

SEPLIFE® LX-MC-DEX1 ЖАҢА МИКРОТАСЫМАЛДАҒЫШЫНДА ЖАСУШАНЫ ЖӘНЕ ВИРУСТЫ ӨСІРУ НӘТИЖЕЛЕРІН ҚОЛДАНЫСТАҒЫ МИКРОТАСЫМАЛДАҒЫШТАРМЕН САЛЫСТЫРУ

Ш.С. Тұрыскелді , Ж.Ж. Саметова , А.Қ. Үсембай , Е.А. Булатов 

Биологиялық қауіпсіздік мәселелері ғылыми-зерттеу институты, Гвардейский құқ
smankizi@mail.ru

Аннотация: микротасымалдағыштар – көлемі 90-350 мкм болатын, бетінде моноқабат түрінде жасушалар өсетін ұсақ қатты бөлшектер. Микротасымалдағыштардың негізгі екі қасиеті – жасушалардың адгезиясы және көп мөлшердегі соңғы жасуша өнімі болып табылады. Әртүрлі параметрлері бойынша жүргізілген салыстырмалы зерттеудің нәтижелеріне сүйенсек, әрбір микротасымалдағыштардың өзіне тән артықшылығы мен кемшіліктері қатар жүретіні анықталған. Біздің зерттеуімізде SEPLIFE® LX-MC-dex1 және Cytodex 3 микротасымалдағыштарының қасиеттері салыстыра отырып зерттелінген. Зерттеу нәтижелерінен құрамында жасанды заты бар SEPLIFE® LX-MC-dex1 өндірісте кең тараған Cytodex 3 микротасымалдағышынан барлық қасиеттері мен қолданудағы ыңғайлылығы жағынан кем түспейтіндігі анықталды.

SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышының негізгі артықшылығы бағасының тиімділігінде, яғни Cytodex 3-тен 5 есе арзан болып табылады. Осыған байланысты SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышы экономикалық жағынан да тиімді деп танылды.

Түйін сөздер: микротасымалдағыш; вирусты өсіру; Cytodex 3; SEPLIFE® LX-MC-dex1.

Кіріспе

Жасушалардың көп мөлшердегі биомассасын алу – жасуша терапиясы, тіндік инженерия, жасуша биотехнологиясы және вакцина өндірісі сияқты әртүрлі медициналық қолданбалардың міндетті шарты болып табылады. Бұл шартты орындау мақсатында қолданылатын әдістердің бірі - жасуша өсіндісін микротасымалдағыштарда өсіру. 1967 жылы жасушаны өсіру әдістерінде кездесетін кемшіліктер мен мәселелерді шешу мақсатында *van Wezel* микротасымалдағыштарды алғаш рет ұсынды [1]. Микротасымалдағыштар – диаметрі 90–350 мкм болатын микротүйіршіктер. Олардың беткі қабатында жасушалар бекінеді және өседі [2]. Микротасымалдағыштарға тән адгезиялық қасиетінің арқасында жасушалардың көп мөлшерде бекінуі мен жиналуы соңғы жасуша өнімділігін арттырады [3]. Әртүрлі микротасымалдағыштардың беткі қабаттары химиялық және физикалық жағынан ерекшеленетіндіктен алынған нәтижелерде айырмашылықтар кездеседі. Сонымен қатар, жасушаны себу жағдайлары, жасушаның бекінуі, микротасымалдағышты өңдеу мен жасушаны бөліп алу кезеңдерінің дұрыс жүргізілуі де нәтижеге үлкен әсерін тигізеді [4]. Тағы бір ескеретін дерек, микротасымалдағыштарда жасушаны өсіру суспензиялық әдіспен жүргізілетіндіктен, ортадағы pH деңгейі, еріген оттегі, қоректік заттар және метаболиттер саны тұрақты сақталады [5]. Бүгінгі таңда микротасымалдағыштарды пайдалана отырып, әртүрлі коммерциялық жасуша өнімдері шығарылды, мысалы, тұмау [6, 7], полиомиелит [8, 9] және құтыру [10] вирустарына қарсы вакциналарды айтсақ болады. Бұл әдісті дамыту бойынша қарқынды зерттеулер әлі де жалғасуда.

Қазіргі таңда қолданыста әртүрлі өндірушілерге тиесілі Cytodex-1, 2, 3, Hillex, Cytoline 1, 2, RapidCell, 2D MicroHex, Synthemax II, SphereCol, Collagen, Cultispher-G, S және т.б. өте көп түрлері бар. *S. Derakhti* бастаған зерттеу тобы құрамы және физико-химиялық қасиеттері жағынан ерекшеленетін 50-ге жуық микротасымалдағыштарға жан-жақты талдау жасаған [11]. Әртүрлі параметрлері бойынша жүргізілген салыстырмалы зерттеудің нәтижесінде әрбір микротасымалдағыштардың өзіне тән артықшылығы мен кемшіліктері қатар жүретіні анықталған. Мұндай зерттеулер болашақта жаңа микротасымалдағыштардың кемшіліктері аз немесе мінсіз әмбебап түрлерінің өндірілуіне септігін тигізетіні анық.

