DOI: 10.29326/2304-196X-2020-4-35-298-303
УДК 619:576.535:636.92:57.082.26

Получение иммортализованной культуры клеток почки кролика

Б. Л. Манин[1], И. В. Вологина[2], Е. А. Трофимова[3]
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия
[1] *ORCID 0000-0002-5263-1491, e-mail: manin_bl@arriah.ru*
[2] *ORCID 0000-0001-7536-6275, e-mail: vologina@arriah.ru*
[3] *e-mail: mail@arriah.ru*

РЕЗЮМЕ

Получение иммортализованных клеточных линий, происходящих из органов и тканей сельскохозяйственных животных, является актуальным направлением биотехнологии. В статье представлены результаты получения постоянной (иммортализованной) клеточной линии из первично трипсинизированной культуры клеток почки взрослого кролика. В процессе субкультивирования проводили цитоморфологические и кариологические исследования на 1, 3, 24, 31, 38, 56, 66, 75, 86, 101-м пассажах. При проведении длительных последовательных пассажей была прослежена динамика спонтанного формирования постоянной клеточной линии с использованием стандартных питательных сред и эмбриональной сыворотки. В отличие от известных клеточных линий, произошедших от обыкновенного домашнего кролика (*Oryctolagus cuniculus* L.), было отмечено, что иммортализация не сопровождалась увеличением продуктивности клеток и уменьшением их размеров. Размеры клеток полученной перевиваемой линии достигали в адгезированном состоянии 200 микрометров, продуктивность составляла 7000 клеток на квадратный сантиметр. Значительные отличия (в сравнении с известными линиями) в процессе пассирования обнаруживались и в кариотипе. При стабилизации культуральных свойств постоянной линии клеток на 66–101-м пассажах генотип сформировался как околотетраплоидный. Известные клеточные линии – почка кролика (RK-13) и роговица глаза кролика (SIRC) – по кариотипу оказались псевдотриплоидные. Данная культура оказалась малочувствительной к вирусам – возбудителям болезней кроликов и чувствительной к гетерологичным вирусам свиней и крупного рогатого скота.

Ключевые слова: постоянная линия клеток, первично трипсинизированная культура, иммортализация, апоптоз, теломеры.

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

Для цитирования: Манин Б. Л., Вологина И. В., Трофимова Е. А. Получение иммортализованной культуры клеток почки кролика. *Ветеринария сегодня.* 2020; 4 (35): 298–303. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-4-35-298-303.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Манин Борис Леонидович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник сектора культуры клеток отдела инноваций ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, *e-mail: manin_bl@arriah.ru.*

UDC 619:576.535:636.92:57.082.26

Preparation of rabbit kidney immortalized cell culture

B. L. Manin[1], I. V. Vologina[2], Ye. A. Trofimova[3]
FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia
[1] *ORCID 0000-0002-5263-1491, e-mail: manin_bl@arriah.ru*
[2] *ORCID 0000-0001-7536-6275, e-mail: vologina@arriah.ru*
[3] *e-mail: mail@arriah.ru*

SUMMARY

Preparation of immortalized cell lines obtained from organs and tissues of farm animals is an essential area of biotechnology. The paper presents results of continuous (immortalized) cell line preparation from a primary trypsinized cell culture of an adult rabbit kidney. Cytomorphologic analysis and karyotyping were performed during the process of subcultivation in the cell culture at passages 1, 3, 24, 31, 38, 56, 66, 75, 86, 101. Dynamics of spontaneous continuous cell line formation during long-term serial passaging was examined using standard nutrient media and fetal serum. Contrary to the known cell lines of rabbit origin (*Oryctolagus cuniculus* L.), immortalization was not accompanied with enhanced cell production and cell size reduction. The prepared continuous cell line in its adhesive phase was up to 200 μm in size and its productivity was about 7,000 cells/cm^2. Significant differences (compared to the known cell lines) in the karyotype were detected during passaging. The formed genotype was found to be near-tetrapioid when the CCL cultural properties were stabilized at passages 66–101. The known cell lines – rabbit kidney (RK-13) and rabbit cornea (SIRC) – can be characterized as pseudotriploid basing on their karyotype. This culture demonstrated low sensitivity to viruses – causative agents of rabbit diseases and sensitivity to heterologous porcine and bovine viruses.

Key words: continuous cell line, primary trypsynized cell culture, immortalization, apoptosis, telomere.

