

УДК 619:578.74:576.5

Струк М.С., старший научный сотрудник
Войшнарович Н.И., младший научный сотрудник
Зуйкевич Т.А., кандидат сельскохозяйственных наук
Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук, доцент
Кудра Н.В., кандидат биологических наук

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелецкого», г. Минск, Республика Беларусь

МИКРОНОСИТЕЛИ В БИОТЕХНОЛОГИИ: СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ПРОИЗВОДСТВУ ВИРУСНЫХ ВАКЦИН

Резюме

В статье дана оценка традиционным способам культивирования культур клеток. Описаны основные виды микроносителей. Рассмотрены современные возможности и перспективы их использования для получения вакцин нового поколения против различных вирусных заболеваний сельскохозяйственных животных.

Ключевые слова: микроносители, вакцина, культура клеток, вирусы, вирусные заболевания, сельскохозяйственные животные.

Summary

This article evaluates traditional cell culture methods, the main types of microcarriers are described. Current capabilities and prospects for their use in producing next-generation vaccines against various viral diseases of farm animals are discussed.

Keywords: microcarriers, vaccine, cell culture, viruses, viral diseases, farm animals.

Поступила в редакцию 30.04.2026 г.

ВВЕДЕНИЕ

Отлаженное производство вакцин играет ключевую роль в обеспечении здоровья и продуктивности сельскохозяйственных животных. В основе любого производства лежит кропотливая работа по выбору оптимальных условий и компонентов.

В нашей стране в производстве вакцин против вирусных инфекций сельскохозяйственных животных применяют технологию, основанную на репродукции вируса в монослое культур клеток, выращенных главным образом на плоской двумерной поверхности. Низкая плотность клеток при данном типе культивирования порождает ряд проблем: потребность в больших производственных зонах, высокие требования к ручному труду, повышенный риск контаминации и сложности при масштабировании процесса [1]. Но количественное накопление вирусов без использования культур клеток невозможно. К сожалению, используемая в настоящее время технология выращивания вирусов при производстве вакцин является основным барьером для увеличения масштабов производства.

Важным аспектом использования новых методов культивирования является и то, что при традиционном монослойном культивировании клетки принимают неестественное, распластанное положение на субстрате, что неизбежно искажает их естественную морфологию, профиль экспрессии и локализацию мембранных рецепторов [2]. В результате клетки стремительно стареют и становятся генетически нестабильными [3, 4].

Увеличение требований к количеству и качеству разрабатываемых противовирусных вакцин способствовало совершенствованию методов клеточного культивирования. Одним из перспективных решений в этом направлении стало использование микроносителей при псевдосuspensionном культивировании в связи с высокой эффективностью при накоплении большого количества клеток [5].

Оказалось, что клетки перевиваемых линий, в отличие от остальных типов клеточных культур, могут длительно культивироваться во взвешенном состоянии [6]. При данном способе клетки размножа-

ются, находясь в суспензионном состоянии при постоянном перемешивании среды. Однородность суспензии, возможность длительного поддержания клеток в логарифмической фазе роста, возможность многократного исследования физиологического состояния культуры клеток и высокая экономичность – далеко не полный перечень преимуществ данного метода.

Псевдосуспензионное культивирование на микроносителях сочетает в себе рост адгезивных клеток на поверхности взвешенных частиц (микроносителей) и преимущества суспензионного культивирования [7]. Метод обеспечивает высокую плотность клеток и высокую площадь поверхности, что эффективно для получения вирусных антигенов и производства вакцин.

Целью данной статьи является систематический анализ современных достижений, тенденций и практических аспектов технологии культивирования клеток на микроносителях.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

В настоящее время культуры клеток востребованы во многих научных сферах, но именно в вирусологии они остаются основным инструментом фундаментальных исследований и разработки новых средств специфической профилактики [8]. Важнейшим направлением использования клеточ-

ных культур является их применение в качестве основы для промышленного производства культуральных вакцин.

