

сягався в результаті використання розробленого МЛР. Це дозволяє контролювати і корегувати параметри культивування токсигенних штамів, а також синтетичного поживного середовища. До його складу, в якості джерела азотного живлення входять вільні амінокислоти, які швидше засвоюються бактеріями *E.coli*. Надалі це полегшує процес очищення ентеротоксинів від баластних речовин, що виявляються при культивуванні кишкової палички в інших поживних середовищах.

Список літератури

1. Караев, Я.М. Протективные и иммуногенные свойства эшерихиозного анатоксина /Я.М. Караев //Автореферат диссер.на соиск. уч ст. к. вет н.-16.00.03.-Краснодар.-2008.-25 с. 2. Зелютков, Ю.Г., Эффективность двухкомпонентной питательной среды при культивировании микроорганизмов /Ю.Г. Зелютков, В.И. Зайцев //Зооантро-поз.болезни, меры профилактики и борьбы.-Минск.-1997. – С.132-134. 3. Finkelstein R. Enterotoxins: brief historical overview and introduction / R. Finkelstein //Progr.Food and Nutr. Sei.-1983.-7.-№3-4-P.133-138. 4. Сухарев, Ю.С. Энтеротоксины *Escherichia coli* (методы получения, очистки, изготовления иммунизирующих препаратов, антитоксических сывороток и диагностических тест-систем на их основе) /Ю.С.Сухарев; Харьков.- Коллегиум.- 2009.-92 с.

METHOD OF DEEP CULTIVATION OF ENTEROTOXIGENIC *ESCHERICHIA COLI*

Sukharev Yu.S.

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv

The method of deep cultivation of toxicogenic strains of *Escherichia coli* is improved. The high level of accumulation of bacterial cells and enterotoxins was arrived in result of use of the developed small-scale laboratory reactor allowing to control and korrekt the parameters of height of toxicogenic strains, and Synthetic nourient medium.

УДК 576.32/36: 57.085.2

РЕАКЦИЯ КЛЕТОК ПЕРЕВИВАЕМОЙ ЛИНИИ MDBK И ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ПОЧЕК ПЛОДА КОРОВЫ НА НАГРУЗКУ ДВУОКИСЬЮ УГЛЕРОДА

Хамзина Е.Ю., Плотникова Э.М., Гудин В.А.,* Кириллова Ю.М., Глаголева И.С.

ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных ВНИВИ», г. Казань

* ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана», г. Казань

Двуокись углерода важный компонент процессов жизнедеятельности организма, одна из физиологических основ метаболизма. Она участвует в процессах проницаемости клеточных мембран, распределения ионов натрия в тканях, возбуждения нервных клеток, влияет на активность многих ферментов, синтез гормонов, их физиологические эффекты, биосинтез белков, связывание их с ионами кальция и железа, карбоксилирование аминокислот, участвует в поддержании кислотно-щелочного равновесия. В клетках животных и человека *in vivo* содержание двуокиси углерода составляет (6-8) %, кислорода – (1-2) %.

Клетки животных, растущие в условиях *in vitro*, чрезвычайно чувствительны к сдвигам внешних химических и физических факторов. Для роста клеток большинства клеточных культур необходимо 5 % содержание CO₂ в инкубационной среде. Содержание двуокиси углерода в инкубационной среде выше 12 % при выращивании культур клеток сопровождается нарастанием количества неправильных митозов [4].

В этой связи потребности в CO₂ клеток постоянных клеточных линий и первичных культур, из которых они получены, могут различаться, т.к. появление постоянной линии клеток происходит в результате трансформаций, связанных с гетеро- и анеуплоидностью. Однако нормальные клетки, спонтанно трансформируясь в постоянную линию, не становятся при этом злокачественными (несмотря на некоторые черты сходства) [2].

Характер и степень реакции клеток перевиваемой линии MDBK и первичной культуры клеток почек плода коровы (ППК) на физиологическую, 5-7 % концентрацию двуокиси углерода в среде инкубации не определены.