Acknowledgements: The study was funded by the FGBI "ARRIAH" within the framework of "Veterinary Welfare" research work.

For citation: Manin B. L., Vologina I. V., Trofimova Ye. A. Preparation of rabbit kidney immortalized cell culture. *Veterinary Science Today.* 2020; 4 (35): 298–303. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-4-35-298-303.

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

For correspondence: Boris L. Manin, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Sector for Cell Culture, Innovation Department, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, *e-mail: manin_bl@arriah.ru.*

ВВЕДЕНИЕ

Иммортализация субкультивируемых клеток органов млекопитающих может рассматриваться как уход от терминальной остановки пролиферации, которая в конце концов настигает все нормальные соматические клетки. В начале 60-х гг. прошлого века L. Hayflick и P. S. Moorhead было сделано открытие, что нормальные диплоидные фибробласты человека пролиферируют *in vitro* только определенное число раз, после чего они навсегда прекращают деление и начинают стареть [1–3]. Поскольку процесс старения четко отличается от любой формы смерти клетки, например апоптоза, эти состояния в процессе проведения последовательных пассажей необходимо различать. Исследования, проведенные учеными в 1990-х гг., показали, что иммортализация связана с активацией механизма поддержания теломер с участием теломеразы или иного неизвестного процесса [2, 4]. Иммортализация представляется сложным процессом, связанным со многими генетическими изменениями, часть из которых может быть и не связана с поддержанием теломер [4]. Предполагается существование трех основных компенсаторных механизмов поддержания жизнеспособности и стимуляции пролиферации клеточных линий при потере генетического материала (теломер): полиплоидизация исходного клона клеток, амплификация онкогенов и экстракопирование целых аутосом или их фрагментов.

Специалистам, работающим с клеточными культурами, известно небольшое количество стабильных и технологичных постоянных линий клеток (ПЛК), произошедших от обыкновенного домашнего кролика (*Oryctolagus cuniculus* L.). Самыми распространенными линиями являются: RK-13 (почка кролика, получена в 1963 г.), SIRC (роговица глаза кролика, получена в 1965 г.), RSK (кожа кролика). При проведении исследований по идентификации постоянной линии клеток RSK, полученной из ВИЭВ, кариологическими методами установлена ее принадлежность к линиям свиного происхождения [5]. Остальные клеточные линии из каталога Российской коллекции клеточных культур (РККК) с кратностью рассева 1:2 имеют статус субкультур [6]. Получение немалигнизированных постоянных (иммортализованных) клеточных линий млекопитающих, в том числе и из органов домашнего кролика, не воспроизводится стереотипными манипуляциями. Формирование стабильных ПЛК происходит спонтанно: при длительном пассировании в постоянных условиях либо при изменении условий культивирования – смене питательных сред, сывороток и других компонентов.

Для длительного пассирования клеток млекопитающих обычно используют органы новорожденных животных или их эмбрионов. Статус этих клеток предполагает более длительную митотическую активность *in vitro*.

Целью работы было получение первичной культуры клеток, чувствительной к поражающим кроликов вирусам, из почки взрослого животного и поддержание субкультуры при длительных последовательных пересевах, а также изучение степени трансформации полученной линии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования были взяты почки самца домашнего кролика в возрасте 4–5 мес. массой 2,0–2,5 кг. Первичную культуру получили модифицированным методом дробной трипсинизации [7–9]. После тестирования первичных и субкультивируемых клеток на чувствительность к вирусам, поражающим домашнего кролика, клетки субкультивировали на среде DMEM/F-12 (pH 7,1–7,2) с 0,1% гидролизата лактальбумина (ГЛА), содержащей 5–10% фетальной сыворотки крупного рогатого скота (КРС) [10]. В дальнейшем субкультуру адаптировали к среде ПСП (аналог МЕМ), содержащей тот же процент фетальной сыворотки.

Культивирование клеток из почки кролика проводили по общепринятой методике в стеклянных и пластиковых сосудах с различной ростовой площадью в термостате при температуре (38,0 ± 0,5) °С.

Исследование морфологии клеток. Морфология нативных клеток из первично трипсинизированной культуры изучалась с помощью фазово-контрастной микроскопии.

Для идентификации клеточных культур использовали кариологический метод получения метафазных пластинок по методике P. S. Moorhead (1960).

