



# Биологическая, цитоморфологическая и кариологическая гетерогенность постоянных линий клеток, полученных из органов домашней свиньи (*Sus scrofa* L.)

Б. Л. Манин, Е. А. Трофимова, В. Л. Гаврилова, О. С. Пузанкова

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

## РЕЗЮМЕ

Основным преимуществом постоянных линий клеток по сравнению с первичными является возможность наработки стабильного материала, пригодного для продолжительного использования в научно-исследовательских и практических целях. Поэтому важное прикладное значение имеет получение новых перевиваемых культур клеток из разнообразных тканей животных. В статье отражены результаты изучения биологических, цитоморфологических и кариологических особенностей постоянных линий клеток, полученных из органов домашней свиньи (*Sus scrofa* L.), подтверждена чувствительность данных культур к различным вирусам животных, а также описан процесс получения новой диплоидной культуры клеток из селезенки свиньи (SSs – *Splen Sus scrofa*). При анализе полученных данных пришли к выводу, что полноценной иммортализации подвергаются эпителиальные клетки, полученные из почек свиньи после трипсинизации. Все постоянные линии клеток свиного происхождения имеют схожую морфологию с преобладанием эпителиоподобных форм. Некоторые из них – СПЭВ, А<sub>4</sub>С<sub>2</sub>, RSK – имеют тенденцию переживания сферической формы в суспензии. Такие клеточные линии, как ПСКГ-30 и ППЭС, формируют частичный полислои либо для них характерно значительное уплотнение монослоя с образованием псевдосинцития. Только одна псевдодиплоидная клеточная культура СПЭВ имеет тенденцию к росту в суспензии, она также растет во вращающихся культуральных флаконах. Кариологические трансформации у разных культур стабилизировались на определенном уровне. Спонтанное увеличение количества хромосом в основной популяции постоянных линий клеток в сторону триплоидии привело к стабилизации культуральных свойств и увеличению пролиферации. Наивысший модальный класс – 64 хромосомы – имеет культура ПСКГ-30. Околодиплоидные культуры (А<sub>4</sub>С<sub>2</sub>, RSK) характеризуются стабильными ростовыми параметрами и показывают сходство с культурой СПЭВ в отношении формирования переживающих сферических клеток в среде, качества монослоя и морфологии клеток. Наиболее пластичной клеточной линией оказалась РК-15, которая в разных условиях культивирования имеет отличительный кариотип при сохранении остальных культуральных свойств. В условиях лаборатории ФГБУ «ВНИИЗЖ» в результате длительного инкубирования, субкультивирования (свыше 80 пассажей) и отбора была получена новая постоянная диплоидная культура клеток SSs, которая при проведении дальнейших пассажей может остаться диплоидной или спонтанно стать гетероплоидной – иммортализованной. Велика вероятность того, что впоследствии гиперплоидность клеток спровоцирует увеличение теломеразной активности, что, в свою очередь, стабилизирует иммортализацию и приведет к увеличению пролиферативной активности. До настоящего времени жизнеспособность клеток поддерживается путем регулярных пересевов (коэффициент пересева – 1:2–1:3), осуществляемых 1–2 раза в неделю.

**Ключевые слова:** постоянная линия клеток, перевиваемая линия клеток, гибридома, диплоидность, гетероплоидность, модальный класс клеток, пролиферативная активность

**Благодарность:** Исследование проведено за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Ветеринарное благополучие».

**Для цитирования:** Манин Б. Л., Трофимова Е. А., Гаврилова В. Л., Пузанкова О. С. Биологическая, цитоморфологическая и кариологическая гетерогенность постоянных линий клеток, полученных из органов домашней свиньи (*Sus scrofa* L.). *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 13–22. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-13-22.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для корреспонденции:** Трофимова Елена Александровна, заведующий сектором отдела культур клеток, ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: trofimova\_ea@arriah.ru.

## Biological, cytomorphological and karyological heterogeneity of transformed cell lines derived from domestic pig (*Sus scrofa* L.) organs

B. L. Manin, E. A. Trofimova, V. L. Gavrilova, O. S. Puzankova

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

## SUMMARY

The main advantage of transformed cell lines as compared to primary ones is that they allow generation of the stable material suitable for long-term research and practical use. Therefore, development of new continuous cell cultures from various animal tissues is of great practical importance. Results of examination of transformed cell lines derived from organs of domestic pigs (*Sus scrofa* L.) for their biological, cytomorphological and karyological features are described in the

paper. The said cell cultures are confirmed to be susceptible to various animal viruses. Also, a procedure for preparation of new diploid cell culture from porcine spleen (SSs – *Spleen Sus scrofa*) is described. Based on the obtained data analysis it was concluded that the epithelial cells derived from trypsinized porcine spleens could be successfully immortalized. All transformed cell lines of porcine origin have similar morphology with predominated epithelium-like forms. Some of them – SPEV, A<sub>4</sub>C<sub>2</sub>, RSK – tend to adopt a spherical shape in suspension. Such cell lines as PSGK-30 and PPES cell lines form partial multilayer or they are characterized by significant monolayer compaction with pseudosyncytium formation. Only pseudodiploid cell culture (SPEV cell culture) tends to grow in suspension, it also grows in rotating culture flasks. Karyological transformations in different cell cultures stabilized at certain level. Spontaneous increase in chromosome numbers in the main population of transformed cell lines towards triploidy resulted in stabilization of culture properties and increase in proliferation. PSGK-30 cell culture has the highest modal class – 64 chromosomes. Near-diploid cultures (A<sub>4</sub>C<sub>2</sub>, RSK) demonstrate stable growth properties and are similar to SPEV cell culture in adopting spherical cell forms in medium, monolayer character and cell morphology. PK-15 cell culture having a distinct karyotype under different cultivation conditions while retaining other culture properties is found to be the most adaptive. A new transformed diploid SSs cell culture is developed by long-term incubation, subcultivation (more than 80 passages) and selection at the FGBI “ARRIAH” laboratory; it can remain diploid or may spontaneously become heteroploid-immortalized during further passaging. The cell hyperploidy is very likely to enhance telomerase activity, which in turn stabilizes immortalization and results in proliferative activity increase. The cell viability has been maintained so far by regular reseedings (split ratio – 1:2–1:3) performed 1–2 times a week.

**Keywords:** transformed cell line, continuous cell line, hybridoma, diploidy, heteroploidy, modal class of cells, proliferative activity

**Acknowledgements:** This work was funded by the FGBI “ARRIAH” within the scope of research activities “Veterinary Welfare”.

**For citation:** Manin B. L., Trofimova E. A., Gavrilova V. L., Puzankova O. S. Biological, cytomorphological and karyological heterogeneity of transformed cell lines derived from domestic pig (*Sus scrofa* L.) organs. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 13–22. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-13-22.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

**For correspondence:** Elena A. Trofimova, Head of Sector, Cell Cultivation Unit, FGBI “ARRIAH”, 600901, Russia, Vladimir, Yur’evets, e-mail: trofimova\_ea@arriah.ru.

## ВВЕДЕНИЕ

В ветеринарной вирусологии широко используются постоянные линии клеток (ПЛК) [1], в том числе полученные из органов домашней свиньи (*Sus scrofa* L.). Клеточные линии с интенсивной пролиферацией в основном получены из почек свиньи [2–9]. Попытки получить хорошо размножающиеся на носителе культуры клеток из щитовидной железы [10, 11], тестикул [11, 12], кишечника [10], селезенки [13], синовиальной мембраны [14] и других органов свиньи, а также постоянные линии клеток макрофагов/моноцитов [15–23] не приводили к удовлетворительным результатам, так как данные ПЛК имели низкий пролиферативный потенциал при кратности посева 1:2–1:3. Следовательно, получение ПЛК с высокой пролиферативной активностью и прикладной значимостью является актуальной задачей.

При проведении кариологических исследований ориентировались на нормальный кариотип домашней свиньи, хорошо изученный в ветеринарии [24, 25]. В отличие от молекулярно-генетического анализа [26] кариологический метод позволяет определять качественные и количественные изменения в кариотипах основных популяций свиней ПЛК и сравнивать их биологические и культуральные свойства [27, 28].

