

DOI: 10.15593/2224-9400/2019.2.02

УДК 57.578

**И.Ф. Радаева, Н.Б. Думченко, Е.А. Нечаева**

Государственный научный центр вирусологии  
и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору  
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,  
р.п. Кольцово, Новосибирской области, Россия

## **КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КЛЕТОК НА МИКРОНОСИТЕЛЯХ В БИОРЕАКТОРАХ**

*Использование в производстве вакцин метода культивирования клеток и вирусов на микроносителях в суспензии в биореакторах позволяет увеличить выход клеточной популяции и вирусного материала. Культивирование клеток в суспензии требует применения бессывороточных сред с высокой концентрацией питательных веществ, обогащенных микроэлементами, витаминами, факторами роста и другими компонентами.*

*Цель настоящего исследования – разработка технологии культивирования клеток 4647 в бессывороточных средах на микроносителях в биореакторах.*

*Проведено сравнительное изучение эффективности бессывороточных сред ВекторВак-ПС2, SFM4 MegaVir и OptiMEM при культивировании клеток на различных микроносителях в биореакторе.*

*В результате проведенных исследований отработан метод культивирования клеток в биореакторе. Установлено, что использование декстрановых микроносителей в качестве подложки не отражается на морфологии клеток и на особенностях их репродукции. Для культуры клеток 4647 оптимальным является микроноситель Cytodex-1. Бессывороточные среды SFM4 MegaVir и OptiMEM пригодны для культивирования клеток и могут быть использованы в процессе получения вакцин.*

**Ключевые слова:** культура клеток 4647, микроносители, бессывороточная питательная среда, биореактор, вакцины.

**I.F. Radaeva, N.B. Dumchenko, E.A. Nechaeva**

State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector"  
of the Federal Service for Surveillance in Consumer Rights Protection  
and Human Well-being, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

## **THE CULTIVATION OF CELLS ON MICROCARRIERS IN BIOREACTORS**

*The use of the method of cell and virus culture on microcarriers in suspension in bioreactors in vaccine production allows to increase the yield of cell population and viral material. The cultivation of cells in suspension requires the use of serum-free nutrient medium with a high concentration of nutrients enriched with trace elements, vitamins, growth factors and other components.*

*The purpose of this study is development of technology of cultivation of cells 4647 in serum free media on microcarriers in bioreactors.*

*A comparative study of the effectiveness of the serum free nutrient medium VectorVac-PS2, SFM4 MegaVir and OptiMEM cells during cultivation in different microcarriers in the bioreactor.*

*As a result of the research, the method of cell culture in the bioreactor has been worked out. It is established that the use of dextran microcarriers as a substrate does not affect the morphology of cells and the peculiarities of their reproduction.*

*For cell culture 4647 optimum microcarriers Cytodex-1. Serum free medium SFM4 MegaVir and OptiMEM suitable for the cultivation of cells and can be used in the process of receiving vaccines.*

**Keywords:** *cell culture 4647, microcarriers, serum-free nutrient medium, bioreactor, vaccines.*

Во ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора на основе перевидаваемой культуры клеток 4647 получена кандидатная живая вакцина против натуральной оспы и других ортопоксвирусных инфекций [1–3]. При разработке технологии противооспенной вакцины VACΔ6 были использованы традиционные методы культивирования клеток в культуральных флаконах и роллерных бутылках, что не отвечает в полной мере современным требованиям, предъявляемым к производству культур клеток, вирусов и вакцин. Метод культивирования клеток в биореакторах является альтернативным методом при производстве вирусных вакцин, так как позволяет увеличить выход клеточной популяции и вирусного материала на единицу объема культурального сосуда и среды, существенно снизить материальные затраты [4].

Культуры клеток способны расти в биореакторах как в суспензии, так и на микроносителях (МН). МН представляют собой мелкие твердые микрочастицы размером 50–400 мкм. Клетки прикрепляются к поверхности частиц МН и, размножаясь, образуют сплошной монослой на каждой отдельной частице [5]. Использование МН дает клеткам, обладающим адгезивными свойствами, все преимущества крупномасштабных суспензионных культур, так как при этом сочетаются положительные стороны монослойного и суспензионного культивирования в биореакторе. В настоящее время разработаны многочисленные виды МН, которые отличаются между собой по составу, по типу покрытия и по технологии получения. В зависимости от химического состава МН могут иметь различную консистенцию и электростатический заряд поверхности. При выборе МН, как правило, тестируют несколько видов, так как универсального микроносителя, подходящего для выращивания всех типов клеточных культур, не существует [6].

Правильный подбор питательной среды способствует оптимизации процесса пролиферации клеток при культивировании клеток на различных типах МН. Для успешного культивирования клеток на МН большое значение имеет питательная среда. Состав используемой питательной среды является фактором, оказывающим большое влияние на клеточный метаболизм и, следовательно, на выход вируса. Если состав базовых (основных) вирусологических питательных сред известен и приводится в каталогах большинства коммерческих компаний, то прописи специализированных бессывороточных питательных сред (БС) являются предметом собственности компаний и недоступны для широкого использования [7]. В последние годы проводятся активные исследования по применению БС при получении вакцинных препаратов. БС имеют определенные преимущества, они улучшают воспроизводимость результатов вследствие большей стабильности состава среды и облегчают очистку конечного продукта [8–10]. Использование БС для культивирования клеток и вирусов позволяет сделать процесс получения вакцин более контролируемым, значительно уменьшить риск контаминации.

