характеристики:**

чувствительность к вирусам: вирус иммунодефицита человека 1, вирусу Т-клеточной лейкемии человека 1.

Изоэнзимы G6PD, B; PGM1,1; PGM3,1; ES D, 1; Me-2,1; AK1, 1; GLO-1,1.

Тест розеткообразования с эритроцитами: E, 4%; EA, 17%; EAC, 1%.

Область применения: дифференцировка, фармакодинамика, канцерогенез.**Коллекции:** ATCC CCL 240; ECACC 88112501; DSM ACC 3; ICLC HTL 95010; ИНЦ РАН.

67j25 DK

Происхождение: дрозофила (насекомые) *Drosophila melanogaster*, клоновая линия, эмбриональные клетки.

Онтогенез, 1971, 2: 304-310

Морфология: округлые клетки**Способ культивирования:** монослойный**Условия культивирования:** среда - C- 46сыворотка - эмбриональная бычья 10%процедура посева - механическая суспензия 1:10, оптимальная плотность 1.0×10^6 клеток/млкриоконсервация - ростовая среда, 10% DMSO, 2.0×10^6 клеток/мл в ампуле**Жизнеспособность после криоконсервации:** 90% (окраска трипановым синим на нулевом пассаже)**Контроль контаминации:** бактерии, грибы и микоплазма не обнаружены.**Контроль видовой идентичности:** кариологический анализ**Кариология:** триплоид $3n=12$ **Эффективность клонирования:** 10%**Другие характеристики:**

чувствительность к вирусам: пикорнавирусы, DVX.

Изоэнзимы ФГД, Г6ФД.

Генетические маркеры: ГФРТ-, 8АГ р, 6МП р, ЭС г

Область применения: клеточная биология**Коллекции:** ВСКПЛК БП

Происхождение: стеблевые сегменты проростков, выращенных на среде с *Agrobacterium tumefaciens*

Морфология: желтая биомасса

Способ культивирования: выращивание на твердой среде

Условия культивирования: среда - MS

процедура пересева - пересев каллуса на 30 сутки

криоконсервация - не проводилась

Контроль контаминации: бактерии, грибы и микоплазма не обнаружены

Контроль видовой идентичности: кариологический анализ, биохимическая характеристика вторичных соединений

Кариология: $2n=28$, пределы изменчивости по числу хромосом 28-91, модальный класс $3n$, клетки анеуплоидны

Другие характеристики:

продуцент аристолохиевых кислот

Область применения: биотехнология

Коллекции: ВКК-ВР

**Список учреждений - депозиторов гибридом и клеточных линий в Коллекции культур
клеток позвоночных (ИНЦ РАН)**

1. Институт молекулярной биологии РАН, Москва.
2. Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, Москва.
3. НИИ вакцин и сывороток, Томск.
4. Институт химической и биологической физики, Таллинн.
5. Российский онкологический центр РАМН, Москва.
6. Институт ящура, Владимир.
7. Институт вирусных препаратов МЗ РФ, Москва.
8. Институт иммунологии РАМН, Москва.
9. Институт переливания крови, Минск.
10. Институт прикладной молекулярной биологии, Симферополь.
11. Институт эпидемиологии и микробиологии, Минск.
12. Институт цитологии РАН, Санкт - Петербург.
13. Институт гриппа РАМН, Санкт - Петербург.
14. Крымский медицинский институт, Симферополь.
15. Институт особочистых биопрепаратов, Санкт - Петербург.
16. Институт биоорганической химии СО РАН, Новосибирск.
17. Институт биохимии, Вильнюс.
18. НИИ противочумный МЗ РФ, Волгоград.
19. Российский кардиологический центр МЗ РФ, Москва.
20. Центральный НИ рентгено-радиологический институт МЗ РФ, Санкт - Петербург.
21. Казахский институт кардиологии, Алматы.
22. НПО «Фермент». Вильнюс.
23. Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск.
24. Институт туберкулеза МЗ РФ, Москва.
25. Институт генетики промышленных микроорганизмов, Москва.
26. Институт проблем онкологии им. Р.Е. Кавецкого НАНУ, Киев.
27. НИИ противочумный МЗ РФ, Ростов-на-Дону.
28. Институт экспериментальной патологии и терапии, Сухуми.
29. Институт биофизики РАН, Пущино.
30. Институт прикладной молекулярной биологии МЗ РФ, Москва.
31. Институт биоорганической химии им. М.М.Шемакина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва.
32. Институт экспериментальной ветеринарии РАСХН, Москва.
33. Институт иммунологии, Любучаны.
34. Институт морфологии человека РАН, Москва.
35. НПО «Биотехнология», Москва.
36. Институт микробиологии им. А. Кирхенштейна, Рига.
37. Институт биохимии и физиологии, Бешкек.
38. Институт биологии развития РАН, Москва.
39. Институт биомедицинских технологий, Москва.
40. Институт медицинской генетики РАМН, Москва.
41. Институт переливания крови МЗ РФ, Москва.
42. Межфакультетская лаборатория молекулярной биологии МГУ им. М.И. Ломоносова, Москва.
43. Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва.
44. НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова Росмедтехнологий, Санкт - Петербург.
45. Сельскохозяйственный институт, Целиноград.
46. Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи РАМН, Москва.
47. Институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова РАМН, Москва.
48. Институт полиомиелита и вирусных инфекций РАМН, Москва.
49. НПО «Вектор», Новосибирск.
50. НИИ эпидемиологии и микробиологии, им. Пастера, Санкт - Петербург.
51. Российский НИ противочумный институт «Микроб» МЗ РФ, Саратов.

53. Всероссийский НИИ вирусологии и микробиологии РАСХН, Покров.
54. ВНИИ технологии кровезаменителей и гормональных препаратов, Москва.
55. Фирма «Камант», Москва.
56. НИИ вакцин и сывороток, Санкт - Петербург.
57. Казанский государственный университет, Казань.
58. Институт экспериментальной медицины РАМН, Санкт - Петербург.
59. НИИ дерматологии и венерологии, Харьков.
60. НПО «ВИК», Москва.
61. Фирма «Протеиновый контур», Санкт - Петербург.
62. Государственный Научный центр социальной и судебной психиатрии им. В.П.Сербского МЗ РФ, Фирма «Диафарм», Москва.
63. Институт диагностики и профилактики социально значимых заболеваний. ООО «Прогрессивные биомедицинские технологии», Москва.
64. ЗАО «Русские биотехнологии», Москва.
65. Институт биологии гена РАН, Москва.
66. ООО БиПром, Москва (Зеленоград).
67. ГУП научно-производственный центр медицинской биотехнологии, Москва.
68. Институт экологии человека СО РАН, Кемерово.
69. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск.

Список клеточных линий, депонированных в Коллекции культур клеток позвоночных (ИНЦ РАН) в связи с подачей заявки на изобретение

№	Название и происхождение линии	Учреждение
003Д	L-41 -ВП сублиния L41	7
004Д	Нер2-ВП сублиния НЕр2	7
007Д	653-А миелома мыши	21
009Д	М - клетки мыши, продуценты ревертазы	37
010Д	ММ - меланома мыши	37
019Д	ТС.SC-И/ Т - клетки мыши	8
020Д	ТС.SC-И/ 2.0 Т - клетки мыши	8
029Д	L929 - сублиния L	38
032Д	RHk-13 - RH	3
079Д	НЕР-2-ВК - сублиния НЕР2	7
081Д	Л-41-ВК – сублиния Л-41	7
082Д	PLC/PRF-5-C4TK ⁻ - гепатома человека	2
083Д	PLC/PRF-5-C4TK ⁻ - гепатома человека	2
084Д	СПЭВ В-Д5 HBS5 Ag - почка свиньи	2
092Д	НШ ТК-Г 64fot - лимфоидные клетки человека	39
107Д	L - продуцент факторы роста	12
147Д	КГ-27 - гепатома крысы	12
152Д	ВБ-20 клетки макаки бурой, продуцент герпесвируса	29
153Д	ЛС(ОМ)-2 - клетки промиелоцитарного лейкоза	29
154Д	ЛС(бх)-1 - клетки лимфогранулематоза	29
155Д	СПГ5 - селезенка павиана больного лимфомой	29
161Д	СНО-ТК ⁻ - клетки китайского хомячка	40
162Д	СНО-Еро-1 - клетки китайского хомячка, продуцирующие эритропоэтин	40
165Д	ЭКЛ - эпителиодные клетки лошади	33
168Д	PLC-5AM-30-30 - гепатома человека	2
174Д	Rat-IL-2-D7 - клетки крысы, продуцент интерлейкина-2 человека	1