Преимуществом перевиваемых культур клеток является их однородность и относительная стабильность, в то время как чувствительность первичных культур клеток к различным вирусам зависит от индивидуальных особенностей организма каждого отдельно взятого животного. Поэтому важной задачей является получение новых перевиваемых культур клеток из разнообразных тканей животных. Одной из таких тканей является селезенка свиньи (*Splen Sus scrofa* – SSs), получение диплоидных и перевиваемых культур клеток из которой имеет большое практическое значение.

В результате длительного инкубирования, субкультивирования и тщательного отбора была получена но-

вая перевиваемая культура клеток селезенки свиней, которая прошла более 80 пассажей в течение 2 лет. В настоящее время жизнеспособность диплоидных клеток поддерживается путем регулярных пересевов (коэффициент пересева – 1:2–1:3), осуществляемых 1–2 раза в неделю.

Целью исследования было проведение биологических, цитоморфологических и кариологических исследований постоянных линий клеток, полученных из органов домашней свиньи (*Sus scrofa* L.), а также описание процесса получения новой диплоидной культуры клеток из селезенки свиней (SSs).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Фенотипирование клеточных линий проводилось с помощью фазово-контрастного микроскопа Olympus CKX41 (Япония) и люминесцентного микроскопа МЛ-2Б (Россия).

Для идентификации клеточных культур использовали кариологический метод получения метафазных пластинок по методике P. S. Moorhead et al. [24, 28, 29].

Культивирование клеток проводили на классических средах: MEM, DMEM, DMEM/F-12 с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В российской ветеринарной практике используются следующие линии и сублинии клеток свиного происхождения, полученные из почек – IB-RS-2, СПЭВ, A<sub>4</sub>C<sub>2</sub>, A<sub>4</sub>C<sub>2</sub>/9к, A<sub>4</sub>C, PK-15, SK-6, ППЭС, ППК, ПСГК-30, RSK, КСТ [1, 2, 4, 5, 9, 25, 30–33], тестикул – ST [11, 12], селезенки – SSs [13].

В коллекции клеток ФГБУ «ВНИИЗЖ» представлены 9 видов постоянных линий клеток свиного происхождения (табл.).

Благодаря исследованиям изоферментных спектров лактатдегидрогеназы удалось идентифицировать пред-

**Таблица**  
**Основные показатели (характеристики) ПЛК свиного происхождения**

**Table**  
**Main characteristics of transformed cell lines of porcine origin**

№ п/п	Постоянные линии клеток	Кратность рассева	Кариология, модальный класс	Морфология клеток монослоя
1	IB-RS-2 (почка поросенка)	1:3; 1:4	36	Полигональные, эпителиоподобные
2	СПЭВ (почка поросенка)	1:4; 1:6	38	Полигональные, эпителиоподобные, сферические
3	A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> (гибрид СПЭВ со спленоцитами свиньи)	1:3; 1:4	39	Полигональные, эпителиоподобные, сферические
4	RSK (кожа кролика)	1:4; 1:6	40	Полигональные, эпителиоподобные, сферические
5	ППЭС (почка поросенка)	1:4; 1:6	51	Полигональные, эпителиоподобные
6	PK-15 (почка поросенка)	1:4; 1:6	53	Полигональные, эпителиоподобные
7	ПСГК-30 (почка сибирского горного козерога)	1:4; 1:18	64	Полигональные, эпителиоподобные
8	ST (тестикулы поросенка)	1:2	38	Полигональные, эпителиоподобные
9	SSs (селезенка поросенка)	1:2	38	Полигональные, эпителиоподобные

ставленные в музее ФГБУ «ВНИИЗЖ» клеточные линии RSK (кожа кролика) и ПСГК-30 (почка сибирского горного козерога) как свиные. В дальнейшем при изучении кариотипа, морфологии и культуральных свойств данных клеточных линий информация об их видовой принадлежности подтвердилась.

Ориентиром при подтверждении видовой принадлежности клеточной культуры служили маркерные

метацентрические хромосомы среднего размера, у которых при рутинном приготовлении центромеры не прокрашиваются (рис. 1). Соотношение количества метацентрических хромосом к акроцентрическим у большинства свиных культур составляет около 2,2 (±5%): у первичной культуры клеток почки поросенка 26 метацентриков и 12 акроцентриков.

**Описание ПЛК IB-RS-2.** Клеточная линия IB-RS-2 – одна из самых «старых», полученных М. Р. de Castro в 1962 г. в Сан-Пауло (Бразилия) из почек свиньи.

Монослой состоит из полигональных эпителиоподобных клеток. Переросший монослой образует синцитий (рис. 2). Модальный класс IB-RS-2 в 36 хромосом, 49% популяций (рис. 3), – самый низкий из всех известных свиных клеточных культур (табл.). Представленная ПЛК чувствительна к вирусам ящура, энцефаломиелита свиней, классической (КЧС) и африканской (АЧС) чумы свиней, везикулярной болезни свиней (ВБС), везикулярной экзантемы свиней (ВЭС) и другим.

Из культуральных свойств ПЛК можно отметить умеренный пролиферативный потенциал: кратность рассева 1:3; 1:4. При формировании монослоя в стационарной фазе формируется псевдосинцитий, при трипсинизации (пересев культуры) могут образовываться агрегаты, которые, в свою очередь, при адгезии образуют колонии. Разрушение монослоя в стационарной фазе роста происходит по типу дегенерации.



Рис. 1. Диплоидный разброс хромосом свиньи с двумя маркерами и соотношением 26 метацентрических и 12 акроцентрических хромосом

Fig. 1. Porcine diploid chromosome number with two markers and 26 metacentric and 12 acrocentric chromosome ratio

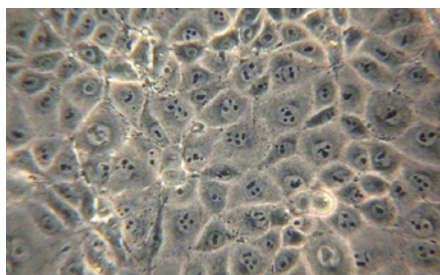


Рис. 2. Морфология клеточной линии IB-RS-2, объектив 40x

Fig. 2. IB-RS-2 cell line morphology, 40x lens

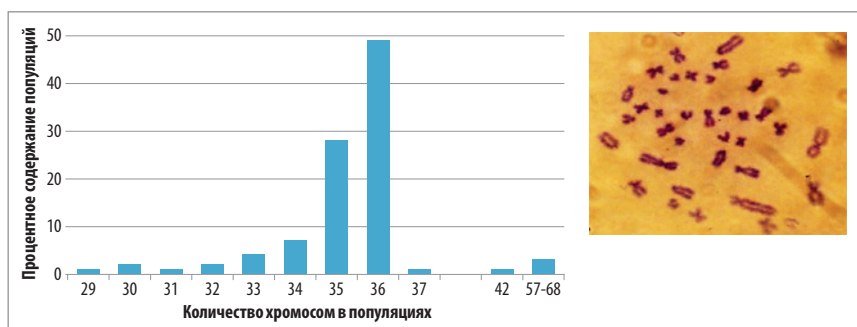


Рис. 3. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии IB-RS-2, 36 хромосом (26 метацентрических и 10 акроцентрических)

Fig. 3. Karyogram and metaphase plate of IB-RS-2 cell line, 36 chromosomes (26 metacentric and 10 acrocentric chromosomes)

**Описание ПЛК СПЭВ.** Клеточная линия СПЭВ получена в 1959 г. К. С. Куликовой и др. в Московском научно-исследовательском институте вирусных препаратов. Клетки имеют полигональную и эпителиоподобную форму, с округлыми ядрами и 2–3 ядрышками (рис. 4). Модальный класс – 38 хромосом, 52%-е содержание популяций (рис. 5). Кратность рассева – 1:4–1:6. Это единственная клеточная линия свиного происхождения, которая адаптируется к росту в суспензии и хорошо культивируется в роллерных условиях. Клеточная линия чувствительна к вирусам ящура, чумы крупного рогатого скота, КЧС, АЧС, трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГЭС), болезни Ауески (БА) и другим возбудителям болезней млекопитающих. В отличие от IB-RS-2, СПЭВ в стационарной стадии роста не образует псевдосинцитий, часть клеток «уходят» в суспензию и могут длительное время существовать во взвешенном состоянии и делиться, если не израсходованы лимитирующие факторы пролиферации.