Микротасымалдағыштардың қолданбалы ғылым салаларындағы маңыздылығы күн санап артуына байланысты, жаңа микротасымалдағыштардың түрлері де көбейіп келеді. Соның бірі SUNRESIN (Қытай) өндіріс компаниясында 2020 жылдан бастап шығарылатын SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышы. SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышы – бұл матрица ретінде декстран микросфераларын пайдаланатын және жасушаның бекініп өсуіне қолайлы микробусінді тасымалдағыш. Ол жақсы гидрофильділікке, биоүйлесімділікке, қолайлы зарядқа және бөлшектердің өлшеміне ие. Оның мөлшері мен тығыздығы жасуша өсіндісінің бекінуі үшін жақсы жағдайларды қамтамасыз етеді. SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышы жасушалардың 60-тан астам түріне бейімделе алады және негізінен вакциналар мен ақуыз өнімдерін өндіру үшін қолданылады.

Біздің зерттеу жұмысымыздың мақсаты – жаңа SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышының қасиеттерін және жасуша мен вирустың өсу ерекшеліктерін зерттеу және көп қолданыста жүрген микротасымалдағыштармен салыстыру болып табылады.

Материалдар мен әдістер

Микротасымалдағыштарды (MT) өңдеу және дайындау. MT 3 сағат дистилденген суда (100,0 мл суда 1,0 г MT) ұсталды, содан кейін G-3 сүзгісі арқылы өткізіліп, фосфатты буферлі ерітіндісімен (ФБЕ) pH 7,0-7,2-ке теңестірілді. Барлық жағдайларда MT-дың жуудың бастапқы және соңғы кезеңінде pH өлшеніп отырды, сүзгіден өткеннен кейінгі pH мәні, пайдаланылған буфердің pH-на сәйкес келуі керек. Сипатталған әдіспен микротасымалдағыштарды дайындап болған соң, 2 түрлі әдіспен:

1) pH 7,0-7,2 болатын ФБЕ-ге (50,0 мл ФБЕ-те 1,0 г MT) салып, 20 минут бойы 121° C (1,0 атм.) температурада автоклавтау;

2) ультракүлгін сәулесінде 30 мин ұстау арқылы өңделді.

Микротасымалдағыштарда жасушаны өсіру. Тәжірибеде Vero жасуша өсіндісі қолданылды. Микротасымалдағыштарда жасушаларды өсіру суспензионды әдіспен Techne спиннерлерде көлемі 175 мл, 1500 мл болатын флакондардың көмегімен жүзеге асырылды. Спиннердің айналу жылдамдығы 40-60 айн/мин. Жасушалардың себілген концентрациясы 150-300*10⁵ жасуша/мл аралығында болды. MT жасуша суспензиясының 1 литріне 1 г концентрацияда енгізілді.

Микротасымалдағыштарда вирусты өсіру. Жасуша өсіндісін вируспен жұқтыру биологиялық белсенділігі 4,75 lg TCID₅₀/см³ болатын ұсақ күйіс қайыратын малдар обасы (ҰКҚМО) вирусының әлсіретілген Nigeria 75/1 штамы арқылы жүргізілді. Жұқтыру дозасы – 0,1 TCID₅₀/см³.

Құрамында вирусы бар материалды жинау және жасушаны MT бөліп алу. Ең алдымен микротасымалдаушылары бар жасуша суспензиясы басқа стерильді флаконға ауыстырылып, микротасымалдаушыларды тұндыру үшін 30 минут ұсталды, содан кейін тұнбаны қалдырып беткі сұйық бөлігі пипеткамен алынып тасталды. 2M NaCl тұнбаға 3:1 қатынасында қосылды, содан кейін оны бір-бірімен әсерлесу үшін 15 мин қойды. Уақыт өткеннен кейін қалған жасушаларды бөлу үшін тамшуырлау орындалды. Әрі қарай, алынған материалды стерильді құтыға құйып жасуша өсіндісінің сұйықтығымен бастапқы көлемге дейін жеткізілді. Содан соң бір рет мұздату-еріту орындалды және Millipore сүзгілері арқылы сүзілді.

Вирустың биологиялық белсенділігін анықтау. Вирустың биологиялық белсенділігін анықтау титрлеу әдісі арқылы жүргізілді. Вирус титрі Reed I.J. және Muench H.A. ұсынған әдіспен есептелініп, $\lg \text{TCID}_{50}/\text{см}^3$ түрінде белгіленді [12]. Құрамында вирусы бар материалдың стерильділігі MEMCT 28085–2013 бойынша анықталды [13].