182Д	ЛС-ПОЛ-1 - клетки больного лимфогранулематозом	29
185Д	ЗМ-20 - клетки зеленой мартышки	29
186Д	ЗМ-91 - клетки зеленой мартышки	29
187Д	ВПШ-СП - клетки гамадрила	29
228Д	Rat-INF-I - клетки крысы, продуцент у-Интерферона человека	32
239Д	ИМБ-Rat-I-Ни Тс8 - клетки крысы, продуцент фактора некроза опухолей	1
249Д	СНО Еро-2 - клетки китайского хомячка, продуцент	40
250Д	СНО Еро-3 - клетки китайского хомячка, продуцент	40
291Д	Е ₅₋₁ - злокачественная лимфома гибрида павин -гелада	29
292Д	ВПЛ-П - В-лимфоциты периферической крови павиана гамадрила, трансформ.герпесвирусом павианов	29
296Д	ECE - клетки роговического эндотелия человека, трансформированные A Pst 1 Ad sim 16	20
297Д	ACE - клетки роговического эндотелия человека, трансформированные ElaAd5 и клеточного протоонкогена Ha ras	20
298Д	CSE - клетки роговического эндотелия человека, трансформированные E1a и E1b Ad5	20
299Д	Mi 18 - клетки почки эмбриона коров, продуцент вируса лейкоза крупного рогатого скота	18
309Д	Sp EBR-5 - миелома мыши, устойчивая к 5 мг/мл бромистого этидия	12
327Д	L-RES-2 - клетки крысы	12
390Д	D-89/16 - В-лимфобластоидная линия человека, полученная трансформацией вирусом Эпштейна-Барра лимфоцитов периферической	42
455Д	L-BLV - фибробласты эмбрионов коровы, Продуцент вируса лейкоза крупного рогатого скота	18
460Д	EBV-H6 - В-лимфобластоидная линия человека, полученная трансформацией вирусом Эпштейна-Барра лимфоцитов периферической	42
503Д	ASCh-7 - астроциты спинного мозга эмбриона человека, трансформированные ДНК вируса обезьян Ad sim 16	58
504Д	СПГ-7(1) - клетки селезенки павиана гамадрила с гемобластозом	29
521Д	IMB-СНО-Hgm-I - штамм клеток китайского хомячка, устойчивый к гигромицину, полученный трансформацией клеток СНО-KI плазмидой PV3	1
522Д	IMB-СНО-Hgm-2 - штамм клеток китайского хомячка, устойчивый к гигромицину, полученный трансформацией клеток СНО-KI плазмидой PV3	1
535Д	L-929 - сублиния клеток, адаптированная к росту в суспензии, чувствительная к росту хламидий	59
552Д	СНО-GM-12 - штамм клеток яичников китайского хомячка, трансформированный плазмидой CMV-GM-333, продуцент гранулоцит-макрофаг колониестимулирующего фактора человека	32
637Д	СНО Еро-2 - продуцент эритропоэтина	7
642Д	Vero (B) - клетки адаптированы к среде Игла с 8% эмбриональной	2
651Д	СНО-ЭПО SP/M - продуцент рекомбинантного эритропоэтина человека	15
652Д	ПЛМГ-О - линия клеток получена из опухоли карциномы легкого Льюис; обладает высокой туморогенностью и метастатическим потенциалом	32
653Д	ПЛМГ-М - получена из ткани метастаза карциномы легкого Льюис; обладает высокой туморогенностью и метастатическим потенциалом	32
655Д	РСНсЕ395 – линия клеток китайского хомячка, продуцент рекомбинантного эритропоэтина	61

682Д	A4 - клетки человека, обладающие фенотипом множественной лекарственной устойчивости и радиорезистентности	5
686Д	mel IL - меланома человека	5
687Д	mel Kog - меланома человека	5
688Д	mel P - меланома человека	5
689Д	mel lbr - меланома человека	5
690Д	B-164/k - меланома мыши	64
691Д	TAT/Balb - аденокарцинома молочной железы мыши	64
695Д	FRL-95/05, - фибробласты легкого нормального эмбриона человека	51
697Д	ILG - клон клеток Mel IL меланомы человека, секретирующий рекомбинантный гранулоцит.-макрофагальный колониестимул. фактор человека	65
698Д	31G - клон клеток Mel 311 меланомы человека, секретирующий рекомбинантный гранулоцит.-макрофагальный колониестимул. фактор	65
699Д	KG - клон клеток mel Kog меланомы человека	65
700Д	IG — клон клеток mel IBR меланомы человека	65
701Д	26G - клон клеток mel 263 меланомы человека	65
702Д	PG - клон клеток mel IL меланомы человека	65
703Д	Mel 311 - меланома человека	45
704Д	mel Cher (170) - меланома человека	5
705Д	mel Mtp (289) - меланома человека	5
706Д	mel Ch (290) - меланома человека	5
707Д	mel Gus (291) - меланома человека	5
708Д	mel Si (292) - меланома человека	5
709Д	mel Is (293) - меланома человека	5
710Д	mel Rac (297) - меланома человека	5
711Д	mel Z (298) - меланома человека	5
712Д	mel Me (299) - меланома человека	5
713Д	mel Ksen (300) - меланома человека	5
714Д	mel BGF(301) - меланома человека	5
715Д	mel H (303) - меланома человека	5
716Д	CHO-hREpo-1 - линия клеток получена из CHO-K1 путем трансфекции интегративным вектором, содержащим ген эритропоэтина человека	66
717Д	CHO Epo-8 MDR - линия клеток получена методом стабильной трансфекции CHOtk ⁻ , клонированным геном эритропоэтина человека	67
724Д	RC291C - линия клеток светлоклеточного рака почки	45
725Д	226 ABmel - меланома человека	45
726Д	283mel - меланома человека	45
727Д	369ADmel - меланома человека	45
728Д	388mel - меланома человека	45
729Д	Mel M 632 - меланома человека	45

Список гибридом, депонированных в Коллекции культур клеток позвоночных в связи с подачей заявки на изобретение

N	Специфичность	Вид	изотип	Клон	Учреждение
002Д	Гормон роста человека	м	-	4/10	1
006Д	В6 антиген эритроцитов свиньи	м	IgM	5C5/B8-R1	12
011Д	А- Интерферон человека, рекомбинан.	м	IgG2b	Int 268	12
012Д	А- Интерферон человека, рекомбинан.	м	IgG2b	Int 258	12
013Д	А -Интерферон человека, рекомбинан.	м	IgG2b	Int 218	12
014Д	Вb антиген эритроцитов свиньи	м	IgM	4 /4-R35	12
018Д	NP белок вируса гриппа	м	-	MAKE-A9	1
021Д	Пероксидаза хрена	м	IgG1	AP-FC-2B4	20
022Д	Вирус гепатита В, HBs антиген	м	IgG1	HBs-ly	2
023Д	Лимфоциты Т человека, ОКТ6, ОЛТ8	м	IgG1	E2C10	8
024Д	Лимфоциты Т человека	м	IgG1	2E9	8
025Д	Тимоциты человека, субпопуляция	м	IgM	ИКО-13	5
026Д	Ангиотензин превращающий фермент	м	IgG1	A-ACE-3G8	20
027Д	Ангиотензин превращающий фермент	м	IgG1	A-ACE-5F1	20
028Д	Ангиотензин превращающий фермент	м	IgG1	A-ACE-9B9	20
033Д	Эндотелий пуповины человека	м	IgG1	HE25	20
034Д	Урокиназа	м	IgG1	UNG	20
035Д	Урокиназа	м	IgG1	UIG	20
036Д	α-Интерферон человека, рекомбинан.	м	IgG1	HI 1-F6	26
037Д	Холерный токсин	м	IgG1	RK-1	26
038Д	Обратная транскриптаза	м	-	AmRT12	2
039Д	Обратная транскриптаза	м	-	AmRT14	2
040Д	Вирус картофеля S	м	-	KBSM	4
041Д	Вирус картофеля У	м	-	KBYM	4
042Д	Вирус скручивания листьев картофеля	м	-	KBCM	4
043Д	Mycobacterium tuberculosis	м	IgG	MT-1	5
044Д	C3 компонент комплемента C3з фрагм.	м	IgG	LBP-G10	15
045Д	Пероксидаза хрена	м	IgG2b	PI-3-P	21
046Д	Раковый эмбриональный антиген	м	IgG1	C1B8C7.3	5
049Д	Тимоциты человека, субпопуляция	м	IgG2a	ИКО-20	5
050Д	HLFA1 антиген, альфа цепь	м	IgG3	ИКО-11	5
051Д	Thy 1 антиген	м	IgM	ИКО-10	5
052Д	Тимоциты человека, субпопуляция	м	IgG3	ИКО-31	5
053Д	Тимоциты человека, субпопуляция	м	IgG2a	ИКО-16	5
054Д	Тимоциты человека, субпопуляция	м	IgG3	ИКО-32	5
055Д	Эритроциты свиньи, Ba антиген	м	-	4D1-A2	12
056Д	Эритроциты быка, nu антиген	м	IgG	4C7	12
058Д	Эритроциты быка, C антиген	м	-	8D9-B8	12
059Д	Mycobacterium tuberculosis	м	IgG	2Д9	25
060Д	Mycobacterium tuberculosis	м	IgG	2A5	25
061Д	Mycobacterium tuberculosis	м	IgG	4A5	25
062Д	Mycobacterium tuberculosis	м	IgG	5G2	25
063Д	Щелочная фосфатаза	м	IgG1	MAM-2108	5
064Д	Раковый эмбриональный антиген	м	IgG	C12	5
065Д	Ia-подобный антиген	м	IgG3	ИКО-1	5
066Д	Тимоциты человека, субпопуляция	м	IgG2a	ИКО-13	5
067Д	HLFA-1 антиген, β цепь	м	IgG2a	ИКО-GM-I	5