**Описание ПЛК  $A_4C_2$ .** Одной из оригинальных ПЛК является гибридная линия  $A_4C_2$ , полученная в ВИЭВ (г. Москва) в 1995 г. Л. П. Дьяконовым и др. в результате сокультивирования спленоцитов свиньи с линией СПЭВ. Клетки монослоя, так же как и СПЭВ, имеют полигональную и эпителиоподобную форму, с округлыми ядрами и 2–5 ядрышками (рис. 6). Модальный класс – 39 хромосом (рис. 7). При роллерном культивировании продуктивность ниже, чем у исходной культуры СПЭВ, но сохраняется аналогичная тенденция отслоения клеток от монослоя. В стационарной фазе роста происходит агрегация клеток над монослоем. Клеточная линия  $A_4C_2$ , так же как и СПЭВ, чувствительна к вирусам ящура, чумы крупного рогатого скота, КЧС, АЧС, ТГЭС, БА и другим возбудителям болезней млекопитающих.

По морфологическим и культуральным признакам в гибридной культуре  $A_4C_2$  преобладают клетки линии СПЭВ. В кариотипе произошла трансформация, модальный класс увеличился на одну хромосому. Вероятно, длительное сокультивирование со спленоцитами привело к снижению пролиферации и трансформации кариотипа. В то же время чувствительность к вирусам не изменилась. Так как интенсивность пролиферации ниже, чем у СПЭВ, кратность рассева равна 1:3; 1:4.

**Описание ПЛК RSK.** При поступлении клеточных линий из других организаций в ФГБУ «ВНИИЗЖ» проводится процедура морфологической и кариологической идентификации полученного материала. Так, клеточная культура RSK (кожа кролика), поступившая из ВИЭВ (г. Москва), оказалась нечувствительной к дерматотропным вирусам оспы и нодулярного дерматита. При морфологическом и кариологическом обследовании выяснили, что она имеет значительное сходство со СПЭВ.

Монослой RSK состоит из эпителиоидных и округлых клеток (рис. 8). Модальный класс – 40 хромосом, 55% популяций (рис. 9). Морфология хромосом и некоторые маркеры (средний субметацентрик с непрокрашенной метацентрической перетяжкой) указывают на свиное происхождение данной ПЛК. Кратность рассева составляет 1:4; 1:6. Клеточная линия также пригодна для роллерного культивирования. Она оказалась чувствительной к возбудителям ТГЭС, КЧС, инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, ринопневмонии лошадей, ротавирусной инфекции свиней.

По нашему предположению, клеточная линия кожи кролика была контаминирована клетками СПЭВ, которые после длительного культивирования вытеснили клетки RSK. В то же время произошла трансформация кариотипа в сторону стабильной гиперплоидии.

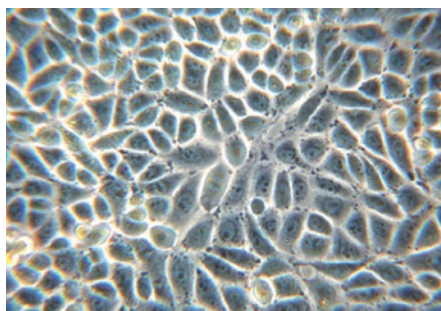


Рис. 4. Морфология клеточной линии СПЭВ, объектив 40×

Fig. 4. SPEV cell line morphology, 40 × lens

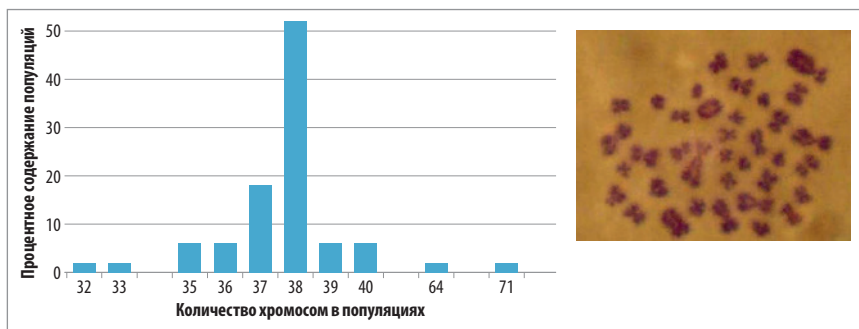


Рис. 5. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии СПЭВ, 38 хромосом

Fig. 5. Karyogram and metaphase plate of SPEV cell line, 38 chromosomes

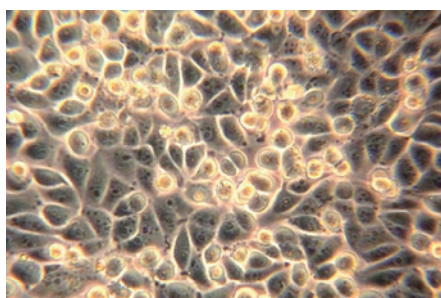


Рис. 6. Морфология клеточной линии  $A_4C_2$ , объектив 40×

Fig. 6.  $A_4C_2$  cell line morphology, 40 × lens

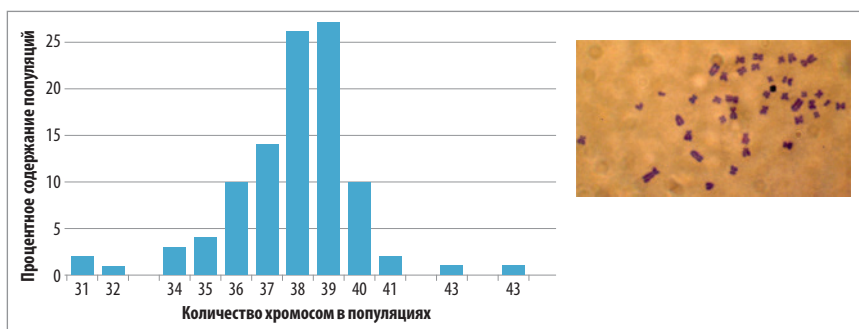


Рис. 7. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии  $A_4C_2$ , 39 хромосом

Fig. 7. Karyogram and metaphase plate of  $A_4C_2$  cell line, 39 chromosomes

**Описание ПЛК ППЭС.** Одной из перспективных и интенсивных ПЛК отечественного происхождения является ППЭС (перевиваемая культура клеток почки эмбриона свиньи), полученная во ВНИВИ (г. Казань) С. Х. Хаертыновым и Г. Н. Романовичем в 1975 г. Монослой состоит из полигональных эпителиоидных клеток и образовавшихся колоний полислоя (рис. 10). Модальный класс – 51 хромосома, 31%-е содержание популяций (рис. 11).

Данная клеточная линия отличается гипердипloidностью. Такая тенденция наблюдается и у других клеточных линий свиного происхождения. Увеличение в кариотипе количества хромосом не сказалось на интенсивности пролиферации, напротив, ПЛК ППЭС имеет кратность посева 1:4; 1:6. В частности, она способна к росту во вращающихся (роллерных) сосудах, что гипердипloidным культурам не всегда свойственно. Также ППЭС отличается отсутствием явных микоплазменной и вирусной контаминаций, в связи с этим она способна к длительному непрерывному пассированию. Несмотря на хорошие культуральные и цитоморфологические свойства, на ней со слабой интенсивностью репродуцируются специфичные для свиней вирусы КЧС, ТГЭС, энтеровирус.

Из клеточной линии ППЭС были получены перевиваемые культуры клеток ППК и ППК-666 (казанская линия). Последние после длительного пассирования на разных средах и сыворотках стали более чувствительны к возбудителям болезней свиней, например к парвовирусу, но оказались хронически контаминированы микоплазмами и поэтому имеют ограниченный потенциал к непрерывному пассированию без санации «сильными» антибиотиками (до 10 пассажей). Перевиваемые линии ППК и ППК-666 гипердипloidные и имеют модальный класс 57 хромосом

в кариотипе. Они не способны к роллерному культивированию.

**Описание ПЛК РК-15 (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).** Следующей клеточной линией с гипердипloidным содержанием хромосом является РК-15. Она была получена в Калифорнийском университете, Сан-Диего (США) в 1968 г. В ФГБУ «ВНИИЗЖ» поступила в 1986 г. из Института Фридриха Лёффлера (Германия).

Культура состоит из эпителиоподобных клеток размером 10–14 мкм (рис. 12). Модальный класс – 53 хромосомы (рис. 13). Интенсивность пролиферации соответствует кратности посева 1:4 и 1:6. Данная ПЛК способна формировать полноценный монослой во вращающихся сосудах. Продуктивность ее через 3–4 сут достигает 300 млн клеток с роллерной бутылки (800 см<sup>2</sup>). В переросших монослоях РК-15 в культуральных сосудах наблюдается формирование многоядерных клеток (1–2%).