В зависимости от используемой системы культивирования культуры клеток подразделяются на адгезивные (прикрепляются для роста к поверхности субстрата) и суспензионные (способны к размножению в жидкой среде) [8]. Выращивание в суспензии или на субстрате – две основные технологии культивирования клеток. Оба подхода имеют свои преимущества и недостатки. Выбор носителей для культивирования клеток напрямую влияет на эффективность культивирования, качество продукции и производственные затраты.

Использование суспензионных культур клеток само по себе расширяет возможности промышленного производства противовирусных вакцин, а разработка псевдосуспензионного культивирования с применением различных микроносителей открывает дополнительные перспективы в этой области.

Для оценки преимуществ систем на основе микроносителей сравним их с монослойным культивированием (таблица 1). Монослойное культивирование уступает культивированию на микроносителях по многим показателям, но остается стандартом для быстрой и недорогой работы.

Таблица 1 – Сравнительная характеристика методов культивирования

Критерии	Монослойное культивирование культур клеток	Культивирование культур клеток на микроносителях
Морфология	плоские и растянутые в монослое клетки, естественная морфология искажается	клетки сохраняют более естественную, объемную, трехмерную форму
Межклеточное взаимодействие	ограничено, основное взаимодействие происходит с искусственным субстратом	активное формирование естественных межклеточных контактов
Распределение питательных веществ	равномерное	градиентное
Риск контаминации	высокий	низкий
Трудозатраты	высокие	умеренные
Управление процессом	ручное	автоматизированное
Масштабируемость	инкрементальная	экспоненциальная

Микроносители – это твердые или пористые частицы размером преимущественно до 500 мкм, обеспечивающие адгезивным клеткам поверхность для роста в суспензии (рисунок 1). Клетки прикрепля-

ются к поверхности частиц микроносителей и, размножаясь, образуют сплошной монослой на каждой отдельной частице [9]. Высокая площадь поверхности относительно объема делает их идеальными для

использования в таких динамических системах культивирования, как биореакторы [10]. Более того, использование микроносителей для культивирования различных типов клеток оказалось достаточно эффективным при репликации многих вирусов чело-

века и животных, что существенно повышает потенциал данного метода при производстве вакцин. Этот методкратно повышает выход вирусного материала для вакцин, снижая себестоимость производства по сравнению с другими системами.

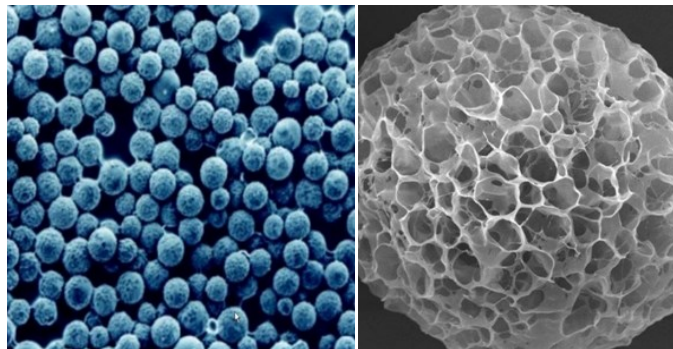


Рисунок 1 – Микроносители

Впервые технологию, в которой объединены преимущества монослойного и суспензионного культивирования, предложил известный нидерландский ученый-вирусолог А. Ван Везель (A.L. van Wezel) в 1967 г. [11]. Ее суть, как и сегодня, заключалась в том, что клетки прикреплялись и размножались на поверхности полимерных частиц – микроносителей, которые содержатся в суспензии. Этот метод стал прорывом, позволившим масштабировать производство вакцин.