068Д	Тимоциты человека, субпопуляция	м	IgG2a	ИКО-27	5
072Д	Иммуноглобулин человека, к цепь	м	IgM	3D5E4	7
073Д	Иммуноглобулин человека, к цепь	м	IgG1	5B4D6-1	7
074Д	Иммуноглобулин М человека	м	IgG1l	9C11D8-1	20
075Д	Иммуноглобулин человека, к цепь	м	IgG1	1G5G7	20
076Д	В лимфоциты человека, диф. антиген	м	IgG1	1D7	27
077Д	В лимфоциты человека, диф. антиген	м	IgG3	A7	27
078Д	Иммуноглобулин Е человека	м	IgG	IgE/11	36
080Д	Вирус осповакцины	м	IgM	МрХ-207	7
085Д	Вирус иммунодефицита человека	м	IgG	МАКС-12	2
086Д	Эритроциты человека , М антиген	м	IgM	М-86/1(1М-F5)	42
087Д	Эритроциты человека , А антиген	м	IgM	A86/44(44-F9)	42
088Д	Вирус гриппа А, гемагглютинин	м	-	Кр-3-30	42
089Д	Иммуноглобулин А человека	м	IgG	A3	29
090Д	Иммуноглобулин G человека	м	IgG2a	G3	29
091Д	Иммуноглобулин человека, λ цепь	м	IgG2a	L2	29
093Д	Вирус ящура, тип А22	м	-	GPA-4	4
094Д	Лиганд Е-рецептора	м	IgG2a	ИКО-15	5
095Д	Раковый эмбриональный антиген	м	IgG1	C3.C11.D4.2	5
096Д	АТФаза Са +	м	IgM	1F3	20
097Д	АТФаза Са+	м	IgM	4G2	20
098Д	АТФаза Са+	м	IgM	4B4	20
099Д	АТФаза Са+	м	IgG1	7D7	20
100Д	АТФаза Са+	м	IgG1	3B7	20
101Д	Вирус крымской геморрагической лих.	м	IgG2a	GEMA-3	2
102Д	Вирус крымской геморрагической лих.	м	IgG1	GEMA-10	2
103Д	Вирус крымской геморрагической лих.	м	IgG2b	GEMA-12	2
104Д	Yersinia pestis, капсульный антиген	м	-	2G6B3	8
105Д	Yersinia pestis, . капсульный антиген	м	-	2C3D5	8
106Д	Yersinia pestis, капсульный антиген	м	IsG2b	3C7C7	8
108Д	Интерлейкин-2, рекомбинантный	м	IgG1	13B1.2	9
109Д	Интерлейкин-2, рекомбинантный	м	IgG1	26B1.2	9
110Д	E.coli, мембранный антиген	м	IgG1	29B1.2	9
111Д	E.coli, мембранный антиген	м	IgG1	33B1.2	9
112Д	E.coli. мембранный ангитен	м	IgG1	22A1.2	9
113Д	Креатинкиназа	м	IgG1	A-KFK-5H12	22
114Д	α Интерферон человека, рекомбин.	м	IgG2a	LBP5A6	15
115Д	α1 тимозин	м	IgM	α-1/36/4	12
116Д	Эндонуклеаза	м	IgG2a	DN	41
117Д	Эндонуклеаза	м	IgG2a	DS	41
118Д	Вирус гриппа. М1 белок	м	IgM	Mb-4	8
119Д	Холерный токсин	м	IgG1	HT-1	8
120Д	Холерный токсин	м	IgG3	HT-4	8
121Д	Циклическая АМФ	м	IgM	HCAMP	20
122Д	Трансмиссивный вирус гастроэнтер.	м	-	HKEC-13	20
123Д	β галактозидаза	м	IgG1	KAK-5	5
124Д	Нидоген	к	IgG2a	EAM	5
125Д	Ламинин	к	IgG1	LAM	5
126Д	Кератин	м	IgG1	KH-1	5
127Д	Интерлейкин-2, рекомбинантный	м	IgG2b	LNKB-1	32
128Д	Интерлейкин-2, рскомбинантный	м	IgG1	LHKB-2	32
129Д	Т лимфоциты человека	м	IgG1	BCA-16	42
130Д	Острый миелобластидный лейкоз	м	IsG2a	BCA-09	42

131Д	Легумин	м	IgG	1H9Sp2/C	10
132Д	Холерный токсин	м	IgG	CT-114-Sp2/0	10
133Д	Francisella tularensis, полисахарид	м	IgG	T4E10	10
133Д	Вирус гриппа	м	IgG	МАНР-А2	10
135Д	Кератин 17	м	IgG2b	E3	5
140Д	Холерный токсин	м	IgG2b	H4/e12	8
141Д	Холерный токсин	м	IgG1	H2/11I	8
143Д	α 1 тимозин	м	IgM	α -1/6/4	12
146Д	Ареनावирус Пичинде	м	IgG2b	APMA-11	8
148Д	Вирус кори	м	IgG	BK-93.2	7
149Д	Проурокиназа	м	IgG	UIG-2	20
150Д	Проурокиназа	м	IgG	UNG-4	20
151Д	Вирус гриппа, гемагглютинин	м	IgG	A-173	13
156Д	Эритроциты быка, А2 антиген	м	-	6B6	12
157Д	Вирус гриппа, гемагглютинин	м	IgG1	АН-РСК-4Н8	5
158Д	γ Интерферон человека, рекомбинантн.	м	Ig2b	γ 89	12
159Д	γ Интерферон человека, рекомбинантн.	м	Ig2b	γ 745	12
160Д	Раковый эмбриональный антиген	м	IgM	C4.B5	5
163Д	Коллаген 1,111, человека	м	IgM	HC1	20
164Д	Коллаген IV, человека	м	IgM	HC4	20
166Д	Иммуноглобулин М, быка	м	IgG	MiM.PC.C-20	33
167Д	Фактор некроза опухолей человека	м	IgM	FNOMA	34
169Д	Вирус гепатита В, у детерминанта	м	-	HB2 γ	2
170Д	Фактор некроза опухолей человека	м	IgG1	3C7N	9
171Д	Фактор некроза опухолей человека	м	IgG2b	LTD9	9
172Д	Фактор некроза опухолей человека	м	IgG2b	7G1	9
173Д	Фактор некроза опухолей человека	м	IgG1I	13D10	9
175Д	Антитрипсин α 1	м	IgG1	HAT-7	23
176Д	Антитрипсин α 1	м	IgG1	HAT-5	23
178Д	Вирус простого герпеса, тип 2	м	IgG	HSV A.3.3	2
179Д	Интерлейкин 2, рекомбинантный	м	IgM	LBPL4F10	13
180Д	Липопротеин низкой плотности	м	IgG1	A-LDL-5F6	20
181Д	Ангиотензин превращающий фермент	м	IgG1	A-ACE-3A5	20
190Д	Компонент комплемента С 5	м	IgM	H2B10	15
191Д	Вирус гриппа	м	IgM	V11D7	15
192Д	Компонент комплемента 1Q	м	IgM	H3F9	15
193Д	Вирус гриппа, NP белок	м	IgG1	V25B4	15
194Д	Компонент комплемента C3	м	IgG2a	H4F5	15 ,
195Д	Вирус гриппа	м	IgG1	V25C4	15
196Д	Хориогонадотропин человека, β	м	IgG1	D25	35
197Д	Мелкоклеточная карцинома, FucGM	м	IgG3	F/b4	35
198Д	Вирус гриппа	м	IgG3	LBP V7H9	15
199Д	Иммуноглобулин человека	м	IgG1	LBP H1C2	15
200Д	Иммуноглобулин человека	м	TgG2b	LBP V24B4	15
201Д	Вирус гриппа, NP белок	м	IgG1	LBP H8C3	15
203Д	Иммуноглобулин G 4 человека	м	IgG	A53	36
204Д	Вирус клещевого энцефалита, Е белок	м	IgG1	FV-03	16
205Д	Внрус клещевого энцефалита, Е белок	м	IgM	FV-05	16
207Д	Вирус клещевого энцефалита, Е белок	м	IgG1	FV-07	16
208Д	Вирус клещевого энцефалита, Е белок	м	IgM	FV'-09	16
209Д	Вирус клещевого энцефалита, Е белок	м	IgG1	FV-10	16
210Д	Вирус клещевого энцефалита, Е белок	м	IgG1	FV-12	16
212Д	Вирус гриппа	м	IgG2a	LBPV3E7	15

