

# Использование специализированных добавок Sheff-Vax ACF для культивирования клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура

М. Н. Гусева<sup>1</sup>, М. И. Доронин<sup>2</sup>, А. А. Шишкова<sup>3</sup>, Д. В. Михалишин<sup>4</sup>, М. А. Шевченко<sup>5</sup>, Б. Л. Манин<sup>6</sup>

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

<sup>1</sup> ORCID 0000-0002-3997-3390, e-mail: guseva\_mn@arriah.ru

<sup>2</sup> ORCID 0000-0002-4682-6559, e-mail: doronin@arriah.ru

<sup>3</sup> ORCID 0000-0001-9936-3052, e-mail: shishkova@arriah.ru

<sup>4</sup> ORCID 0000-0003-1718-1955, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

<sup>5</sup> ORCID 0000-0001-5436-0042, e-mail: shevchenko\_ma@arriah.ru

<sup>6</sup> ORCID 0000-0002-5263-1491, e-mail: manin\_bl@arriah.ru

## РЕЗЮМЕ

Предъявляемые в настоящее время к иммунобиологическим препаратам требования чистоты и безопасности могут быть эффективно достигнуты при использовании бессывороточных питательных сред и специализированных добавок неживотного происхождения. В данной работе показана возможность применения добавок Sheff-Vax ACF<sup>®</sup>, производимых компанией Kerry, Inc. (Ирландия), для культивирования культуры клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура. Было отмечено, что к седьмому пассажу в присутствии добавки Sheff-Vax Plus PF ACF концентрация клеток и кратность прироста были выше на 40–60%, чем при внесении добавок Sheff-Vax PF ACF и Sheff-Vax Plus ACF. Не обнаружено различий в изменении водородного показателя. При репродукции вируса ящура в полученных клетках определили, что в опытных образцах с 1 млн клеток 146+755 компонентов было больше в 2,3–2,4 раза по сравнению с контролем. При культивировании с добавкой Sheff-Vax Plus PF ACF клетки имели нормальную морфологию, множество динамических выростов. В присутствии данной добавки к седьмому пассажу такие показатели, как кратность прироста и концентрация суспензии, в контрольных и опытных образцах выровнялись. Количество иммуногенных компонентов вируса ящура, репродуцированного в клетках указанной добавкой, было выше на 20–30%, чем в клетках, выросших с применением других добавок. Установлено, что концентрация клеток линии ВНК-21/SUSP/ARRIAH и кратность прироста в присутствии специализированных добавок была меньше, чем в контрольных образцах с добавлением сыворотки и гидролизата белков крови в питательную среду. При этом выход вируса с 1 млн клеток был выше в культуре, выросшей при внесении добавок Sheff-Vax ACF. Из трех исследованных добавок наиболее приемлемой для культивирования линии ВНК-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура в полученных клетках была Sheff-Vax Plus PF ACF.

**Ключевые слова:** Добавки Sheff-Vax, кратность прироста, клетки ВНК-21/SUSP/ARRIAH, вирус ящура.

**Благодарность:** Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Ветеринарное благополучие».

**Для цитирования:** Гусева М. Н., Доронин М. И., Шишкова А. А., Михалишин Д. В., Шевченко М. А., Манин Б. Л. Использование специализированных добавок Sheff-Vax ACF для культивирования клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 15–21. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-15-21.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для корреспонденции:** Гусева Марина Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела биологического и технологического контроля (испытательной лаборатории ветпрепаратов) ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: guseva\_mn@arriah.ru.

UDC 619:578.835.2:57.082.26

## The use of specialised Sheff-Vax ACF supplements for ВНК-21/SUSP/ARRIAH cell cultivation and FMDV reproduction

М. N. Guseva<sup>1</sup>, M. I. Doronin<sup>2</sup>, A. A. Shishkova<sup>3</sup>, D. V. Mikhailishin<sup>4</sup>, M. A. Shevchenko<sup>5</sup>, B. L. Manin<sup>6</sup>

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

<sup>1</sup> ORCID 0000-0002-3997-3390, e-mail: guseva\_mn@arriah.ru

<sup>2</sup> ORCID 0000-0002-4682-6559, e-mail: doronin@arriah.ru

<sup>3</sup> ORCID 0000-0001-9936-3052, e-mail: shishkova@arriah.ru

<sup>4</sup> ORCID 0000-0003-1718-1955, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

