

Кріоконсервування штаму перещеплюваних клітин нирки вівці FLK-SBBL, який продукує вірус лейкозу великої рогатої худоби

М.Ю. СТЕГНІЙ¹, Б.Т. СТЕГНІЙ¹, А.М. ГОЛЬЦЕВ²

¹ Національний технічний університет "ХПІ", м. Харків

² Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

Cryopreservation of Inoculated Lamb Kidney FLK-SBBL Strain Cells, Producing Virus of Bovine Leukemia

М.Ю. STEGNIY¹, B.T. STEGNIY¹, A.M. GOLTSEV²

¹ Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine, Kharkov, Ukraine

² Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Культура клітин фолікулярної лімфоми ембріональної нирки вівці FLK-BLV в Україні використовується в біотехнології виробництва лейкозного антигену для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби. Тому виникла необхідність розробити спосіб кріоконсервування штаму перещеплюваних клітин нирки вівці FLK-SBBL, який продукує вірус лейкозу великої рогатої худоби.

Збудник лейкозу великої рогатої худоби – онкогенний РНК-вірус з родини ретровірусів, який паразитує у лейкоцитах, має близьку генетичну й антигенну спорідненість з вірусом Т-клітинного лейкозу людини типів 1 і 2 та Т-клітинного лейкозу мавп. При дотриманні оптимальних умов культивування хронічно інфіковані клітинні лінії (FLK-BLV) здатні забезпечити репродукцію вірусу протягом тривалого часу (понад 200 пасажів). Перещеплювана культура клітин фолікулярної лімфоми ембріональної нирки вівці FLK-BLV (FLK-SBBL, FLK 50/100, FLK 71) складається з фібробластоподібних клітин з округлими ядрами; ріст клітин нерівномірний, ядра мають від 2 до 7 дрібних ядерців різноманітної форми; цитоплазма дрібносітчаста. Реплікація вірусу лейкозу не супроводжується руйнуванням моношару клітин. Сублінія культури FLK-BLV була отримана в 1973–1974 роки Van der Maaten у США (National Animal Disease Center, Айова) з ембріональної нирки вівці шляхом подальшої інюкуляції клітин лейкоцитами від хворої лейкозом великої рогатої худоби. Розроблений спосіб включає поетапне заморожування: на першому етапі протягом години при температурі 4°C, на другому – в парах рідкого азоту протягом 18 годин з наступним зануренням у рідкий азот; суміш поживних середовищ DMEM і 199 (1:1) (70%), з сироваткою крові великої рогатої худоби (20%) та диметилсульфоксиду (10%).

Cell culture of follicular lymphoma of fetal lamb kidney FLK-BLV was used in Ukraine in biotechnology of leukemic antigen production for serological diagnosis of bovine leukemia. Therefore, it was necessary to develop the cryopreservation method for strain of inoculated lamb kidney FLK-SBBL cells, producing a virus of bovine leukemia.

The pathogenic agent of bovine leukemia is oncogenic RNA virus of retroviruses family, parasitizing in leukocytes is of close genetic and antigenic relation with virus of T-cell human leukemia of types 1 and 2, and T-cell leukemia of monkeys. When keeping optimal culturing conditions, chronically infected cell lines (FLK-BLV) can provide reproduction of virus for a long time (more than 200 passages). Inoculated cell culture of follicular lymphoma of fetal lamb kidney FLK-BLV (FLK-SBBL, FLK 50/100, FLK 71) consists of fibroblast cells with rounded nuclei, cell growth is irregular, nucleus has from 2 to 7 small nucleoli of varied shapes; small-netted cytoplasm. Leukemia virus replication is not accompanied by destruction of monolayer cells. In 1973–1974 FLK-BLV subline culture was obtained by Van der Maaten in the USA (National Animal Disease Center, Ames, Iowa) from fetal lamb kidney by further cell inoculation with leukocytes from animals with leukemia. The developed method includes a stepwise freezing: the first stage is exposure for an hour at 4 °C, the second one – in liquid nitrogen vapors for 18 hours with further plunging into liquid nitrogen, a mixture of nutritional media DMEM and 199 (1:1) (70%), with bovine serum (20%) and dimethyl sulfoxide (10%).