213Д	Иммуноглобулин человека	м	IgG2a	LBP HSG5	15
214Д	Иммуноглобулин человека	м	IgG1	LBP H2E10	15
215Д	Компонент комплемента C3	м	IgG1	LBP 17C3	15
216Д	Компонент комплемента C3, D фактор	м	IgG1	LBP D9	15
217Д	Патоген Маллеу	м	IgG	PmVd-1	19
218Д	Виментин	м	IgM	300	43
219Д	Фибронектин цыпленка	м	IgG1	3	43
220Д	Витронектин быка	м	IgG1	6	43
221Д	Миоглобин человека	м	IgG1	MG8D6A2F7	16
222Д	Миоглобин человека	м	IgG1	MG4D4H10C4	16
223Д	Патоген амиотрофного лейкоспогноза	м	IgG2a	ALMA-7	11
224Д	Антитрипсин α1 человека	м	IgG2a	HAT-11	23
225Д	Вирус лейкемии коров, р24	м	IgG2b	BLV-p24-VI	18
226Д	Иммуноглобулин G2 быка	м	IgG1	B-IgG2-V2	18
227Д	Вирус карельской лихорадки	м	IgM	KL-34	2
229Д	Фактор некроза опухолей	м	-	BMV	32
230Д	Иммуноглобулин норки	м	-	HM-7	24
231Д	Иммуноглобулин норки	м	IgG1	4-34-A4	24
233Д	Интерлейкин 2, рекомбинантный	м	IgG1	30B1	9
234Д	Фосфотирозин	м	IgG	FTG11	9
235Д	Лютеинизирующий гормон человека	м	IgG	D85	35
236Д	Лютеинизирующий гормон человека	м	IgG	D38	35
237Д	Comma bacillus, серовар Огава	м	IgG	GX-B7/Og	28
238Д	Francisella tularensis holartica	м	IgM	GT-C7-65	28
240Д	Гормон роста быка	м	-	IMB 2/3	1
244Д	Вирус иммунодефицита человека	м	IgG3	IVP-39	7
245Д	Вирус кори, гемагглютинин	м	IgG2a	VK-13	7
246Д	Вирус иммунодефицита человека	м	IgG1	VIH-42	7
248Д	Вирус кори, гемагглютинин	м	IgG3	Vk-58	7
251Д	β клетки поджелудочной железы	м	Ig2b	C10G7	8
252Д	Интерферон человека, αA, αN	м	Ig2b	LBP NA12	15
253Д	Эритроциты человека, H антиген	м	IgM	H-86/50	42
254Д	Эритроциты человека, H антиген	м	IgM	H-86/44	42
255Д	Эритроциты человека, N антиген	м	IgM	N-86/2	42
256Д	Копропорфирин P-d	м	IgG1	3D/6E.2G	44
257Д	Инсулин	м	IgG1	5H.1B.10B	44
259Д	Иммуноглобулин G человека Fc фрагм.	м	IgG1	H2F5	7
260Д	Bacillus pertussis, поверхн. антиген	м	gG1	B.p.1E6	48
261Д	Bacillus pertussis, липополисахарид	м	IgG2b	B.p.IG12	48
262Д	Bacillus pertussis, липополисахарид	м	IgG2b	B.p.IBI	48
264Д	Эритроциты быка, h антиген	м	-	D1	12
269Д	αИнтерферон человека, рекомбинантн.	м	IgG1	LBP43	15
270Д	Эритроциты быка,	м	-	A8	12
271Д	αИнтерферон человека, рекомбинантн	м	-	IN-100	7
272Д	αИнтерферон человека, рекомбинантн.	м	-	IN-39	7
273Д	Галактозилтрансфераза	м	IgM	LC3E11	5
274Д	Хориогонадотропин человека	м	IgM	XG-1	5
275Д	Патоген Маллеус	м	IgG	MM-Pm1	48
276Д	Pseudomonas pathogenic	м	IgM	MM-Ppm1	48
277Д	Leptospira pomona, серовар pomona	м	-	L-Pom1	48
278Д	αИнтерферон человека, рекомбинантн.	м	IgG1	LBPA2	15

279Д	Вирус ящура, тип Q1,146S	м	-	GPYAO-8	6
281Д	HLA ABC антиген, мономорф.детер.	м	IgM	IPO-E12	27
282Д	Лимфоциты человека	м	IgM	IPO-E8	27
283Д	Вирус клещевого энцефалита, gpV3	м	-	KE-G11	47
284Д	Опухоль груди, мембранный антиген	м	IgG1	PMG-1	5
286Д	Вирус гепатита А, рекомбинант.белок	м	IgG2b	HAV-1-28	12
287Д	Пролактин человека, быка	м	IgG2b	P13C9	15
288Д	Кортизол	м	IgG2b	F35	15
289Д	Раковый эмбриональный антиген	м	IgG1	C5	5
290Д	Раковый эмбриональный антиген	м	IgG2b	F	5
295Д	Лимфоциты быка	м	IgG2b	BBL-D9	18
300Д	Иммуноглобулин человека	м	IaG2b	HI-1	23
301Д	Иммуноглобулин человека	м	IgG1	HI-13	23
302Д	Brucella	м	IgG2a	BAMA	46
303Д	Brucella	м	IgG2a	BIMA	46
306Д	Legionella pneumophila, цитоллизин	м	IgG1	B6/3	47
307Д	Рикетсии, поверхностный антиген	м	IgG2a	A-3/D	47
308Д	Аренавирус Ласа	м	IgG1	APMA-A	11
310Д	Гранулоциты. Моноциты	м	IgG2a	ИКО-12	5
313Д	Тимоциты человека	м	IgM	ИКО-44	5
314Д	CD38	м	IgG3	ИКО-45	5
315Д	CD43	м	IgG2a	ИКО-58	5
316Д	CD45	м	IgG2a	ИКО-59	5
317Д	VIII1фактор коагуляции крови	м	-	380F2	2
318Д	Компонент комплемента С 5	м	IgG1	H37gl2	15
319Д	Иммуноглобулин человека	м	IgG2b	HSC2	15
320Д	Вирус бешенства Внуково 32,NPбелок	м	IgG3	Kriv-C5	2
322Д	Rickettsia prowazeki, термостаб. антиген	м	IgG2a	C5/2,	47
323Д	Фибриноген человека А. α цепь	м	IgG1	5A2	20
324Д	АропротеинВ100щелочная фосфатаза	би	IgG1	C9C4F7	20
325Д	Вирус бешенства Внуково 32,NPбелок	м	-	Крив-А7	2
326Д	Вирус лейкемии коров, gp51	м	IgG1	BLV-gp51-V7	18
330Д	Лимфоциты быка	м	IgG	GLB-A5	41
331Д	Лимфоциты быка	м	IgG	GLB-E2	41
332Д	Вирус гепатита А	м	IgG2a	BH-1	32
334Д	Тимоциты человека	м	IgM	ИКО-63	5
336Д	Иммуноглобулин мыши	к	IgG1	ram1	5
337Д	Иммуноглобулин мыши	к	IgG2b	ram 4	5
338Д	Иммуноглобулин мыши	к	IgG1	Ram 5	5
339Д	Иммуноглобулин мыши	к	IgG2a	ram 6	5
340Д	В лимфоциты человека	м	IaG	DPO-24	27
341Д	Иммуноглобулин мыши	м	IgG1	ram 12	5
342Д	Эритроциты человека, В(111) антиген	м	IgM	B-85/2	42
343Д	Эритроциты человека, А(11) антиген	м	IgM	A-86/3	42
345Д	Трансферрин человека	м	IgG	IC10Sp2/0	31
346Д	αФетопропротеин человека	м	IgG1	C2-84	5
347Д	αФетопропротеин человека	м	IgG1	F2-84	5
348Д	αФетопропротеин человека	м	IgG1	C9-84	5
349Д	αФетопропротеин человека	м	IgG1	D10-84	5
350Д	РНК полимераза фага Т7	м	IgG1	IMB-4G3	1
351Д	РНК полимераза фага Т7	м	IgG1	IMB-7C9	1
353Д	Вирус гриппа, белок М	м	IgG1	AM-KRCK-2ds	14

