

интенсификации производства продуктов животноводства: Тезисы докладов международной научно-практической конференции. РУП "Научно -практический центр НАН Беларуси по животноводству". 2008. С. 292-294.

12. Технология продуктов пчеловодства и их применение /Красочко П.А., Еремия Н.Г. //Учебник для вузов / Санкт-Петербург, Лань, 2022. – 660 с.

УДК 619:615.37

¹Красочко И.А., ²Борисовец Д.С., ¹Красочко П.А.,

¹Волосюк Е.И., ²Зуйкевич Т.А., ³Черных О.Ю.

¹Krasochko I.A., ²Borisovets D.S., ¹Krasochko P.A.,

¹Volosiuk E.I., ²Zuikевич T.A., ³Chernykh O.Yu.

¹УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

¹EI "Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine", Vitebsk, Belarus

²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии

им.С.Н.Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь.

²RUE "S.N. Vyshelesky Institute of Experimental Veterinary Medicine", Minsk, Republic of Belarus

³Федеральное государственное бюджетное образовательное

учреждение высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т.Трубилина», г. Краснодар, РФ

³Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "I.T. Trubilin Kuban State Agrarian University", Krasnodar, Russia

ИЗУЧЕНИЕ ПОТРЕБЛЕНИЯ БЕЛКА И МАКРОЭЛЕМЕНТОВ ИЗ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ПЕРЕВИВАЕМЫМИ КЛЕТКАМИ STUDY OF PROTEIN AND MACRONUTRIENT UPTAKE FROM NUTRIENT MEDIA BY TRANSPLANTED CELLS

Аннотация. В статье приведены данные потребления общего белка и макроэлементов ростовыми питательными средами после культивирования перевиваемых клеток. Использование клеточных культур в биотехнологических процессах играет важную роль для накопления вирусов с целью изготовления противовирусных вакцин.

Для культивирования клеток вне организма необходимо создать условия аналогичные со средой, в которой клетки существовали *in vivo* – клеткам необходимы большинство незаменимых аминокислот, витамины, углеводы, минеральные вещества и т.д. Для выращивания животных клеток применяют питательные среды, имеющие сложный состав, который komponуются из высококачественного, сравнительного дорогого сырья с последующим внесением питательных и ростовых добавок. С целью изучения потребления аминокислот ростовых питательных сред, перевиваемыми клетками МДБК, СПЭВ, ВНК 41/13, ЗКГ, MARK-145 вначале проведен анализ сред, используемых для их культивирования. При проведении исследований учитывали интенсивность роста и пролиферации клеток, высокий и низкий уровень метаболизма и т.д.

Таблица 1 - Ростовые питательные среды, используемые для культивирования перевиваемых культур клеток.

Для полноценного роста клеток в основном используются ростовые среды Игла (МЭМ и ДМЭМ), 199 и ФГМС с 10% нормальной или эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота, имеющие в своем составе аминокислоты, витамины микро- и макроэлементы (до 50 компонентов), а богатый их состав обеспечивает клетки питательными веществами и факторами роста. В процессе роста перевиваемых культур клеток в зависимости от высокого и низкого уровня метаболизма установлена различная степень потребления белка и макроэлементов.

Abstract. The article presents data on the consumption of total protein and macronutrients by growth media after the cultivation of transplanted cells. The use of cell cultures in biotechnological processes plays an important role for virus accumulation for the purpose of making antiviral vaccines. For culturing cells outside the body it is necessary to create conditions similar to the environment in which cells existed *in vivo* - cells need most of the essential amino acids, vitamins, carbohydrates, minerals, etc. For the cultivation of animal cells, nutrient media with a complex composition are used, which are composed of high quality, comparatively expensive raw materials, followed by the addition of nutritional and growth additives. To study the consumption of amino acids in growth nutrient media by transplanted cells MDBK, SPEV, VNK 41/13, ZKG, MARK-145 we first analyzed the media used for their cultivation. The intensity of cell growth and proliferation, high and low metabolism, etc., were taken into account during the studies.

Table 1 - Growth media used for cultivation of transplanted cell cultures.

For proper cell growth, the growth media mainly used are Iglu (MEM and DMEM), 199 and FGMS with 10% normal or fetal bovine serum, having in their composition amino acids, vitamins micro- and macroelements (up to 50 components), and their rich composition provides cells with nutrients and growth factors. During the growth of transplanted cell cultures, depending on the high and low level of metabolism, different degrees of protein and macronutrients consumption were established.