Клеточная линия чувствительна к вирусам АЧС, КЧС, БА, везикулярного стоматита свиней, Коксаки, коревой оспы, цирковирису свиней, реовирусу серотипов 2, 3, аденовирусу серотипов 4, 5 и другим возбудителям болезней млекопитающих.

**Описание ПЛК РК-15 (ATCC, American Type Culture Collection).** Клеточные трофоварианты РК-15, полученные из Венгрии и ATCC, имеют модальный класс 60 хромосом (рис. 14). Морфология клеток и монослоя идентична предыдущей культуре (рис. 15). Продуктивность и интенсивность пролиферации также аналогична. Различие в кариотипе можно объяснить разными условиями культивирования в различных лабораториях. В европейских лабораториях преобладает культивирование на полностью синтетических средах, в ФГБУ «ВНИИЗЖ» часто используются гидролизаты белков.

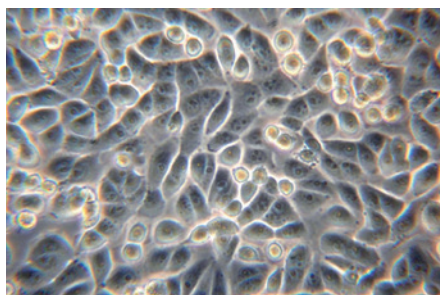


Рис. 8. Морфология клеточной линии RSK, объектив 40х

Fig. 8. RSK cell line morphology, 40x lens

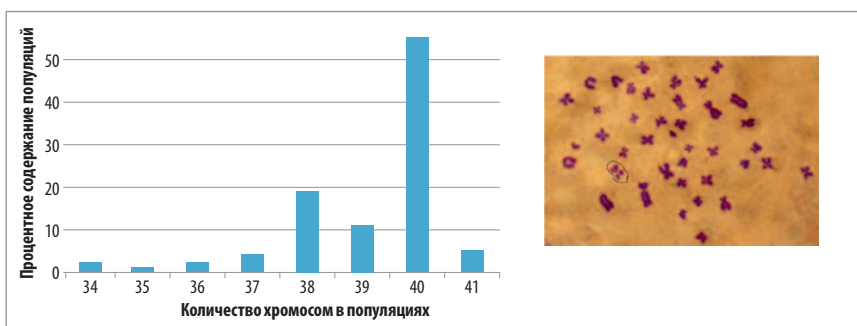


Рис. 9. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии RSK, 40 хромосом

Fig. 9. Karyogram and metaphase plate of RSK cell line, 40 chromosomes

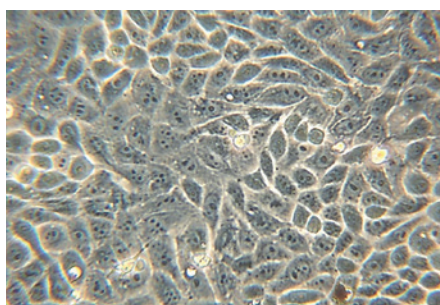


Рис. 10. Морфология клеточной линии ППЭС, объектив 40х

Fig. 10. PPES cell line morphology, 40x lens



Рис. 11. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии ППЭС, 51 хромосома

Fig. 11. Karyogram and metaphase plate of PPES, cell line, 51 chromosomes

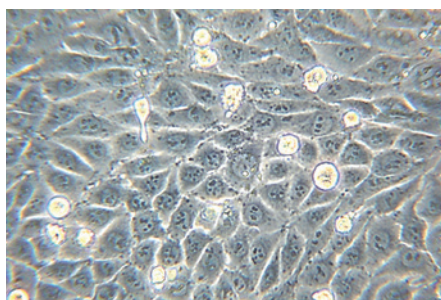


Рис. 12. Морфология клеточной линии РК-15 (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), объектив 40×  
Fig. 12. PK-15 cell line (FGBI "ARRIAH") morphology, 40× lens

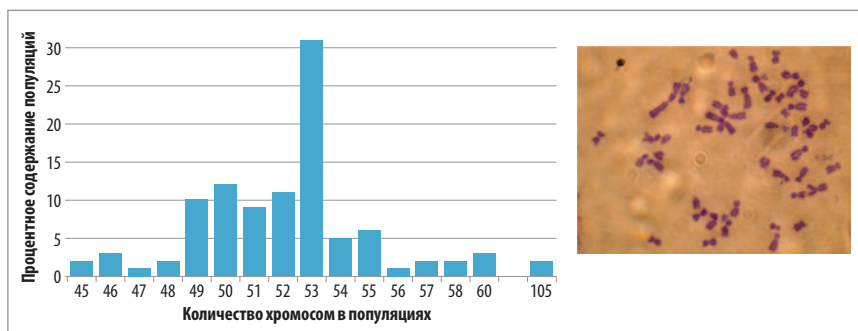


Рис. 13. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии РК-15 (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), 53 хромосомы

Fig. 13. Karyogram and metaphase plate of PK-15, cell line (FGBI "ARRIAH"), 53 chromosomes

Клеточная линия чувствительна к вирусам АЧС, КЧС, БА, везикулярного стоматита свиней, Коксаки, коревой оспы, цирковирису свиней, реовирусу серотипов 2, 3, аденовирусу серотипов 4, 5 и другим возбудителям болезней млекопитающих.

**Описание ПЛК ПСГК-30.** Перевиваемая линия клеток ПСГК получена в 1976 г. И. Г. Кекух, Л. П. Кириюхиной, З. М. Лукьяновой в НИСХИ МСХ СССР. Существуют следующие трофоварианты и сублинии данных клеток: ПСГК, ПСГК-30, ПСГК-60, ПСГК-с60 и ПСГК-с85.

Рядом исследователей была выявлена межвидовая контаминация данной клеточной культуры клетками свиного происхождения (В. Г. Костюченко и др., 1985; Н. Ю. Смылова и др., 1996). В настоящее время постоянная клеточная линия ПСГК-30 является сильно трансформированной свиной культурой, которая сформировалась в результате контаминирования

первичной культуры клеток почки сибирского горного козерога более жизнеспособными ПЛК СПЭВ, ППК либо РК-15.

Клеточная линия ПСГК-30 – одна из самых активных свиных культур, обладающая высоким индексом пролиферации (до 3,0). Кратность посева может достигать 1:20. Высокий пролиферативный потенциал достигается оптимизацией питательной среды, в которую входит гидролизат лактальбумина в концентрации 0,1%. Монослой культуры состоит из эпителиоподобных клеток (рис. 16). Модальный класс кариотипа достигает 64 хромосом – самый высокий среди свиных культур (рис. 17). Монослой ПЛК в стационарной фазе роста достигает такой плотности, при которой клетки уплотняются с образованием полислоя эпителиоподобных клеток на отдельных участках слоя. При «пересевной» трипсинизации часто образуются конгло-

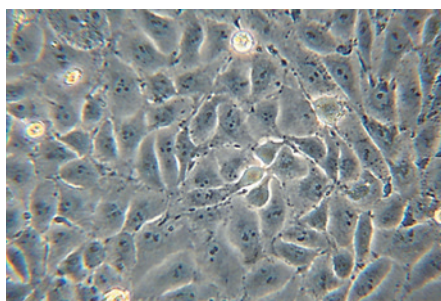


Рис. 14. Морфология клеточной линии РК-15 (ATCC), объектив 40×  
Fig. 14. PK-15 cell line (ATCC) morphology, 40× lens

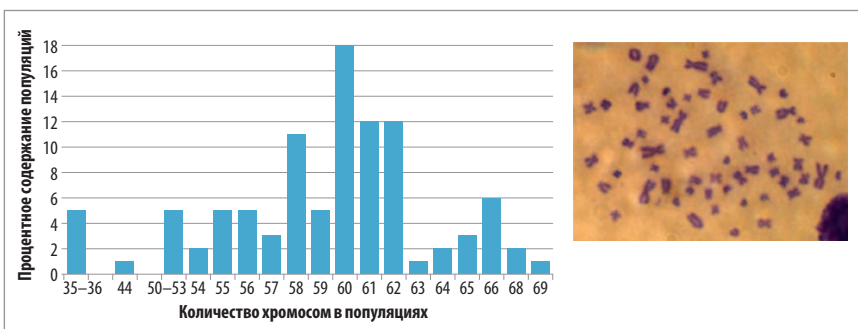


Рис. 15. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии РК-15 (ATCC), 60 хромосом

