

Винахід відноситься до ветеринарії та медицини, а саме до вірусології, та стосується отримання клітинних культур, які використовуються з вірусологічною метою.

На цей час жодна сучасна вірусологічна лабораторія не може обійтися без використання культур клітин.

Для росту та розмноження клітин поза організму необхідним є великий комплекс фізико-хімічних факторів, присутність амінокислот та сироваткових білків. Наявність у сироватці крові біологічно активних речовин, таких як коензими, вітаміни комплексу В, гормони, мікроелементи та інші визначає біологічне значення сироватки для клітин та стимулює їх ріст (В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Н.В. Фомина. Ветеринарная вирусология М.: „Колос“, 1984.-376 с.1).

Поряд з біологічними речовинами сироватка містить у своєму складі різні фракції імуноглобулінів. Гама-глобуліни є специфічними до різних інфекційних збудників, 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. Наприклад, при накопиченні ротавірусів великої рогатої худоби в культурі клітин нирки теляти з використанням сироватки крові великої рогатої худоби, яка вміщувала специфічні до ротавірусів глобуліни, інфекційний титр вірусу знижувався на 2-3 lg ТЦД 50/см³ (Букринская Ротавирусная инфекция /М.: «Наука», 1990.- 213 с.).

Вилучення γ -глобулінів з сироватки дозволяє використовувати її для вірусологічної мети без попередньої перевірки на наявність специфічних до вірусів глобулінів.

В Україні сироватка великої рогатої худоби виробляється комерційними виробниками або цехами м'ясокомбінатів, де вона не очищується від гама-глобулінової фракції білків.

Прототипом способу очистки, що патентується, є спосіб очистки сироватки великої рогатої худоби, який запропонований Л.І. Інгундіним, С.Д. Орловим, Н.В. Шалуновою та іншими (Способ очистки сыроватки крови крупного рогатого скота. Л.И. Игудин, С.Д. Орлов, Н.В. Шалунова и др. // Вопр. вирусологии.-1980.- №5.-С. 640.).

Для очистки від γ -глобулінової фракції сироватку крові великої рогатої худоби обробляли стерильним 40% водним розчином поліетиленгліколю (ПЕГ) з мол. м. 5500-7000 (фірма „Serva“, ФРГ). Кінцеву концентрацію ПЕГ у сироватці доводили до 6-8% з експозицією 16-18 годин при плюс 4°C. Далі сироватку центрифугували при 2000-3000об/хв протягом 20 хвилин для отримання надосадової рідини. Вміст білку в сироватці після обробки ПЕГом знижувався у 2 рази.

Основним недоліком цього способу очистки є робота з сироваткою у стерильних флаконах, об'єм яких не перевищує 0,5л або потребує додаткової стерилізації сироватки. Під час роботи з такими невеликими об'ємами виробництво сироватки, яка була оброблена ПЕГ, економічно не виправдано, так як кількість очищеної за один раз сироватки не перевищує 2-3 літрів. Цей спосіб очистки придатен для одержання невеликих об'ємів сироватки в лабораторних умовах.

В основу винаходу, що передбачається поставлено задачу розробити спосіб очистки сироватки крові великої рогатої худоби шляхом очистки γ -глобулінової фракції розчином поліетиленгліколю, отримання надосадової рідини центрифугуванням, після чого надосадову рідину освітлюють центрифугуванням, або сепарацією, або фільтрацією, потім стерилізують фільтрацією, щоб забезпечити очистку сироватки крові великої рогатої худоби.

Спосіб виконується таким чином: до сироватки, яка була освітлена центрифугуванням на поточній або кутовій центрифугах, або сепарацією на кров'яному сепараторі АСГ-3М, або фільтруванням через фільтр-пластіни типу „Ф“ додають 50% водний розчин ПЕГа-115 або 40% водний розчин ПЕГа з мол. м. 10000 в співвідношенні 1:5,6 (1 частина розчину ПЕГа та 5,6 частин сироватки). Сироватка повинна бути охолоджена до температури від плюс 2 до плюс 8°C. Суміш інтенсивно перемішують до отримання гомогенної суспензії, яка містила відділену масу глобулінів. Суспензію витримують 72-96 годин при температурі 2-8°C. Надосадову рідину освітлюють центрифугуванням, або сепарацією, або фільтрацією після чого сироватку піддають стерилізуючій фільтрації скрізь фільтри зета-плюс, зета-фор або інші фільтри з перепускною здібністю 0,2-0,25 мкм.

Приклад 1.

Аглобулінову сироватку розфасовували в стерильні скляні ємності об'ємом 0,25-5,0 літрів. Розфасовану сироватку піддавали провокуванню на наявність контамінації бактеріальною та грибовою флорою при температурі плюс 35-37°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 первинне трипсинізованої (фіброласти 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 очистки сироватки крові великої рогатої худоби дозволяє вилучати гама-глобулінову фракцію. Спосіб придатен для використання у промисловому виробництві.