

УДК 619:611.018.54:591.111

# ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИКАРБОНАТНЫХ БУТЫЛЕЙ ПРИ ВЗЯТИИ КРОВИ У ЖИВОТНЫХ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ СЫВОРОТКИ ДЛЯ КУЛЬТУР КЛЕТОК

**Н. Гурьянов**, канд. биол. наук, старший научный сотрудник;  
**И. Ганиев**, канд. биол. наук, старший научный сотрудник;  
**Э. Плотникова**, д-р вет. наук, зав. лабораторией культур клеток и гибридной технологии;  
**Н. Батрутдинов**, аспирант;  
**Е. Хамзина**, канд. биол. наук, старший научный сотрудник;  
**Ю. Кириллова**, канд. биол. наук, научный сотрудник;  
**Н. Латыпова**, соискатель;  
**Р. Хусаенов**, соискатель  
ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных»,  
e-mail: vnivi@mail.ru. Тел. (843)239-53-20

**Аннотация.** В статье представлены преимущества использования поликарбонатных бутылей при производстве сыворотки крови животных.

**Ключевые слова:** животные, кровь, сыворотка, поликарбонатные бутылки, крупный рогатый скот, культуры клеток.

## APPLICATION OF POLYCARBONATE BOTTLES AT TAKING OF ANIMALS' BLOOD FOR THE PURPOSE OF OBTAINING SERUM FOR CELLS CULTURE

**N. Guryanov, I. Ganiev, E. Plotnikova, N. Batrutdinov, E. Khamzina, Yu. Kirillova, N. Latyypova, R. Khusaenov**

**Summary.** The advantages of using of polycarbonate bottles at the production of blood serum of animals are represented in the article.

**Keywords:** animals, blood, serum, polycarbonate bottles, cattle, cells culture.

Из практики культивирования клеток известно, что для этой цели, как прежде, так и в настоящее время [4] используют сыворотки крови разных видов животных (крупного рогатого скота, лошадей, овец, свиней, северных оленей и др.). Оптимальная концентрация сыворотки в культуральной среде составляет 10%, поэтому расхо-

ды ее в масштабе страны только для получения вакцин против заболеваний животных весьма значительны. Лучшей по ростстимулирующей активности считается сыворотка крови плодов коров, но она дефицитная, и дорогостоящая. Лидирующее положение по объему использования в биотехнологии занимает сыворотка крови

взрослого крупного рогатого скота, хотя имеет место и применение в данной области сыворотки крови свиней и овец.

Технология приготовления сывороток крови животных для культивирования клеток включает в себя ряд последовательных этапов: подбор животных доноров, взятие крови, отделение и сбор сыворотки, замораживание, оттаивание, предварительная очистка и стерилизующая фильтрация сыворотки и ее хранение.

В данной работе нами рассматриваются лишь первые три этапа получения сыворотки крови на примере взрослого крупного рогатого скота с использованием наряду со стеклянными и поликарбонатными бутылками емкостью 20 литров, хотя в последние забор крови проводили и у свиней.

Для взятия крови у животных практически все производители сыворотки используют стеклянные 10–20-литровые бутылки, но стеклянная посуда имеет ряд недостатков:

а) бьется (до 10% и более) при мойке, стерилизации, взятии крови, переносе в убойный цех, а из цеха в холодильную камеру, установке на стеллажи, выбивании сгустков крови из бутылей;

б) является потенциальным источником травматизма сотрудников, работающих с ней;

в) тяжелая (в зависимости от толщины стенок), а масса поликарбонатных бутылей не существенна;

г) дорогостоящая (стеклянные бутылки более чем в три раза дороже поликарбонатных);

д) бой стеклянных бутылей приводит к большим потерям крови, сыворотки, что ведет к снижению объема конечного продукта и увеличению затрат на производство сыворотки крови.

Поэтому перед нами стояла цель изучить возможность замены стеклянных бутылок поликарбонатными при получении сыворотки крови крупного рогатого скота и влияние материала, из которого они приготовлены, на ее биологическую активность при культивировании клеток животного происхождения. Исследования проведены в 2 мясокомбинатах: ОАО «Марийская мясная компания», п. Медведево, Республики Марий-Эл и ОАО «Бугульминский мясокомбинат» Республики Татарстан.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Кровь для получения сыворотки брали из сердца клинически здоровых бычков массой

300–400 кг стерильными системами, включающими полый нож из трубки нержавеющей стали с внутренним диаметром 16 мм и длиной 400 мм, соединенный силиконовым шлангом, протянутым через отверстие в резиновой пробке № 45, которая перекрывает горлышко 20-литровой бутылки. В опытах использовали стеклянные и поликарбонатные бутылки, в которые наливали 5%-ный раствор натрия хлорида по 200 мл и заполняли кровью наполовину объема (по 10 л). После 2-часовой выдержки в убойном цехе в вертикальном положении их переносили в лабораторию и помещали в холодильную камеру при температуре +1–2°C на стеллажи под углом 30° и выдерживали в ней 72 часа. Затем при отрицательном давлении –0,3–0,4 атм. сыворотку собирали в бутылки специальными системами, измеряя объемы отстоявшейся сыворотки в каждой бутылке. Все этапы получения сыворотки крови животных осуществляли по единой методике [3].