Fig. 15. Karyogram and metaphase plate of PK-15 cell line (ATCC), 60 chromosomes

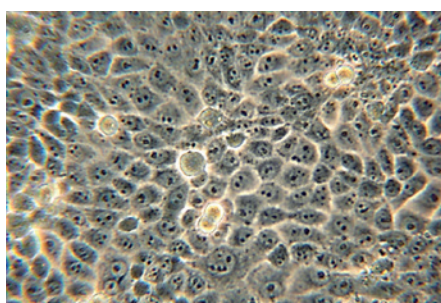


Рис. 16. Морфология клеточной линии ПСГК-30, объектив 40×  
Fig. 16. PSGK-30 cell line morphology, 40× lens

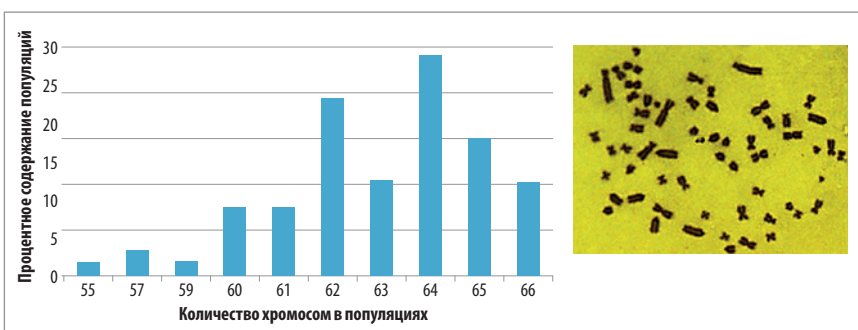


Рис. 17. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии ПСГК-30, 64 хромосомы

Fig. 17. Karyogram and metaphase plate of PSGK-30 cell line, 64 chromosomes

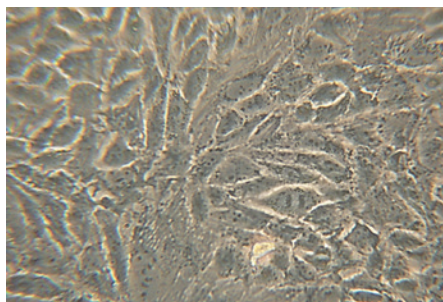


Рис. 18. Морфология клеточной линии ST, объектив 40×

Fig. 18. ST cell line morphology, 40× lens

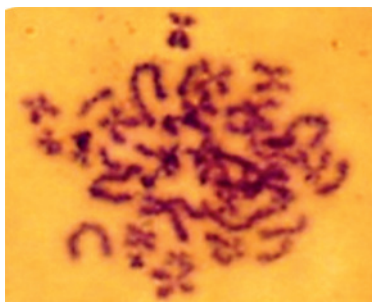


Рис. 19. Метафазная пластинка клеточной линии ST, ок. 38 хромосом

Fig. 19. Metaphase plate of ST cell line, about 38 chromosomes

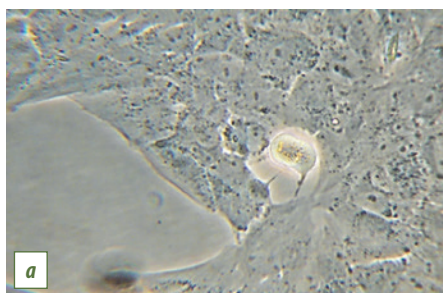


Рис. 20. Морфология клеточной линии SSs: а) 6-й пассаж; б) 74-й пассаж (объектив 40×)

Fig. 20. SSs cell line morphology: a) at 6<sup>th</sup> passage; b) at 74<sup>th</sup> passage (40× lens)

мераты клеток, которые при седиментации и адгезии формируют колонии роста. Продуктивность с клинско-го матраса не превышает 120 млн клеток. ПЛК ПСГК-30 является основным субстратом для культивирования матрового вируса ящура всех штаммов при производстве вакцин.

**Описание ПЛК ST.** Особую группу ПЛК образуют линии, полученные из других органов свиньи: тестикулы и селезенки. Клеточная линия ST (тестикулы поросенка) отличается низкой пролиферативной активностью. При расसेве 1:2 формируется неконфлюэнтный монослой за 7–10 сут. Клеточный цикл растягивается на несколько суток. Монослой состоит из крупных эпителиоподобных и веретенообразных клеток. В стационарной фазе роста в монослое появляется внеклеточный матрикс (рис. 18).

Из-за слабой пролиферативной активности при приготовлении кариологических препаратов возникают трудности со сбором и локализацией делящихся клеток. Но даже в этой ситуации удается определить кариотип как диплоидный (рис. 19).

Клеточная культура ST имеет диплоидный кариотип около 38 хромосом. Но подсчитать модальный класс чисто технически невозможно из-за отсутствия достаточного количества метафазных пластинок при стандартном воспроизведении методики кариотипирования.

ПЛК ST чувствительна ко многим вирусам, поражающим свиней (*Sus scrofa*), но ее не используют для приготовления диагностикумов и специфических вакцинных препаратов, так как она обладает низкой пролиферативной активностью (1:2), монослой клеток формируется в течение 1–1,5 недель. Продуктивность ПЛК ST не изучена, о чем указано в паспорте, оформленном на данную линию клеток.

**Получение диплоидной ПЛК SSs.** При проведении стандартных работ по получению первичных кле-

ток из органов животных в отделе культуры клеток ФГБУ «ВНИИЗЖ» была предпринята попытка субкультивирования трипсинизированных клеток селезенки поросенка с использованием среды ПСП + DMEM/F-12 в соотношении 1:2–1:3 и 10% сыворотки крови крупного рогатого скота, обработанной лантаноидами. Данной ПЛК было дано временное название SSs (*Splen Sus scrofa* – селезенка поросенка).

В первых пассажах субкультура имела смешанную клеточную популяцию с преобладанием эпителиоподобных клеток, которые формировали колонии, равномерно распределенные по всей культуральной поверхности матрасов, затем колонии объединялись в сплошной монослой клеток. После трипсинизации клетки были крупными до 20 мкм, отличались полиморфизмом и неполной конфлюэнтцией монослоя (рис. 20а).

По мере пассирования диплоидных клеток селезенки свиней возрастала их пролиферативная активность, культура становилась морфологически более однородной, состоящей из эпителиоподобных клеток полигональной формы с четкими, хорошо выраженными границами, с округлыми ядрами (с 1–3 ядрышками) и светлой, иногда вакуолизированной цитоплазмой.

Субкультивирование клеточной линии селезенки поросенка имело нестандартную динамику. К 40-му пассажу (в сущности, к 40-му пересеву) время формирования монослоя составляло 10 сут. К этому пассажу размеры клеток уменьшились, плотность увеличилась, но количество митозов осталось на прежнем уровне. После пересева (клетки снимали с подложки раствором трипсин-версена) седиментация, адгезия и распластывание клеток проходили в течение 24–36 ч. Через 96 ч среда значительно закислялась, но монослой не формировался. После смены среды формировался почти конфлюэнтный монослой.

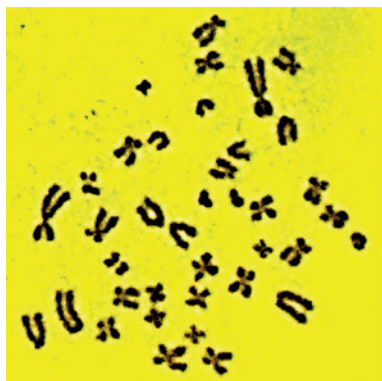


Рис. 21. Диплоидная метафазная пластинка ПЛК SSs, 74-й пассаж, 38 хромосом

Fig. 21. Diploid metaphase plate of continuous SSs cell line, 74<sup>th</sup> passage, 38 chromosomes

Постоянная клеточная линия SSs поддерживает репродукцию вирусов КЧС, АЧС, ТГЭС и репродуктивно-респираторного синдрома свиней.

Следующий этап работы заключался в том, чтобы интенсифицировать пролиферацию с помощью подбора питательных сред и условий культивирования, а также определить чувствительность клеток к другим вирусам животных. Культура SSs была адаптирована к минимальной среде MEM.