Основные виды микроносителей изготавливают из различных биосовместимых материалов – синтетических и натуральных полимеров, неорганических материалов. Они выступают в роли опорных трехмерных структур для адгезивного роста клеток. На одной такой частице диаметром 160–230 мкм может располагаться от 350 до 630 клеток, а концентрация микроносителей в культуральной среде может достигать нескольких тысяч частиц на миллилитр [12].

Решая проблемы масштабирования и эффективности при культивировании культур клеток, микроносители обладают рядом существенных преимуществ, что делает их привлекательным инструментом современной биофармацевтики.

Ключевым преимуществом системы микроносителей является высокое соотношение площади поверхности к объему, что обеспечивает значительное увеличение поверхности для адгезии и роста клеток и повышает выход клеток на единицу объема.

Использование микроносителей позволяет легко регулировать площадь поверхности, доступной для роста клеток, за счет изменения концентрации микроносителей в среде, так как они прямо пропорциональны друг другу [13]. Многие современные микроносители обладают высоким уровнем биобезопасности, что обеспечивает предотвращение возможных рисков для человека, животных и окружающей среды [14]. Микроносители биосовместимы, нетоксичны и способны к стерилизации, что исключает загрязнение конечного продукта.

Использование микроносителей значительно упрощает масштабирование и контроль культивирования адгезивных клеток за счет переноса процесса из малых лабораторных сосудов в промышленные биореакторы. Доступность широкого разнообразия микроносителей, отличающихся по материалу, размеру, текстуре и другим характеристикам, позволяет провести целенаправленный выбор субстрата. Такой индивидуальный подход обеспечивает создание оптимальных условий для адгезии, роста и дифференцировки клеток в зависимости от их специфики и поставленной задачи.

Однако наряду с достоинствами, микроносители, как и любая технология, не лишены недостатков. Одной из проблем является высокая стоимость самих микроносителей, особенно состоящих из натуральных полимеров. Также некоторые микроносители обладают низкой биоразлагаемостью, что осложняет их утилизацию

и переработку. Отдельные полимерные микроносители требуют дополнительной обработки поверхности для обеспечения эффективной адгезии клеток. Кроме того, разработка эффективных протоколов для трипсинизации клеток с поверхности носителей является технически сложной задачей, нуждающейся в оптимизации.

Таким образом, микроносители являются незаменимыми для эффективного культивирования клеток и масштабирования процессов, но требуют тщательного подбора типа полимера исходя из задачи.

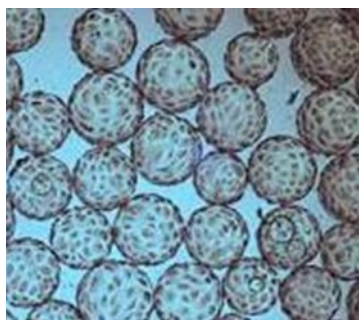


Рисунок 2 – Декстрановые микроносители

Размер декстрановых микроносителей обычно составляет от 100 до 300 мкм, что обеспечивает высокую площадь поверхности для роста клеток. Для улучшения адгезии клеток декстрановые микроносители покрывают различными веществами, например коллагеном, что способствует прикреплению требовательных, первичных и дифференцированных клеток.

Биосовместимость декстрановых микроносителей обусловлена их низкой токсичностью для различных клеточных культур. Кроме того, они не изменяют морфологию и репродуктивную функцию клеток, обеспечивая оптимальную поверхность для адгезии [15]. Будучи чувствительными к механическим воздействиям, декстрановые микроносители могут разру-

шаться при интенсивном перемешивании, что требует тщательной оптимизации условий культивирования [16]. Идеальны для выращивания клеточных линий, требующих высокого уровня адгезии. Подходят для ферментеров и статических систем.

Полистирольные микроносители (наиболее известны под маркой SoloHill) – это крошечные сферические частицы, изготовленные из высококачественного полистирола (рисунок 3). Часто покрыты положительно заряженными группами для улучшения адгезии клеток. По структуре бывают твердыми (аналоги Cytodex) либо пористыми. Последние позволяют клеткам расти внутри матрицы, обеспечивая более высокую концентрацию биомассы.