Нәтижелерді статистикалық өңдеу. Барлық тәжірибелер үш реттен қайталанып жасалынды. Нәтижелерді статистикалық өңдеу «Microsoft Excel» компьютерлік бағдарламасы арқылы орташа арифметикалық мәнді (M) және стандартты қатені (m) есептеу арқылы жүргізілді. Цифрлық деректер Студент бойынша тура және айырма әдісімен орташа мәндерді және олардың қателерін анықтай отырып, статистикалық талдау жасалынды.

Нәтижелер

LXMC-DEX1 микротасымалдағышының қасиеттерін салыстыру. SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышының физико-химиялық қасиеттерін қазіргі кезде вакцина өндірісі саласында ең көп қолданылатын Cytodex 3 микротасымалдағышымен салыстырдық (1кесте).

Кесте 1 – Микротасымалдағыштардың физико-химиялық қасиеттері

№	Сипаттамалары	SEPLIFE® LX-MC-dex1	Cytodex 3
1	Микротүйіршіктің мөлшері (мм)	0,05-0,1	~0,05
2	Тығыздығы (г/мл)	1,045	1.04
3	Бір грамм құрғақ салмақтағы МТ саны (г)	4,3×10 ⁶	3 ×10 ⁶
4	Ісіну коэффициенті (мл/г)	17-22	15-18
5	Жалпы сыйымдылығы (ммоль/г)	1,4-1,6	1,2-1,8
6	Шөгу мөлшері (см ³)	100	120
7	Негізгі құрамы	матрицасы – декстраннан, сыртқы қабаты шайыр	матрицасы – декстраннан, сыртқы қабаты коллаген
8	Сыртқы түрі	түйіршіктелген ақ ұнтақ, дәмсіз, иіссіз	түйіршіктелген ақ ұнтақ, дәмсіз, иіссіз

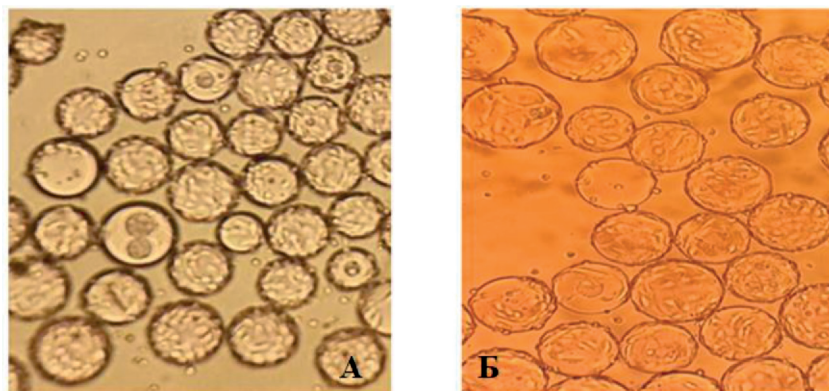
1 кестеден байқағанымыздай, физико-химиялық қасиеттері жағынан микротасымалдағыштар бір-біріне өте ұқсас болды. Құрамы жағынан айырмашылығы тек сыртқы қабаты бойынша Cytodex 3 – коллаген, ал SEPLIFE® LX-MC-dex1 – шайырлы зат болып табылады. Сыртқы қабатының құрамы микротасымалдағыштың адгезиялық қасиетіне, яғни жасушаның бекінуіне әсер етеді.

Микротасымалдағыштарда Vero жасушасын өсіру нәтижелері. Жасушалардың себілген концентрациясы және өскен жасушалар саны 2 кестеде көрсетілген.

Кесте 2 – SEPLIFE® LX-MC-dex1 және Cytodex 3 МТ-да өсірілген Vero жасушаларының саны

МТ және өңдеу түрі	Себілген жасуша концентрациясы мың/мл	МТ мөлшері (г)	Өсу ортасының мөлшері (мл)	Жасуша саны, сағ. мың/мл		
				12	24	36
УК сәуле:						
SEPLIFE® LX-MC-dex1				312±0,12	424±0,3	512±0,12
Cytodex 3	250±0,5	0,5	500	327±0,20	460±0,15	552±0,5
Бу стерилизаторы:						
LXMC - DEX1				341±0,13	410±0,4	575±0,5
Cytodex 3	250±0,5	0,5	500	375±0,5	489±0,10	590±0,9

Кестеден 12, 24 және 36 сағаттан кейінгі жасушалар саны уақыт өткен сайын қарқынды көбейіп, дамығанын байқауға болады. Бұл көрсеткіштер тек 1 мл-дағы жасушалар саны, сондықтанда біз бірнеше литр суспензиядан өте көп мөлшерде жасуша биомассасын аламыз. Екі микротасымалдағышта да өскен жасушалар саны қанағаттанарлық нәтиже көрсетті. Бірақ Cytodex 3 микротасымалдағышында өскен жасуша саны бойынша SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышымен салыстырғанда шамамен 10-25 мың/мл-ге артық болды.