<sup>5</sup> ORCID 0000-0001-5436-0042, e-mail: shevchenko\_ma@arriah.ru

<sup>6</sup> ORCID 0000-0002-5263-1491, e-mail: manin\_bl@arriah.ru

**SUMMARY**

Compliance with the existing purity and safety requirements for immunobiologicals can be effectively achieved by the use of serum-free nutrient media and specialised supplements of non-animal origin. The paper shows the possibility of using Sheff-Vax ACF<sup>®</sup> supplements (Kerry, Inc., Ireland) for BHK-21/SUSP/ARRIAH cell cultivation and FMDV reproduction. By passage 7, cell concentration and growth rate with Sheff-Vax Plus PF ACF were found to be 40–60% higher than with Sheff-Vax PF ACF and Sheff-Vax Plus ACF. No differences were observed as regards changes in pH. During FMDV reproduction in the cells, it was found that the number of 146+75S components in the test samples containing 1 million cells was 2.3–2.4 higher compared to the controls. Cells cultured with the use of Sheff-Vax Plus PF ACF supplement had normal morphology and multiple dynamic protrusions. In the presence of this supplement, growth rate and suspension concentration in the test and control samples became equal by passage 7. The number of immunogenic components of FMDV reproduced in the cells grown using Sheff-Vax Plus PF ACF was 20–30% higher than in the cells grown using other supplements. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell concentration and growth rate in the presence of specialised supplements were found to be lower than those in the control samples with serum and blood protein hydrolysate added to the nutrient medium. The virus yield from 1 million cells was higher in the culture grown using Sheff-Vax ACF supplements. Sheff-Vax Plus PF ACF was found to be the most suitable for BHK-21/SUSP/ARRIAH cell cultivation and FMDV reproduction in the said cells out of the three tested supplements.

**Keywords:** Sheff-Vax supplements, growth rate, BHK-21/SUSP/ARRIAH cells, foot-and-mouth disease virus (FMDV).

**Acknowledgements:** The study was funded by the FGBI "ARRIAH" within the framework of "Veterinary Welfare" research work.

**For citation:** Guseva M. N., Doronin M. I., Shishkova A. A., Mikhailishin D. V., Shevchenko M. A., Manin B. L. The use of specialised Sheff-Vax ACF supplements for BHK-21/SUSP/ARRIAH cell cultivation and FMDV reproduction. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 15–21. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-15-21.

**Conflict of interests:** The authors declare no conflict of interest.

**For correspondence:** Marina N. Guseva, Candidate of Science (Biology), Department for Biological and Technological Control (Veterinary Product Testing Laboratory), FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: guseva\_mn@arriah.ru.

**ВВЕДЕНИЕ**

Питательная среда обеспечивает жизнедеятельность, рост и развитие клеток. Она служит источником питательных веществ, факторов роста и гормонов, а также регулирует водородный показатель (pH) и осмотическое давление в культуре.

В зависимости от потребности клеток в сыворотке выделяют несколько типов сред: основные, или базовые, (basal media) – требуют добавления 10% сыворотки; улучшенные (advanced media) – требуют добавления 1–5% сыворотки; бессывороточные (serum-free media) – не требуют добавления сыворотки [1, 2].

При культивировании клеток в присутствии сыворотки крови обнаруживается ряд существенных недостатков. Для большинства тканей данный компонент не является физиологической жидкостью, с которой они контактировали в исходной ткани, поэтому сыворотка вызывает рост фибробластов, но тормозит развитие эпидермальных кератиноцитов. Также сыворотка может быть цитотоксичной, так как содержит полиаминоксидазу, действующую на полиамины (спермин, спермидин), являющиеся продуктами секреции быстро пролиферирующих клеток (эмбриональная сыворотка содержит относительно много такого фермента). К недостаткам использования относится и значительная вариабельность состава сывороток разных партий, они могут содержать недостаточное количество специфических ростовых факторов, что вызывает необходимость добавления их к культурам клеток. Сыворотка часто бывает контаминирована вирусами, многие из которых хотя и не опасны для культуры клеток, но являются дополнительным фактором, который невозможно контролировать [2].

Требования чистоты и безопасности, предъявляемые в настоящее время к иммунобиологическим препаратам, могут быть эффективно достигнуты только

при использовании бессывороточных технологий. Поэтому в последние два десятилетия ведутся интенсивные исследования по разработке бессывороточных питательных сред и специализированных добавок неживотного происхождения, рецептуры которых являются предметом интеллектуальной собственности компаний и недоступны для широкого использования. Такие среды имеют определенные преимущества: улучшение воспроизводимости результатов опыта вследствие высокой стабильности состава среды; снижение риска контаминации культуры вирусами, грибами, микоплазмами; облегчение очистки от продуктов клеточного метаболизма; снижение влияния дополнительных белков на результаты биологических исследований; отсутствие цитотоксичности [3, 4].

Компания Kerry, Inc. (Ирландия) разработала несколько видов специализированных добавок Sheff-Vax ACF<sup>®</sup>, содержащих в своем составе производные молочных продуктов, яиц, пшеницы, арахиса, продукты переработки рыбы, моллюсков и др., а также различающихся минеральным и аминокислотным составом, концентрацией факторов роста и долей интактных белков.

Целью работы было исследование возможности применения специализированных бессывороточных добавок Sheff-Vax ACF для выращивания суспензионной линии клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

**Клеточная линия.** В работе применяли перевиваемую суспензионную клеточную линию почки новорожденного сирийского хомячка BHK-21/SUSP/ARRIAH [5].

