

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 ± 4100 до 120100 ± 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»