Прижизненное цитохимическое выявление микоплазменной контаминации и изучение морфологии клеток проводились с использованием красителя акридинового оранжевого в концентрации 0,001%.

В сравнительном аспекте изучались две стабильные широко распространенные постоянные клеточные линии кроличьего происхождения: RK-13 – почка кролика и SIRC – клетки роговицы глаза кролика.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Любое субкультивирование первичных клеток предполагает изучение возможности длительного непрерывного пассирования полученных популяций [11]. В связи с этим проводили мониторинг изменения цитогенетических и культуральных свойств клеток, полученных из почек взрослого кролика. Для этого начиная с 4-го пассажа субкультивирование проводили 2 раза в неделю с кратностью рассева 1:2, 1:3. Конфлюэнция монослоя при этом была 100%, размеры клеток оставались крупными – до 50 мкм в диаметре [10]. С 4-го пассажа в среду культивирования кроме среды DMEM/F-12 добавляли ПСП (1/3), а с 45-го пассажа

культуру выращивали на среде ПСП с добавлением 10% фетальной сыворотки КРС (производство Германия).

В процессе субкультивирования проводились цитоморфологические и кариологические исследования на 1, 3, 24, 31, 38, 56, 66, 75, 86, 101-м пассажах. Примерно на этих же пассажах клетки криоконсервировали и затем изучали возможность их восстановления. Ампулы с клетками, полученными из почки взрослого кролика (ПКр), сконцентрированными до плотности (2,0–5,0)×10^6 кл./мл в свежей ростовой среде с 10% диметилсульфоксида, замораживали на программном устройстве и хранили в жидком азоте. Клетки размораживали при интенсивном перемешивании в водяной бане с температурой 37–38 °С. Выживаемость составляла 80–90%. Оптимальный уровень пролиферативной активности клеточной культуры, отмеченный перед замораживанием, достигался уже на 2-м пассаже после оттаивания (рис. 1).

Уровень и динамика пролиферации стабилизировались к 38-му пассажу. К этому же пассажу отмечалось уменьшение полиморфизма популяций. В отличие от первичных субкультивируемых популяций стали преобладать эпителиоподобные и веретенообразные клетки (рис. 2). В случае передержки культуры более 3 суток формировался псевдосинцитий (рис. 3), который не позволял просматривать и изучать цитоплазматические структуры. Клетки, выращенные в культуральных сосудах разной емкости, имели одинаковый морфологический статус.

На 101-м пассаже была проведена микрометрия клеток конфлюэнтного монослоя ПКр. На рисунке 4 приведена микрометрическая сетка, по которой определяются размеры клеток (минимальное деление – 10 мкм). Средний размер эпителиоподобных клеток варьировал от 30 до 50 мкм. Веретенообразные клетки достигали размера до 100 мкм. При формировании псевдосинцития количество клеток не увеличивалось, клетки переживали до 10 суток при температуре 37 °С, показатель pH при этом сильно не изменялся и был на уровне 6,9–7,0.

Как видно из таблицы, продуктивность субкультуры и формирующейся постоянной клеточной линии была не очень высокой. Кратность прироста на развернутой поверхности (300 $см^2$) достигала 4,1 за четверо суток и 1,7 – во вращающихся сосудах (800 $см^2$) за трое суток. При посевной концентрации 40 000 клеток в 1 мл через 4 ч адгезированные клетки занимали всю поверхность культурального флакона. Через 72 ч произошло уплотнение монослоя, продуктивность достигла 100 000 клеток в 1 мл.

Данные микрометрии клеток коррелировали с продуктивностью полученной клеточной линии, которая не превышала 130 000 на $см^2$.

Полученная клеточная культура использовалась в различных подразделениях ФГБУ «ВНИИЗЖ» для проведения вирусологических исследований. Она оказалась чувствительной к вирусам инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, классической чумы свиней, болезни Ауески. Были выявлены цитопатические