354Д	Вирус гриппа А. В. белок М	м	IgG1	AM-KRCK-IB	14
355Д	Пероксидаза хрена	м	IgG1	7G.ID.2A	44
356Д	Копропорфирин (Pd+2)	м	IgG1	5D.9G.2F	44
357Д	Рак груди, мембранный антиген	м	IgG1	Py-1	5
358Д	Прогастрисцин	м	IgM	PG24C5L	5
359Д	Эпидермальный фактор роста	м	IgM	R 10	12
361Д	<i>Chlamydia psittaci</i> supspe. антиген	м	-	Chi-154.13	
362Д	<i>Chlamydia psittaci</i> supspe. антиген	м	-	Chi-62.18	7
363Д	Глутаматный рецептор	м	IgG1	A-HRP-7C5	5
366Д	Териотропный гормон человека	м	IgG1	T7	36
367Д	Теофиллин	м	IgG2a	2G-3	36
368Д	Зрелые Т лимфоциты человека	м	IgG2a	ИКО-90	5
369Д	Аденокарцинома молочной железы	м	IgG1	ИКО-84	5
373Д	Эпидермальный фактор роста	м	IgG	5A9	12
374Д	Коровий короновирс	м	IgG2b	3D1D4	46
375Д	Коровий короновирс	м	IgG2b	3G6D5	46
376Д	Иммуноглобулин <i>Pario hamadryas</i>	м	IgG	PGG1	29
377Д	Щелочная фосфатаза	м	-	APP.I	5
381Д	Вирус крымской геморрагической лих.	м	IgG2a	GEMA9	2
384Д	Чумный микроб, капсульный антиген	м	IgG	G4-B8/E5	28
386Д	Холерный вибрион 01	м	IgG	GX-F8/01	28
387Д	Грам-положительные бакт., пептидоглик.	м	IgM	MM-DaLa-1	48
388Д	Патоген <i>Malleus</i>	м	IgM	M.m-P.pm2	48
389Д	<i>Leptospira pomona</i> . Сероват <i>pomona</i>	м	IgA	L.Pomi.1	48
390Д	D антиген	ч	-	D-89/H6	42
391Д	Фолликулостимулирующий гормон св.	м	IgG	F2	35
392Д	Соматотропный гормон быка	м	IgG	F7	35
393Д	Пролактин свиньи	м	IgG	F10	35
394Д	Пролактин свиньи	м	IgG	F11	35
395Д	β -Хориогормон человека	м	IgG	F12	35
396Д	Соматотропный гормон свиньи	м	IgG	F13	35
397Д	β -Хориогормон человека	м	IgG	F14	35
398Д	α -Хориогормон человека	м	IgG	F15	35
399Д	Соматотропный гормон свиньи	м	IgG	F17	35
400Д	Фактор некроза опухолей, пероксидаза	би	IgG1	PT	32
401Д	Пероксидаза хрена	м	IgG2b	RI- 16-PTG	21
402Д	Иммуноглобулин Е человека	м	IgG	RI-8-E/4F4	21
403Д	Соматотропный гормон свиньи	м	IgG	RI-8-E/5D4	21
404Д	β 2-Микроглобулин человека	м	IgM	B2M1L	5
405Д	β 2-Микроглобулин человека	м	IgM	B2M2L	5
406Д	Прогастриксин	м	IgM	PG.115A5L	5
407Д	Копропорфирин	м	IgG1	KP1.1	5
408Д	Копропорфирин	м	IgG1	8KPL	5
409Д	Рак груди, мембранный гликопротеин	м	IgG1	PMG-2	5
410Д	Вирус энцефалита, EI gp	м	IgG1	MB197	50
411Д	<i>Yersinia pestis</i> , F1 антиген	м	IgG2b	E6/B8	8
412Д	<i>Yersinia pestis</i> , F1 антиген	м	IgM	F3N3	8
413Д	<i>Yersinia pestis</i> , F1 антиген	м	IgM	6.10.g.1	8
414Д	Вирус иммунодефицита человека	м	IgG2a	IV-10	8
416Д	Вирус иммунодефицита человека	м	IgG1	PS-Z	8
417Д	Вирус иммунодефицита человека	м	IgM	AOK-8	8
418Д	Вирус иммунодефицита человека	м	IgM	AOK-7	8
419Д	Вирус иммунодефицита человека	м	IgM	LT4-1	8

420Д	Инсулин свиньи	м	IgG2a	6E.6G.2A	44
421Д	Глиальный кислый фибриллярн. белок	м	IgG1	5C7	36
422Д	<i>Yersinia pestis</i> , мембранный антиген	м	IgG1	YpG-12	34
423Д	Нейрофиламенты	м	IgG1	2C4-17	36
424Д	Вирус гепатита В, HBs-антиген	м	-	HBs-22a	2
425Д	CD7	м	IgM	CD7-4D10	51
426Д	<i>Yersinia pestis</i> , липополисахарид	м	IgG	Yp.LPS.A6.Sp	52
427Д	Иммуноглобулин, Fab-фрагмент	м	-	M2F12	7
428Д	Транскортин	м	IgG2b	7D3	15
429Д	<i>Francisella tularensis</i> holartic	м	IgM	GT-G9/C7	28
430Д	<i>Yersinia pestis</i> , липополисахарид	м	IgG	H5B11	28
431Д	Холерный токсин	м	IgM	GT-B11/5	28
433Д	<i>Francisella tularensis</i> holartic	м	Iκt2b	GXEА6C4	28
434Д	<i>Yersinia pestis</i> , F1 антиген	м	IgG	E6/H8-G11	28
436Д	Вирус иммунодефицита человека, р24	м	-	GAG-44	2
437Д	Вирус иммунодефицита человека, gag	м	-	GAG-56	2
438Д	Вирус энцефалита	м	-	VEL-C6	2
439Д	Инсулин человека	м	IgG1	F.6F.9	26
441Д	фактор некроза опухолей α	м	IgG2a	10FN	9
442Д	Пирофосфатаза	м	IgG1	PFB1	9
443Д	Кортизол	м	IgG2a	AF1	55
444Д	Иммуноглобулин человека, α цепь	м	IgG2a	RI-4-La/C9	45
443Д	Иммуноглобулин человека, α цепь	м	IgG1	R1-7-KAF/C11	45
446Д	Иммуноглобулин человека, α цепь	м	IgG2a	RI-6-Ka/4G7	45
447Д	Иммуноглобулин человека, α цепь	м	-	RI5-LAF/3D12	36
448Д	Теореотропин	м	IgG	T-32	11
449Д	Ареनावирус Ласа	м	IgG	APMA-L-1	11
450Д	Вирус простого герпеса, тип1	м	IgG	MAG-1	11
451Д	Ареनावирус Мачуро	м	IgG1	APMA-M	11
452Д	Трансферрин человека	м	.	IF7	12
453Д	Натуральные киллеры	м	IgG2a	NK-1	12
454Д	Вирус гриппа А (H3N2)	м	IgG1	B23	56
456Д	Антиген жирных глобул молока	м	IgM	ИКО-25	27
457Д	Общий лейкоцитарный антиген	м	IgM	IPO-27	27
458Д	Ядерный антиген	м	IgM	IPO-38	42
459Д	Эритроциты человека, N антиген	м	IgG3	N-89/6	42
461Д	Эритроциты человека, H антиген	м	IgM	H-89/8	42
462Д	Эритроциты человека, N антиген	м	Ig2b	N-89/16	42
463Д	Эритроциты человека	м	IgG1	G-89/16	42
464Д	A1антитрипсин	м	IgG	AAT-EC1	29
466Д	<i>Yersinia pestis</i> , F1 антиген	м	IgG1	K6/h9	8
467Д	Холерный энтеротоксин А субъединиц	м	IgG1	A1/C11	8
469Д	Холерный энтеротоксин	м	IgM	HT-2	8
470Д	Иммуноглобулин М человека	м	IgG2b	B2	14
471Д	Иммуноглобулин М человека, Fc фраг.	м	IgG1	B3	14
472Д	Иммуноглобулин М человека	м	IgG1	B5	14
473Д	Иммуноглобулин М человека	м	IgG1	1A4	14
474Д	Иммуноглобулин G человека	м	IgG1	L2H2	14
475Д	Вирус ящура, тип 01	м	IgG	GPA01-88	6
476Д	Вирус ящура, А5	м	IgG	GP0A5-89	6
477Д	Вирус ящура, C1-564	м	IgG	GPOC-88	6
478Д	A1 микроглобулин человека	м	IgG1	22-PB-4	35
479Д	Вирус энцефаломиелита	м	IgG2a	1B2	50