Для оценки ростовых свойств сывороток крови бычков, собранных из стеклянных и поликарбонатных бутылок, служили две постоянные клеточные линии SPEV и MDBK. Клетки культивировали по общепринятой методике [1] в стандартных условиях монослойно в термостате при температуре 37°C в стеклянных матрасах емкостью 200 мл. Сыворотку крови добавляли в культуральную среду Игла MEM в концентрации 10%. Также по общепринятой методике определяли индекс пролиферации клеток, как показатель ростстимулирующей активности сыворотки крови [2]. Подсчет клеток проводили в камере Горяева с помощью микроскопа МБИ-3 после 72-часового их роста. Клетки выращивали при посевной концентрации от  $110500 \pm 4100$  до  $120100 \pm 3200$  клеток/мл. Цифровой материал обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики [5].

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

По взятию крови у бычков и получению сыворотки проведено три опыта. В общей сложности задействовано по 40 стеклянных и поликарбонатных бутылок. Установлено, что в среднем из каждой бутылки выход сыворотки из крови, взятой в стеклянные и поликарбонатные бутылки, составил, соответственно,  $4,100 \pm 0,150$  и  $4,200 \pm 0,200$  л, или 41 и 42% от объема взятой

Таблица 1

**Индексы пролиферации культур клеток SPEV и MDBK на среде Игла MEM с бычьей сывороткой из стеклянных и поликарбонатных бутылей**

Сыворотка крови бычьей, полученная из бутылей:	SPEV	MDBK
Стеклянных	5,35±0,11	6,20±0,18
Поликарбонатных	5,42±0,16	6,12±0,20

крови. Незначительно больший выход сыворотки в поликарбонатных бутылках, вероятно, связан с индивидуальными особенностями бычков, а не с материалом, из которого изготовлены сборники для крови. Опыты по ростстимулирующей активности сывороток крови проведены также трехкратно. Особых различий по индексу пролиферации культур клеток, выращиваемых на питательной среде с двумя вариантами бычьей сыворотки крови, нами не выявлено, что следует из таблицы 1.

Исследования в данном направлении нами будут продолжены по двум причинам: во-первых, количество опытов незначительно, как по получению сыворотки крови, так и ее оценке по биологической активности, во-вторых, нет достоверных различий, как между выходом сыворотки из крови, взятой в стеклянные и поликарбонатные бутылки, так и по сравнительной оценке двух вариантов бычьей сыворотки по индексу пролиферации перевиваемых клеток.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможности использования поликарбонатных бутылей при производстве сыворотки крови животных для культур клеток,

что позволит снизить трудоемкость, финансовые затраты, а также увеличить объем конечного продукта. Негативного влияния сыворотки, полученной в поликарбонатных бутылках, на пролиферацию взятых в опыты перевиваемых клеток, нами не выявлено.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. *Адамс Р.* Методы культуры клеток для биохимиков / Р. Адамс // М.: Мир. 1983. С. 264.
2. *Антонов Б.И., Борисова В.В., Волкова П.М.* Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции: Сборник / Б.И. Антонов, В.В. Борисова, П.М. Волкова // М.: Агропромиздат. 1986. С. 352.
3. *Гурьянов Н.И.* Усовершенствование технологий получения сывороток крови кур, бычков, эмбрионов коров и изучение их свойств при культивировании клеток и вирусов // Автореферат дисс. ... канд. биол. наук Казань. 1992. С. 19.
4. *Дьяконов Л.П.* Животная клетка в культуре. / Л.П. Дьяконов, В.И. Ситьков // М.: «Компания Спутник +». 2009. С. 656.
5. *Тукшаитов Р.Х.* Основы динамической метрологии и анализа результатов статической обработки / Р.Х. Тукшаитов // Казань: Мастер Лайн. 2001. С. 284.

**ВЕТИНФО**

**БРИТАНСКИЕ КОЗЫ ЗАПИСАЛИ РОЖДЕСТВЕНСКИЕ ПЕСНИ**

Британские фермеры в связи с тем, что животные дают больше молока, когда слушают музыку, записали козье пение. Три козы «исполнили» рождественские гимны, после чего музыкальные произведения были выложены в интернет. На сайте фермы провели голосование, в ходе которого посетители ресурса выбрали лучшую исполнительницу праздничной песни. Однажды сотрудники фермы поставили своим козам рождественские песни и заметили, что животные им «подпевают», сообщают «Новые Известия». Трех исполнительниц записали на видео и разместили получившиеся ролики на официальном сайте фермы. Победительница лидировала с большим отрывом, за нее проголосовало более 50 процентов всех посетителей сайта.

*Агентство «АгроФакт»*