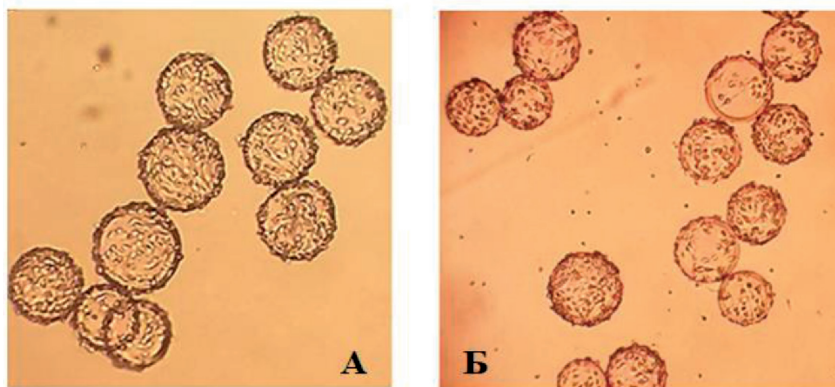


Сурет 1 – МТ-да Vero жасушасын өсіру
 А – SEPLIFE® LX-MC-dex1; Б – Cytodex 3.

Жасушалардың бекіне бастауы 1-ші тәуліктен кейін басталды. Ал 3-5 тәулік аралығында микротасымалдағыштың бетінде тығыз моноқабаттың түзілуі байқалды. 1 – суреттен байқағанымыздай, SEPLIFE® LX-MC-dex1 және Cytodex 3 микротасымалдағыштарына жасушаның бекіну қасиетінде үлкен айырмашылықтар байқалмады. Екеуінің де адгезиялық қасиеті жақсы, тек жасушалары тығыз орналасқан моноқабаттың толық пайда болуы SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышында 5-ші тәулікте, ал Cytodex 3 микротасымалдағышында 3-ші тәулікте байқалды.

Ультракүлгін сәулесі және автоклавтау арқылы өңделген микротасымалдағыштарда нәтижелер жоғары стерильділікті көрсетті. Екі түрлі өңдеу әдісін де тәжірибеде қолдануға болады.

Микротасымалдағыштарда ҰҚҚМО вирусын өсіру нәтижелері. Жасушаларға вирусты тастағаннан кейін 1 сағат бойы байланысқа қойылды. Яғни, 10 мин тыныштықта, 10 мин биоараластырғышта т.с.с үдеріс қайталанды. Бұл микротасымалдағыштарға вирустардың бекінуі үшін қажет. Вируспен жұқтырғаннан кейін 4-ші тәулікте жасушалардан вирустың анық цитопатикалық әсерін (ЦПӘ) байқадық.



Сурет 2 – ҰҚҚМО вирусының ЦПӘ
 А – SEPLIFE® LX-MC-dex1; Б – Cytodex 3.

Микротасымалдағыштардан жасушаны бөліп алу мұздату-еріту әдісі арқылы жасалынды. Құрамында вирусы бар материалды жинағаннан кейін вирустың биологиялық белсенділігін және стерилділікті анықтау үшін үлгілер алынды. ҰКҚМО вирусының белсенділігін анықтау Vero жасушасында титрлеу әдісі арқылы жүргізілді. Зерттеу нәтижелері 3 кестеде көрсетілген.

Кесте 3 – Вирустың биологиялық белсенділігі және суспензияның стерильділігі бойынша нәтижелер

МТ түрі	Вирус титрі (lg TC ₅₀ /см ³)	Стерильділігі				
		ЕПА	ЕПС	Сабуро сұйық	Сабуро қатты	Тиогликоль
SEPLIFE® LX-MC-dex1	6,33±0,04	-	-	-	-	-
Cytodex 3	6,41±0,04	-	-	-	-	-

Вирустың белсенділігі екі микротасымалдағыш түрінде де жоғары титр көрсетті. Атап айтқанда, SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышында 6,33 lg TC₅₀/см³, ал Cytodex 3 микротасымалдағышында 6,41 lg TC₅₀/см³.