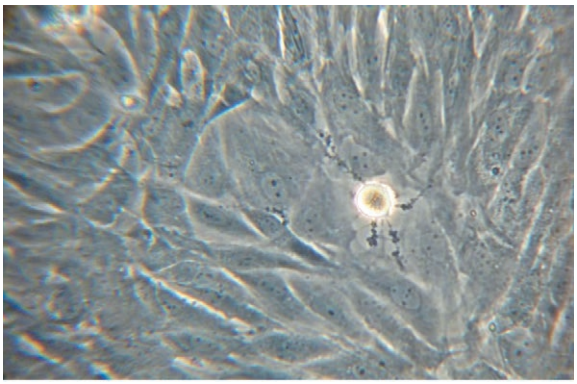

Рис. 1. Морфология клеток ПКр, 2-й пассаж

Fig. 1. Morphology of RK cells, passage 2

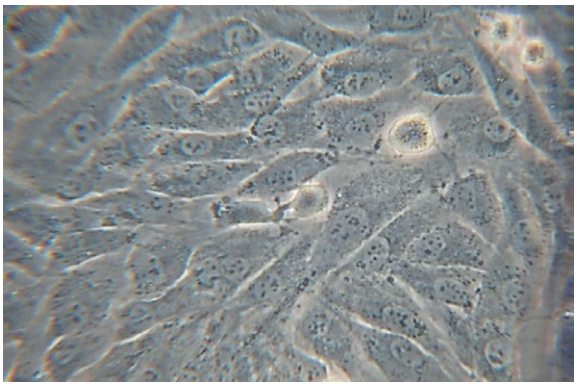

Рис. 2. Морфология клеток ПКр, 38–56-й пассаж

Fig. 2. Morphology of RK cells, passage 38–56

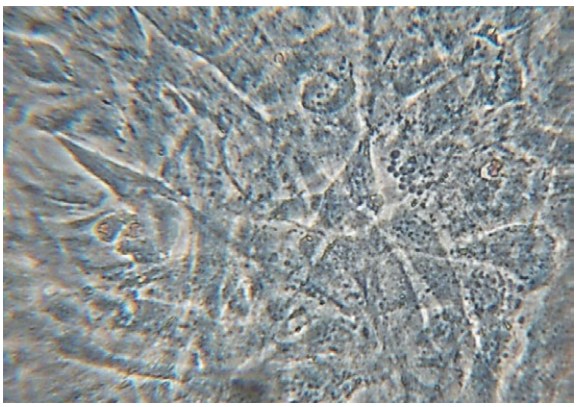

Рис. 3. Псевдосинцитий ПКр

Fig. 3. RK pseudosyncytium

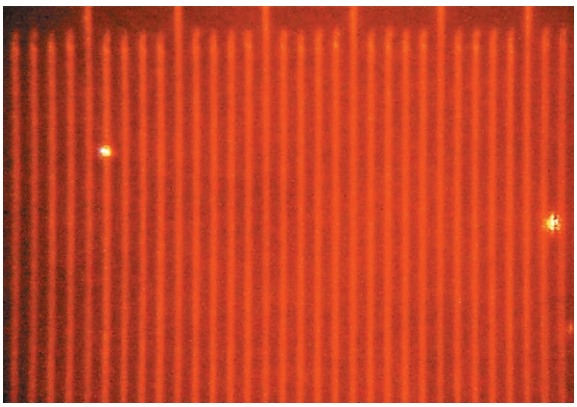

Рис. 4. Микрометрическая сетка, размер одного деления 10 мкм

Fig. 4. Micrometer grid, cell size – 10 μm

Таблица
Динамика пролиферации постоянной линии клеток ПКр в разных культуральных сосудах

Table
Dynamics of the RK continuous cell line proliferation in different culture media

Условия выращивания клеток в монослое	Посевная концентрация, млн/см^3	Время культивирования, сут	Продуктивность клеток, млн	Продуктивность клеток в 1 см^2	Кратность прироста
Стеклянный культуральный сосуд (клинский матрас), объем 1500 мл (300 см^2)	0,02	4	25,0 ± 0,2	83 000	4,1
	0,04	3	30,0 ± 0,2	100 000	2,5
	0,05	3	40,0 ± 0,1	130 000	2,6
Вращающийся сосуд, объем 3000 мл (800 см^2)	0,07	3	50,0 ± 0,2	62 000	1,7
	0,1	3	70,0 ± 0,2	87 000	1,7

изменения в культуре клеток ПКр после первого пассажа вируса миксоматоза кроликов. При дальнейшем пассировании происходило снижение цитопатического действия (ЦПД) вируса. ЦПД вируса геморрагической болезни кроликов на ПКр отсутствовало.