К 74-му пассажу клетки стали более однородны по морфологии с преобладанием эпителиоподобных. Размеры клеток в конфлюэнтном монослое достигали 15 мкм (рис. 20b). Интенсивность пролиферации оставалась низкой: кратность посева 1:2; 1:3 через 4–6 сут. Полученная ПЛК SSs была чувствительна к вирусам КЧС, АЧС, БА, ТГЭС и другим возбудителям болезней свиней. Из-за слабой пролиферативной активности клеточная линия SSs использовалась только для научно-исследовательских работ.

Кариологические исследования показали, что популяция ПЛК SSs состоит в основном из диплоидных клеток (рис. 21).

По нашему мнению, трансформации популяции ПЛК в сторону иммортализации подверглись клетки стромального происхождения, которые в состоянии *in vivo* не обладают интенсивной «сменной» пролиферацией.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя цитоморфологические и биологические свойства ПЛК своего происхождения, можно прийти к выводу, что полноценной иммортализации подвергаются эпителиальные клетки, полученные из почек свиньи при трипсинизации. Все линии клеток свиньи в статусе постоянных имеют схожую морфологию с преобладанием эпителиоподобных форм. Некоторые из них, такие как СПЭВ,  $A_4C_2$ , RSK, имеют тенденцию переживания сферической формы в суспензии. Такие ПЛК, как ПСГК-30 и ППЭС, формируют частичный полислой или для них характерно значительное уплотнение монослоя с образованием псевдосинцития. Только одна псевдодиплоидная клеточная культура СПЭВ имеет тенденцию к росту в суспензии, она также растет во вращающихся культуральных флаконах.

Кариологические трансформации у разных культур стабилизировались на определенном уровне. Увеличение у постоянных линий клеток (спонтанное) ко-

личества хромосом в основной популяции в сторону триплоидии привело к стабилизации культуральных свойств и увеличению пролиферации.

Околодиплоидные культуры ( $A_4C_2$ , RSK) также имеют стабильные ростовые параметры и по тенденции формировать переживающие сферические клетки в среде, качеству монослоя и морфологии клеток показывают сходство с культурой СПЭВ.

Особую группу представляют культуры, полученные из других органов свиньи: тестикул и селезенки (ST, SSs). По нашему предположению, эти ПЛК произошли из стромальных клеток и отличаются незначительной пролиферативной активностью и диплоидным составом клеточных популяций. В основном они представляют интерес для научно-исследовательских работ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии). Под ред. Л. П. Дьяконова; Рос. акад. с.-х. наук. 2-е изд. доп. М.: Спутник-1; 2009. 652 с.
2. Белун О. В., Сокова В. А., Курносов А. Н. Клонирование перевиваемой линии клеток почки поросенка. *Вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии: тезисы докладов научной конференции*. Покров: ВНИИВВиМ; 1978; 16–17.
3. Колбасова О. Л. Кариологическая и цитохимическая характеристика перевиваемых линий клеток перmissive и неpermissive (резистентных) к вирусу классической чумы свиней: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Покров; 2000. 21 с.
4. Филина А. Ю., Герасимов В. Н., Байбиков Т. З., Егорова А. И. Культивирование различных штаммов вируса классической чумы свиней в перевиваемых культурах клеток. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2007; 5: 278–284. eLIBRARY ID: 14454067.
5. Строганова И. Я., Трухоненко А. А. Использование в вирусологии культуры клеток: методические указания. Красноярск: Красноярский ГАУ; 2013. 48 с. Режим доступа: [http://www.kgau.ru/sveden/2017/ipbivm/mu\\_360501\\_9.pdf](http://www.kgau.ru/sveden/2017/ipbivm/mu_360501_9.pdf).
6. Панкова Г. Е. Селекция клеточных популяций и морфологическая характеристика клонов из перевиваемых линий клеток почки поросенка ПП (PS) и РК-15. *Цитология*. 1976; 18 (8): 1036–1039.
7. Полянская Г. Г. Типы клеточных культур. Образование, основные характеристики и изменчивость клеточных линий. В кн.: *Методы культивирования клеток*. СПб.: Политехнический университет; 2008; 22–40.
8. Ruggli N., Summerfield A., Häni R. E. From pigs to cells: Virulence of classical swine fever virus is predicable in cell cultures. *3R-Info-Bulletin*. 2010; 44. Режим доступа: <https://www.forschung3r.ch/data/publications/Ruggli-Bul44.pdf>.
9. Kasza L., Shaddock J. A., Christofinis G. J. Establishment, viral susceptibility and biological characteristics of a swine kidney cell line SK-6. *Res. Vet. Sci*. 1972; 13 (1): 46–51. PMID: 4336054.
10. Гальнбек Т. В. Культуры клеток щитовидной железы и кишечника свиньи и их использование в вирусологии и биотехнологии: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.; 1991. 25 с.
11. Дьяконов Л. П., Субаев Г. Х., Гальнбек Т. В., Такташев Ш. С., Непоклонов Е. А., Федорова Е. С., Расулов О. Ш. Методические рекомендации по получению и культивированию клеток из щитовидной железы и других органов свиньи. М.; 1985. 19 с. Режим доступа: <https://meganorm.ru/Data2/1/4293737/4293737310.pdf>.
12. Жданова Н. А. Получение суспензионной перевиваемой линии клеток тестикул поросенка и оптимизация условий ее культивирования: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Покров; 2009. 25 с.
13. Макарян Э. А., Балаян О. Р., Диченский А. В., Абылкасимов Д. А., Дегтярев В. П., Федотов С. В. Способ получения препарата на основе створовых клеток, выделенных из ткани селезенки свиней, для профилактики и лечения инфекционных и незаразных болезней домашних и сельскохозяйственных животных. Патент № 2611205 Российской Федерации, МПК C12N 5/077 (2010.01), C12N 5/0797 (2010.01), A61P 19/02 (2006.01), A61P 31/00 (2006.01). ФГБОУ ВО «Тверская государственная сельскохозяйственная академия». № 2015148589. Заявл. 12.11.2015. Оpubл. 21.02.2017. Бюл. № 6. Режим доступа: [https://patents.s3.yandex.net/RU2611205C1\\_20170221.pdf](https://patents.s3.yandex.net/RU2611205C1_20170221.pdf).
14. Колбасова О. Л., Юрков С. Г., Неверовская Н. С., Дмитренко В. В., Лыска В. М. Штамм диплоидных клеток синовиальной мембраны поросенка *Sus scrofa*, используемый для вирусологических исследований. Патент № 2506310 Российской Федерации, МПК C12N 5/077 (2010.01), G01N 33/569 (2006.01). ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микро-



биологии Россельхозакадемии. № 012131176/10. Заявл. 23.07.2012. Оpubл. 10.02.2014. Бюл. № 4. Режим доступа: [https://patents.s3.yandex.net/RU2506310C1\\_20140210.pdf](https://patents.s3.yandex.net/RU2506310C1_20140210.pdf).

15. Portugal R., Goatley L. C., Husmann R., Zuckermann F. A., Dixon L. K. A porcine macrophage cell line that supports high levels of replication of OIRT88/3, an attenuated strain of African swine fever virus. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9 (1): 1245–1253. DOI: 10.1080/22221751.2020.1772675.

16. Weingartl H. M., Sabara M., Pasick J., van Moorlehem E., Babiuk L. Continuous porcine cell lines developed from alveolar macrophages: partial characterization and virus susceptibility. *J. Virol. Methods.* 2002; 104 (2): 203–216. DOI: 10.1016/s0166-0934(02)00085-x.

17. Lee Y. J., Park C. K., Nam E., Kim S. H., Lee O. S., Lee du S., Lee C. Generation of a porcine alveolar macrophage cell line for the growth of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Virol. Methods.* 2010; 163 (2): 410–415. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.11.003.

18. Chitko-McKown C. G., Chapes S. K., Miller L. C., Riggs P. K., Ortega M. T., Green B. T., McKown R. D. Development and characterization of two porcine monocyte-derived macrophage cell lines. *Results Immunol.* 2013; 3: 26–32. DOI: 10.1016/j.rinim.2013.03.001.

19. Kadai K., Tsukise A., Shiba H., Ikeda K., Seki T., Ariga T. Establishment of a swine monocyte cell line. *New Microbiol.* 2001; 24 (3): 243–247. PMID: 11497081.

