

5. African swine fever virus CD2v and C-type lectin gene loci mediate serological specificity / A. Malogolovkin, G. Burmakina, E. R. Tulman, G. Delhon, D. G. Diel, N. Salnikov, G. F. Kutish, D. Kolbasov, D. L. Rock // Journal of General Virology. – 2015. – 96. – P. 866–873.

THE STUDY OF THE DYNAMICS OF REPLICATION OF STRAINS FC-262, FC-32/135, F-32 ASF VIRUS IN CELL CULTURE BONE MARROW PIGS

Antonova V.V., Burmakina G. S.

Key words: *African swine fever, PCR, cell culture bone marrow pigs, reproduction of the virus.*

The work is devoted to the study of the dynamics of reproduction of strains of the virus in cell cultures of different origin. To achieve the goal it was necessary to study the dynamics of reproduction strains CC-262, FC-32/135, F-32 virus ASF in the culture of bone marrow cells of pigs (CCMS). The results of these studies showed some differences in the dynamics of accumulation of different strains of the virus in cell culture bone marrow pigs.

УДК 619:612.112.94:616-006.446.2: 599.742.73

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ЗДОРОВЫХ И FELV-ИНФИЦИРОВАННЫХ КОШЕК МЕТОДОМ АСМ

Артемов Д.А.,* студент 3 курса факультета ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий,
Костишко Б.Б.,** магистрант физико-технического факультета
Научные руководители – Красникова Е.С.,* кандидат биологических наук, доцент; Столбовская О.В.,** кандидат биологических наук, доцент

*ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ»

** ФГБОУ ВПО «УлГУ»

Ключевые слова: *кошки, вирусная лейкемия, лимфоцит, атомно-силовая микроскопия, модуль Юнга.*

Аннотация. *Статья посвящена сравнительному анализу морфологических, топографических и упругих свойств лимфоцитов, полученных от здоровых и инфицированных вирусом лейкемии кошек методом атомно-силовой микроскопии (АСМ). Была проведена профилометрия лимфоцитов, изучены карты вертикальных отклонений консоли и карты латеральных сил малых участков. Было выявлено, что упругость лимфоцитов здоровых животных на 8% выше, чем FeLV-инфицированных.*

Вирусная лейкемия кошек – хроническое часто встречающееся инфекционное заболевание, в большинстве случаев приводящее к смерти животного. Размножаясь в селезенке и лимфоузлах, вирус угнетает иммунную систему организма и способствует развитию вторичных бактериальных и вирусных инфекций, угнетает процесс кроветворения [1, 2].

Иммунитет при данном заболевании не изучен, поэтому исследование здоровых и пораженных вирусом лимфоцитов является актуальным в настоящее время вопросом. Лимфоциты, являясь важным звеном иммунной системы, служат мишенью для возбудителя лейкемии [1].

Один из современнейших методов исследования, АСМ, является эффективным методом изучения мембраны и подмембранных структур лимфоцитов. К таким структурам, в первую очередь, относится цитоскелет. Лимфоциты характеризуются хорошо выраженным цитоскелетом: микротрубочками, промежуточными виментиновыми филаментами и микрофиламентами [3].

Целью настоящего исследования является сравнение структурно-функционального состояния цитоскелета лимфоцитов здоровых и FeLV-инфицированных кошек методом атомно-силовой микроскопии *in vitro*.

Объектом исследования явились лимфоциты здоровых и FeLV-инфицированных кошек. Лимфоциты выделяли из периферической крови в градиенте плотности фиколл-урографина по стандартной методике. Для оценки локализации клеток на препарате, препараты окрашивали по Романовскому-Гимза. Для исследования поверхности клеток использовали сканирующий зондовый микроскоп Solver Smena A (на базе НИТИ УлГУ, лаборатории сканирующей и зондовой микроскопии, в рамках договора НТС). Сканирование поверхности фиксированных препаратов проводили в полуконтактном режиме на воздухе. Использовались неконтактные кремниевые зонды серии NSG10 (NT-MDT) с жесткостью 5,5 Н/м, резонансной частотой приблизительно 150 кГц, радиусом закругления 10 нм, высота зонда 10-20 мкм.

Световая микроскопия показала, что морфологически лимфоциты больных и здоровых кошек различаются: вирусинфицированные лимфоциты имели эозинофильно окрашенную цитоплазму, неровные контуры, уменьшенное в объеме и смешанное к периферии ядро.

При исследовании препаратов методом АСМ были выявлены некоторые артефакты сканирования, такие как: разрыхление мембраны лимфоцитов; взду-

тия на мембране лимфоцитов, высушенных на воздухе; слишком толстый слой клеток на стекле; наличие кристаллов фикола на сканируемой поверхности.

АСМ профилометрия показала, что поверхность здоровых лимфоцитов является более гладкой по сравнению с поверхностью инфицированных. На карте латеральных сил инфицированных лимфоцитов была заметна дополнительная исчерченность поверхности мембраны. Средний объем инфицированных лимфоцитов был на 27,5% меньше объема здоровых, при том, что их диаметр превышал диаметр незараженных лимфоцитов на 18,8% и высота их более чем на 1 мкм была меньше. Анализ модуля Юнга, показал, что упругие свойства мембран инфицированных лимфоцитов на 8% меньше, чем здоровых.

Таким образом, метод АСМ позволил выявить признаки дестабилизация молекулярной ультраструктуры плазмолеммы, что может приводить к потере функциональной активности клетки и изменению жизнедеятельности, а также отражаться на ее функции.

Библиографический список:

1. Чандлер, Э.А. Болезни кошек. АКВАРИУМ ЛТД. 2002.
2. Красникова, Е.С. Оценка диагностической ценности полимеразной цепной реакции и иммунохроматографического анализа при некоторых превалирующих ретровирусных инфекциях кошек / Е.С. Красникова, А.В. Красников, В.А. Агольцов // Аграрный научный журнал. - 2013. - № 2. - С. 23-25.
3. Столбовская, О.В. Исследование вязко-эластических свойств цитоплазматической мембраны лимфоцитов крови человека методом атомно-силовой микроскопии / О.В. Столбовская, Р.М. Хайруллин, Т.К. Куликова, А.В. Снежкина, А.Ф. Садритдинова // Фундаментальные исследования.- 2013. - № 4-5. - С. 1149-1152.

LYMPHOCYTE STUDY OF HEALTHY AND FELV-INFECTED CATS BY AFM METHOD

Artemyev D.A., Kostishko B.B.

Key words: cats, viral leukemia, lymphocytes, atomic force microscopy, the Young's modulus.

Summary. The article is devoted to the comparative analysis of morphological, topographical and elastic properties of lymphocytes of healthy and FeLV-infected cats by atomic force microscopy (AFM). Profilometry lymphocytes, studying of maps of the vertical deviations of console and maps of lateral forces of small areas were conducted. It was found that the elasticity of lymphocytes of healthy animals is 8% higher than FeLV-infected.