Основная цель работы не была достигнута, т. к. полученная клеточная линия оказалась малочувствительной к вирусам – возбудителям болезней кроликов. Но многие гетерологичные вирусы эффективно репродуцировались с увеличением титров в пассажах. Поэтому изучение цитологических и кариологических изменений в новой ПЛК было продолжено.

Цитокариологическая трансформация. При изучении цитокариологических признаков самых распространенных ПЛК, полученных из органов и тканей кролика, – RK-13 (почка кролика) и SIRC (роговица глаза кролика) – было выявлено, что обе эти культуры имеют околотриплоидный кариотип (рис. 5, 6) и отличимую морфологию клеток с преобладанием эпителиоподобных клеток у RK-13 (рис. 7) и веретенообразных у SIRC (рис. 8).

У клеточной линии SIRC в оптимальных условиях культивирования продуцируется внеклеточный матрикс (вероятно, белкового происхождения),

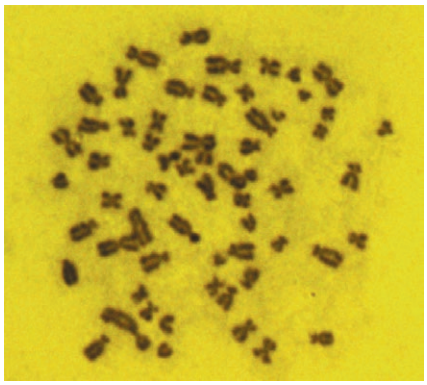

Рис. 5. Метафаза RK-13 (62 хромосомы)
Fig. 5. RK-13 Metaphase (62 chromosomes)

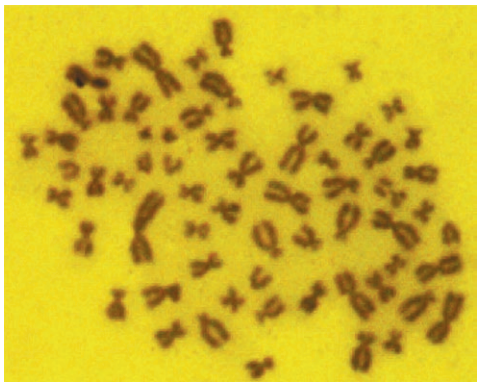

Рис. 6. Метафаза SIRC (65 хромосом)
Fig. 6. SIRC metaphase (65 chromosomes)