**Специализированные добавки.** Для исследования использовали добавки неживотного происхождения Sheff-Vax ACF, произведенные компанией

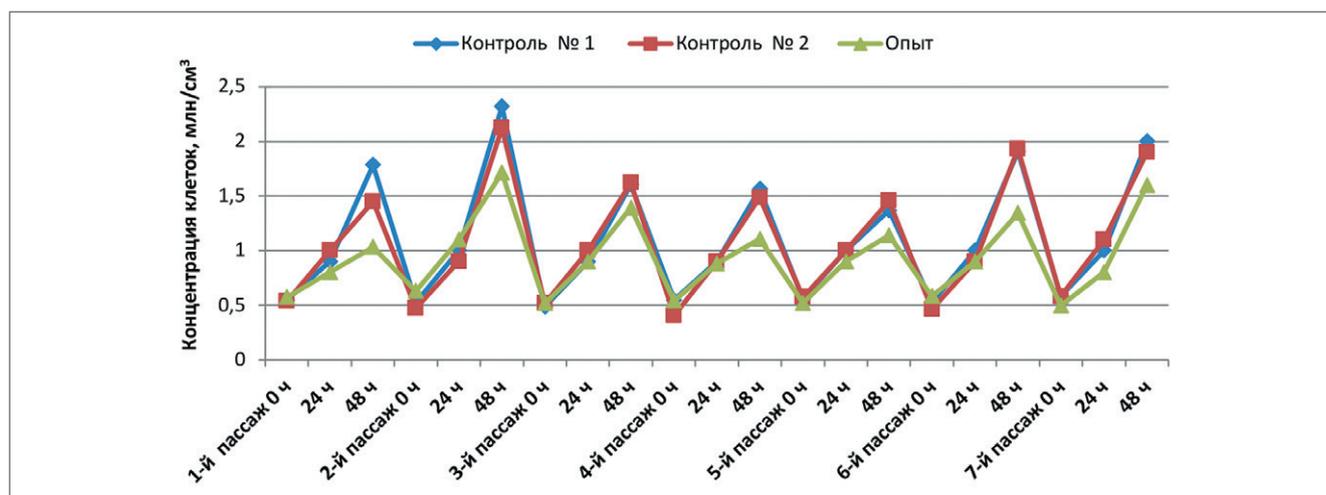


Рис. 1. Динамика изменения концентрации клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при использовании специализированной добавки Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1)

Fig. 1. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell concentration dynamics in the presence of specialised Sheff-Vax Plus PF ACF supplement (No. 1)

Kerry, Inc. (Ирландия): Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1); Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 2); Sheff-Vax Plus ACF (№ 3).

Специализированные добавки применяли в концентрации 10 г/дм<sup>3</sup> и добавляли в питательную среду для выращивания клеток.

Питательная среда для выращивания клеток была изготовлена согласно «Промышленному регламенту на производство вакцины против ящура сорбированной моно- и поливалентной (из вируса, выращенного в клетках ВНК-21)», но без добавления сыворотки.

Сыворотка крупного рогатого скота. В опытах использовали фетальную сыворотку фирмы Serana (Германия) в концентрации 5%.

Кратность прироста (КП) определяли как отношение конечной концентрации клеток и исходной в пределах одного пассажа за 48 ч.

Адаптация линии клеток. На начальном этапе адаптации клетки были взяты из суспензии, находящейся в питательной среде с 5% сыворотки крови. Процесс адаптации клеточной линии BHK-21/SUSP/ARRIAH проводили на протяжении 7 последовательных пассажей. Через 24 ч после пересева производили корректировку рН 7,5%-м раствором гидрокарбоната натрия.

В качестве контролей использовали: № 1 – среду с постоянным содержанием сыворотки (5%), № 2 – среду со снижением процента сыворотки в 2 раза на каждом следующем пассаже клеток.

В качестве опытной использовали среду со специализированной добавкой Sheff-Vax ACF в концентрации 10 г/дм<sup>3</sup>. В опытной среде количество сыворотки также снижали в 2 раза на каждом следующем пассаже клеток.

Вязкость. Для создания необходимой вязкости использовали полимерный компонент Pluronic F-68 в конечной концентрации 0,125%, который добавляли со 2-го пассажа в контроль № 2 и опытные образцы.

Заражение клеток вирусом ящура. Заражение суспензионных клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH производили культуральным вирусом ящура штамма Азия-1/Таджикистан/2011 в дозе 1,0 ТЦД<sub>50</sub>/кл. Суспензию клеток 7-го пассажа сливали в роллеры, при необходимости

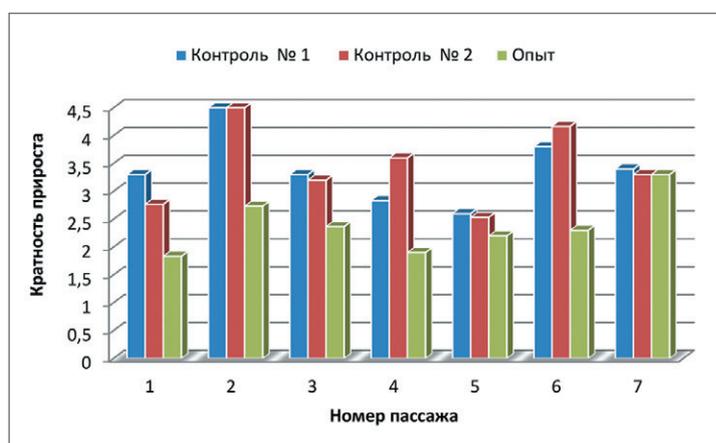


Рис. 2. Динамика изменения кратности прироста клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при использовании специализированной добавки Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1)

Fig. 2. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell growth rate dynamics in the presence of specialised Sheff-Vax Plus PF ACF supplement (No. 1)

разбавляли средой до объема 400–600 см<sup>3</sup> и концентрации клеток  $1,5 \times 10^6$  кл./см<sup>3</sup>. Репродукция вируса ящура проходила на протяжении 16 ч, после чего вирус инактивировали и проводили очистку суспензии.

