VII МОСКОВСКИЙ МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС

БИОТЕХНОЛОГИЯ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

Москва, Новый Арбат, 36/9 (Здание Правительства Москвы)

www.mosbiotechworld.ru

BIO ТЕХНОЛОГИИ

При поддержке Департамента науки, промышленной политики и предпринимательства города Москвы

Support: Department of science, industrial policy and entrepreneurship of Moscow

МОСКВА, РОССИЯ
19 - 22 марта
2013
March, 19 - 22
MOSCOW, RUSSIA

VII MOSCOW INTERNATIONAL CONGRESS

BIOTECHNOLOGY: STATE OF THE ART AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT

Moscow, Novy Arbat. 36/9 (the House of Moscow Goverment)

МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА | ЧАСТЬ 1
CONGRESS PROCEEDINGS | PART 1

МОСКВА, РОССИЯ 19 - 22 марта 2013 March, 19 - 22 MOSCOW, RUSSIA

МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА | ЧАСТЬ 1
CONGRESS PROCEEDINGS | PART 1

with the commercially available vaccine on the basis of a PCV-2a. These data confirm a conclusion on prospects of further use of baculovirus expression system for developing vaccines.

ИНДУКЦИЯ СПЕРМАТОГОНИЕВЫХ КЛЕТОК ХРЯКА К ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ *IN VITRO*

Савченкова И.П., Васильева С.А.
ГНУ ВНИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко Россельхозакадемии, Москва, Рязанский пр-т, 24/1

Ранее в результате длительного культивирования сперматогоний хряка на фидерном слое STO в ростовой среде для ЭСК, дополненной DIA, были получены клоны с ЭСК морфологией, в которых обнаруживалась неспецифичная ЩФ, экспрессия SSEA-1 и POU5F1, что могло свидетельствовать о частичной реактивации транскрипционных факторов полипотентности [Савченкова И.П.и др., 2012]. В связи с этим целью наших исследований было оценить потенции полученных клеточных колоний формировать при индукции эмбриональные тельца (ЭТ). Для получения ЭТ, клетки пересевали в высокой плотности и инкубировали в течение 7-ми сут до достижения ими монослоя. После этого клетки осторожно снимали с подложки трипсинизацией, заботясь о том, чтобы не разбить клеточные клоны, очищали от STO и индуцировали к суспензионному культивированию. В результате наблюдали формирование трехмерных агрегатов, схожих с ЭТ. На 7-е сут культивирования в суспензии ЭТ-подобные структуры переносили снова в адгезивные чашки Петри. При этом на 2-е сут наблюдали, что часть клонов прикрепилась, а часть осталась в суспензии, сохраняя ЭТ-подобную структуру. На 3-5 сут культивирования вокруг прикрепившихся ЭТ-подобных структур визуализировались клетки, которые отличались между собой по морфологии, а часть клеток образовывали круглые или продолговатые клоны. Можно предположить, клеточная популяция, обогащенная сперматогониями хряка, может быть источником для получения *in vitro* колоний с фенотипом подобным ЭСК. Это открывает новые перспективы для получения ЭСК крупных сельскохозяйственных животных (лошадь, крупный рогатый скот), у которых существует проблема дефицита биологического материала – предымплантационных зародышей.

Савченкова И.П.Полякова М.В., Викторова Е.В., Кулешов К.В.Длительное культивирование сперматогоний типа А хряка//Доклады РАСХН. 2012. №.5. С. 46-49.

Работа поддержана грантом РФФИ 10-04-01471-а

INDUCTION OF BOAR SPERMATOGONIAL CELLS TO DIFFERENTIATION *IN VITRO*

Savchenkova I.P., Vasilyeva S.A.
Kovalenko's All Russian State Research Institute of Experimental Veterinary Medicine Moscow, Ryazanskiy Ave, 24/1

Earlier in result of the long culturing of boar type A spermatogonia in medium for ESCs with DIA on feeder layer STO we received clones with ESCs morphology in which has been revealed alkaline phosphatase, expression of SSEA-1 and POUF5 that could testify about partial reactivation of transcription factors of pluripotency [Savchenkova et al., 2012]. In this regard the purpose of our researches was to evaluate a potency of the derived cellular colonies with a phenotype similar ESCs, to differentiation *in vitro* used indirect methods, by means of creation of the embryonic little bodies (EBs).

For receiving EBs, cellular clones were sowed in high density and incubated for 7 days before achievement of a monolayer. After, these cellular colonies carefully were removed from a substrate with trypsin treatment, caring not to break the cellular clones, were separated from STO and were induced to suspension cultivation. As a result was visualized formation of the three-dimensional aggregates similar to EBs. On the 7th day of cultivation in suspension EB-like structures were transferred again on adhesive Petri dishes. Thus on 2d day watched that the part of clones was attached, and the part remained in suspension, saving EB-like structure. On the 3-5th days of cultivation around of attached of EB-like structures were detected cells with different morphology, and the part of cells formed by round or oblong clones. Thus in case of their induction to suspension these cells were capable forming *in vitro* the three-dimensional structures similar ET in which after an attachment cells with different morphology were detected.

It is possible to assume, the cellular population enriched with boar spermatogonia can be a source for receiving *in vitro* of colonies with a phenotype similar ESCs. It opens new perspectives for receiving ESCs of large agricultural animals (a horse, cattle) which have a problem of a deficit of a biological material – preimplantation embryos.

The work is supported by RFBR 10-04-01471-a

ПЦР ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ПРОВИРУСНОЙ ДНК ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Косовский Г.Ю., Сотникова Е.А.

Государственное научное учреждение Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий Российской академии сельскохозяйственных наук г.Москва,

e-mail: sotnikova.evgeniya@gmail.com

127422, г. Москва, ул. Костякова, д. 12 стр.4

Энзоотической лейкоз крупного рогатого скота – хроническая ретровирусная пролиферативная болезнь, возбудителем которой является вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) – *Bovine Leukose Virus,* относящийся к семейству *Retroviridae.* В связи с продолжительным латентным периодом, в течение которого больное животное может быть источником заражения, несомненна необходимость ранней диагностики.

Нашей целью было создание тест-системы для диагностики провирусной ДНК ВЛКРС, основанной на применении метода мультиплексной ПЦР с детекцией продуктов реакции в режиме реального времени.

При разработке диагностической системы следует учитывать генетическую гетерогенность ВЛКРС, в противном случае возможно увеличение количества ложноотрицательных результатов. На основе опубликованных в базе данных Genbank последовательностей, относящихся к генам *gag* и *pol,* были созданы консенсусные последовательности. Выделенные в них консервативные участки были использованы в подборе праймеров и зондов. Третья пара праймеров участвует в амплификации уникального участка гена *ABLIM2* Bos taurus, эта реакция используется в качестве внутреннего положительного контроля.

Проведена апробация тест-системы на выборке животных (n=1240) и сравнение с существующим коммерческим набором для диагностики провирусной ДНК ВЛКРС (n=103). В результате сравнения установлено, что эффективность нашей тест-системы выше на 13,6%.