480Д	Волосковые клетки, цитоплаз. Антиген	м	IgM	DPO-31	27
481Д	Вирус иммунодефицита человека 1,р24	м	-	NS4E12	50
482Д	Вирус иммунодефицита человека 1,р24	м	-	NS6D1	50
483Д	Вирус иммунодефицита человека 1,р24	м	-	NS6G11	50
484Д	Вирус иммунодефицита человека 1,р24	м	-	NS5E4	50
485Д	Вирус иммунодефицита человека 1,р24	м	-	Y3G10	50
486Д	Вирус иммунодефицита человека 1,р24	м	-	Y5E6	50
487Д	Вирус иммунодефицита человека 1,р24	м	-	Y9G11	50
488Д	Mycobacterium tuberculosis	м	IgG	MT-1	25
489Д	Иммуноглобулин G кролика	м	-	N15	3
490Д	Иммуноглобулин G кролика Fab' фрагм.	м	-	4B7	3
491Д	Иммуноглобулин G человека	м	IgG2a	H11G5	14
492Д	Иммуноглобулин G человека	м	IgG1	A5B8	14
494Д	Тиротропин	м	IgG1	L5D6G4	36
497Д	Катепсин E человека	м	IgG1	S.1	5
499Д	Катепсин E человека	м	IgG1	S.3	5
500Д	Катепсин E человека	м	IgG1	S.4	5
501Д	Катепсин E человека	м	IgG1	S.5	5
502Д	Пепсиноген человека	м	IgM	PGA-1	8
505Д	Ингибитор протеазы	м	IgG1	M2	20
506Д	Mycobacterium tuberculosis	м	-	2A1	25
507Д	Вирус бешенства, нуклеокапсид. белок	м	IgM	T-25	7
509Д	Вирус гепатита B, HBs антиген, а дет.	м	IgG	HBALT-1	7
510Д	Вирус гепатита B, HBs антиген, а дет.	м	IgG	HBALT-2	7
513Д	Вирус ящура, VP1,145-155	м	IgG	12-GPKLH-90	6
514Д	Вирус ящура, VP1,141-160	м	IgG	10-GPOVA-90	6
515Д	Вирус ящура, Азия 1 146S	м	IgG	FF2-4	34
517Д	Fransisella tularensis, Ig рецептор	м	IgG2a	11A4-90	6
518Д	Brucella, мембранный антиген	м	IgG1	1C3H4	46
520Д	Миозин-1, сердечный, легкая цепь	м	-	MLC-1c	41
530Д	ДНКазы Mn- зависимая	м	IgG	4E	57
531Д	Проинсулин	м	IgG2b	PRIN	54
534Д	Трансмиссивный вирус гастроэнт. св.	м	-	TGE4-1	30
541Д	Иммуноглобулин A человека	м	IgG2a	P1-14-A/1H7	45
542Д	Иммуноглобулин M человека	м	IgG1	P1-9-M/ 1A6	45
543Д	Иммуноглобулин человека, к цепь	м	IgG2a	P-6/5D4	45
544Д	Иммуноглобулин человека, лцепь	м	IgG2a	P-7/3H4	45
545Д	Инсулин	м	IgG2b	K-1	54
546Д	Инсулин	м	IgG2a	K-4	54
547Д	Соматотропин быка	м	-	CTK-1	33
548Д	Соматотропин быка	м	-	CTK-8	33
549Д	Иммуноглобулин M свиньи	м	IgG2b	2F3/1	33
550Д	Иммуноглобулин M свиньи	м	IgG2b	A4	33
553Д	Лимфоциты быка, BOIA-W8 антиген	м	IgG2b	G2	12
554Д	Мононуклеары быка, 70K поверх, gr	м	IgM	GP-57	12
555Д	Мононуклеары быка, 70K поверх, gr	м	IgG1	GP-29	12
556Д	Инсулин быка	м	IgG1	1A8	12
557Д	Pseudomonas pseudomallei, ЛПС	м	IgM	MD-5	34
558Д	Трансферрин крысы	м	IgG1	E5	12
559Д	Вирус гриппа тип (H3/N7)	м	IgG1	HAD3SP84	53
560Д	Вирус геморрагии кролика	м	IgM	4C1189	53
561Д	Вирус болезни Ибараки	м	IgG1	2D10.90	53
562Д	Вирус клещевого энцефалита, E белок	м	-	TBE-9-6	2

563Д	Вирус клешевого энцефалита. NS3	м	-	TBE-6	2
564Д	Иммуноглобулин человека, л цепь	м	IgG1	E5	14
565Д	Иммуноглобулин человека G	м	IgG1	2F11E11	14
567Д	Иммуноглобулин человека, к цепь	м	IgG1	3H2D2	14
568Д	Иммуноглобулин человека	м	-	2H11F9	14
569Д	Pd(2+) копропорфирин, гонадотропин	би		4D911.E.2E	44
570Д	Pseudomonas sp., формиадегидрогеназ	м	Ig2a	11G.2D.9B	44
576Д	Вирус гриппа лошадей H3N8, гемаггл	м	-	HTV-2-16	33
577Д	Вирус гриппа лошадей H3N8 гемаггл.	м	-	HIV-2-7	33
578Д	Меллитин, пчелиный токсин	м	IgG1	M2F9	14
579Д	α Фетопротеин человека	м	IgG1	BI	35
580Д	α Фетопротеин человека	м	IgG1	B3	35
581Д	Тиреоидный гормон человека	м	IgG1	B4	35
582Д	Гормоны (TTG, HGG, HFSG)	м	IgG1	B5	35
583Д	Escherichia coli, энтеротоксин ST1	м	IgG1	H12D12	60
584Д	Escherichia coli, энтеротоксин ST1	м	IgG2a	E44C7G3	60
585Д	Фактор некроза опухолей человека α	м	IgG2a	PC1T5	61
586Д	фактор некроза опухолей человека α	м	IgG1	PC1T6	61
587Д	Фактор некроза опухолей человека α	м	IgG1	PC1T3	61
588Д	Фактор некроза, опухолей человека α	м	IgG1	PC1T7	61
591Д	Тромбоциты человека, 1 1b-111a gr	м	IgG1	CRC64	20
594Д	Синтетический углевод, Т-альфа-альфа	м	IgG1	CH.3	5
595Д	Синтетический углевод, Т-альфа-альфа	м	IgG1	CH.4	5
601Д	Интерлейкин 1 человека	м	IgG1	PC-1T1	61
602Д	Интерлейкин 2 человека	м	IgG1	PC-1T2	61
603Д	Иммуноглобулин человека, α цепь	м	IgG1	PC-1T4	61
604Д	Иммуноглобулин человека, к цепь	м	IgG1	PC-1T8	61
605Д	Иммуноглобулин человека G1,2,3,4	м	IgG2b	PC-1T9	61
606Д	α Интерферон человека	м	IgG1	PC-2T1	61
607Д	α Интерферон человека	м	IgG1	PC-2T2	61
608Д	α Фетопротеин человека	м	IgG2a	PC-2T3	61
609Д	α Фетопротеин человека	м	IgG1	PC-2T4	61
610Д	α Фетопротеин человека	м	IgG1	PC-2T5	61
611Д	Эритропоэтин человека	м	IgG2a	PC-2T6	61
612Д	Yersinia pestis, ц АМФ	м	IgG	C-A2	28
613Д	Salmonella typhimurium	м	IgG	F91V	28
614Д	Холерный вибрион	м	IgG	C11/RO	28
615Д	Brucella, родоспецифический антиген	м	IgG	D10-12B	28
616Д	Холерный вибрион	м	IgM	E9G6	28
617Д	Лептоспира; поверхностный антиген	м	IgM	C 11	28
618Д	Холерный вибрион	м	IgG	F5/In	28
619Д	Bordetella pertusis	м	IgM	E10	28
620Д	Bordetella pertusis	м	IgG	A8	28
621Д	Фенобарбитал	м	IgG2b	1A9	36
622Д	Тироксин	м	IgG1	1B7	36
623Д	Дигоксин	м	IgG1	D22	36
624Д	Тиреотропин	м	IgG1	B2T	36
625Д	Тиреотропин	м	IgG1	B4T	36
631Д	Rho(D) антиген	м	IgG1	HG-92	42
632Д	Rho(D) антиген	м	IgM	HM-92	42
633Д	Rh (C) антиген	м	IgM	C93/4h	42
634Д	Эритропоэтин человека, рекомбинант.	м	IgG1	PCE/D7	61
635Д	Эритропоэтин человека, рекомбинант.	м	IgG1	PCE/D10	61
636Д	Эритропоэтин человека, рекомбинант.	м	IgG1	PCE/F6	61
641Д	CD3	м	IgG2b	LT3c	8