Цитохимическое изучение морфологии клеток линии BHK-21/SUSP/ARRIAH проводили с помощью люминесцентного микроскопа МЛ-2Б. Нативные препараты окрашивали 0,001%-м раствором акридинового оранжевого. Фотографирование проводили камерой Leica на микроскопах Zeiss, Olympus, Leica.

Инактивация и очистка антигена вируса. Инактивацию вируса ящура проводили с помощью 15–20%-го раствора аминоэтилэтиленимина. Для очистки суспензии инактивированного антигена от балластных белков, в том числе неструктурных протеинов возбудителя ящура, применяли 0,007%-й раствор «Полисепта» (полигексаметиленгуанидина) с последующей декантацией надосадочной жидкости.

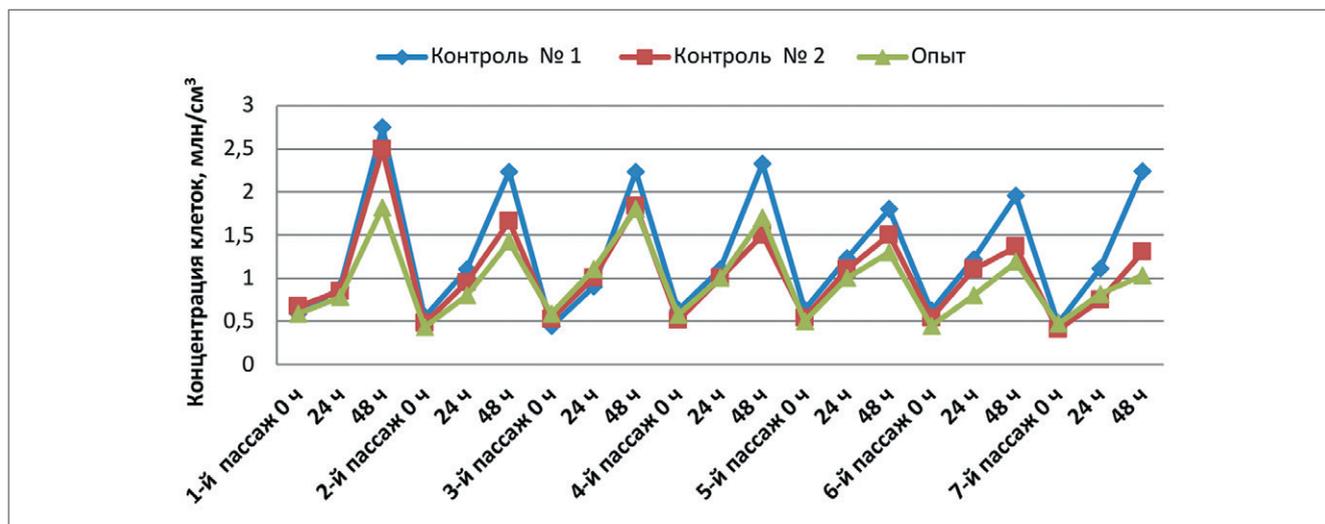


Рис. 3. Динамика изменений концентрации клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при использовании специализированной добавки Sheff-Vax PF ACF (№ 2)

Fig. 3. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell concentration dynamics in the presence of specialised Sheff-Vax PF ACF supplement (No. 2)

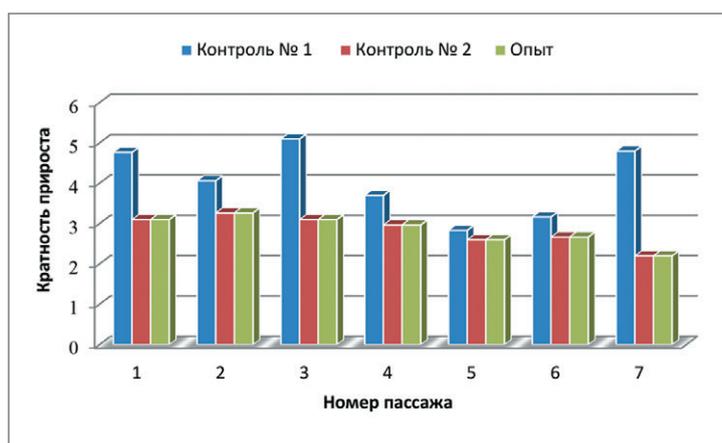


Рис. 4. Динамика изменений кратности прироста клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при использовании специализированной добавки Sheff-Vax PF ACF (№ 2)

Fig. 4. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell growth rate dynamics in the presence of specialised Sheff-Vax PF ACF supplement (No. 2)

Статистическая обработка данных. Цифровой материал статистически обрабатывали на персональном компьютере общепринятыми методами вариационной статистики с использованием программы Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе работы исследовали динамику изменения концентрации клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH на разных пассажах при использовании специализированной добавки Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1). На рисунках 1 и 2 представлены результаты данного исследования.