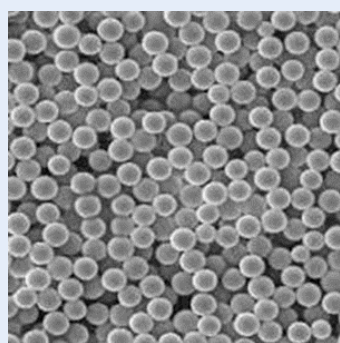


Рисунок 3 – Полистирольные микроносители

Полистирольные микроносители обеспечивают высокую плотность клеток, надежную адгезию и активный рост культуры клеток в суспензии. Широко используются благодаря своей механической стабильности и совместимости с различными типами клеток млекопитающих [17]. Уникальные свойства полистироловых микроносителей обеспечивают их востребован-

ность при решении разнообразных научных и промышленных задач.

Макропористые микроносители (Cytoreg 2) представляют собой частицы, как правило, сферической формы с развитой внутренней пористой структурой, размер которых варьируется от 100 до 200 мкм. Часто изготавливаются из декстрана, целлюлозы или желатина (рисунок 4).



Рисунок 4 – Макропористые микроносители

Макропористые микроносители имеют ряд существенных преимуществ перед сплошными аналогами. Прежде всего, они максимально точно воспроизводят условия естественной трехмерной ткани. Развитая пористая структура создает обширную поверхность для адгезии клеток, благодаря чему значительно повышается выход биомассы на единицу объема. Кроме того, клетки, локализованные внутри пор, надежно защищены от механических повреждений при перемешивании среды, а пористая структура обеспечивает эффективную доставку питательных веществ и удаление продуктов метаболизма за счет диффузии. Биосовместимость и способность к биодegradации делают макропористые микроносители безопасными для применения [18].

Биодеградируемые микроносители представляют собой новое поколение микроносителей. Это биосовместимые полимерные частицы, диаметр которых варьируется от 90 до 350 мкм (рисунок 5). Их ключевая особенность – способность к биодеградации, т.е. к самопроизвольному распаду после выполнения своей функции (рисунок 6).

Ярким примером данного типа микроносителей являются частицы 3D Table Trix. В их состав входят биосовместимые полиэфир, такие как полилактиды (PLA, PDLLA), а также полисахариды (хитозан, альгинат, декстран) и различные белки (шелк, коллаген, желатин, альбумин) [19, 20].

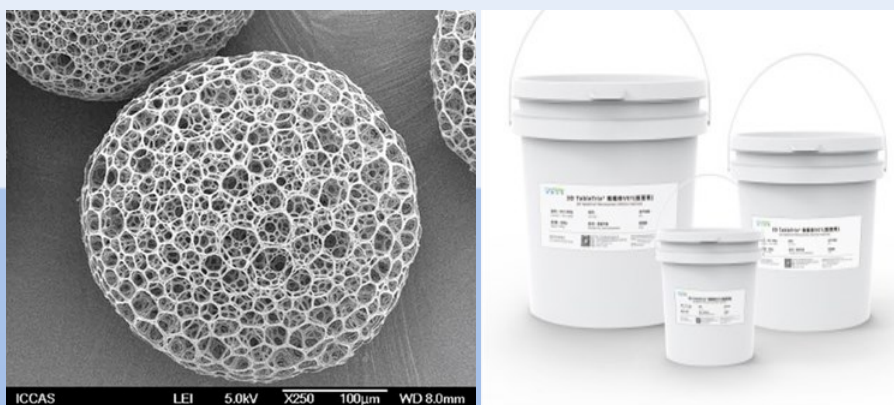


Рисунок 5 – Биодеградируемые микроносители

Данные микроносители способны обеспечивать высокую плотность клеток, имитировать естественную среду, способствуя адгезии, пролиферации и дифференцировке клеток, тем самым позволяя получить клеточную суспензию с высокой жизнеспособностью [21]. В отличие от традиционных микроносителей, которые мо-

гут в остаточном количестве присутствовать в конечном продукте, представляя потенциальный риск для организма, данный тип микроносителей растворяется *in vitro* или разрушается *in vivo* под воздействием реагентов, исключая эту проблему. Микроносители данной группы не токсичны и относительно химически нейтральны [22, 23].

