

# БИОТЕХНОЛОГИЯ

---

МРНТИ 62.09.37

А.Ф.Байтулакова<sup>1</sup>, М.Т.Велямов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Казахстанский инженерно-технологический университет,  
г. Алматы, Казахстан

<sup>2</sup>Казахский научно-исследовательский институт перерабатывающей  
и пищевой промышленности, г. Алматы, Казахстан

## ИЗУЧЕНИЕ ПОДДЕРЖИВАЮЩИХ КУЛЬТУР КЛЕТОК СВОЙСТВ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ИЗ ГИДРОЛИЗАТА БЕЛКОВ ГОРОХА ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ

---

**Аннотация.** В нашей стране однослойные культуры клеток человека, животных, птиц и др. для биотехнологических, вирусологических и других работ выращивают в дорогостоящих питательных средах из импортного гидролизата лактальбумина (ГЛА), 199 и Игла (разработанные в США). Поэтому исследования по разработке доступных, экономически выгодных, легко изготавливаемых питательных сред на основе биологически полноценных сырьевых источников, в частности растительного происхождения, пригодных для выращивания культур клеток и вирусов, изготовления диагностикумов, противовирусных средств (вакцин) для защиты человека, животных, птиц и др., для биотехнологической отрасли и получения продуктов экологически и инфекционно безопасных являются весьма актуальными. Представлены результаты изучения поддерживающих однослойных культур клеток свойств питательной среды из гидролизата белков гороха без добавления сыворотки крови, для биотехнологических, в частности, вирусологических целей.

**Ключевые слова:** культура клеток, гидролизат белков, горох, биотехнология, вирус.

• • •

**Түйіндеме.** Біздің елімізде адамның, жануарлардың, құстардың және т.б. жасушаларының бірқабатты өсімділері, биотехнологиялық, вирусологиялық және басқа да мақсаттағы жұмыстар үшін, лактальбуминнің импортты гидролизатынан, 199 (АҚШ-та жасалған), алынған қымбат қоректік орталарда өсіріледі. Сондықтан, экологиялық және инфекциялық қауіпсіз өнімдерді алу мақсатында, қолжетімді, экономикалық тұрғыдан тиімді, биологиялық толыққанды шикізат көздері негізінде оңай дайындалатын қоректік орта-

ларды, атап айтқанда, өсімдік тектес, диагностикумдар, адамдарды, жануарларды, құстарды және т.б. қорғау үшін вирусқа қарсы агенттерді (вакциналар) зерттеу және дайындау өзекті болып табылады. Бұл мақалада, биотехнологиялық мақсатта, атап айтқанда вирусологиялық, қан сарысуы қоспасынсыз, бұршақ ақуызы гидролизатынан алынған демеуші бірқабатты жасушаларының өсімдісінің қасиеттерін зерттеу нәтижелері көрсетілген.

**Түйінді сөздер:** жасушалар өсімдісі, қоректік орта, ақуыз гидролизаты, бұршақ, биотехнология, вирус.

• • •

**Abstract.** In our country, single-layer cultures of human, animal, bird, and other cells for biotechnological, virological and other purposes are grown in expensive nutrient media from imported hydrolyzate of lactalbumin (GLA) and 199 (developed in the USA). Therefore, studying and development of affordable, economically viable, easily produced nutrient media, based on biologically valuable raw materials, in particular plant origin, suitable for cultivating cell cultures and viruses required in the manufacture of diagnosticums, antiviral agents (vaccines) for the protection of humans, animals, birds, etc., for the biotechnology industry and obtaining products ecologically and infectious safe is very relevant. This article presents the results of studying the properties of nutrient medium from pea protein hydrolyzate, supporting the single-layer cell cultures, without the addition of serum, for biotechnological, in particular, virological purposes.

**Key words:** cell culture, nutrient medium, protein hydrolyzate, peas, biotechnology, virus.

**Введение.** В обращении к народу "Новое десятилетие – новый экономический подъем – новые возможности Казахстана", Президент Н.А. Назарбаев представил свое видение прохождения Казахстана через глобальный экономический кризис, отметив, что казахстанцы должны сделать упор на развитие агропромышленных предприятий: благодаря развитию АПК одновременно можно решить две важнейшие для страны задачи – обеспечение продовольственной безопасности и диверсикация экспорта [Послание Президента Республики Казахстан Нурсултана Назарбаева народу Казахстана "Стратегия "Казахстан – 2050": новый политический курс состоявшегося государства", 14 дек. 2012 г.]