Цель работы – изучить реакцию клеток перевиваемой линии MDBK и первичной культуры ППК на 5 и 7 % содержание CO₂ в среде инкубации.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились в лаборатории культур клеток и гибридной технологии Федерального центра токсикологической и радиационной безопасности животных. Материалом для первичной культуры ППК служили почки 4-5-ти месячных плодов, взятых у клинически здоровых коров в условиях мясокомбината. Первично-трипсинизированную культуру клеток ППК получали по методу Л.П. Дьяконова [1]. В качестве постоянной клеточной линии использовали перевиваемую линию клеток MDBK (почка крупного рогатого скота), полученную в 1957г Madin S.H. [3]. Для роста клеток первичной и перевиваемой культур использовали смеси сред ГЛА, MEM, 199 в соотношении 1:1:1 с добавлением 10 % сыворотки КРС и ципрофлоксацина в концентрации 10 мкг/мл. Культивирование опытных культур проводили в стеклянной посуде, закрытой притертыми крышками с фильтрами в условиях 5 % и 7 % содержания CO₂ в среде инкубации. Контролем служили клетки аналогичных культур, выращенных в термостате в плотно закупоренной посуде без доступа воздуха. Определяли индекс пролиферации (ИП) клеток по Л.П. Дьяконову [1] и их размер через каждые 24 ч. в течение 3 суток. О реакции клеток перевиваемой и первичной культуры на 5 % и 7 % содержание CO₂ в среде инкубации судили по характеру и степени сдвигов ИП, и размеру клеток. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью критерия Вилькоксона.

Результаты исследований. Серией опытов было установлено, что клетки перевиваемой линии MDBK и первичной культуры ППК отвечают на направленное, физиологическое увеличение, на 5-7 %, содержания двуокиси углерода в инкубационной среде отчетливой закономерной реакцией, проявляющейся значительным подъемом, на 15-45 % (p ≤ 0,005), ИП к 72-му часу инкубации (табл. 1).

Степень реакции клеток перевиваемой линии MDBK и первичной культуры ППК на направленное, физиологическое увеличение, содержания двуокиси углерода до 5 % и 7 % в инкубационной среде неодинакова, выше она у клеток перевиваемой линии MDBK, ниже у клеток первичной культуры ППК, у последней выше при 7 % и ниже при 5 % содержании двуокиси углерода в среде инкубации.

В этих условиях размер клеток перевиваемой линии MDBK и первичной культуры ППК не менялся (табл. 2).

Таблиця 1 – Динаміка ИП кліток перевиваємої лінії MDBK і первичної культури ППК при 5-7 % содержанию CO₂ в інкубационній середі (n=5)

Показатели	Время культивирования (ч), условия и величины показателей								
	24			48			72		
	контроль	5% CO ₂	7% CO ₂	контроль	5% CO ₂	7% CO ₂	контроль	5% CO ₂	7% CO ₂
ИП ППК	1,2±0,2	1,4±0,1	1,4±0,2	1,9±0,2	1,9±0,2	2,0±0,2	2,0±0,2	2,3±0,2	2,9±0,3*
ИП MDBK	0,9±0,2	1,0±0,2	0,9±0,2	1,1±0,2	1,5±0,2	1,5±0,2	2,5±0,3	3,5±0,3**	3,4±0,3*

Примечание: * - $p \leq 0,005$, ** - $p \leq 0,001$ по сравнению с контролем

Таблиця 2. – Динаміка розміра кліток перевиваємої лінії MDBK і первичної культури ППК при 5-7 % содержанию CO₂ в інкубационній середі (n=5)

Показатели	Время культивирования (ч), условия и величины показателей								
	24			48			72		
	контроль	5% CO ₂	7% CO ₂	контроль	5% CO ₂	7% CO ₂	контроль	5% CO ₂	7% CO ₂
Размер клеток ППК	17,5±0,8	16,8±0,5	17,3±0,6	16,0±0,4	16,3±1,0	17,0±0,4	16,4±0,5	17,3±0,4	18,0±0,4
Размер клеток MDBK	16,0±0,4	17,2±0,6	17,0±0,5	16,0±0,6	16,0±0,6	16,0±0,5	16,4±0,5	15,6±0,3	15,4±0,3

Выводы.