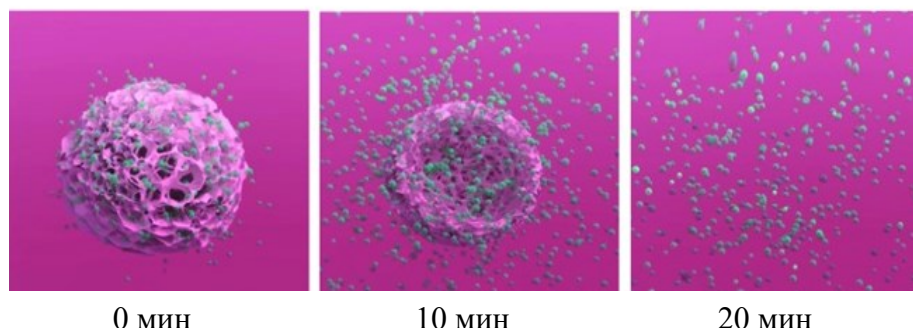


Рисунок 6 – Биодegradация микроносителя

Они широко используются в тканевой инженерии, регенеративной медицине и производстве вакцин, обеспечивая высокую адгезию клеток, их рост и адресную доставку.

Таким образом, современные системы микроносителей представлены множеством вариаций, каждая из которых имеет уникальные характеристики, включая состав, тип покрытия и технологию получения (таблица 2).

Учитывая это разнообразие, выбор оптимального микроносителя для конкретной клеточной культуры требует тщательного подхода, так как необходимо учитывать ряд критериев [24]. Как правило, требуется проведение сравнительного анализа нескольких видов, поскольку универсального решения, подходящего для всех типов клеток, не существует.

Таблица 2 – Сравнительная характеристика основных видов микроносителей

Характеристика	Микроносители			
	декстрановые	полистирольные	макропористые	биodeградируемые
Адгезия клеток	высокая	высокая	очень высокая	отличная
Структура	сплошная	сплошная	пористая	пористая/ растворимая
Плотность клеток	высокая	средняя/высокая	очень высокая	высокая
Защита клеток от сдвига	низкая	средняя	высокая	высокая
Преимущества	высокая биосовместимость, оптимизированы для адгезии	высокая механическая прочность, химическая стойкость	высокая концентрация биомассы, защита от механических повреждений	биodeградация
Применение	культивирование различных типов клеток	промышленное культивирование в перемешиваемых биореакторах	высокоплотное культивирование, тканевая инженерия	создание 3D-тканевых конструкций, имплантаты

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клеточные культуры с каждым годом находят все большее применение в самых разнообразных областях биологии, медицины и сельского хозяйства. Важная роль отводится им при производстве вирусных вакцин для сельскохозяйственных животных. Применение микроносителей для культур клеток оказалось весьма перспективной технологией при производстве вакцин. Эти миниатюрные частицы создают

оптимальные условия для роста и размножения клеток, позволяя получать высококачественные биологические материалы.