20. Takenouchi T., Kitani H., Suzuki S., Nakai M., Fuchimoto D. I., Tsukimoto M., et al. Immortalization and characterization of porcine macrophages that had been transduced with lentiviral vectors encoding the SV40 large T antigen and porcine telomerase reverse transcriptase. *Front. Vet. Sci.* 2017; 4:132. DOI: 10.3389/fvets.2017.00132.

21. Takenouchi T., Masujin K., Miyazaki A., Suzuki S., Takagi M., Kokuho T., Uenishi H. Isolation and immortalization of macrophages derived from fetal porcine small intestine and their susceptibility to porcine viral pathogen infections. *Front. Vet. Sci.* 2022; 9:919077. DOI: 10.3389/fvets.2022.919077.

22. Talbot N. C., Paape M., Worku M. Selective expansion and continuous culture of macrophages from adult pig blood. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1998; 64 (2): 173–190. DOI: 10.1016/s0165-2427(98)00128-7.

23. Wardley R. C., Lawman M. J., Hamilton F. The establishment of continuous macrophage cell lines from peripheal blood monocytes. *Immunology.* 1980; 39 (1): 67–73. PMID: 6769783.

24. Графодатский А. С., Раджабли С. И. Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих: атлас. Новосибирск: Наука; 1988. 127 с.

25. Дьяконов Л. П., Гальбек Т. В., Акиншина Г. Т., Абдрахманов И. К., Самуйленко А. Я., Дагданова А. В. и др. Специализированная коллекция перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных РККК(П) (СХЖ РАСХН): каталог. 2-е изд. доп. М.: ВИЭВ; 2006. 115 с.

26. Кулешов К. В. Определение видовой принадлежности клеточных культур методами молекулярно-генетического анализа: автореферат дис. ... канд. биол. наук. Щелково; 2009. 24 с.

27. Фрешни Р. Я. Культура животных клеток. Практическое руководство. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний; 2011. 691 с.

28. Moorhead P. S., Nowell P. C., Mellman W. J., Battips D. M., Hungerford D. A. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell. Res.* 1960; 20: 613–616. DOI: 10.1016/0014-4827(60)90138-5.

29. Мамаева С. Е. Хромосомный анализ культивируемых клеток. В кн.: *Методы культивирования клеток: сборник научных трудов.* Ред. Г. П. Пинаев. Л.: Наука; 1988; 78–98.

30. Прудникова Е. Ю., Балышева В. И., Гальбек Т. В., Балышев В. М. Перевиваемая гибридная сублиния клеток А<sub>2</sub>С<sub>4</sub>/9к *Sus scrofa*, используемая для вирусологических исследований вируса африканской чумы свиней. Патент № 2545720 Российская Федерация, МПК С12N 5/073 (2010.01), С12N 7/00 (2006.01). ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии Россельхозакадемии. № 2013153452/10. Заявл. 03.12.2013. Оpubл. 04.10.2015. Бюл. № 10. Режим доступа: [https://patents.s3.yandex.net/RU2545720C1\\_20150410.pdf](https://patents.s3.yandex.net/RU2545720C1_20150410.pdf).

31. Дьяконов Л. П., Майджи Е. В., Герасимов В. Н., Гальбек Т. В., Дудар Л. Н., Солдатова Н. В., Федорова Е. Е., Егорова А. И. Штамм внутривидовых гибридных клеток *Suis domestica*, используемый для выделения и культивирования вируса классической чумы свиней. Патент № 2082758 Российская Федерация, МПК С12N 5/06. № 94026140/13. Заявл. 14.07.1994. Оpubл. 27.06.1996. Режим доступа: [https://patents.s3.yandex.net/RU94026140A1\\_19960710.pdf](https://patents.s3.yandex.net/RU94026140A1_19960710.pdf).

32. The European Collection of Authenticated Cell Cultures. Cell Lines and Hybridomas. Режим доступа: <https://www.culturecollections.org.uk/products/celllines/index.aspx> (дата обращения: 12.08.2022).

33. Pan I. C., Shimizu M., Hess W. R. Replication of African swine fever virus in cell cultures. *Am. J. Vet. Res.* 1980; 41 (9): 1357–1367. PMID: 7004279.

## REFERENCES

1. Animal cell in culture (methods and implementation in biotechnology). Ed. by L. P. Dyakonov; Russian Academy of Agricultural Sciences. 2<sup>nd</sup> ed., enlarged. Moscow: Sputnik+; 2009. 652 p. (in Russ.)

2. Belun O. V., Sokova V. A., Kurnosov A. N. Klonirovanie pervivamoj linii kletok pochki porosenka = Cloning of continuous porcine cell line. *Voprosy veterinarnoi virusologii, mikrobiologii i epizootologii: tezisy dokladov nauchnoi konferentsii = Veterinary virology, microbiology and epidemiology aspects: Abstracts for scientific conference.* Pokrov: VNIIViM; 1978; 16–17. (in Russ.)

3. Kolbasova O. L. Karyological and cytochemical characterization of continuous cell lines permissive and non-permissive (resistant) to classical swine fever virus: Author's abstract, Thesis for degree of Candidate of Science (Biology). Pokrov; 2000. 21 p. (in Russ.)

4. Filina A. Yu., Gerasimov V. N., Baibikov T. Z., Yegorova A. I. Cultivation of different classical swine fever virus strains in continuous cell cultures. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health.* 2007; 5: 278–284. eLIBRARY ID: 14454067. (in Russ.)

5. Stroganova I. Ya., Trukhonenko A. A. Use of cell culture in virology: methodical guidelines. Krasnoyarsk: KrasSAU; 2013. 48 p. Available at: [http://www.kgau.ru/sveden/2017/ipbivm/mu\\_360501\\_9.pdf](http://www.kgau.ru/sveden/2017/ipbivm/mu_360501_9.pdf). (in Russ.)

6. Pankova G. E. Cell population selection and morphologic characteristics of clones from the PP(RS) and PK-15 transplantable swine kidney cell lines. *Tsitologiya.* 1976; 18 (8): 1036–1039. PMID: 988662. (in Russ.)

7. Polyanskaya G. G. Cell line generation, main characteristics and variability. In: *Cell cultivation methods.* Saint Petersburg: Polytechnic University; 2008; 22–40. (in Russ.)

8. Ruggli N., Summerfield A., Häni R. E. From pigs to cells: Virulence of classical swine fever virus is predicable in cell cultures. *3R-Info-Bulletin.* 2010; 44. Available at: <https://www.forschung3r.ch/data/publications/Ruggli-Bul44.pdf>.

9. Kasza L., Shaddock J. A., Christofinis G. J. Establishment, viral susceptibility and biological characteristics of a swine kidney cell line SK-6. *Res. Vet. Sci.* 1972; 13 (1): 46–51. PMID: 4336054.

10. Galnbek T. V. Porcine thyroid and intestinal cell cultures and their use in virology and biotechnology: Author's abstract, Thesis for degree of Candidate of Science (Biology). Moscow; 1991. 25 p. (in Russ.)

11. Dyakonov L. P., Subaev G. H., Galnbek T. V., Taktashev Sh. S., Nepoklonov E. A., Fedorova E. S., Rasulev O. Sh. Methodical recommendations for preparation of cells from porcine thyroid and other organs and their cultivation. Moscow; 1985. 19 p. Available at: <https://meganorm.ru/Data2/1/4293737/4293737310.pdf>. (in Russ.)

12. Zhdanova N. A. Preparation of suspension continuous porcine testicular cell line and optimization of its cultivation conditions: Author's abstract, Thesis for degree of Candidate of Science (Biology). Pokrov; 2009. 25 p. (in Russ.)

13. Makaryan E. A., Balayan O. R., Dichenskij A. V., Abylkasimov D. A., Degtyarev V. P., Fedotov S. V. Method for obtaining of preparation based on stem cells selected from pigs spleen tissue, for prevention and treatment of infectious and non-infectious diseases of domestic and farm animals. Patent No. 2611205 Russian Federation, Int. Cl. C12N 5/077 (2010.01), C12N 5/0797 (2010.01), A61P 19/02 (2006.01), A61P 31/00 (2006.01). FGBOU VO "Tverskaya gosudarstvennaya selskokhozyajstvennaya akademiya". No. 2015148589. Date of filing: 12.11.2015. Date of publication: 21.02.2017. Bull. No 6. Available at: [https://patents.s3.yandex.net/RU2611205C1\\_20170221.pdf](https://patents.s3.yandex.net/RU2611205C1_20170221.pdf). (in Russ.)