Ключевые слова: белок, макроэлементы, культуры клеток, метаболизм, состав, факторы роста, аминокислоты, витами\

Keywords: protein, macronutrients, cell cultures, metabolism, composition, growth factors, amino acids, vitamins.

Введение. Широкое использование клеточных культур в биотехнологических процессах играет важную роль для накопления вирусов с целью изготовления противовирусных вакцин [1, 3]. Для репродукции клеток вне организма необходимо создать условия максимально сходные со средой, в которой клетки существовали *in vivo* – клеткам необходимы большинство незаменимых аминокислот, витамины, углеводы, минеральные вещества и т.д. [1, 5, 6]. Таким образом, основное условие успешного проведения технологического процесса культивирования клеток – подбор питательных сред, обеспечивающих максимальное накопление целевого продукта. Для выращивания животных клеток применяют питательные среды, имеющие сложный состав [2, 4, 8]. Они komponуются из высококачественного, сравнительного дорогого сырья с последующим внесением питательных и ростовых добавок. Это создает предпосылки для использования отработанной питательной среды, содержащей продукты метаболизма неинфицированных культур клеток, с целью создания ветеринарных препаратов, обладающих общим биотонизирующим и иммуномодулирующим действием, стимулирующих рост и развитие молодняка животных, увеличивающих общую устойчивость животных к инфекционным заболеваниям и стрессовым факторам [2, 7, 9].

Цель работы - провести анализ потребления общего белка и макроэлементов ростовыми питательными средами после культивирования перевиваемых клеток.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили в условиях отдела вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», кафедре эпизоотологии и инфекционных болезней, институте прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». С целью изучения потребления аминокислот ростовыми питательными сред перевиваемыми клетками МДБК, СПЭВ, ВНК 41/13, ЗКГ, MARK-145 вначале проведен анализ сред, используемых для их культивирования (таблица 1).

При проведении исследований учитывали интенсивность роста и пролиферации клеток, высокий и низкий уровень метаболизма и т.д.

Таблица 1 - Ростовые питательные среды, используемые для культивирования перевиваемых культур клеток

№ п/п	Питательная среда	Степень пролиферации
1	Ростовая среда к.кл. ЗКГ (ФГМС+Игла DMEM)	Средний
2	Ростовая среда к.кл. СПЭВ (Игла MEM+199)	Средний
3	Ростовая среда к.кл. Marc-145 (Игла DMEM)	Низкий
4	Ростовая среда к.кл. ВНК 21/13 (ФГМС+Игла DMEM)	Высокий
5	Ростовая среда к.кл. MDBK (Игла MEM C-9)	Средний

Для проведения исследований нами отобраны образцы ростовых питательных сред до и после культивирования перевиваемых культур клеток. При проведении исследований изучали ростовые среды до внесения на монослой и среды после получения сформированного монослоя на 3-4 сутки культивирования.

Исследования по изучению обмена белков ростовых питательных сред до и после культивирования монослойных культур клеток с высоким и низким уровнем метаболизма проводили путем определения содержания общего белка рефрактометрическим методом (рефрактометр – УРЛ-1). Метод основан на определении показателя (коэффициента) преломления исследуемого вещества —

отношения синуса угла падения луча света к синусу угла его преломления.

Массовую долю микро- и макроэлементов в ростовых питательных средах определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии на спектрометре с индуктивно связанной плазмой - ICPActivaM (HORIBAJobinYvonSAS, Франция). Данный метод основан на возбуждении атомов исследуемой пробы в индуктивно связанной плазме и измерении интенсивности аналитической спектральной линии определяемого элемента при распылении анализируемой пробы и подаче в виде аэрозоля в индуктивно связанную плазму.

Ростовые питательные среды исследовали на наличие таких микро- и макроэлементов, как железо, калий, натрий, магний и кальций.

При проведении анализа отобранные пробы ростовых питательных сред предварительно разбавляли в 10 раз для того, чтобы обеспечить надлежащее введение аэрозоля в плазму.

Результаты исследований и обсуждение. В процессе исследований был проведен анализ клеточных линий МДВК, СПЭВ, ЗКГ, ВНК-21 клон 13, Marc-145 на интенсивность уровня их пролиферации.