Талқылау

Соңғы жылдары микротасымалдағыштардың түрлерінің көбеюіне байланысты микротасымалдаушыға негізделген жасуша өсіндісінің үрдістерінде жасушалардың бекінуі мен ажырауын жақсарту үшін көптеген зерттеулер мен жұмыстар жасала бастады. Микротасымалдаушының беткі қабаты оның негізгі қасиеті болып табылады, себебі жасушалар мен микротасымалдаушы арасындағы өзара әрекеттесу осы жерде жүреді. Микротасымалдағыштар құрамында түрлі материалдардан жасалған полимерлі негіз бар, мысалы, декстран, полистирол, шыны, целлюлоза, желатин, коллаген, альгин және т.б. Сонымен қатар, тіндер инженериясының дамуына байланысты, полилактид (PLA) және поли (ε-капролактон) сияқты биологиялық ыдырайтын полимерлер кеңінен қолданылады [14]. Жасушаларды бөліп алуға келетін болсақ, әдебиетте протеолитикалық ферменттерді қолдану әдеттегі әдіс болып табылады. Бірақ бұл әдістің жасушаларға зиянды әсері болғандықтан балама әдістер енгізілді [15]. Механикалық күштерді қолдану, ыстыққа сезімтал немесе бөлінетін материалдарды микротасымалдаушылар бетіне енгізу және ыдырайтын микротасымалдаушыларды дамыту зерттеушілер ұсынған балама стратегиялардың бірі болып табылады.

Дәстүрлі түрде жануарлар тінінен алынған жасушалар микротасымалдағыштар мен жасушаның жабысуы мен өсуін индукциялау үшін микробусиндерді қаптауға пайдаланылады. Бұл әдіс әртүрлі коммерциялық, соның ішінде Cytodex-3, Collagen, Fact III және CGEN 102-L шошқа коллагенімен қапталған микротасымалдаушыларды әзірлеу үшін пайдаланылды. *Tavassoli* және т.б. осы әдістің ұтымды пайдаланғандығы туралы айтқан [16]. Коллагенмен өңделген микротасымалдаушыларда жасушалардың бекінуі мен пролиферациясы жайында сәтті зерттеулерге қарамастан, коммерциялық Cytodex-3 микротасымалдаушыларының адамның эмбриондық жасушаларын (hESC) плюрипотентті күйінде ұзақ мерзімді өсіре алмайтындығы анықталды. Сонымен қатар, құрамына жануарлар тіні кіретін микротасымалдағыштар көп өндіріле бастағанда, экономикалық жағынан қымбатқа түсе бастады. Кейіннен жануарлар тінінің орнына тышқан ісік жасушаларынан алынған желатинді ақуыз қоспасын, рекомбинанты ақуыздарды, катионды полимерлерді, полилизинді, ламининді және т.б. заттарды қолдана бастады [17-20]. Осылайша, табиғаты жануар жасушасы емес жасанды заттардан жасалған микротасымалдағыштар саны арта бастады.

Микротасымалдағыштар қасиеттері жағынан, материалдың құрамы, өлшемі, пішіні, морфологиясы, бетінің адгезиялық қасиеті, зарядтары, функционалдық топтары және қаттылығы бойынша бір-бірінен ерекшеленеді. Әрбір микротасымалдағыштың өзіне тән артықшылығы мен кемшілігі қатар жүретіні анық. Зерттеу жұмысы кезінде кез-келген ғалым әмбебап түрін қолданып, жақсы нәтиже алғысы келеді. Біздің зерттеуімізде салыстырылған екі микротасымалдағыштың нәтижелеріне сүйене отырып, барлық қасиеттері мен қолданудағы ыңғайлылығы, оң нәтижелерді алу бойынша екі микротасымалдағыштардың көрсеткіштері жоғары болып отыр. Дегенменде, Cytodex 3 микротасымалдағышының сыртқы қабаты құрамында жануарлардан алынатын материал (шошқа терісі коллагені) бар болғандықтан, жасушаның бекінуі тез жүрді. Сонымен қатар, барлық параметрлер бойынша жоғары нәтиже көрсетті. Ал, SEPLIFE® LX-MC-dex1 нәтижелері жалпы алғанда Cytodex 3-тен кем болмады. SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышының негізгі артықшылығы бағасының тиімділігінде, яғни Cytodex 3-тен 5 есе арзан болып табылады. Осыған байланысты SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышы экономикалық жағынан тиімді деп танылды.

Cytodex 3 микротасымалдағышы – талғамы жоғары жасуша жүйелері үшін, әсіресе эпителий тәрізді морфологиясы бар және өсу үдерісі ұзақ әрі қиын болатын жасушаларға арналған. Яғни тек таңдаулы жасуша түрлерінен басқа барлық жасушаларға SEPLIFE® LX-MC-dex1 қолданып, барлық параметрлері бойынша оң әрі жоғары нәтижелер алуға болады.

Қорытынды

SEPLIFE® LX-MC-dex1 микротасымалдағышын барлық параметрлері бойынша оң нәтиже көрсеткендіктен және экономикалық жағынан тиімді болғандықтан, өндірісте кеңінен қолдануға болады.

Қаржыландырылуы: Бұл зерттеу жұмысы «Қазақстан Республикасының биологиялық қауіпсіздігі: қауіптерді бағалау, олардың алдын алу мен жоюдың ғылыми-техникалық негіздері» 2021–2023 ж.ж ғылыми-техникалық бағдарламасы аясында және 2022 жылға арналған «Ғылым саласындағы биологиялық қауіпсіздікті қамтамасыз ету қызметтері» мемлекеттік тапсырмасы бойынша жүзеге асырылды.

