

Оптимизация процесса промышленного культивирования культуры клеток ВНК-21/13-13 для производства вакцин против бешенства с помощью перфузионной системы фильтрации

Научный руководитель – Матвеева Ирина Николаевна

Сокол Ольга Олеговна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет почвоведения, Кафедра агрохимии и биохимии растений, Москва, Россия

E-mail: rumolga98@mail.ru

Одним из примеров улучшения технологии получения вакцины против бешенства является использование установки перфузионной фильтрации [1]. Перфузионные процессы позволяют достигать в реакторах высоких клеточных плотностей, несравнимых с таковыми в периодических процессах [2]. Перфузионная система фильтрации позволит получать сырье для производства вакцин. Перфузионный процесс заключается в постоянном поступлении в биореактор с определенной скоростью свежей питательной среды и отводе с той же скоростью отработанной культуральной жидкости с сохранением клеточной биомассы внутри реактора [3].

Цель исследования – разработка высокоэффективной технологии перфузионного непрерывного суспензионного культивирования перевиваемой линии клеток почки новорожденного сирийского хомячка ВНК-21/13-13, пригодной для использования в качестве клеточного субстрата при изготовлении вакцины против бешенства с новым адъювантом.

В работе использовали культуральный вирус бешенства штамм «Щелково-51», репродукцию которого проводили в суспензии культуры клеток ВНК-21/13-13 в биореакторах 5,7 и 100 литров производства ООО «Биотехно», Россия. Клетки ВНК-21/13-13 были любезно предоставлены ФКП «Щелковский биокомбинат». Концентрацию жизнеспособных клеток, жизнеспособность клеток и диаметр клеток суспензии и адгезионных клеток определяли с помощью автоматизированного счетчика клеток (Vi-CELL XR, Beckman Coulter, 731050). Иммуногенность инактивированного вируссодержащего материала для получения вакцины определяли методом НИИ (НИИ potency test) на белых мышах и выражали в международных единицах (МЕ).

В результате была разработана отечественная технология непрерывного культивирования клеток ВНК-21/13-13 для получения вакцины против бешенства. Показана прямая корреляционная зависимость результатов уровня роста клеток ВНК-21/13-13 при перфузионном культивировании. Определен высокий уровень жизнеспособности клеток ВНК-21/13-13 в суспензии -97-98%.

Впервые в России сконструирована экспериментальная установка для системы фильтрации с переменным тангенциальным потоком, лабораторный биореактор с внешним перфузионным устройством и пилотный вертикальный биореактор с верхнеприводной мешалкой и внешним перфузионным устройством. По результатам данного исследования показана хорошая масштабируемость процесса культивирования от 3 л до 100 л на стадии непрерывного перфузионного культивирования линии клеток. При использовании новой технологии в процессе суспензионного культивирования за 72 часа концентрация возрастала до 4,5 миллиона клеток в одном миллилитре. Через 96-100 часов концентрация клеток достигала от 7,5 до 8,0 миллиона клеток в одном миллилитре. При внедрении технологии в практику биопредприятий РФ высокие выходы антигена вируса бешенства могут быть получены в суспензионной культуре клеток ВНК-21 в промышленных масштабах, а

вакцины со средним значением содержания в них 5-6 МЕ/мл гликопротеина могут производиться регулярно [3].

Исследование было выполнено в рамках государственного задания ФГБНУ ВНИТИБП.

Источники и литература

- 1) 1) Карпова (Сокол) О.О., Матвеева И.Н. Вариант реализации системы лабораторной установки перфузионной фильтрации для непрерывного культивирования культур клеток. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова 2023; 19(2):62–66.
- 2) 2) Карпова (Сокол) О. О., Матвеева Ирина Николаевна. Культивирование клеток: сравнительный анализ традиционных и инновационных технологий // Ветеринарный врач. 2022. №5. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/kultivirovanie-kletok-sravnitelnyy-analiz-traditsionnyh-i-innovatsionnyh-tehnologiy>.
- 3) 3) Сокол (Карпова) О.О., Ю. Мехда. Технические решения для создания лабораторной установки перфузионной фильтрации // вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. 2023.т. 19, №4.