

Винахід, що передбачається відноситься до вірусології, та стосується отримання клітинних культур, які використовують в ветеринарії та медицині.

Аглобулінова сироватка крові великої рогатої худоби (ВРХ) компонентом живильних середовищ для культивування первинно трипсинізованих та перещеплюваних ліній клітин.

Культури клітин використовуються з вірусологічною метою в лабораторіях та біотехнологічних підприємствах, наукових установах.

Клітини поза організму розмножуються та ростуть завдяки комплексу фізико-хімічних факторів та присутності амінокислот та сироваткових білків.

Сироватка містить у своєму складі різні фракції імуноглобулінів. До різних інфекційних збудників гамма-глобуліни є специфічними. Сироватку, з якої вилучені у-глобуліни використовують для вірусологічної мети без перевірки на наявність специфічних до вірусів глобулінів.

Існує спосіб одержання аглобулінової сироватки крові, який запропонований Л.І. Ігудіним (Вопр. вирусологии. - 1980. - №5. - С.640.), для відокремлення γ -глобулінової фракції сироватку крові ВРХ обробляють поліетиленгліколем (ПЕГ), після чого її центрифугують для отримання надосадової рідини. Після обробки ПЕГОм вміст білку в сироватці крові зменшився в 2 рази. Цей спосіб придатний для одержання сироватки крові тільки в лабораторних умовах, що є недоліком.

Існує інструкція на „Сироватку ВРХ нативну без консервантів, вільну від специфічних антитіл”, що затверджена 21.03.2002 р., Київ, ДНКІБШМ., це технічне рішення може бути прототипом. Тому для покращення якості сироватки додають енробіофлор чи енроксил, а недоліком прототипу є неможливість використання сироватки в промисловому виробництві.

В основу винаходу, що передбачається, поставлено задачу розробити спосіб одержання аглобулінової сироватки крові великої рогатої худоби шляхом відбирання крові у клінічно здорової ВРХ, отримання надосадової рідини центрифугуванням, після освітлення центрифугуванням до сироватки додають енробіофлор чи енроксил 1:20000 діючої речовини, а фільтрацію проводять крізь апарати розподільчі з щільністю волокон 100 КДТ, щоб забезпечити відділення γ -глобулінової фракції, одержання аглобулінової сироватки крові ВРХ - компонента живильних середовищ для культивування первинно трипсинізованих та перещеплюваних ліній клітин.

Аналіз відомих технічних рішень в галузі ветеринарної вірусології дозволяє зробити висновок про відсутність ознак, що схожі з суттєвими відмінними ознаками способу, що заявляється, та признати це рішення, відповідним критерію „суттєві ознаки”.

Спосіб виконується таким чином.

У тварин відбирають кров, методом тотального знекровлення чи перманентною експлуатацією при відбиранні крові по 5л кожні 12-14 днів.

Кров, що відбирали, розміщують в ємності, витримують 1 годину при температурі $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, відділяють згусток від стінок ємності та розміщують його у холодильнику при $2-8^{\circ}\text{C}$ на 4-6 години.

Сироватку віддаляють від згустку, визволяють від формених елементів центрифугуванням при G200-300 та додають енробіофлор чи енроксил 1:20000 діючої речовини.

Завчасно готують замкнуту систему роздільної фільтрації, що містить скляну ємність, насос перистальтичний, апарат роздільний з волокнами УПВ та з перепускнуою здібністю 100КДТ, ємність для приймання аглобулінової сироватки.

Ці дві ємності стерилізують автоклавуванням (1,5атм, 45хв.), а апарат роздільний сумішшю 70% мурашиної кислоти та 50% пергідролу 24 години після його наповнення. Апарат промивають 20-ю об'ємами деіонізованої води.

Для одержання аглобулінової сироватки першу ємність заповнюють на $\frac{1}{2}$ об'єму сироваткою крові та за допомогою перистальтичного насоса методом циркуляційного подавання під тиском 0,25-0,3атм відфільтровують крізь апарат роздільний розчин аглобулінових фракцій (аглобулінову сироватку) до концентрації рідини в першій ємності до початкового об'єму $\times 10$.

Аглобулінову сироватку використовують як домішку до живильного середовища.

Приклад 1.

Аглобулінову сироватку розфасовували в стерильні скляні ємності об'ємом 0,25-0,45 літрів. Розфасовану сироватку піддавали провокуванню на наявність контамінації бактеріальною та грибовою флорою при температурі плюс $35-37^{\circ}\text{C}$ протягом 5-6 діб. Далі аглобулінову сироватку великої рогатої худоби використовували з вірусологічною метою.

Приклад 2.

При вивченні ростових властивостей різних серій аглобулінової сироватки в порівнянні з нативною сироваткою великої рогатої худоби суттєвої різниці не було. При культивуванні первинно трипсинізованої (фібробласти курячих ембріонів) та перещеплюваних ліній культур клітин (СНЕВ, НТ, ТрТ) строки формування моношару в експерименті та в контролі співпадали, а також культури не відрізнялись морфологією клітин.

Спосіб очистки нативної сироватки великої рогатої худоби експериментально обґрунтований на первинно трипсинізованих та перещеплюваних культурах клітин.

Запропонований спосіб одержання аглобулінової сироватки крові великої рогатої худоби є ефективним та придатний для використання у промисловому виробництві.