Причем должен быть сделан упор на развитие новых технологий, особенно таких, как биотехнология. Ведь за счет лишь эффективного использования биотехнологических методов в со-

временных условиях возможно увеличить количество собираемого урожая, а следовательно, повысить сырьевую базу республики [1].

Для развития агропромышленного комплекса Республики Казахстан особое значение имеет устойчивое развитие животноводства. При этом исключительную важность приобретает охрана сельскохозяйственных животных от различных заболеваний, в том числе от вирусных, причиняющих народному хозяйству ощутимый экономический ущерб, а также биотехнологическая отрасль, способствующая производству и обеспечению различными биологическими и продовольственными препаратами и средствами. Так, потери молодняка крупного рогатого скота только от вирусных респираторных заболеваний достигают 30 %. Своевременное распознавание этиологии вирусных заболеваний, разработка методов достоверной диагностики и специфических средств защиты животных тесно связаны с использованием культур клеток [2].

В нашей стране однослойные культуры клеток человека, животных, птиц и др. для биотехнологических, вирусологических и других работ выращивают в дорогостоящих питательных средах из импортного гидролизата лактальбумина (ГЛА), 199 и Игла (разработаны в США) [3].

Российскими исследователями разработаны среды из гидролизата казеина, молока, сыворотки крови, белка куриного яйца, мышечной ткани плода коровы, мышечной ткани, плацентарной ткани, вторичного продукта производства лактозы, альбуминового творога, пекарских дрожжей и отходов куриных эмбрионов. Как видно, указанные среды в основном изготовлены на основе дорогостоящих, ограниченных в количественном отношении животного происхождения белковых сырьевых источников.

При этом некоторые ученые считают, что для клеток тканей организма животных белки растений в биохимическом отношении ближе к белкам животного происхождения, так как последние образуются из растительных белков в результате пищеварительных и ассимилирующих процессов, приводящих к перегруппировке аминокислот, входящих в их состав [2]. Подтвержде-

нием служит то, что, по мнению многих ученых, растительные и животные белки идентичны. Специальные исследования по синтезу полипептидов, проведенные в лабораторных условиях, позволили создать одновременно и по химической структуре одинаковые аминокислоты как животного, так и растительного происхождения [2-4]. Установлено, что для жизнедеятельности клеток тканей организма животных исключительное значение имеют незаменимые аминокислоты, несинтезирующиеся в организме, а доставляемые растениями пищи [5].

Общеизвестно, что в области бактериологии предложены многочисленные питательные среды, изготавливаемые из белков различных растений для культивирования микроорганизмов. Основными причинами поисков возможности использования растительных белков для получения питательных сред, по-видимому, следует считать сравнительную их доступность, экономичность и стандартность.

Установлено, что белки находятся во всех частях растений и особенно много их в клетках семян. Все растительные белки состоят из более простых азотистых веществ – аминокислот [6]. При этом белковые молекулы растений очень лабильны, легко денатурируются, хорошо растворяются в дистиллированной воде [7]. Под воздействием ферментов и кислот белки расщепляются, образуя ряд промежуточных продуктов (протеазы, пептоны, пептиды) и конечные продукты - аминокислоты, (белки растений содержат 20 аминокислот) [8,9].

В качестве сырья для приготовления сред из всех растений наибольшую ценность представляет зерно бобовых культур, особенно гороха и сои, которые очень богаты белками. Впервые выделен белок из семян гороха и назван легумином [10]. При этом белок бобовых, в частности сои, не уступает белку животного происхождения. В зависимости от сорта сои содержание его колеблется в пределах от 36 до 48 %. При этом автор указывает, что себестоимость соевого белка в 25 раз ниже себестоимости белка молочного. Белок говяжьего мяса обошелся в 50 раз дороже соевого. Именно такие огромные экономические резервы таит в себе соя [10]. Рассматривая биологическую цен-

ность белков зерна сои, учёные установили, что если принять биологическую ценность белков молока за 100, то биологическая ценность большинства бобовых составит 75-85, а ценность белков гороха приблизится к 100. Далее автор отмечает, что в белках бобовых культур находятся все незаменимые аминокислоты и количество этих аминокислот почти соответствует их содержанию в продуктах животного происхождения [11].