На основании вышеизложенного анализа все используемые культуры клеток можно разделить на 3 группы:

высокий уровень пролиферации – рассев 1:10-1:20 (ВНК 21/13);

средний уровень пролиферации – рассев 1:3-1:6 (МДВК, СПЭВ, ЗКГ);

низкий уровень пролиферации – рассев 1:1-1:3 (Marc-145).

Установлено, что для полноценного роста клеток в основном используются ростовые среды Игла (МЭМ и ДМЭМ), 199 и ФГМС с 10% нормальной или эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота, имеющие в своем составе аминокислоты, витамины микро- и макроэлементы (до 50 компонентов), а богатый их состав обеспечивает клетки питательными веществами и факторами роста.

Для проведения исследований нами отобраны образцы ростовых питательных сред до и после культивирования перевиваемых культур клеток.

Установлено, что для полноценного роста клеток в основном используются ростовые среды Игла (МЭМ и ДМЭМ), 199 и ФГМС с 10% нормальной или эмбриональной сыворотки крови крупного

рогатого скота, имеющие в своем составе аминокислоты, витамины микро- и макроэлементы (до 50 компонентов), а богатый их состав обеспечивает клетки питательными веществами и факторами роста.

Результаты проведенных исследований по изучению обмена белков ростовых питательных сред до и после культивирования монослойных культур клеток с высоким и низким уровнем метаболизма представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Уровень общего белка в ростовых питательных средах до и после культивирования монослойных культур клеток с высоким и низким уровнем метаболизма

Ростовые питательные среды	Общий белок, г/л	
	До начала культивирования	После завершения культивирования
Игла MEM+199 (к.кл. СПЭВ)	7,0	5,7
ФГМС+Игла DMEM (к.кл. ЗКГ)	7,1	6,6
ФГМС+Игла DMEM (к.кл. ВНК 21/13)	6,3	5,4
Игла MEM (к.кл. MDBK)	6,2	5,6
Игла DMEM (к.кл. Marc-145)	7,0	6,5

Анализируя данные таблицы 2, необходимо отметить снижение количества общего белка в ростовых питательных средах после культивирования монослойных культур клеток во всех испытуемых образцах в зависимости от сроков культивирования клеточной линии. Так, после культивирования линии клеток СПЭВ содержание общего белка в среде Игла MEM+199 уменьшается на 18,6%, культуры клеток ЗКГ на среда ФГМС+Игла DMEM – на 7,04% на 2-е сутки культивирования, клеток ВНК 21/13 на среде ФГМС+Игла, клетках Marc-145 на DMEM – на 14,3%, клеток MDBK на среде Игла MEM – на 9,67%.

Результаты проведенных исследований по изучению массовой доли макроэлементов в ростовых питательных средах представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Содержание макроэлементов в ростовых питательных средах до и после культивирования монослойных культур клеток

Элемент	Концентрация, мг/л									
	Игла МЕМ+199 (к.кл. СПЭВ)		ФГМС+ИглаDMEM (к.кл. ЗКГ)		ФГМС+ИглаDMEM (к.кл. ВНК 21/13)		Игла МЕМ (к.кл. MDBK)		Игла DMEM (к.кл. Marc-145)	
	До начала культивирования	После завершения культивирования	До начала культивирования	После завершения культивирования	До начала культивирования	После завершения культивирования	До начала культивирования	После завершения культивирования	До начала культивирования	После завершения культивирования
Fe	18,1	18,1	18,3	2,04	18,3	18,1	18,2	18,0	18,0	18,2
K	318,6	323,4	222,9	251,22	222,9	341,4	327,0	337,2	316,7	340,1
Na	4324	4076	4289	614,59	4289	4026	4316	4409	3919	3733
Mg	35,8	34,9	41,5	70,11	41,5	44,0	39,0	38,6	38,1	42,6
Ca	90,0	101,1	113,5	71,24	113,5	137,3	121,7	125,4	131,1	141,9

По данным таблицы 3, анализируя содержание макроэлементов в ростовых питательных средах, следует отметить незначительное снижение уровня железа после культивирования монослойных культур клеток во всех исследуемых образцах, за исключением ФГМС+ИглаDMEM, в которой данный показатель через 2 суток культивирования культуры клеток ЗКГ снижается практически в 9 раз. Наиболее выраженные колебания уровня калия, наблюдается в среде ФГМС+ИглаDMEM на 5-е сутки культивирования культуры клеток ВНК 21/13, где его количество повышается 53,16% в сравнении с первоначальным уровнем. В отношении макроэлементов Na, Mg и Ca наиболее выраженные изменения также отмечены в образце ростовой среды ФГМС+ИглаDMEM через 2 суток культивирования культуры клеток ЗКГ, в которой содержания натрия

снижается практически в 7 раз, количество Са – на 37,2%, при этом количество Mg повышается на 40,8% в сравнении с исходным уровнем. В остальных образцах колебания макроэлементов незначительны и находятся в диапазоне значений от 1 до 17%.