1. В условиях *in vitro* клетки перевиваємої лінії MDBK і первичної культури ППК реагировали на направленное, физиологическое увеличение, содержания двуокиси углерода до 5-7 %, в інкубационній середі закономірним підйомом ИП 15-45 % ($p \leq 0,005$), интенсивности роста, свидетельствующим об участии в механизмах роста и развития клеток, стимулирующем их влиянии двуокиси углерода.

2. Степень реакции клеток перевиваємої лінії MDBK і первичної культури ППК на направленное, физиологическое увеличение содержания двуокиси углерода в інкубационній середі неодинакова, выше она у клеток перевиваємої лінії MDBK, ниже у клеток первичной культуры ППК, у последней выше при 7 %, ниже при 5 % содержанию CO₂ в среде инкубации, свидетельствующим о специфике роста и развития, механизмов их обеспечения у клеток этих культур.

Список литературы

1. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии): [под общ. ред. Дьяконова Л.П.].-М.: «Спутник+», – 2009. – 656 с.
2. Методы культивирования клеток: [под ред. Пинаев Г.П., Богдановой М.С.].-СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2008. – 278 с.
3. Специализированная коллекция перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных РККК (П), (СХЖ РАСХН): каталог / [сост. Дьяконов Л.П., Гальнбек Т.В. и др.]. – Москва : «Эльфа-К», 2006. – 116 с.
4. Carbon dioxide inhalation causes pulmonary inflammation / [Abolhassani M., Guais A., Chaumet-Riffaud P. et al.]. – J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol., 2009. – 665 l.

THE REACTION OF MDBK CELL LINE CELLS AND PRIMARY BOVINE FETAL KIDNEY CELLS TO CARBON DIOXIDE

Khamzina E.Yu., Plotnikova A.M., Gudina V.A.*, Kirillova J.M., Glagoleva I.S.

Federal Centre for Toxicological and Radiobiological Safety of Animals, Kazan,

**Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman*

The reaction of the cells of established MDBK line and primary bovine fetal kidney cells to the physiological content (5-7) % of carbon dioxide in the incubating medium was studied.

УДК 619:578:616.98:578.828.11

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ІНГІБІТОРУ ДЕАЦЕТИЛАЗ ГІСТОНІВ НА ЕКСПРЕСІЮ ВІРУСУ ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Шаповалова О.В., Горбатенко С.К., Кузнецова О.В., Корнєйков О.М., Лиманська О.Ю., Симоненко С.І.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Збудник лейкозу великої рогатої худоби – вірус лейкозу великої рогатої худоби (ВЛВРХ) належить до родини ретровірусів, особливістю біології яких є здатність персистувати в організмі прийнятливої хазяїна за рахунок латентної інтеграції провірусу в інфікованих лімфоцитах і пухлинних клітинах. Як відомо, в окремих клітинах ВЛВРХ не експресується у кількості, достатньої для детекції існуючими діагностичними методами. З діагностичною метою активацію транскрипції збудника можна досягти за допомогою культивування лімфоцитів периферичної крові інфікованих тварин *in vitro*. В подальшому вірус виявляється шляхом електронної мікроскопії або індикацією його антигенів у культуральній рідині. Крім того, ДНК провірусу та РНК ВЛВРХ може бути знайдена в клітинах крові або пухлин методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [1].

Під час досліджень ВЛВРХ у короткострокових культурах лейкоцитів периферичної крові тварин використовують стимулятори продукції вірусу – сироватку ембріонів корів, ліпополісахариди, фітогемогліутинін, тощо [2]. Однак, молекулярні механізми дії цих речовин до кінця не вивчені.

Останнім часом багато уваги приділяється дослідженню молекулярно-генетичних механізмів впливу на експресію вірусу. Було встановлено, що одним із шляхів підвищення транскрипції ВЛВРХ може бути застосування деацетилаз гістонів, серед яких вивчали трихостатин А, трапоксин, натрію вальпроат та інші [3].