Пригодность питательных сред из растительных белков, в частности бобовых, т.е. полученного из белков гороха для культивирования многих патогенных микроорганизмов, доказана разработчиками [12-17]. Следовательно, питательные среды, приготовленные из зерен гороха и сои, оказались такими же, как полученные из мяса животных. Можно считать, что ценность белков определяется не их происхождением (растительным или животным), а аминокислотами, входящими в их состав, за счет которых клетки ткани, как и в организме в целом *in vitro*, удовлетворяют свои пищевые потребности.

Все же возникает вопрос, могут ли гидролизаты белков растений, в частности гороха, будучи основой питательных сред, удовлетворять жизнедеятельность и размножение клеток тканей животных *in vitro*? Остается также невыясненной возможность использования культур клеток, выращенных в указанных средах, при вирусологических исследованиях и репродукции биологически полноценных вирусов, пригодных для изготовления специфических средств защиты животных от вирусных болезней, а также для биопроизводства. Поэтому исследования по изучению и разработке доступных, экономически выгодных, легко изготавливаемых питательных сред на основе биологически полноценных сырьевых источников, в частности растительного происхождения, пригодных для выращивания культур клеток и вирусов, необходимых при изготовлении диагностикумов, противовирусных средств (вакцин) для защиты человека, животных, птиц и др., для биотехнологической отрасли и получение продуктов экологически и инфекционно безопасных, являются весьма актуальными.

При этом нами получены питательные среды из гидролиза-

та белков гороха, изучены их культурально-биологические свойства. Однако при этом особо важны результаты изучения поддерживающих однослойных культур клеток свойств питательной среды из гидролизата белков гороха, без добавления сыворотки крови, для биотехнологических, в частности, вирусологических целей.

**Цель исследований** – изучить поддерживающие свойства однослойных культур клеток питательной среды из гидролизата белков гороха, без добавления сыворотки крови и пригодность для вирусологических целей.

**Научная новизна** работы заключается в том, что в условиях Казахстана подтверждена пригодность ферментативного гидролизата белков гороха для составления питательной среды, стимулирующих рост однослойных первичных и субкультур клеток тканей животных. Разработан биотехнологический способ его изготовления, а также изучены поддерживающие однослойные культуры клеток свойств питательной среды из гидролизата белков гороха, без добавления сыворотки крови и пригодность её для вирусологических целей.

**Объекты исследования** – ферментативный гидролизат белков гороха для изготовления питательной среды с целью выращивания однослойных первичных культур клеток, гидролизат белков гактальбумина, производства США (контроль).

Исследовательские работы проводились в Казахском инженерно-технологическом университете, в лабораториях технологии микробных препаратов Института микробиологии и вирусологии НАН РК и в лаборатории "Биотехнология качества и безопасности пищевых продуктов" ТОО "Казахского НИИ перерабатывающей и пищевой промышленности" НАО "НАНОЦ" МСХ РК.

**Материал и методы исследований.** Поддерживающие свойства питательных сред из гидролизатов белков гороха изучались на 3-5-суточных однослойных первичных культурах клеток почек эмбриона коров (ПЭК) и лёгких эмбриона коров (ЛЭК), выращенных в 7,0 %-ных нативных и 0,5 %-ных сухих средах из гидролизата белков гороха и гидролизата лактальбумина (контроль), без добавления сыворотки крови эмбрионов телят.

Для приготовления рабочей среды к 930 мл раствора Хэнкса с феноловым красным добавляли 70 мл жидкого гидролизата гороха, а для получения 0,5 %-ной среды в 1 л раствора вносили 5 г сухого порошка гидролизата белков гороха. В последнем случае среду подогревали в водяной бане при +50-60 °С до полного растворения сухого гидролизата.

Среды после стерильной фильтрации, добавления необходимого количества антибиотиков и определения стерильности использовали для изучения поддерживающих свойств на указанных однослойных культурах клеток. Культуры клеток дважды промывали теплым раствором Хэнкса с рН 7,2-7,4. Затем в один ряд матрасов с культурой клеток вносили необходимое количество среды из гидролизата белков гороха и во второй – гидролизата лактальбумина (контроль). В каждом опыте использовали по 2-4 матраса с культурой клеток. Матрас помещали в термостат и один при +37 °С один раз в день просматривали под малым увеличением микроскопа. Критериями для суждения о поддерживающих свойствах сред служили: сплошной монослой культур клеток в течение 5-7 сут., отсутствие дегенеративных изменений клеток за указанное время в сравнении с контрольной средой.