642Д	Вирус болезни Ауэски	м	IgG	GVBAU-94/1	6
643Д	Таg-полимераза	м	IgG2b	8C1	20
644Д	Тромбоциты, 1 1b-111a гликопротеин	м	IgG1	FRa-Mon	20
645Д	Таg- полимераза	м	IgG1	12G1	20
647Д	Вирус везикулярной болезни свиней	м	IgG1	VBSN1-96	6
648Д	Поверхностный антиген возбудителя мелиоидоза	м	IgG	MVd-2(1F4)	19
649Д	Компонент гемолизина возбудителя мелиоидоза	м	IgG3	MVd-4(2A6)	19
650Д	Общий антиген для возбуд. Сапа и мелиоидоза	м	IgM	GMVd-3(268)	19
654Д	Холерный токсин	м	IgM	GCT-4F7	28
656Д	Человеческий рекомбинант. инсулин	м	IgG1	D5	15
657Д	Человеческий рекомбинант. инсулин	м	IgG1	4D11	15
658Д	Человеческий рекомбинант. проинсулин	м	IgG1	4F3	15
659Д	Человеческий рекомбинант. проинсулин	м	IgG1	P7D10	15
660Д	Простатический специфич. антиген (ПСА)человека	м	IgG1	ICO-204	5
661Д	Простатический специфич. антиген (ПСА)человека	м	IgG1	ICO-168-C ₇	5
662Д	Гранулоцитоколониестимулирующий фактор (GCSF) Человека	м	IgG1	ICO-220	5
663Д	Белок миелина человека	м	IgG1	F9	62
664Д	Белок миелина человека	м	IgG1	F7	62
665Д	Нейроспециф. Нейролаза Человека	м	IgG1	5C4D12	62
666Д	Нейроспециф. Нейролаза Человека	м	IgG1	5C5	62
667Д	Глиофибриллярный кислый Протеин	м	IgG1	D8	62
668Д	Глиофибриллярный кислый Протеин	м	IgG1	D4	62
669Д	Нуклеопротеин вируса В Человека	м	IgG1	2/3	13
670Д	Гемагглютинин вируса В человека	м	IgG1	19/10	13
671Д	Гемагглютинин вируса АНЗ/Н1	м	IgG1	23/3	13
672Д	Helicobacter pillory	м	IgM	GHP/B5	28
673Д	Y. Enterocolitica	м	IgG	64/09	28
674Д	Холерный вибрион 0139	м	IgM	D/11/0139	28
675Д	Гексон аденовируса 6 типа	м	IgG	6/ 1	13
676Д	Секреторный иммуноглобулин А человека (slgA)	м	IgG 1	STE3	63
677Д	Секреторный иммуноглобулин А человека (slgA)	м	IgG1	STE4	63
678Д	Yersinia enterocolitica 09	м	IgG	B10	52
679Д	Yersinia enterocolitica 03 и 09	м	IgG	C10	52
680Д	Yersinia enterocolitica 03	м	IgG	G7	52
681Д	Гемагглютинин вируса гриппа типа В	м	IgG	4H7	13
683Д	Фактор фон Виллебранда	м	IgG1	2H2	20
684Д	Фактор фон Виллебранда	м	IgG1	5C3	20

685Д	Фактор фон Виллебранда	м	IgG1	7D12	20
692Д	<i>Yersinia enterocolitica</i> 04,32	м	IgG	2F4	52
693Д	<i>Yersinia enterocolitica</i> 05,27	м	IgG	2C9	52
694Д	<i>Yersinia enterocolitica</i> 06,30	м	IgG	3C11	52
696Д	<i>Vibrio cholerae</i> 0139	м	IgG	5D3	52
718Д	Вирус гриппа человека и птиц типа А, субтипа Н5, гемагглютинин	м	IgG2a	3H9	13
719Д	Вирус гриппа человека типа В, гемагглютинин	м	IgG	B/4H1	13
720Д	Вирус гриппа человека типа В, гемагглютинин	м	IgG1	4H7	13
721Д	Вирус гриппа человека и птиц типа А, нуклеопротеин	м	IgG	6Д11	13
722Д	Лактаптин молока человека, линейная антигенная детерминанта	м	IgG1	RIM9	69
723Д	Бензо[а]пирен и Бензо[а]антрацен	м	IgG1	BpBa1	68

**Список основных учреждений-потребителей образцов клеточных линий Российской коллекции
клеточных культур**

Россия

Санкт-Петербург

Институт цитологии РАН
 Институт акушерства и гинекологии им. Д.О.Отта РАМН
 Институт экспериментальной медицины РАМН
 Институт гриппа РАМН
 Институт растениеводства РАСХН
 Фирма "Иммунобиосервис"
 Петербургский институт ядерной физики РАН
 Институт особочистых биопрепаратов
 Гос мед. университет им. И.П. Павлова
 НПЦ «Медбиоспектр»
 Санкт-Петербургский гос. Университет
 Академия ветеринарной медицины
 Институт онкологии им. Н.Н.Петрова МЗ РФ
 Институт биорегуляции и геронтологии
 Институт кардиологии МЗ РФ
 Центральный НИ рентгено-радиологический институт МЗ РФ;
 Биомедицинский Центр (ОАО)
 Фирма "Биолот"
 Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова РАН
 Всероссийский НИИ птицеводства РАСХН
 НИИ генетики и разведения животных РАСХН
 НИИ гидролиза растительных материалов
 НИИ детских инфекции МЗ РФ
 Биомедицинский Центр
 Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова МО
 НИИ медицинской микологии МАПО
 Педиатрическая медицинская академия
 НИИ гематологии и трансфузиологии МЗ РФ
 Институт токсикологии МЗ РФ
 НИИ военной медицины МО РФ
 Государственный научный центр пульмонологии МЗ РФ
 Городской центр вирусологических исследований
 ООО «Герофарм»
 ВЦЭРМ МЧС РФ (НИЛ клеточного и гуморального иммунитета)
 НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера МЗ РФ
 Институт травматологии и ортопедии им. Р.Н. Вредена МЗ РФ
 Медицинская академия последипломного образования
 Институт высокомолекулярных соединений РАН

Москва

МГУ им. М.И. Ломоносова
 Российский Онкологический центр РАМН
 Российский кардиологический центр МЗ РФ
 Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН Институт биологии
 развития им. Н.К.Кольцова РАН
 Институт вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН
 Сельскохозяйственная академия РАСХН
 «НПО Микроген» МЗ РФ
 ООО «Прогрессивные Био.Мед.Тех.»

ГИСК им. Тарасевича МЗ РФ
 НИИ физико-химической медицины МЗ РФ
 Институт вирусных препаратов МЗ РФ
 Институт молекулярной генетики РАН
 ООО «Центр инженерной иммунологии»
 Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН
 Щелковский биокомбинат
 Московское предприятие бактериальных препаратов
 Медико-генетический научный центр РАМН
 НЦ по разработке и внедрению совр. методов молекулярной диагностики МЗ РФ
 НПЦ медицинской биотехнологии МЗ РФ
 ООО «Лаборатория Биоскрининга»
 ГУНИИ общей патологии и патофизиологии РАМН
 Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН
 Московский физико-технический институт РАН
 НИИ канцерогенеза РАМН
 Медицинская академия им. И.М.Сеченова
 Институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова РАМН
 Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН
 Институт туберкулеза МЗ РФ
 Институт полиомиелита и вирусных инфекций РАМН
 Институт генетики промышленных микроорганизмов
 Институт экспериментальной ветеринарии РАСХН
 Институт морфологии человека РАМН
 Институт медицинской генетики РАМН
 Институт переливания крови МЗ РФ
 ЗАО «Евроген РУ»
 ООО «БИПРОМ»
 Институт хирургии им. А. В.Вишневского РАМН
 Центр «Биоинженерия»
 Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского РАН
 НИИ трансплантологии и искусственных органов МЗ РФ
 Всероссийский НИИ сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН
 Институт иммунологии РАМН
 Институт прикладной молекулярной биологии МЗ РФ
 Институт биологии гена РАН
 Институт акушерства и гинекологии МЗ РФ
 ФГУН НИИ дезинфектологии Роспотребнадзора
 Российский государственный медицинский университет им. Н.И.Пирогова
 ФГУ НИИ глазных болезней им. Гельмгольца
 Научный центр психического здоровья РАМН
 НИИ биохимической физики им. Ю.А.Овчинникова РАН
 НИИ онкологии им. Герцена
 НИИ медико-биологических проблем
 НО Фонд «Наука долголетия»
 Институт охраны материнства МЗ РФ
 ОАА «Биохиммаш»
 ООО «Витафарма»
 ООО «Русбиолинк»
 ООО НП «ПанЭко»

Пушино

Институт экспер. и теорет.биофизики РАН
 Институт биофизики клетки РАН
 Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН
 Институт Белка РАН

Обнинск

Медицинский научный радиологический центр РАМН

Электрогорск

Академия мед.техн.наук

Дубна

Объединенный институт ядерных исследований РАН

Чехов

Институт иммунологии

Покров

Всероссийский НИИ вирусологии и микробиологии РАСХН

Юрьев (Владимирская обл.)