Алғыс айту: Авторлар осы зерттеу жұмысына қатысқан «Микроағзаларды өсіру технологиясы» зертханасының барлық қызметкерлеріне алғыс білдіреді.

Мүдделер қақтығысы: Бұл мақаланы жазу кезінде зияткерлік үлес қосу, қаржылық жағынан келіспеушілік және басқа да қарама-қайшылықтар болған жоқ.

Әдебиеттер

- 1 Van Wezel A. Growth of Cell-strains and Primary Cells on Micro-carriers in Homogeneous Culture// *Nature*. – 1967. – Vol. 216. – P. 64-65. <https://doi.org/10.1038/216064a0>
- 2 G.E. Healthcare Microcarrier Cell Culture: Principles and Methods. – 2005.
- 3 Kehoe D., Jing D., Lock L., Tzanakakis E. Scalable stirred-suspension bioreactor culture of human pluripotent stem cells. *Tissue Eng. Part A*. – 2010. – Vol.16. – P. 405-421. doi.org/10.1089/ten.tea.2009.0454
- 4 Forestell S., Kalogerakis N., Behie L., Gerson D. Development of the optimal inoculation conditions for microcarrier cultures *Biotechnol/Bioeng*. – 2002. – Vol.39. – P. 305-313. doi.org/10.1002/bit.260390308
- 5 Caron M., Emans P., Coolen M., Voss L., Surtel D., Cremers A., van Rhijn L. Welting Redifferentiation of dedifferentiated human articular chondrocytes: comparison of 2D and 3D cultures *Osteoarthritis/ Cartil*. – 2012. – Vol.20. – P.1170-1178. [doi: 10.1016/j.joca.2012.06.016](https://doi.org/10.1016/j.joca.2012.06.016)
- 6 Kistner O., Barrett P., Mundt W., Reiter M., Schober-Bendixen S., Eder G., Dorner F. Development of a Vero cell-derived influenza whole virus vaccine//*Dev. Biol. Stand*. – 1999. – Vol. 98. – P. 101-110. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10494963>

- 7 Barrett P., Mundt W., Kistner O., Howard M. Vero cell platform in vaccine production: moving towards cell culture-based viral vaccines//Expert Rev. Vaccines. – 2009. –Vol.8. – P. 607-618.
- 8 Montagnon B.J., Fanget B., Vincent-Falquet J.C. Industrial-scale production of inactivated poliovirus vaccine prepared by culture of vero cells on microcarrier//Clin. Infect. Dis. – 2004. –Vol.6. – P. 341-344. doi: 10.1093/clinids/6.Supplement_2.S341
- 9 Montagnon B., Vincent-Falquet J.C., Fanget B. Thousand litre scale microcarrier culture of Vero cells for killed polio virus vaccine // Promising results Dev. Biol. Stand. – 2003. –Vol.55. –P. 37-42. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6677539>
- 10 Montagnon B.J., Vincent-Falquet J.C., Saluzzo J.F. Experience with vero cells at Pasteur Mérieux Connaught// Dev. Biol. Stand. – 1999. – Vol.98. – P. 137-140.
- 11 Derakhti S., Safiabadi-Tali S.H., Amoabediny G., Sheikhpour M. Attachment and detachment strategies in microcarrier-based cell culture technology: A comprehensive review. – 2019. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109782>
- 12 Reed I.J., Muench H.A. A simple method of estimating fifty per cent endpoints // American Journal of Hygiene. – 1938. –Vol.27. – P. 493-497.
- 13 ГОСТ 28085-2013 Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Методы контроля стерильности.
- 14 Agathos Sart S.N. Large-scale expansion and differentiation of mesenchymal stem cells in microcarrier-based stirred bioreactors // S. Turksen (Ed.), Bioreactors in Stem Cell Biology, Humana Press, New York, NY. – 2015. –Vol.87. – P. 101-102. doi:10.1007/7651_2015_314
- 15 Tamura A., Kobayashi J., Yamato M., Okano T. Temperature-responsive poly (N-isopropylacrylamide)-grafted microcarriers for large-scale non-invasive harvest of anchorage-dependent cells. Biomaterials. – 2012. –Vol.33. – P. 3803-3812. doi:10.1016/j.biomaterials.2012.01.060
- 16 Tavassoli H., Alhosseini S.N., Tay A., Chan P.P.Y., Weng Oh S.K., Warkiani M.E. Large-scale production of stem cells utilizing microcarriers: a biomaterials engineering perspective from academic research to commercialized products Biomaterials – 2018. –Vol.181. – P. 333-346. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.07.016
- 17 Dame M.K., Varani J. Recombinant collagen for animal product-free dextran microcarriers// In Vitro Cell Dev. Biol. – Anim. – 2009. –Vol.44. – P. 407-414. <https://doi.org/10.1007/s11626-008-9139-4>.
- 18 Badenes S.M., Fernandes T.G., Miranda C.C., Pusch Klein A., Haupt S., Rodrigues C.A.A.V., Diogo M.M., Brüstle O., Cabral J.M.M.S. Long-term expansion of human induced pluripotent stem cells in a microcarrier-based dynamic system//J. Chem. Technol. Biotechnol. – 2017. – Vol.92. – P. 492-503. doi: 10.1002/jctb.5074
- 19 Fan Y., Hsiung M., Cheng C., Tzanakakis E.S. Facile engineering of xeno-free microcarriers for the scalable cultivation of human pluripotent stem cells in stirred suspension // Tissue Eng. Part A. – 2013. – Vol.20. – P.1-43. doi:10.1089/ten.TEA.2013.0219
- 20 Lam A.T.L., Li J., Chen A.K.L., Reuveny S., Oh S.K.W., Birch W.R. Cationic surface charge combined with either vitronectin or laminin dictates the evolution of human embryonic stem cells/microcarrier aggregates and cell growth in agitated cultures // Stem Cells Dev. – 2014. – Vol.23. – P. 1688-1703. DOI: 10.1089/scd.2013.0645