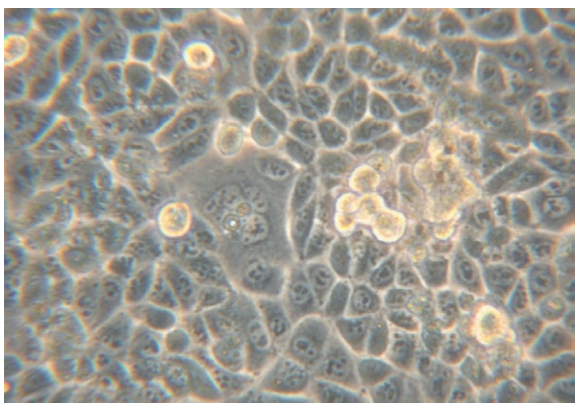

Рис. 7. Морфология ПЛК RK-13
Fig. 7. RK-13 CCL morphology

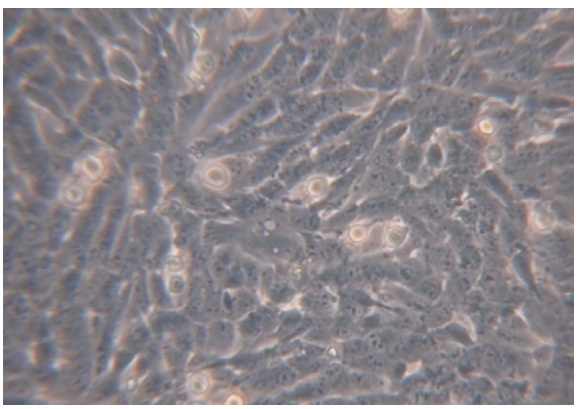

Рис. 8. Морфология ПЛК SIRC
Fig. 8. SIRC CCL morphology

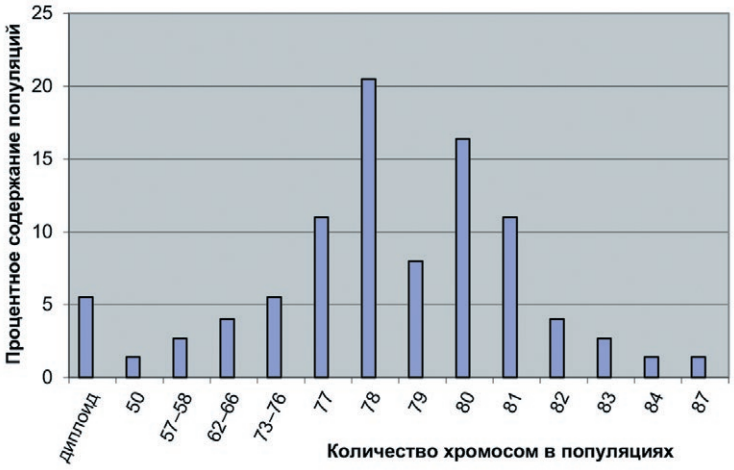

Рис. 9. Кариограмма клеточной линии ПКр, 38-й пассаж

Fig. 9. RK cell line ideogram, passage 38

Рис. 10. Кариограмма клеточной линии ПКр, 56-й пассаж

Fig. 10. RK cell line ideogram, passage 56

который агрегирует клетки при трипсинизации и формировании монослоя. В данном случае одной из причин формирования постоянных клеточных линий, полученных из разных органов кролика, является увеличение генетического материала на 40–47% за счет экстракопирования аутосом. Вероятно, по этой причине увеличивается теломеразная активность клеток и формируется стабильный фактор иммортализации клеточных линий.

Околотриплоидный набор хромосом, по сравнению с нормальным, диплоидным, кариотипом, является стабильным и маркерным признаком длительного пассирования постоянных клеточных культур RK-13 и SIRC. Кратность рассева этих «старых» ПЛК достигает 1:4, 1:8.

Иммортализация клеточных линий значительно меняет цитоморфологические и физиологические свойства исходных клеток, полученных из тканей организма. Особенно это сказывается на чувствительности ПЛК к вирусам. Часто постоянные клеточные линии становятся нечувствительными к вирусам гомологичного происхождения и чувствительными (пермиссивными) к вирусам гетерологичного происхождения.

Так, клетки RK-13 чувствительны к вирусам африканской чумы лошадей, везикулярной болезни свиней, оспы КРС и в то же время к вирусам миксоматоза и оспы кроликов. Постоянная клеточная линия SIRC используется при репродукции вируса краснухи человека.

Как было отмечено выше, полученная клеточная линия ПКр стала проявлять признаки иммортализации после 30-го пассажа. Проведенный кариологический анализ показал тенденцию к гипердиплоидизации популяции клеток ПКр начиная с 38-го пассажа (рис. 9). С 56-го пассажа наблюдали преобладание околотетраплоидной популяции (рис. 10). Проведенные кариологические тестирования на 66, 75, 86 и 101-м пассажах показали стабильность околотетраплоидной популяции (от 77 до 83 хромосом) в кариотипе (рис. 11).

Вариабельность популяций ПЛК ПКр по количеству хромосом соответствовала вариабельности иммортализованной клеточной линии со стабильными цитоморфологическими и культуральными свойствами. Надо отметить, что количество полиплоидов при длительном пассировании в стандартных оптимальных условиях и передержке при температуре 37 °С до 10 суток было менее 1%.

При цитохимическом исследовании полученной из почки взрослого кролика ПЛК прослеживался полиморфизм как клеток, так и ядер (рис. 12). Этим методом не были обнаружены микоплазмы в межклеточном