Институт защиты животных РАСХН

Оболensk

Государственный научный центр прикладной микробиологии

Петрозаводск

Государственный университет

Калининград

Областная станция переливания крови

Ростов-на-Дону

Научно-исследовательский противочумный институт МЗ РФ

Государственный медицинский институт

Государственный университет

НИИ микробиологии и паразитологии

ООО «ИнВита-Группа»

Новочеркасск

Северо-Кавказский НИИ ветеринарии

Краснодар

Кубанский государственный университет

Курск

Биофабрика

Владимир

ВНИИ защиты животных РАСХН

Казань

Институт биохимии и биофизики РАН

ООО «Мединвест»

Казанский государственный университет

Казанский государственный институт усовершенствования врачей

Казанский научно-исследовательский ветеринарный институт РАСХН

Н.Новгород

Г.П. по производству бактериальных препаратов

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. И.Н.Блохина

Государственный университет

Пермь

НПО «Биомед»

ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ

Саранск

Мордовский университет

Самара

НИИ гигиены МЗ РФ

Екатеринбург

Институт дерматологии и иммунопатологии МЗ РФ

Институт дерматовенерологии и иммунологии МЗ РФ

Областная детская клиническая больница

Сельскохозяйственный институт

Каспий

Прикаспийский научно-исследовательский ветеринарный институт РАСХН

Саратов

Российский НИ противочумный институт «Микроб» МЗ РФ

Институт физиологии и биохимии растений РАН

Государственный университет

Волгоград

НИИ гигиены, токсикологии и профпатологии МЗ РФ

Волгоградский НИИ противочумный МЗ РФ

Астрахань

Каспийский НИИ сельского хозяйства РАСХН

Новосибирск

Институт клинической иммунологии МЗ РФ

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

Институт цитологии и генетики СО РАН

Институт биоорганической химии СО РАН

Институт прикладной химии СО РАН

Институт молекулярной генетики СО РАН

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН

Центральный Сибирский ботанический сад

НПЦ «Вектор»

Омск

Сибирский ветеринарный институт

Томск

НИИ вакцин и сывороток

НЦ онкологии РАМН

Кемерово

Технологический институт пищевой промышленности

Тюмень

Государственный медицинский институт

Иркутск

Лимнологический институт СО РАН

Противочумный институт Сибири и Дальнего Востока

Уфа

Уфимский НИИ вакцин и сывороток МЗ РФ

Красноярск

Институт биофизики РАН

Государственный медицинский институт

Хабаровск

Хабаровский НИИ охраны материнства и детства СО РАМН

НИИ экспериментальной медицины

Владивосток

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН

Владивостокский медицинский институт

Владивостокский НИИ экспериментальной медицины ДВО РАМН

Биолого-почвенный институт ДВО РАН

Страны СНГ

Белоруссия

Минск

НИИ ветеринарии Белоруссии

НИИ микробиологии и эпидемиологии МЗ Белоруссии

НИИ онкологии МЗ Белоруссии

Институт биоорганической химии БАН

Институт физиологии БАН

Институт биофизики и клеточной инженерии БАН

Республиканский научно-практический Центр гематологии и трансфузиологии МЗ Белоруссии

Институт радиобиологии
Институт экспериментальной медицины

Гродно

Институт биохимии

Украина

Киев

Институт молекулярной биологии и генетики НАНУ
Институт биофизики НАНУ
Институт ядерных исследований НАНУ
Институт ветеринарии
Институт физиологии им. Богомольца
Институт проблем онкологии им. Р.Е.Кавецкого НАНУ
Институт усовершенствования врачей
Институт нейрохирургии
Институт педиатрии, акушерства и гинекологии
Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАНУ
Фирма «Биотек»

Одесса

Одесский государственный университет им. И.И. Мечникова
Институт вакцин и сывороток им. И.М. Мечникова

Харьков

Институт проблем криобиологии и криомедицины
Институт дерматологии и венерологии

Днепропетровск

Днепропетровский медицинский институт

Черновцы

Черновицкий государственный университет

Армения

Ереван

Институт зоологии акад. наук. Армении
Институт экспериментальной медицины
Институт онкологии
Институт экспериментальной биологии

Грузия

Тбилиси

Тбилисский государственный университет
Институт физики
Институт фармакохимии им. Э.Г. Кутателадзе
Институт экспериментальной патологии и терапии

Казахстан

Астана

РГП «Национальный центр биотехнологии Республики Казахстан»

Алматы

Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт
Казахский институт кардиологии
Институт сельского хозяйства
НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней

Гвардейский (пгт)

Филиал Национального центра биотехнологии Республики Казахстан

Узбекистан

Ташкент

Институт химии растительных веществ
Узбекский научно-исследовательский ветеринарный институт

Киргизия

Институт биохимии и физиологии

Киргизский НИИ эпидемиологии, микробиологии и гигиены труда
НИИ онкологии и радиологии

Таджикистан

Таджикский научно-исследовательский ветеринарный институт

Туркмения

Туркменский институт глазных болезней

Страны дальнего зарубежья

Латвия

Институт микробиологии им. А.Кирхенштейна

Институт органического синтеза

Институт экспериментальной и клинической медицины

Литва

Институт биоорганической химии

НПО «Фермент»

Институт биохимии

Эстония

Институт химической и биологической физики

Германия

Университет Гумбольдта (Берлин)

Институт биохимии растений (г. Галле)

Институт фармацевтической биологии университета (г. Марбурга)

Институт химической экологии Макс-Планк-Института (г. Йена)

Институт фармацевтической биологии технического университета (г. Брауншвейг)

Институт общей ботаники технического университета (г. Брауншвейг)

Общество биотехнологических исследований (г. Брауншвейг)

Институт микробиологии технического университета (г. Брауншвейг)

Венгрия

Институт фармакогнозии Медицинского университета им. Семмельвайса (Будапешт)

Институт фармакогнозии университета им. Сент-Дьерди. (г. Сегед)

Польша

Институт биологии и фармацевтической ботаники Медицинского университета (Варшава)

Словакия

Центр физиологических наук Словацкой академии наук (Братислава)

Чехия

НИИ ветеринарной медицины (Брно)

Институт микробиологии (Брно)

Болгария

Национальный банк промышленных микроорганизмов и клеточных культур (София)

Институт молекулярной биологии (София)

Институт генетики (София)

Швеция

Стокгольмский университет

Бразилия

Университет штата Рио-Де-Жанейро

Учреждения, использующие клеточные культуры для медицинских и промышленных целей

Санкт-Петербург

Ленинградский областной центр госэпиднадзора

Противочумная станция

Больница Святого Георгия

2-я городская больница

Клиническая больница им. Святителя Луки

НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе

Москва

НПО «Биотехнология»

Центральная ветеринарная лаборатория

Городская санэпидстанция

Петрозаводск

Городская эпидстанция МЗ РФ

Областная эпидстанция МЗ РФ

Томск

НПО «Верия»

Пермь

НПО «Биомед»

Городская СЭС

Тверь

Государственный комитет санэпиднадзора МЗ РФ

Рязань

Областная санэпидстанция МЗ РФ

Липецк

Областная санэпидстанция МЗ РФ

В/Ч 55496

Вологда

Областная санэпидстанция МЗ РФ

Новосибирск

НПО «Вектор» (Кольцово)

Московская область

Пятнадцать ветеринарных областных диагностических лабораторий

Чита 45

В/Ч 67686

Мурманск

В/Ч 35150

Ижевск

Удмуртская городская санэпидстанция

Кемерово

Областное аптекоуправление

Ярославль

Дорожная СЭС

Красноярск

Краевая ветеринарная лаборатория

Прокопьевск

Инфекционная больница

Куйбышев-Самара

В/Ч 96496

Челябинск

Городская больница № 7

Сахалин

Областная ветеринарная лаборатория

ЭСТОНИЯ

Тартуская областная больница

Федеральные государственные учреждения (ФГУ) здравоохранения (центр гигиены и эпидемиологии) Территориальные объединения, использующие клеточные культуры для медицинских целей

Амурская	Магаданская
Архангельская	Мурманская
Астраханская	Новгородская
Белгородская	Новосибирская
Брянская	Омская
Владимирская	Оренбургская
Волгоградская	Орловская
Вологодская	Пензенская
Воронежская	Пермская
Горно-Алтайская	Псковская
Ивановская	Ростовская
Иркутская	Рязанская
Калининградская	Саратовская
Калининская	Сахалинская
Калужская	Смоленская
Камчатская	Тамбовская
Кемеровская	Томская
Кировская	Тульская
Костромская	Тюменская
Куйбышевская	Ульяновская
Курганская	Челябинская
Курская	Читинская
Ленинградская	Ярославская
Липецкая	
Алтайск	Приморская
Краснодарская	Ставропольская
Красноярская	Хабаровская
Башкирская	Северо-Осетинская
Бурятская	Чеченская
Дагестанская	Ингушская
Кабардино-Балкарская	Чувашская
Калмыцкая	Якутская
Карельская	
УКРАИНА	КАЗАХСТАН
Винницкая	Кокчетавская
Львовская	Северо-Казахстанская
Сумская	Семипалатинская
Харьковская	Целиноградская
Карагандинская	Чимкентская