Установили, что концентрация клеток в контрольных образцах в конце разных пассажей варьировала от  $1,45 \pm 0,04$  млн/см<sup>3</sup> до  $2,32 \pm 0,29$  млн/см<sup>3</sup>. В опытных образцах концентрация клеток варьировала

от  $1,03 \pm 0,03$  млн/см<sup>3</sup> в 1-м пассаже до  $1,60 \pm 0,05$  млн/см<sup>3</sup> в 7-м пассаже. Кратность прироста клеток в опытных образцах на протяжении первых 6 пассажей была ниже контроля в 1,18–1,80 раза.

Внесение добавки не влияло на pH среды при культивировании. Водородный показатель изменялся во всех пробах одинаково: в пределах 6,84–7,11 в начале пассажа и уменьшался до 6,34–6,48 через 48 ч.

При исследовании специализированной добавки Sheff-Vax PF ACF (№ 2) установлено, что концентрация клеток через 48 ч после посева в контрольных пробах с постоянным содержанием сыворотки варьировала от  $2,74 \pm 0,08$  до  $1,80 \pm 0,10$  млн/см<sup>3</sup>, а в последнем, 7-м пассаже, составляла  $2,24 \pm 0,18$  млн/см<sup>3</sup>. При этом кратность прироста клеток на разных пассажах находилась в диапазоне 2,83–5,10 (рис. 3, 4). В контрольных образцах с понижением процента сыворотки в питательной среде и в опытных образцах со специализированной добавкой концентрация клеток в конце пассажей была одинаковой, но к 7-му пассажу снизилась в 1,4–1,9 раза, когда количество сыворотки уменьшалось до 0,075%. Кратность прироста в контрольных образцах № 2 и в опыте также была одинаковой: 2,2–3,1 в зависимости от пассажа.

Внесение добавки не влияло на pH среды при культивировании.

При исследовании специализированной добавки Sheff-Vax Plus ACF (№ 3) было установлено, что на 7-м пассаже в опытных образцах при переходе на почти полностью бессывороточную среду концентрация клеток была  $1,0 \pm 0,2$  млн/см<sup>3</sup>, в контроле № 1 –  $2,2 \pm 0,2$  млн/см<sup>3</sup>, а в контроле № 2 –  $1,20 \pm 0,06$  млн/см<sup>3</sup>. При этом кратность прироста клеток в опытных образцах составляла  $2,33 \pm 0,03$ , в двух контрольных образцах –  $3,57 \pm 0,64$  и  $2,00 \pm 0,53$  (рис. 5, 6). В контроле с постоянным количеством сыворотки концентрация клеток через 48 ч после посева в разных пассажах всегда находилась в пределах 2,06–2,38 млн/см<sup>3</sup>; в образцах с понижением количества сыворотки с увеличением количества пассажей уменьшалась с  $2,32 \pm 0,18$

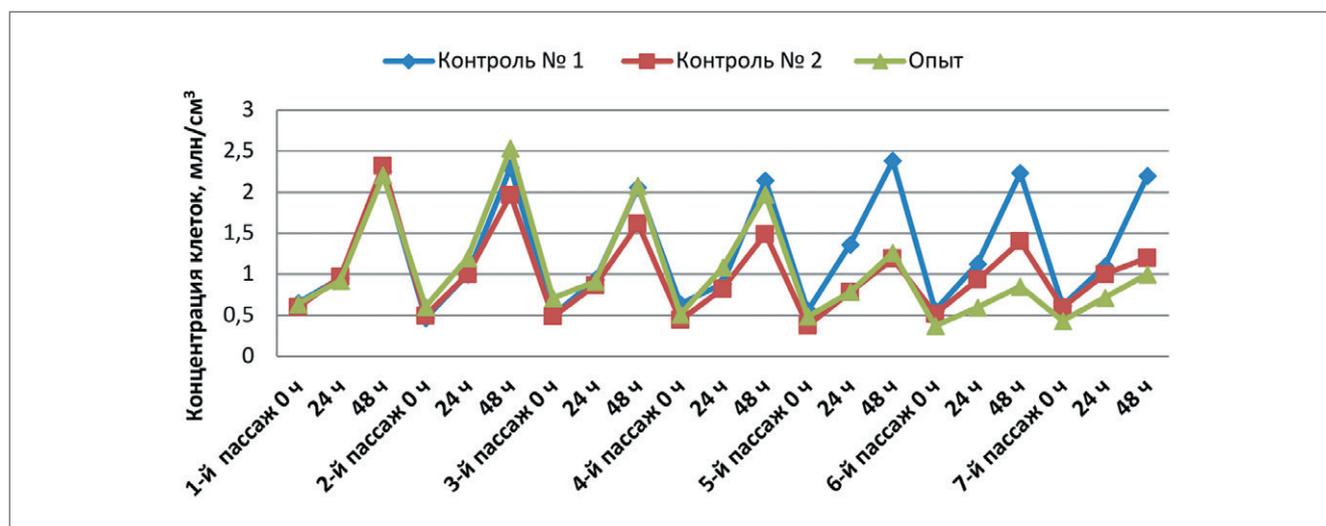


Рис. 5. Динамика изменений концентрации клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при использовании специализированной добавки Sheff-Vax Plus ACF (№ 3)

Fig. 5. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell concentration dynamics in the presence of specialised Sheff-Vax Plus ACF supplement (No. 3)

до  $1,20 \pm 0,06$  млн/см<sup>3</sup>. При этом кратность прироста в контрольных образцах с постоянным количеством сыворотки на разных пассажах была 3,4–5,0; в контроле с уменьшением процента сыворотки в первых 5 пассажах составляла 3,33–4,00, а затем снизилась до 2,0 к 7-му пассажиру. В опытной среде с добавкой № 3 после 4-го пассажа также наблюдали снижение кратности прироста клеток в 1,6–1,8 раза.