14. Kolbasova O. L., Jurkov S. G., Neverovskaja N. S., Dmitrenko V. V., Lyska V. M. Strain of diploid cells of synovial membrane of young pig *Sus scrofa*, used for virology. Patent No. 2506310 Russian Federation, Int. Cl. C12N 5/077 (2010.01), G01N 33/569 (2006.01). GNU Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij institute veterinarnoi virusologii i mikrobiologii Rossel'khozakademii. No. 012131176/10. Date of filing: 23.07.2012. Date of publication: 10.02.2014. Bull. No 4. Available at: [https://patents.s3.yandex.net/RU2506310C1\\_20140210.pdf](https://patents.s3.yandex.net/RU2506310C1_20140210.pdf). (in Russ.)

15. Portugal R., Goatley L. C., Husmann R., Zuckermann F. A., Dixon L. K. A porcine macrophage cell line that supports high levels of replication of OIRT88/3, an attenuated strain of African swine fever virus. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9 (1): 1245–1253. DOI: 10.1080/22221751.2020.1772675.

16. Weingartl H. M., Sabara M., Pasick J., van Moorlehem E., Babiuk L. Continuous porcine cell lines developed from alveolar macrophages: partial characterization and virus susceptibility. *J. Virol. Methods.* 2002; 104 (2): 203–216. DOI: 10.1016/s0166-0934(02)00085-x.

17. Lee Y. J., Park C. K., Nam E., Kim S. H., Lee O. S., Lee du S., Lee C. Generation of a porcine alveolar macrophage cell line for the growth of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Virol. Methods.* 2010; 163 (2): 410–415. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.11.003.

18. Chitko-McKown C. G., Chapes S. K., Miller L. C., Riggs P. K., Ortega M. T., Green B. T., McKown R. D. Development and characterization of two porcine monocyte-derived macrophage cell lines. *Results Immunol.* 2013; 3: 26–32. DOI: 10.1016/j.rinim.2013.03.001.

19. Kadoi K., Tsukise A., Shiba H., Ikeda K., Seki T., Ariga T. Establishment of a swine monocyte cell line. *New Microbiol.* 2001; 24 (3): 243–247. PMID: 11497081.
20. Takenouchi T., Kitani H., Suzuki S., Nakai M., Fuchimoto D. I., Tsukimoto M., et al. Immortalization and characterization of porcine macrophages that had been transduced with lentiviral vectors encoding the SV40 large T antigen and porcine telomerase reverse transcriptase. *Front. Vet. Sci.* 2017; 4:132. DOI: 10.3389/fvets.2017.00132.
21. Takenouchi T., Masujin K., Miyazaki A., Suzuki S., Takagi M., Kokuho T., Uenishi H. Isolation and immortalization of macrophages derived from fetal porcine small intestine and their susceptibility to porcine viral pathogen infections. *Front. Vet. Sci.* 2022; 9:919077. DOI: 10.3389/fvets.2022.919077.
22. Talbot N. C., Paape M., Worku M. Selective expansion and continuous culture of macrophages from adult pig blood. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1998; 64 (2): 173–190. DOI: 10.1016/s0165-2427(98)00128-7.
23. Wardley R. C., Lawman M. J., Hamilton F. The establishment of continuous macrophage cell lines from peripheal blood monocytes. *Immunology.* 1980; 39 (1): 67–73. PMID: 6769783.
24. Graphodatsky A. S., Radzhabli S. I. Farmed and laboratory mammal chromosomes: atlas. Novosibirsk: Nauka; 1988. 127 p. (in Russ.)
25. Dyakonov L. P., Gal'nbek T. V., Akinshina G. T., Abdрахманов I. K., Samuilenko A. Ya., Dagadanova A. V., et al. Specialized collection of continuous somatic cell lines of livestock and game animals, RCCC(V) (Livestock animals Russian Academy of Agricultural Sciences): catalogue. 2<sup>nd</sup> ed., enlarged. Moscow: VIEV; 2006. 115 p. (in Russ.)
26. Kuleshov K. V. Species identification of cell cultures with molecular-genetic methods: Author's abstract, Thesis for degree of Candidate of Science (Biology). Shchyolkovo; 2009. 24 p. (in Russ.)
27. Freshney R. Ian. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique. Hoboken: John Wiley and Sons, Inc.; 2005. 672 p.
28. Moorhead P. S., Nowell P. C., Mellman W. J., Battips D. M., Hungerford D. A. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell. Res.* 1960; 20: 613–616. DOI: 10.1016/0014-4827(60)90138-5.
29. Mamaeva S. E. Chromosomal analysis of cultured cells. In: *Methods of Cell Culture: Collection of Scientific Papers.* Ed. by G. P. Pinaev. Leningrad: Nauka; 1988; 78–79. (in Russ.)
30. Prudnikova E. Ju., Balysheva V. I., Gal'nbek T. V., Balyshov V. M. Finite hybrid subline of cells A<sub>2</sub>C<sub>2</sub>/9k *Sus scrofa*, used for virological studies of African swine fever virus. Patent No. 2545720 Russian Federation, Int. Cl. C12N 5/073 (2010.01), C12N 7/00 (2006.01). GNU Vserossiiskij nauchno-issledovatel'skij institute veterinarnoj virusologii i mikrobiologii Rossel'khozakademii. No. 2013153452/10. Date of filing: 03.12.2013. Date of publication: 04.10.2015. Bull. No. 10. Available at: [https://patents.s3.yandex.net/RU2545720C1\\_20150410.pdf](https://patents.s3.yandex.net/RU2545720C1_20150410.pdf). (in Russ.)
31. D'jakonov L. P., Majdzh E. V., Gerasimov V. N., Gal'nbek T. V., Dudar L. N., Soldatova N. V., Fedorova E. E., Egorova A. I. Strain of intraspecies hybrid cells of *Suis domestica* used for isolation and cultivation of swine clastic plague virus. Patent No. 2082758 Russian Federation, Int. Cl. C12N 5/06. No. 94026140/13. Date of filing: 14.07.1994. Date of publication: 27.06.1996. Available at: [https://patents.s3.yandex.net/RU94026140A1\\_19960710.pdf](https://patents.s3.yandex.net/RU94026140A1_19960710.pdf). (in Russ.)
32. The European Collection of Authenticated Cell Cultures. Cell Lines and Hybridomas. Available at: <https://www.culturecollections.org.uk/products/celllines/index.aspx> (date of access: 12.08.2022).
33. Pan I. C., Shimizu M., Hess W. R. Replication of African swine fever virus in cell cultures. *Am. J. Vet. Res.* 1980; 41 (9): 1357–1367. PMID: 7004279.

Поступила в редакцию / Received 18.01.2023

Поступила после рецензирования / Revised 01.02.2023

Принята к публикации / Accepted 09.02.2023

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Манин Борис Леонидович**, кандидат биологических наук, г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5263-1491>, e-mail: [manin.boria@yandex.ru](mailto:manin.boria@yandex.ru).

**Трофимова Елена Александровна**, заведующий сектором отдела культуры клеток ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; e-mail: [trofimova\\_ea@arriah.ru](mailto:trofimova_ea@arriah.ru).

**Гаврилова Вера Львовна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5843-2779>, e-mail: [gavrilova\\_vl@arriah.ru](mailto:gavrilova_vl@arriah.ru).

**Пузанкова Ольга Сергеевна**, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1584-3169>, e-mail: [puzankova@arriah.ru](mailto:puzankova@arriah.ru).

**Boris L. Manin**, Candidate of Science (Biology), Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5263-1491>, e-mail: [manin.boria@yandex.ru](mailto:manin.boria@yandex.ru).

**Elena A. Trofimova**, Head of Sector, Cell Cultivation Unit, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; e-mail: [trofimova\\_ea@arriah.ru](mailto:trofimova_ea@arriah.ru).

**Vera L. Gavrilova**, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5843-2779>, e-mail: [gavrilova\\_vl@arriah.ru](mailto:gavrilova_vl@arriah.ru).

**Olga S. Puzankova**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1584-3169>, e-mail: [puzankova@arriah.ru](mailto:puzankova@arriah.ru).