Для определения питательной полноценности, в зависимости от условия и срока хранения, брали по 2 пробы жидкого гидролизата белков гороха, приготовленных в производственных условиях, и по одной – из высушенного гидролизата, полученного распылительным методом. Жидкие препараты расфасовывали в 200 мл флаконы, а сухие – по 50 г в стеклянные баночки с притертыми пробками. Материалы хранили при +7-10 °С в холодильной камере в течение 6 мес. (срок наблюдения). Через каждые 2 мес. из жидкого гидролизата белков гороха брали пробу и составляли 7 %-ные, а из сухого – 0,5 %-ные стерильные среды с добавлением 10 % сыворотки крови и антибиотиков. рН устанавливали на уровне 7,0-7,2, затем их использовали для выращивания однослойных первичных культур клеток животных. По формированию монослоя клеток в течение 4-5 дней в опытных средах в сравнении с контрольной средой судили о ростовых свойствах испытуемых питательных сред, изготовленных на основе гидролизата белков гороха.

Изучение накопления вирусов проводили на 4-7-суточных однослойных первичных культурах клеток ПЭК и ЛЭК, выращенных в средах с гидролизатом белков гороха, в сравнении с такими же культурами, выращенными в среде с ГЛА (контроль). Для заражения культуры клеток использовали вирусы: респираторно-синцициального вируса (РСИ) и инфекционного ринотрахеита (ИРТ) крупного рогатого скота, полученные в г. Москве из ВГНКИ ветеринарных препаратов МСХ РФ, и имели титры соответственно 5,0-6,0 ТЦД 50/мл. В связи с тем, что вирусы РСИ и ИРТ крупного рогатого скота являлись культуральными агентами, их не подвергали предварительной адаптации к указанным культурам. Их выращивали в субкультурах ПЭК и ЛЭК, полученных в средах из гидролизата белков гороха и ГЛА (контроль). Между пассажами вирусные материалы хранили при -25-30 °С. Перед каждым пассажем их оттаивали при комнатной температуре, центрифугировали с целью освобождения от клеточных дитритов, разводили в соответствующих без сывороточных средах до дозы 100 ТЦЦ 50/мл и использовали для инфицирования культур клеток. На отдельных этапах пассирования определяли титр накопления, вирулентность и патогенность вирусов.

Математическая обработка результатов исследований проводилась по биометрическому методу Лакина Г.Ф. [18,19].

**Результаты исследований.** Положительные результаты изучения поддерживающих однослойных культур клеток свойств, питательных сред из гидролизата белков гороха подтверждались не только выращиванием однослойных первичных, субкультур клеток, но и тем, что они в течение определенного времени поддерживали эти культуры без добавления сыворотки крови. Проведенные в этом направлении 8 опытов со средами с содержанием 7,0 % нативного и 0,5 % сухого гидролизата гороха показали, что указанные среды, так же как среды ГЛА (контроль), поддерживали однослойные первичные культуры клеток ПЭК, ЛЭК и их субкультуры в хорошем морфологическом состоянии в течение 5-8 дней (срок наблюдения).

Монослои культур клеток ПЭК и ЛЭК, выращенные в средах из гидролизата белков гороха, в сравнении со средой из ГЛА (контроль), представлены на рис. 1-4.



Рис. 1. Шестисуточная культура ПЭК, выращенная в среде с гидролизатом белка гороха.  
Ув. 5x10x2,5

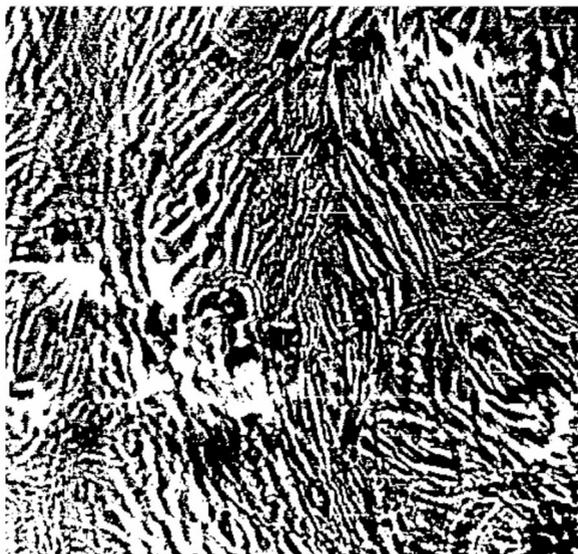


Рис. 2. Шестисуточная культура клеток ПЭК, выращенная в среде с гидролизатом лактальбумина (контроль). Ув. 5x10x2,5