Заключение. Для полноценного роста клеток в основном используются ростовые среды Игла (МЭМ и ДМЭМ), 199 и ФГМС с 10% нормальной или эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота, имеющие в своем составе аминокислоты, витамины микро- и макроэлементы (до 50 компонентов), а богатый их состав обеспечивает клетки питательными веществами и факторами роста. В процессе роста перевиваемых культур клеток в зависимости от высокого и низкого уровня метаболизма установлена различная степень потребления белка и макроэлементов.

После культивирования линии клеток СПЭВ содержание общего белка в среде Игла MEM+199 уменьшается на 18,6%, культуры клеток ЗКГ на среда ФГМС+ИглаDMEM– на 7,04% на 2-е сутки культивирования, клеток ВНК 21/13 на среде ФГМС+Игла, клетках Marc-145 на DMEM – на 14,3%, клеток MDBKна среде Игла MEM – на 9,67%.

Литература

1.Адамс Р. Методы культуры клеток для биохимиков. - М.: Мир, 1983, 263 с.

2.Биологические препараты для профилактики вирусных заболеваний животных: разработка и производство в Беларуси /П. А. Красочко [и др.] ; под ред. Н. А. Ковалева. - Минск :Беларускаянавука, 2016. - 492 с.

3.Ветеринарная вирусология. Практикум :учеб.пособие / Р. Б. Корочкин [и др.]; под ред. Р. Б. Корочкина. — Минск : ИВЦ Минфина, 2020. — 348 с.

4.Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии)/Под. общ. ред. проф. Дьяконова Л.П. - М.: «Спутник+», 2009.-656 с.

5.Исследование обмена белков и биоэлементов в ростовых питательных средах после культивирования на них культур клеток / П.А.Красочко[и др.] / Материалы XIII Международной научной конференции молодых ученых «Молодежь в науке - 2016», г. Минск, 22 - 25 ноября 2016. Минск, 2016. - С.14

6.Питательные среды для культивирования культур клеток : учеб.-метод. пособие для студентов факультета ветеринарной

медицины по специальности 1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина» и слушателей ФПК и ПК по ветеринарных специальностям /П.А. Красочко [и др.] - Витебск : ВГАВМ, 2021.-С.40

7.Культивирование клеток. Курс лекций / О.В. Блажевич – Минск: БГУ, 2004.-78с.

8.Культура клеток, тканей и органов растений: Методические рекомендации для занятий студентов/ Т.И. Дитченко. -Минск: БГУ, 2007г.- 46 с.

9.Культура животных клеток: практическое руководство/Р.Я. Фрешни; пер. пятого английского издания - М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014г.-691с.

10.Применение культур клеток для оценки цитотоксичности сыворотки крови крупного рогатого скота / П.А.Красочко[и др.] // Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины" : научно-практический журнал. - Витебск, 2017. - Т. 53, вып. 2. - С. 65-68.

11.Фрешни, Р.Я. Культура животных клеток : практическое руководство / Р. Я. Фрешни ; пер. 5-го англ. изд. — М. : БИНОМ. Лабораториязнаний, 2010.— 691 с.

УДК 616:995.132+595.773.4:619.636.1

С.Т.Куттыбай, А.Е. Усенбаев, А.А.Жанабаев
S.T. Kutybay, A.E. Ussenbayev, A.A.Zhanabayev

КАЗАХСКИЙ АГРОТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ САКЕНА СЕЙФУЛЛИНА, Нур-Султан, Казахстан
Saken Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Nur-Sultan, Kazakhstan

РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ТЕРАПИЯ ГЕЛЬМИНТОЗОВ ОВЕЦ В ЖАКСЫНСКОМ РАЙОНЕ АКМОЛИНСКОЙ ОБЛАСТИ.
DISTRIBUTION AND THERAPY OF SHEEP HELMINTHOSIS IN ZHAXYN DISTRICT, AKMOLA REGION.