Внесение данной добавки не влияло на pH среды при культивировании.

При репродукции вируса ящура в полученных клетках определили, что в контрольных образцах с постоянным содержанием сыворотки концентрация иммуногенных компонентов 146+75S была меньше, чем в контрольных образцах с понижением процента сыворотки в 1,57; 1,87; 1,60 раза и в 2,4; 2,3; 2,4 раза меньше, чем в опытных образцах (см. табл.). Выявлено, что различия существенны ( $p < 0,05$ ).

Для изучения морфологии клеток суспензию 7-го пассажа высевали в матрасы объемом 50 см<sup>3</sup> в концентрации 100 тыс. кл./см<sup>3</sup> и проводили цитохимические исследования на 8-м пассаже. Клетки, выращенные в присутствии добавки № 1, были частично адгезированы. Седиментированная популяция имела нормальную морфологию клеток, на которых наблюдали множество динамических выростов, что, в свою очередь, свидетельствовало о нормальной физиологической активности (рис. 7).

Отмечено, что в адаптированных к добавке № 2 клетках на 8-м пассаже происходила частичная седиментация без адгезии. С самого начала культивирования отмечали агрегацию популяций клеток, которая достигала максимума на 2-е сутки. Пролиферации культуры не наблюдалось (рис. 8А).

При использовании добавки № 3 (рис. 8В) происходила индуцированная агрегация клеток до колоний значительного размера (до 100 клеток). Агрегированные клетки были неправильной сферической формы, в них не было признаков трофической активности, т. е. клетки не делились, а только «переживали».

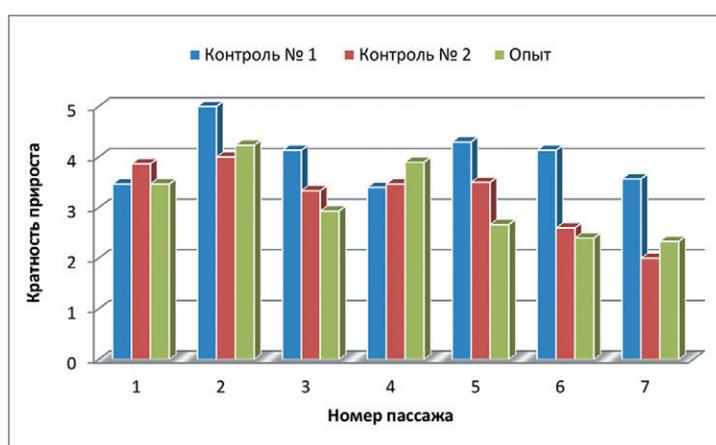


Рис. 6. Динамика изменений кратности прироста клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при использовании специализированной добавки Sheff-Vax Plus ACF (№ 3)

Fig. 6. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell growth rate dynamics in the presence of specialised Sheff-Vax Plus ACF supplement (No. 3)

Таблица  
Репродукция вируса ящура в клетках, выращенных в присутствии специализированных добавок Sheff-Vax ACF

Table  
FMDV reproduction in cells grown using specialised Sheff-Vax ACF supplements

Наименование добавки	Концентрация 146+75S, мкг/см <sup>3</sup> (в пересчете с $1,0 \times 10^6$ кл./см <sup>3</sup> )		
	контроль № 1	контроль № 2	опытная группа
Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1)	0,58 ± 0,09	0,91 ± 0,10	1,40 ± 0,10
Sheff-Vax PF ACF (№ 2)	0,47 ± 0,07	0,88 ± 0,08	1,08 ± 0,09
Sheff-Vax Plus ACF (№ 3)	0,50 ± 0,05	0,80 ± 0,08	1,20 ± 0,09