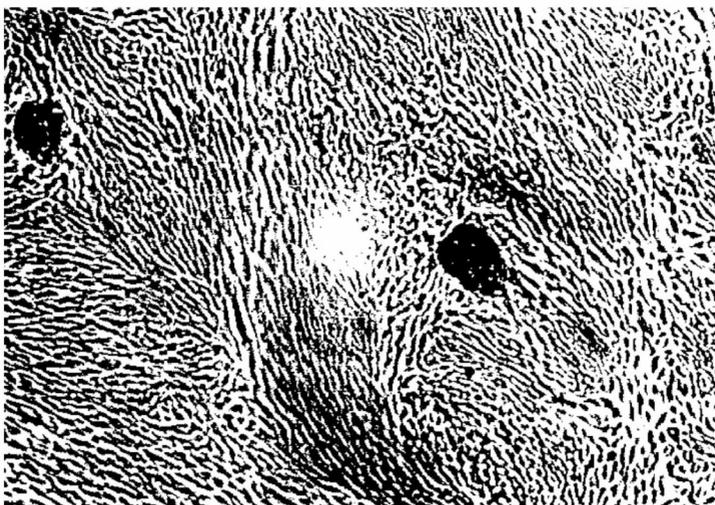


Рис. 3. Четырехсуточная культура ЛЭК, выращенная в среде с гидролизатом белка гороха. 7в. 5x10x2,5

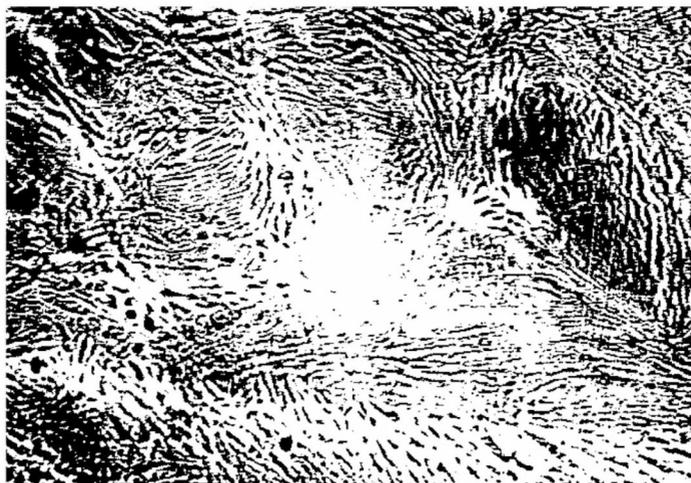


Рис. 4. Четырехсуточная культура ЛЭК, выращенная в среде с гидролизатом лактальбумина (контроль). Ув. 5x10x2,5

Данные этих исследований показали на возможность использования питательных сред из гидролизата белков гороха без добавления сыворотки крови для поддержания жизнедеятельности однослойных культур клеток, что в значительной степени удешевляет проведение различных вирусологических и биотехнологических работ, особенно при размножении вирусов в массовом количестве, необходимых для получения диагностикумов и биотехнологических препаратов.

В научном и практическом плане важно определить пригодность сред в зависимости от условий и продолжительности хранения. Проведенные в этом направлении исследования с использованием 4-х серий жидкого и сухого гидролизата белка гороха показали, что они стабильно сохраняют свои биологические качества для первичных однослойных культур клеток ПЭК и ЛЭК в течение 6 мес. хранения при температурах плюс 7-10 °С (срок наблюдения).

В наших исследованиях большое значение придавалось изучению накопления некоторых вирусов животных в однослойных первичных и субкультурах клеток, выращенных в питательных средах из гидролизата белков гороха, так как от этого зависит возможность использования последних в вирусологической и биотехнологической науке и практике. При инфицировании однослойных субкультур клеток ПЭК и ЛЭК, выращенных в среде с гидролизатом белков гороха, вирусами с несколько продолжительным циклом размножения не замечено каких-либо отклонений в их ТЦД и в степени накопления в таких же культурах, полученных в среде с гидролизатом лактальбумина (контроль). Вирусы РСИ и ИРТ крупного рогатого скота оказывали 100 %-ное ЦПД на субкультуры клеток ПЭК и ЛЭК, выращенные в изучаемых и контрольной средах в одинаковые сроки (в течение 3-4 дней). За этот период вирус РСИ накапливался в культуре ПЭК в титре 5,5 лог ТЦЦ 50/мл; в культуре ЛЭК – 5,2-5,3 лог ТЦД50/Ш-, а вирус ИРТ – соответственно 5,7-5,2 лог.