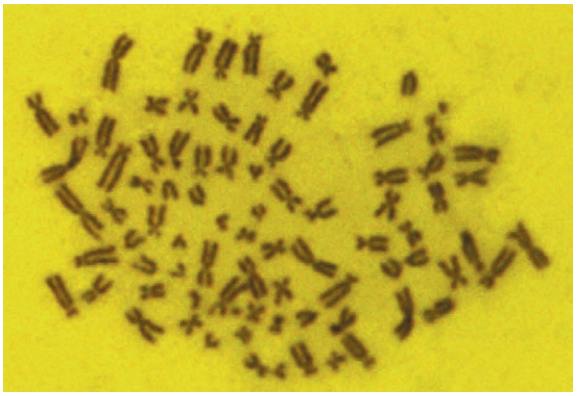

Рис. 11. Метафазная пластинка клеточной линии ПКр, 56-й пассаж, 83 хромосомы

Fig. 11. Metaphase plate of the RK cell line, passage 56, 83 chromosomes

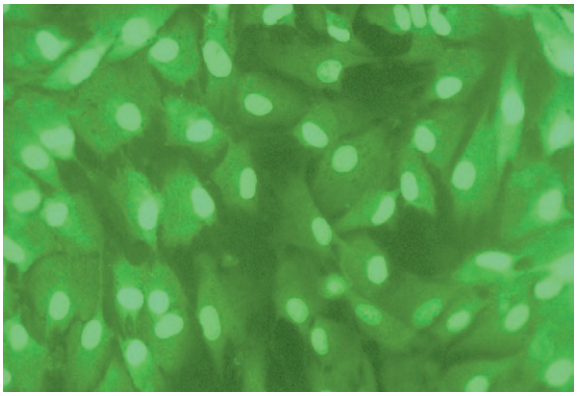

Рис. 12. Цитохимический препарат ПКр. Окраска акридиновым оранжевым, объектив ×40

Fig. 12. RK cytochemical preparation. Staining with acridine orange, lens ×40

пространстве и на мембранах клеток. Отсутствие латентной контаминации позволяет длительно пересевать (пассировать) данную ПЛК без изменения кратности рассева, условий культивирования и без криопаузы.

Данная культура оказалась чувствительной к вирусам инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, классической чумы свиней, болезни Ауески. Были выявлены цитопатические изменения в культуре ПКр в результате действия вируса миксоматоза кроликов без нарастания титров в пассажах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Иммортализация клеточных культур, получаемых из органов сельскохозяйственных животных, имеет ряд закономерностей, которые являются причиной относительно небольшого количества постоянных культур. Например, постоянных линий клеток, произошедших от обыкновенного домашнего кролика (*Oryctolagus cuniculus* L.), всего пять. Общепризнано, что вероятность спонтанного получения постоянных клеточных линий из органов эмбрионов и новорожденных животных выше, чем из органов взрослых животных, и такие клеточные линии предпочтительнее, поскольку содержат большое количество стволовых клеток с повышенной пролиферативной активностью [3]. Как показали Э. Л. Дункан и Р. Р. Реддел, спонтанная иммортализация нетуморогенного происхождения имеет непредсказуемые направления трансформации клеток *in vitro* [2, 11]. Полученные в данном исследовании результаты по стабилизации кариотипа ПЛК почки кролика на уровне тетраплоидности вносят новые перспективы в использование органов взрослых животных. Установлено, что полученная субкультура не отличалась высокой продуктивностью, но может служить субстратом для культивирования гетерологичных вирусов свиней и крупного рогатого скота.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. 1 см. REFERENCES)

2. Дункан Э. Л., Реддел Р. Р. Генетические изменения, связанные с иммортализацией. *Биохимия*. 1997; 62 (11): 1477–1490. Режим доступа: https://journals.belozersky.msu.ru/biochemistry-content/d/1997/11/1477-1490.pdf.

3. Мамаева С. Е. Закономерности кариотипической эволюции клеток в культуре. *Цитология*. 1996; 38 (8): 787–814.

4. Полянская Г. Г. Кариотипическая изменчивость в клеточных линиях и структура кариотипа. *Клеточные культуры (информационный бюллетень)*. 2009; 24: 15–24.

5. Манин Б. Л., Коропова Н. В., Трофимова Е. А. Идентификация постоянных клеточных линий животных по кариологическим, морфологическим и культуральным признакам. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2012; 10: 246–254. eLIBRARY ID: 18881531.

6. Каталог. Российская коллекция клеточных культур (РККК). Ред. Г. П. Пинаев и др. СПб.; 2004. 315 с.

7. Глаголева И. С., Плотникова Э. М. Возможность применения первичных культур клеток почек новорожденных крольчат в производстве вакцинных препаратов. *Гены и клетки*. 2014; 9 (3): 151–154. eLIBRARY ID: 29332365.

8. 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+; 2009. 656 с.

9. Плотникова Э. М., Кириллова Ю. М., Глаголева И. С. Подбор оптимальных условий роста первичной культуры клеток почек новорожденных кроликов. *Ветюкрм*. 2012; 4: 42–44. eLIBRARY ID: 20356980.