$p < 0,05$

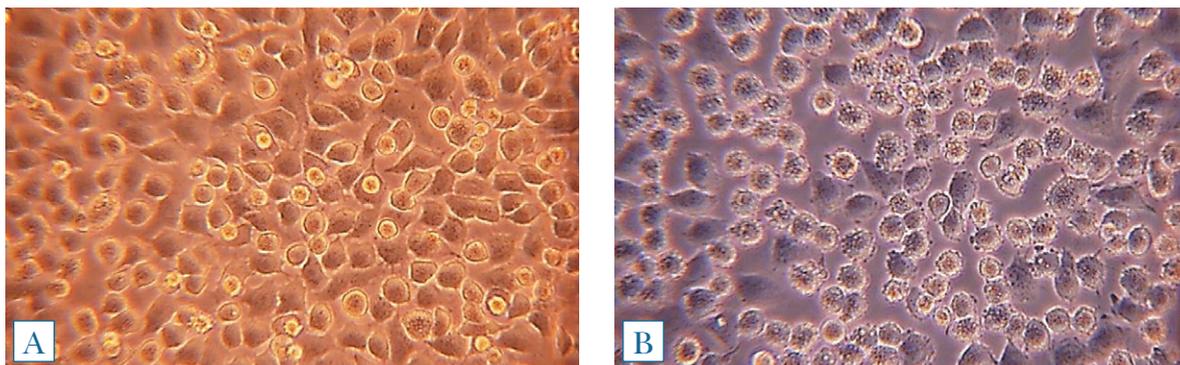


Рис. 7. Клетки BHK-21/SUSP/ARRIAH, адаптированные к специализированной добавке Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1).  
А – клетки, выращенные в присутствии сыворотки (контроль),  
В – клетки, выращенные в присутствии добавки № 1 (опыт)

Fig. 7. BHK-21/SUSP/ARRIAH cells adapted to specialised Sheff-Vax Plus PF ACF supplement (No. 1).  
A – cells grown in the presence of serum (control), B – cells grown in the presence of supplement 1 (test)

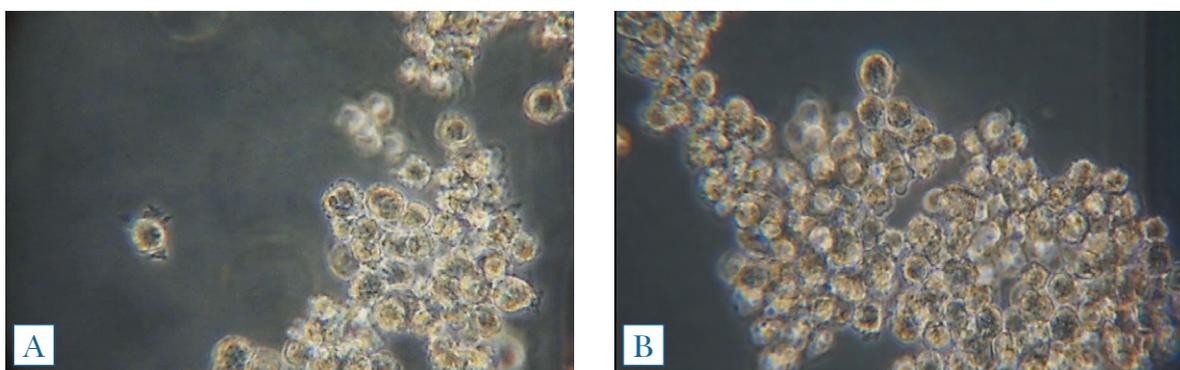


Рис. 8. Клетки BHK-21/SUSP/ARRIAH, адаптированные к специализированным добавкам:  
А – Sheff-Vax PF ACF (№ 2) и В – Sheff-Vax Plus ACF (№ 3)

Fig. 8. BHK-21/SUSP/ARRIAH cells adapted to specialised supplements:  
A – Sheff-Vax PF ACF (No. 2) and B – Sheff-Vax Plus ACF (No. 3)

В контроле с сывороткой крови (рис. 7А) наблюдалась 100%-я конфлюэнтность, клетки были адгезированы на 60–80%, имели адаптивные признаки монослойной культуры, часть из них принимали веретенообразную форму.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Была проведена адаптация линии клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH к специализированным добавкам Sheff-Vax ACF (Kerry, Inc., Ирландия). В присутствии добавки Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1) к 7-му пассажу концентрация клеток и кратность прироста были выше на 40–60%, чем при внесении других добавок. В опытных и контрольных образцах концентрация клеток и кратность прироста в присутствии добавки № 1 были равными:  $1,6 \pm 0,2$  млн/см<sup>2</sup>;  $1,90 \pm 0,18$  и  $2,0 \pm 0,2$  млн/см<sup>3</sup> соответственно, различия незначительны. При внесении других добавок клетки росли хуже, чем в контрольных образцах – концентрация клеток и кратность прироста была ниже в 2,0–2,2 раза.

Различий в изменении водородного показателя в процессе исследования не установлено.

При репродукции вируса ящура в полученных клетках определили, что в опытных образцах с 1 млн клеток концентрация 146+75S компонентов была в 2,4; 2,3;

2,4 раза больше по сравнению с контролем № 1 и в 1,54; 1,23; 1,50 раза – по сравнению с контролем № 2 (различия существенны,  $p < 0,05$ ).

Клетки в присутствии добавки Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1) имели нормальную морфологию, множество динамических выростов. К 7-му пассажу выравнивалась кратность прироста и концентрация клеток в суспензии контрольных и опытных образцов. Количество иммуногенных компонентов вируса ящура в образцах с добавкой № 1 было выше на 20–30%, чем в клетках, выросших в присутствии добавок № 2 и № 3.

Установлено, что концентрация клеток линии BHK-21/SUSP/ARRIAH и кратность прироста при культивировании с добавками Sheff-Vax ACF была меньше, чем в контрольных образцах в присутствии сыворотки и гидролизата белков крови. Однако выход вируса с 1 млн клеток был выше в клетках, выросших с применением специализированных добавок.