Следовательно, субкультуры клеток ПЭК и ЛЭК, выращенные в средах с гидролизатом белков гороха, являются очень чувствительными системами для репродукции вирусов РСИ, ИРТ

крупного рогатого скота, и поэтому они могут быть использованы в вирусологических исследованиях.

Результаты исследований доказывают, что однослойные первичные и субкультуры клеток, выращенные на основе гидролизата белков гороха, являются пригодным субстратом для последующего накопления вирусов и проведения различных вирусологических работ, необходимых при изготовлении диагностикумов, противовирусных средств (вакцин) для защиты человека, животных, птиц и др., для биотехнологической отрасли и получения продуктов экологически и инфекционно безопасных.

**Обсуждение полученных результатов.** В области ветеринарной науки и практики при изучении вирусных заболеваний, в биотехнологической промышленности, при производстве специфических диагностикумов и средств защиты животных актуально применение метода однослойных первичных и субкультур клеток человека, животных и птиц.

Однако, как видно из обзора литературы, для выращивания таких культур клеток в Республике Казахстан в основном используется питательная среда из импортного гидролизата лактальбумина, что связано с большими экономическими затратами. Кроме того, поскольку в последние годы импорт этого препарата в значительной степени лимитирован. Как медицинская, так и ветеринарная наука и практика испытывают большие затруднения в проведении различных вирусологических исследований в однослойных первичных и субкультурах клеток и в производстве противовирусных препаратов из культуральных вирусов, а также наблюдаются определённые затруднения в биотехнологическом производстве.

В России разрабатывались среды из ферментативных гидролизатов белков животного происхождения. Однако за исключением гидролизата из белков мышечной ткани и гемогидролизата эти гидролизаты не вышли за пределы лабораторных исследований.

Использование в качестве сырья белков животного происхождения, экономически не выгодно, особенно, когда речь идет о массовом изготовлении ферментативных белковых гидролиза-

тов. Поэтому придавалось большое теоретическое и практическое значение изысканию и разработке технологии изготовления доступных и экономически выгодных гидролизатов из богатых белком растений, в частности гороха, изучению их биологических качеств путем составления питательных сред и выращивания в них однослойных первичных и субкультур клеток ПЭК и ЛЭК крупного рогатого скота, а в них репродукцию вирусов РСИ, ИРТ крупного рогатого скота с сохранением исходных свойств.

### **Выводы**

Из испытанных вариантов питательных сред лучшие результаты при выращивании однослойных первичных и субкультур клеток ПЭК и ЛЭК получены на среде с содержанием 7,0 % нативного и 0,5 % сухого гидролизата гороха. В этих средах формирование монослоя указанных культур клеток происходит в те же сроки, что и в среде с импортным гидролизатом лактальбумина (контроль). Питательные среды из гидролизата белков гороха с рН=7,4-7,6 без добавления сыворотки крови поддерживают монокультуру клеток в течение 5-8 сут., поэтому они могут быть использованы при проведении различных вирусологических исследований в культурах клеток вместо питательных сред ГЛА, 199 и Игла, состоящих из импортных ингредиентов.

В однослойных первичных и субкультурах клеток ПЭК и ЛЭК, выращенных в средах с гидролизатом белков гороха, происходит накопление вирусов РСИ и ИРТ крупного рогатого скота. Эти культуры не дали заметных различий в титрах накопления вирусов, в сроках наступления ЦПД по сравнению с такими же культурами, полученными на среде с гидролизатом лактальбумина (контроль).

**Практическая значимость.** Обоснована пригодность ферментативного гидролизата белков гороха для составления питательной среды, стимулирующих рост однослойных первичных и субкультур клеток тканей животных. Разработан биотехнологический способ его изготовления. Таким образом, предлагается для широкого использования в практике получения культур клеток и в проведении вирусологических исследований в животноводстве экономически выгодная и доступная питательная среда из ферментативного гидролизата белков гороха.

### Список литературы

1 Абдергальден Э.Б. Учебник физиологической химии / под ред. С.Я.Капланского, В.А.Энгельгардта. – М.; Л.: Биомедгиз, 2014. – 827 с.