References

- 1 Van Wezel A. Growth of Cell-strains and Primary Cells on Micro-carriers in Homogeneous Culture// *Nature*. – 1967. – Vol. 216. – P. 64-65. <https://doi.org/10.1038/216064a0>
- 2 G.E. Healthcare Microcarrier Cell Culture: Principles and Methods. – 2005.
- 3 Kehoe D., Jing D., Lock L., Tzanakakis E. Scalable stirred-suspension bioreactor culture of human pluripotent stem cells. Tissue Eng. Part A. – 2010. – Vol.16.– P. 405-421. doi.org/10.1089/ten.tea.2009.0454
- 4 Forestell S., Kalogerakis N., Behie L., Gerson D. Development of the optimal inoculation conditions for microcarrier cultures Biotechnol//Bioeng. –2002. –Vol.39. – P. 305-313. doi.org/10.1002/bit.260390308

- 5 Caron M., Emans P., Coolsen M., Voss L., Surtel D., Cremers A., van Rhijn L. Welting Redifferentiation of dedifferentiated human articular chondrocytes: comparison of 2D and 3D cultures Osteoarthritis/ Cartil. – 2012. – Vol.20. – P. 1170-1178. doi: 10.1016/j.joca.2012.06.016
- 6 Kistner O., Barrett P., Mundt W., Reiter M., Schober-Bendixen S., Eder G., Dorner F. Development of a Vero cell-derived influenza whole virus vaccine//Dev. Biol. Stand. – 1999. – Vol.98. – P. 101-110. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10494963>
- 7 Barrett P., Mundt W., Kistner O., Howard M. Vero cell platform in vaccine production: moving towards cell culture-based viral vaccines//Expert Rev. Vaccines. – 2009. – Vol.8. – P. 607-618.
- 8 Montagnon B.J., Fanget B., Vincent-Falquet J.C. Industrial-scale production of inactivated poliovirus vaccine prepared by culture of vero cells on microcarrier//Clin. Infect. Dis. – 2004. – Vol.6. – P. 341-344. doi: 10.1093/clinids/6.Supplement_2.S341
- 9 Montagnon B., Vincent-Falquet J.C., Fanget B. Thousand litre scale microcarrier culture of Vero cells for killed polio virus vaccine // Promising results Dev. Biol. Stand. – 2003. – Vol.55. – P. 37-42. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6677539>
- 10 Montagnon B.J., Vincent-Falquet J.C., Saluzzo J.F. Experience with vero cells at Pasteur Mérieux Connaught// Dev. Biol. Stand. – 1999. – Vol.98. – P. 137-140.
- 11 Derakhti S., Safiabadi-Tali S.H., Amoabediny G., Sheikhpour M. Attachment and detachment strategies in microcarrier-based cell culture technology: A comprehensive review. – 2019. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109782>
- 12 Reed I.J., Muench H.A. A simple method of estimating fifty per cent endpoints // American Journal of Hygiene. – 1938. – Vol.27. – P. 493-497.
- 13 GOST 28085-2013 Sredstva lekarstvennye biologicheskie dlya veterinarnogo primeneniya. Metody kontrolya steril'nosti.
- 14 Agathos Sart S.N. Large-scale expansion and differentiation of mesenchymal stem cells in microcarrier-based stirred bioreactors // S. Turksen (Ed.), Bioreactors in Stem Cell Biology, Humana Press, New York, NY. – 2015. – Vol.87. – P.101-102. doi: 10.1007/7651_2015_314
- 15 Tamura A., Kobayashi J., Yamato M., Okano T. Temperature-responsive poly (N-isopropylacrylamide)-grafted microcarriers for large-scale non-invasive harvest of anchorage-dependent cells. Biomaterials. – 2012. – Vol.33. – P. 3803-3812. doi:10.1016/j.biomaterials.2012.01.060
- 16 Tavassoli H., Alhosseini S.N., Tay A., Chan P.P.Y., Weng Oh S.K., Warkiani M.E. Large-scale production of stem cells utilizing microcarriers: a biomaterials engineering perspective from academic research to commercialized products Biomaterials. – 2018. – Vol.181. – P. 333-346. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.07.016
- 17 Dame M.K., Varani J. Recombinant collagen for animal product-free dextran microcarriers// In Vitro Cell Dev. Biol. – Anim. – 2009. – Vol.44. – P. 407-414. <https://doi.org/10.1007/s11626-008-9139-4>.
- 18 Badenes S.M., Fernandes T.G., Miranda C.C., Pusch Klein A., Haupt S., Rodrigues C.A.A.V., Diogo M.M., Brüstle O., Cabral J.M.M.S. Long-term expansion of human induced pluripotent stem cells in a microcarrier-based dynamic system//J. Chem. Technol. Biotechnol. – 2017. – Vol.92. – P. 492-503. doi: 10.1002/jctb.5074
- 19 Fan Y., Hsiung M., Cheng C., Tzanakakis E.S. Facile engineering of xeno-free microcarriers for the scalable cultivation of human pluripotent stem cells in stirred suspension // Tissue Eng. Part A. – 2013. – Vol.20. – P. 1-43. doi: 10.1089/ten.TEA.2013.0219
- 20 Lam A.T.L., Li J., Chen A.K.L., Reuveny S., Oh S.K.W., Birch W.R. Cationic surface charge combined with either vitronectin or laminin dictates the evolution of human embryonic stem cells/microcarrier aggregates and cell growth in agitated cultures // Stem Cells Dev. – 2014. – Vol.23. – P. 1688-1703. DOI: 10.1089/scd.2013.0645

СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КЛЕТОК И ВИРУСОВ НА НОВОМ МИКРОНОСИТЕЛЕ SEPLIFE® LX-MC-DEX1 С СУЩЕСТВУЮЩИМИ МИКРОНОСИТЕЛЯМИ

Ш.С. Тұрыскелді , Ж.Ж. Саметова , А.Қ. Үсембай , Е.А. Булатов 

Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, пгт. Гвардейский
smankizi@mail.ru

Аннотация: микроносители представляют собой мелкие твердые частицы размером 90–350 мкм, на поверхности которых в виде монослоя растут клетки. Две основные свойства микроносителей являются клеточная адгезия и высокая продукция клеток. По результатам сравнительного исследования, проведенного по различным параметрам, было определено, что каждый микроноситель имеет свои преимущества и недостатки. В нашем исследовании сравнивались свойства микроносителей SEPLIFE® LX-MC-dex1 и Cytodex 3. По результатам исследований установлено, что LXMC-DEX1, содержащий искусственное вещество, по всем свойствам и удобству применения не уступает широко применяемому в производстве микроносителю Cytodex 3.

Основным преимуществом микроносителя SEPLIFE® LX-MC-dex1 является его ценовая эффективность, то есть он в 5 раз дешевле, чем Cytodex 3. В связи с этим микроноситель SEPLIFE® LX-MC-dex1 был признан экономически выгодным.

Ключевые слова: микроноситель, культивирование вируса, Cytodex 3, SEPLIFE® LX-MC-dex1.

COMPARISON OF THE RESULTS OF CULTURING CELLS AND VIRUSES ON THE NEW SEPLIFE® LX-MC-DEX1 MICROCARRIER WITH EXISTING MICROCARRIERS

Sh.S. Turyskeldi , Zh.Zh. Sametova , A.K. Usembay , Ye.A. Bulatov 

Scientific Research Institute of Biological Safety Problems, Gvardeyskiy uts
smankizi@mail.ru

Abstract: microcarriers are small solid particles 90–350 μm in size, on the surface of which cells grow in the form of a monolayer. The two main properties of microcarriers are cell adhesion and high cell production. According to the results of a comparative study conducted on various parameters, it was determined that each microcarrier has its own advantages and disadvantages. In our study, the properties of SEPLIFE® LX-MC-dex1 and Cytodex 3 microcarriers were compared. According to the results of the studies, it was found that SEPLIFE® LX-MC-dex1, containing an artificial substance, is not inferior to Cytodex 3 microcarrier widely used in production in all properties and ease of use.

The main advantage of the SEPLIFE® LX-MC-dex1 microcarrier is its cost effectiveness, i.e. it is 5 times cheaper than Cytodex 3. In this regard, the SEPLIFE® LX-MC-dex1 microcarrier was found to be cost-effective.

Keywords: microcarrier; virus cultivation; Cytodex 3; SEPLIFE® LX-MC-dex1.