10. Вологина И. В., Манин Б. Л., Коропова Н. В. Оптимизация условий трипсинизации и культивирования первичных клеток почек кролик. *Достижения молодых ученых – в ветеринарную практику: материалы V Международной научной конференции (г. Владимир, 5–6 декабря 2019 г.)*. Под общ. ред. Д. А. Лозового. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2019; 57–62. eLIBRARY ID: 41589695.

11. Реддел Р. Р., Брайан Т. М., Мернейн Д. П. Иммортализованные клетки без измеримой активности теломеразы. *Биохимия*. 1997; 62 (11): 1467–1476. Режим доступа: http://journals.belozersky.msu.ru/biochemistry/paper/1997/11/1467.

REFERENCES

1. Hayflick L., Moorhead P. S. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 1961; 25 (3): 585–621. DOI: 10.1016/0014-4827(61)90192-6.

2. Duncan E. L., Reddel R. R. Genetic changes associated with immortalization. *Biochemistry (Moscow)*. 1997; 62 (11): 1477–1490. Available at: https://journals.belozersky.msu.ru/biochemistry-content/d/1997/11/1477-1490.pdf. (in Russian)

3. Mamaeva S. E. Regularities of cell karyotypic evolution in culture. *Tsitologiya*. 1996; 38 (8): 787–814. (in Russian)

4. Polyanskaya G. G. Karyotypic variability in cell lines and caryotype structure [Kariotipicheskaya izmenchivost' v kletochnyh liniyah i struktura kariotipa]. *Cell cultures (information bulletin)* [*Kletochnye kul'tury (informacionnyj byulleten')*]. 2009; 24: 15–24. (in Russian)

5. Manin B. L., Koropova N. V., Trofimova Ye. A. Identification of continuous animal cell lines according to the karyological, morphological and cultural characteristics. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2012; 10: 246–254. eLIBRARY ID: 18881531. (in Russian)

6. Catalogue. Russian collection of cell cultures (RCCC) [Katalog. Rossijskaya kollekciya kletochnyh kul'tur (RKKK)]. Ed. by G. P. Pinayev, et al. SPb.; 2004. 315 p. (in Russian)

7. Glagoleva I. S., Plotnikova E. M. Possibility of application primary cell culture of kidney newborn rabbits in vaccines production. *Genes Cells*. 2014; 9 (3): 151–154. eLIBRARY ID: 29332365. (in Russian)

8. Animal cell in culture (methods and implementation in biotechnology) [Zhivotnaya kletka v kul'ture (metody i primenenie v biotekhnologii)]. Ed. by L. P. Dyakonov; Russian Academy of Agricultural Sciences. 2nd ed., enlarged. M.: Sputnik+; 2009. 656 p. (in Russian)

9. Plotnikova E. M., Kirillova J. M., Glagoleva I. S. Selection of optimal conditions for growth of primary cultures of kidney cells, but the newborns rabbits. *Veterinaria i kormlenie*. 2012; 4: 42–44. eLIBRARY ID: 20356980. (in Russian)

10. Vologina I. V., Manin B. L., Koropova N. V. Optimization of conditions for primary rabbit kidney cell trypsinization and cultivation. *Achievements of early-career researchers – to veterinary practice* [*Dostizheniya molodyh uchenyh – v veterinarnuyu praktiku*]: *Materials of the V International Scientific Conference (Vladimir, December 5–6, 2019)*. Under general editorship of D. A. Lozovoy. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2019; 57–62. eLIBRARY ID: 41589695. (in Russian)

11. Reddel R. R., Bryan T. M., Murnane J. P. Immortalized cells with no detectable telomerase activity. *Biochemistry (Moscow)*. 1997; 62 (11): 1467–1476. Available at: http://journals.belozersky.msu.ru/biochemistry/paper/1997/11/1467. (in Russian)

Поступила 29.05.2020
Принята в печать 02.07.2020

Received on 29.05.2020
Approved for publication on 02.07.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Манин Борис Леонидович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник сектора культуры клеток отдела инноваций ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Вологина Ирина Викторовна, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник сектора культуры клеток отдела инноваций ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Трофимова Елена Александровна, ведущий технолог сектора культуры клеток ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Boris L. Manin, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Sector for Cell Culture, Innovation Department, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Irina V. Vologina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Sector for Cell Culture, Innovation Department, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Elena A. Trofimova, Leading Technologist, Sector for Cell Culture, Innovation Department, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.