2 Адамс Р. Методы культур клеток для биохимиков. – М.: Мир, 2013. – 283 с.

3 Азаренко З.С., Дрогун А.Г. Изучение роли вируса парагриппа в этиологии энзоотической бронхопневмонии телят // Актуальные вопросы ветеринарной вирусологии: тез. докл. IV Все-союз. ветеринар. вирусолог. конф. – Владимир, 2015. – ЧД. – С. 204-206.

4 Акимов К.Г., Нахимсон Л.И. Кислотный гидролиз как метод использования сои для питательных сред // Микробиол. эпидемиол. и иммунобиол. – 2003. – ЖС1. – С. 88-89.

5 Шепель Л.И., Сыкилинда Н.Н., Тетерина А.В. и др. Активность ферментов обмена глутамина в клетках ВНК-21, культивируемое в суспензии // Актуальные вопросы ветеринарной вирусологии: тез. докл. IV Всесоюз. ветеринар. вирусолог. конф. – Владимир, 2012. – С.77-78.

6 Альбанеза А. Белки в питании человека // Белки и аминокислоты в питании человека и животных. – И~Л., 2012. – С. 99-144.

7 Аллисон Д. Биологическая оценка белков // Белки и аминокислоты в питании человека и животных. – И~Л., 2002. – С. 52-99.

8 Анджапаридзе О.Г., Соловьев В.Д. Опыт массового производства инактивированной полиомиелитной вакцины: тр. Ин-та препаратов против полиомиелита // Научные основы производства полиомиелитной вакцины. – М., 2013. – Т.1. – С. 1-3.

9 Анджапаридзе О.Г., Десяткова Р.Г. Опыт получения поливалентных и типоспецифических полиомиелитных сывороток // Научные основы производства полиомиелитной вакцины: тр. Ин-та препаратов против полиомиелита. – М., 2015. – ТД. – С. 256-254.

10 *Андреев Е.В., Наумец З.Н.* Использование органных культур в экспериментальной и практической вирусологии // Ин-т экпер. ветеринарии. – 2008. – Вып. 33. – С. 14-18.

11 *Андреев Е.В., Бакуменко М.Д., Панасенко А.К.* Опыт применения сыворотки крови животных-реконвалесцентов // Ветеринария, 2003. – С. 35-37.

12 *Андреев Е.В.* Средства и способы пассивной иммунизации телят в хозяйствах по производству говядины // Проблемы ветеринарной иммунологии: науч. тр. / под ред. акад. ВАСХНИЛ В.П.Урбан. – М.: Агропромиздат, 2005. – С. 135-138.

13 *Анчев В., Чолакова Р., Бояджиев О.Т.* Исыятване дълготрайността на имунитета у говеда, ваксинирани с моновалента противошапна ваксина, приготвена с тъканкультура-лен вирус типа 0 и С // Ветеринарно-медицински науки. – София: изд-во на Българската АН, 1965. – С. 19-23.

14 *Астанин П.П.* Биохимия. – г/1.: Сельхозгиз, 1997. – 220 с.

15 *Афонский С.И.* Биохимия животных. – М.: Высшая школа, 1970. – 612 с.

16 *Ахунов А.А., Ракитская А.Я., Чистяков И.А.* Динамика проникновения в клетки культур тканей вируса ящура, меченого радиоактивным фосфором // Вопросы ветеринарной вирусологии. – 2001. – Т.П. – С. 232-235.

17 *Баринский И.Ф., Шубладзе А.К., Бочаров А.Ф.* Лейкоцитарный вирус лейкоза человека // Вопросы вирусологии. – 1970. – № 6. – С. 729-730.

18 *Бароян О.В., Гайлонская И.Н.* Сравнительная оценка иммунологической активности различных серий полиомиелитной вакцины // Научные основы производства полиомиелитной вакцины: тр. Ин-та препаратов против полиомиелита. – М., 2013. – Т. 1. – С.244-254.

19 *Лакин Г.Ф.* Биометрия. – М.: "Колос", 2015. – 196 с.

**Байтулақова А.Ф.**, магистрантка, e-mail: [bota\\_240494@mail.ru](mailto:bota_240494@mail.ru)

**Велямов М.Т.**, доктор биологических наук, профессор, академик АСХН РК, e-mail: [masim58@mail.ru](mailto:masim58@mail.ru)