Таким образом, бессывороточные добавки Sheff-Vax ACF компании Kerry пригодны для культивирования клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура. Более высокие результаты по накоплению иммуногенных компонентов вируса были получены с добавкой Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фрешни Р. Я. Культура животных клеток: практическое руководство. Пер. Ю. Н. Хомякова, Т. И. Хомяковой. М.: Лаборатория знаний; 2018. 760 с.
2. Шаманская Т. В., Осипова Е. Ю., Пурбуева Б. Б., Устюгов А. Ю., Астрелина Т. А., Яковлева М. В., Румянцев С. А. Культивирование мезенхимальных стволовых клеток *ex vivo* в различных питательных средах (обзор литературы и собственный опыт). *Онкогематология*. 2010; 5 (3): 65–71. eLIBRARY ID: 15559360.
3. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии). Под ред. Л. П. Дьяконова; Рос. акад. с.-х. наук. 2-е изд. доп. М.: Спутник+; 2009. 652 с.
4. Трошкова Г. П., Мартынец Л. Д., Кирова Е. В., Сумкина Т. П., Юдин А. В. Бессывороточная питательная среда для культивирования клеток Vero. *Фундаментальные исследования*. 2005; 5: 94. eLIBRARY ID: 10435525.
5. Лозовой Д. А., Гусева М. Н., Михалишин Д. В., Доронин М. И., Манин Б. Л., Шишкова А. А. и др. ВНК-21/SUSP/ARRIAH – перевиваемая суспензионная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка, предназначенная для репродукции вирусов ящура, бешенства, парагриппа-3, болезни Ауески при производстве противовирусных вакцин, а также для изготовления диагностических и профилактических ветеринарных биопрепаратов. Патент 2722671 Российская Федерация, МПК C12N 5/10 (2006.01). ФГБУ «ВНИИЗЖ». № 2019131190. Заявл. 01.10.2019. Оpubл. 02.06.2020. Бюл. № 16. Режим доступа: [https://patents.s3.yandex.net/RU2722671C1\\_20200602.pdf](https://patents.s3.yandex.net/RU2722671C1_20200602.pdf).

## REFERENCES

1. Freshney R. Ian. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications. 7<sup>th</sup> ed. NY: Wiley-Blackwell; 2015. 736 p.
2. Shamanskaya T. V., Osipova Ye. Yu., Purbueva B. B., Ustyugov A. Yu., Astrelina T. A., Yakovleva M. V., Rumyantsev S. A. *Ex vivo* expansion of mesenchymal stem cells in different culture conditions (the literature review and own experience). *Oncohematology [Onkogematologiya]*. 2010; 5 (3): 65–71. eLIBRARY ID: 15559360. (in Russian)
3. Animal cell in culture (methods and implementation in biotechnology) [Zhivotnaya kletka v kul'ture (metody i primeneniye v biotekhnologii)]. Ed. by L. P. Dyakonov; Russian Academy of Agricultural Sciences. 2<sup>nd</sup> ed., enlarged. M.: Sputnik+; 2009. 652 p. (in Russian)
4. Troshkova G. P., Martynets L. D., Kirova E. V., Sumkina T. P., Yudin A. V. The serum-free medium formulation for the growth of Vero cell line. *Fundamental Research*. 2005; 5: 94. eLIBRARY ID: 10435525. (in Russian)
5. Lozovoy D. A., Guseva M. N., Mikhailishin D. V., Doronin M. I., Manin B. L., Shishkova A. A., et al. BHK-21/SUSP/ARRIAH – continuous suspension subline of newborn syrian hamster kidney cells, intended for reproduction of foot-and-mouth disease viruses, rabies, parainfluenza-3, Aujeszky's disease in producing antiviral vaccines, as well as for making diagnostic and preventive veterinary biopreparations. Patent No. 2722671 Russian Federation, IPC C12N 5/10 (2006.01). FGBI "ARRIAH". Application 2019131190. Submitted on 01.10.2019. Published on 02.06.2020. Bulletin No. 16. Available at: [https://patents.s3.yandex.net/RU2722671C1\\_20200602.pdf](https://patents.s3.yandex.net/RU2722671C1_20200602.pdf). (in Russian)

Поступила 28.09.2020

Принята в печать 02.12.2020

Received on 28.09.2020

Approved for publication on 02.12.2020

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Гусева Марина Николаевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела биологического и технологического контроля (испытательной лаборатории ветпрепаратов) ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Доронин Максим Игоревич**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Шишкова Анжела Алексеевна**, кандидат ветеринарных наук, главный технолог отдела инноваций ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Михалишин Дмитрий Валерьевич**, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Шевченко Максим Александрович**, ведущий ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Манин Борис Леонидович**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник сектора культуры клеток отдела инноваций ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Marina N. Guseva**, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Department for Biological and Technological Control (Veterinary Product Testing Laboratory), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Maksim I. Doronin**, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Anzhela A. Shishkova**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Chief Technologist, Innovation Department, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Dmitry V. Mikhailishin**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Maksim A. Shevchenko**, Leading Veterinarian, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Boris L. Manin**, Candidate of Sciences (Biology), Leading Researcher, Sector for Cell Culture, Innovation Department, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.