Таким образом, использование микроносителей дает клеткам, обладающим адгезивными свойствами, все преимущества крупномасштабных суспензионных культур, сочетая при этом положительные стороны монослойного и суспензионного культивирования.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Оптимальные режимы культивирования линии клеток ВНК-21(с-13) / В. А. Бабак, Ю. В. Ломако, А. А. Гусев [и др.] // Ученые записки УО ВГАВМ. – 2011. – Т. 47, вып. 2. – С. 7–11.
2. Гилязиева, З. Перспективные области применения опухолевых сфероидов и органоидов в персонализированной медицине / З. Гилязиева, А. Пономарев, С. Ратленд // Рак. – 2020. – Т. 12, вып. 10. – С. 1–19.
3. 3d клеточные культуры: перспективы использования в вирусологии / Т. А. Кузнецова, М. Р. Алиев, А. А. Михалко, М. Ю. Щелканов // Инфекция и иммунитет. – 2024. – № 6. – С. 1045–1062.
4. Сфероиды из клеток эпителиального и мезенхимального фенотипов как строительные блоки в биопечати (обзор) / Д. П. Ревокатова, П. И. Котенева, Н. В. Кошелева [и др.] // Соврем. техн. мед. – 2025. – № 1. – С. 121–145.
5. Изучение адгезивных свойств микроносителей на основе модифицированных полисахаридов на культуре клеток МДБК / П. А. Красочко [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных и пути их решения : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвященной Дню белорусской науки и 95-летию кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней (15-16 декабря 2022 г.) / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : УО ВГАВМ, 2023. – С. 139–141.
6. Анализ современных способов накопления вируса бешенства для изготовления антирабических вакцин / П. А. Красочко [и др.] // Ученые записки УО ВГАВМ. – 2017. – Т. 53, вып. 3. – С. 41–47.
7. Микроносители в суспензионной культуре клеток Vero: подход к эффективной репликации и масштабированию ЧМЖЖ (штамм Nigeria 75/1) / Ж. Ж. Саметова, Ж. Т. Аманова, Ш. С. Турискелди [и др.] // Биобезопасность и биотехнология. – 2025. – № 1 (23). С. 4–13. <https://doi.org/10.58318/2957-5702-2025-23-4-13>.
8. Клеточные культуры в вирусологии: от прошлого к будущему / Т. А. Кузнецова, Н. Н. Беседнова, М. Р. Алиев, М. Ю. Щелканов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2024. – Т. 101, № 1. – С. 143–153.
9. Новые биорезорбируемые микроносители на основе фиброина шелка / М. С. Котлярова, С. Г. Новичкова, О. И. Агапова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – № 10. – С. 497–501.
10. Индукция остеогенной дифференцировки остеобластоподобных клеток MG-63 при культивировании в трёхмерных условиях на фиброиновых микроносителях / М. С. Котлярова, В. А. Жуйков, Ю. В. Чудинова, К. В. Шайтан // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. – 2016. – № 4. – С. 3–11.
11. Van Wezel, A. Growth of cell strains and primary cells on microcarriers in homogeneous culture / A. Van Wezel // Nature. – 1967. – Vol. 216. – P. 64–65.
12. Анализ современных способов накопления вируса бешенства для изготовления антирабических вакцин / П. А. Красочко [и др.] // Ученые записки УО ВГАВМ. – 2017. – Т. 53, вып. 3. – С. 41–47.
13. Фундаментальные основы использования биорезорбируемых микроносителей на основе фиброина шелка в терапевтической практике на примере регенерации кожи / М. М. Мойсенович, Д. А. Куликов, А. Ю. Архипова [и др.] // Терапевтический архив. – 2015. – № 12. – С. 66–72.
14. 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 // Biosafety and Biotechnology. – 2022. – № 11. – P. 13–20. (In Russ.) <https://doi.org/10.58318/2957-5702-2022-11-13-22>.

15. Радаева, И. Ф. Культивирование клеток на микроносителях в биореакторах / И. Ф. Радаева, Н. Б. Думченко, Е. А. Нечаева // Вестник ПНИПУ. Химическая технология и биотехнология. – 2019. – № 2. – С. 22–33.

