

Спосіб очищення сироватки крові великої рогатої худоби від γ -глобулінів та її використання в біотехнології культур клітин

О.А. ЛАВРИК¹, Б.Т. СТЕГНІЙ¹, В.С. БіЛОКІНЬ¹, Г.В. ТРИФОНОВА²

¹Інститут клінічної та експериментальної ветеринарної медицини, м. Харків

²Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

Поряд з біологічно активними речовинами сироватка крові великої рогатої худоби (ВРХ) містить у своєму складі різні фракції імуноглобулінів. Гамма-глобуліни є специфічними до збудників вірусних інфекцій, тому при індикації або накопиченні вірусів з використанням культур клітин, наявність γ -глобулінів у сироватці знижує інфекційний титр вірусів, а іноді взагалі перешкоджає їх реплікації в клітинах. Вилучення γ -глобулінів з сироватки крові ВРХ дозволяє використовувати її для культивування клітинних культур з метою накопичення вірусів без попередньої її перевірки на наявність специфічних глобулінів.

Одержували сироватку крові ВРХ, вільну від γ -глобулінової фракції білків, таким чином: до 360 см³ сироватки крові ВРХ вносили 40 см³ 50% поліетиленгліколю (ПЕГ-6000) фірми Merck. Після цього отриманий продукт трикратно обробляли при низькій температурі (-20°C) з подальшим збиранням надосадової рідини, щоб забезпечити більш повну очистку сироватки крові ВРХ. Остаточна концентрація ПЕГу в сироватці крові ВРХ (визначена у відповідності з ТУ 10-19-59-89) була 2,23 %. На виході з 360 см³ нативної сироватки крові ВРХ отримується 300 см³ сироватки з пониженою фракцією високомолекулярних білків, котру використовують для вирощування перещеплюваних та первинних клітин тварин. Осадження високомолекулярних білків, особливо γ -глобулінів, має високу цінність у вірусологічній практиці, так як видаляється основна кількість антитіл проти більшості вірусів. Так, кількісний показник антитіл проти вірусу лейкозу ВРХ (ВЛ ВРХ) в досліджуваній нами комерційній сироватці крові ВРХ, був 87% (урахування результатів проведено у відповідності з вимогами інструкції до використаного набору "Leucotest" фірми Bommeli diagnostics, у відповідності з якими негативний кількісний показник відносно вмісту антитіл проти ВЛ ВРХ не повинен перевищувати 30 %). Після обробки цієї сироватки ПЕГом кількісний показник цих антитіл знизився до 23 %.

При вивченні ростових властивостей експериментальної сироватки крові ВРХ в порівнянні з нативною сироваткою крові ВРХ та з сироваткою,

очищеною за протоколом Л.І. Ігудіна та інш., на моделі перещеплюваних клітин FLK-71, ВНК-21 та РК-15 строк формування моношару в першому варіанті перевищував аналогічний показник в інших двох, причому в перших двох варіантах клітини культур не відрізнялись за морфологією, тому як в третьому варіанті клітини приймали округлу форму, а в моношарі спостерігались гігантські клітини. На 3-му пасажі цього варіанту в моношарі спостерігались ознаки токсичності, які проявлялись деструкцією клітин. З використанням сироватки, очищеної за вищезазначеним способом, клітини без ознак деструкції витримували більш 40 пасажів та успішно використовувались для накопичення вірусної біомаси.

Адреса для кореспонденції: Лаврик О.А., Інститут клінічної та експериментальної ветеринарної медицини, вул. Пушкінська, 83, м. Харків 61023