16. Agitation in a Microcarrier-based Spinner Flask Bioreactor Modulates Homeostasis of Human Mesenchymal Stem Cells / R. Jeske, S. Lewis, A. C. Tsai [et al.] // Biochem Eng J. – 2021, Apr; 168:107947. doi: 10.1016/j.bej.2021.107947. Epub 2021 Jan 27. PMID: 33967591; PMCID: PMC8104359.

17. Радаева, И. Ф. Микроносители SOLOHILL для культивирования клеток Vero / И. Ф. Радаева, Н. Б. Думченко, Е. А. Нечаева // Биофармацевтический журнал. – Т. 12, № 5. – С. 7–12.

18. Поддержание мультипотентных мезенхимных стволовых клеток сельскохозяйственных животных в криогелях на основе полимеров природного происхождения / Д. Г. Коровина, В. В. Стаффорд, А. М. Гулюкин [и др.] // С.-х. биол., Сельхозбиология, S-h biol, Sel'hoz biol, Sel'skokhozyaistvennaya biologiya, Agricultural Biology. – 2019. – № 6. – Т. 54, № 6. – С. 1214–1223.

19. Получение биodeградируемых сферических микрочастиц на основе хитозана, полимолочной кислоты, желатина, коллагена / Т. Н. Сомов, Ю. С. Юсупова, А. Е. Галазина, М. Г. Гордиенко // Успехи в химии и химической технологии. – 2014. – Т. XXVIII, № 1. – С. 96–99.

20. Микроносители в виде волокон из натурального шелка для культивирования клеток / М. М. Боброва, Л. А. Сафонова, А. Е. Ефимов [др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – № 22 (4). – С. 98–104. – URL: <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-4-98-104>.

21. Клеточный цикл как критерий оценки биосовместимости фибробластов и скаффолдов в системе in vitro после воздействия УФ-облучения в аспекте создания эквивалента кожи / Е. И. Антонова, Н. В. Фирсова, М. Р. Киямова [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2022. – № 9. – С. 1–7.

22. Волова, Т. Г. Современные биоматериалы: мировые тренды, место и роль микробных полигидроксикарболатов / Т. Г. Волова // Журнал СФУ. Биология. – 2014. – № 2. – С. 103–133.

23. Сидорова, В. Ю. Использование различных видов матриц для культивации стволовых клеток крупного рогатого скота как альтернативного источника получения пищевого белка / В. Ю. Сидорова // JSRP. – 2015. – Т. 1, № 4 (24). – С. 13–22.

24. Изучение цитотоксичности микроносителей на основе модифицированных полисахаридов на культуру клеток животных / П. А. Красочко [и др.] // Lucrari stiintifice : materialele Simpozionului Stiintific International «85 ani ai Facultatii de Agronomie – realizari si perspective», dedicat aniversarii a 85 de ani de la fondarea Universitatii Agrare de Stat din Moldova / Universitatea Agrara de Stat din Moldova. – Chisinau, 2018. – Vol. 52 (2): Zootehnie si Biotehnologii agricole. – С. 213–216.

ВАКЦИНА ПРОТИВ РОТА- И КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, КЛОСТРИДИОЗОВ И КОЛИБАКТЕРИОЗА ТЕЛЯТ ПОЛИВАЛЕНТНАЯ ИНАКТИВИРОВАННАЯ

Для СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ КОРОНА- И РОТАВИРУСАМИ, *S. PERFRINGENS* ТИПОВ А И С, АДГЕЗИВНЫМИ ШТАММАМИ ЭШЕРИХИЙ У МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА



РотаКорКК

- формирование активного иммунитета у крупного рогатого скота – через 14–21 день после повторного введения
- защита телят от корона- и ротавирусной инфекций, энтеротоксемии и эшерихиоза обеспечивается за счет выпойки им молозива, содержащего специфические антитела и полученного от вакцинированных коров
- колостральный иммунитет у новорожденных телят наступает после своевременного приема молозива (не позднее 2 ч после рождения) и сохраняется до 1,5–2 месяцев