Целью настоящей работы является разработка технологии культивирования клеток 4647 в БС на МН в биореакторах.

**Экспериментальная часть.** В работе использовали перевиваемую культуру клеток 4647 (почка африканской зеленой мартышки) из коллекции культур клеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора [11].

Клетки культивировали в стационарных условиях в ростовой питательной среде, состоящей из 90 % питательной среды Игла MEM (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора) и 10 % сыворотки крови плодов коровы (Gibco, США). Посевная концентрация составляла  $1 \times 10^5$  клеток в 1 мл, кратность посева 1:3 – 1:4. Для посева культур клеток в качестве диспергента применяли 0,25%-ный раствор трипсина и 0,02%-ный раствор Версена (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора) в соотношении 1:2. Время снятия клеток с подложки составляло 10–15 мин. Культуры клеток инкубировали при температуре 37 °С в течение 72–96 ч. Клеточную массу для биореактора нарабатывали до  $4 \times 10^8$  клеток.

В биореакторах клетки культивировали в БС ВекторВак-ПС2 (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора) и БС SFM4 MegaVir, OptiMEM (HyClone, США). В качестве микроносителей применяли Cytodex-1, Cytodex-2, Cytodex-3 фирмы Sigma (США) и Hillex II (Solohill, США).

МН помещали в силиконизированную посуду, добавляли фосфатно-буферный раствор (рН 7,48), при легком покачивании оставляли

на 3 ч, раствор сливали, процедуру повторяли три раза, добавляли свежий раствор из расчета 50 мл на 1 г МН и стерилизовали в паровом стерилизаторе при 1 атм в течение 15 мин. После стерилизации раствор полностью удаляли, МН заливали питательной средой, встряхивали, осаждали, питательную среду удаляли. МН ресуспендировали в свежей порции питательной среды из расчета 250 мл на 1 г носителя, затем среду удаляли. МН были готовы для использования.

В биореакторы «Мультиген» (Германия) с объемом культурального сосуда 2000 мл (рабочий объем 1000 мл) вносили по 400 мл питательной среды, содержащей 5 % сыворотки крови плодов коровы, МН в количестве 10 г/л и культуру клеток с концентрацией  $(3,5-4) \times 10^5$  клеток в 1 мл. Осаждение клеток на МН проводили в течение 12 ч в режиме периодического перемешивания (2 мин перемешивание, 10 мин перерыв), затем дополнительно в сосуд биореактора вносили по 450 мл питательной среды и включали постоянное перемешивание. Культуры клеток инкубировали при температуре 37 °С.

Ежедневно отбирали пробы и определяли полноту заполнения микроносителей клетками, морфологию культуры и выход клеточного материала.

Каплю суспензии помещали на предметное стекло и с помощью светового микроскопа (Carl Zeiss, Германия) оценивали морфологию и полноту заполнения микроносителей клетками. Микрофотосъемку проводили, используя цифровую фотокамеру и инвертированный микроскоп (Carl Zeiss, Германия).

Выход клеточного материала определяли через 24 и 48 ч роста культуры. В процессе культивирования из биореактора через пробоотборник брали пробу для анализа. Пробу отстаивали в течение 2–3 мин, осадок МН с клетками отмывали два раза диспергентом, затем вновь добавляли диспергент и перемешивали в течение 10 мин. Супернатант с отслоившимися клетками отбирали и проводили подсчет клеток [12].

**Результаты и обсуждение.** При разработке противооспенной вакцины VАСД6 в качестве субстрата была выбрана перевиваемая культура клеток 4647. Линия клеток получена из почки африканской зеленой мартышки Л.Л. Мироновой с соавт. 1974 г. в Институте полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова [13]. Во ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» клетки поступили в 1987 г. на 96-м пассаже. В 2002 г. были созданы, криоконсервированы и аттестованы посевной и рабочий банки клеток 4647. Банки клеток сертифицированы ГИСК им. Л.А. Тарасевича МЗ РФ

и Комитетом МИБП МЗ РФ и рекомендованы для приготовления диагностических препаратов и производства профилактических медицинских иммунобиологических препаратов [14].

Культура 4647 представлена полигональными эпителиоподобными клетками. Ядра круглые и овальные, преимущественно с 1–2 ядрышками и мелкими включениями хроматина, цитоплазма клеток не вакуолизирована, границы клеток четко различимы (рис. 1).



Рис. 1. Культура клеток 4647

Культура клеток 4647 субстрат-зависимая, способна расти как в монослое, так и в псевдосуспензионных условиях на МН в биореакторе. При монослойном культивировании после посева клетки оседали, прикреплялись, распластывались на подложке изолированно друг от друга и начинали делиться. Через 24 ч роста островки клеток постепенно стягивались и к 48 ч

образовывали ровный слой. На 72–96 ч роста клетки формировали плотный слой при кратности посева 1:3 – 1:4.

Для получения клеточной массы культуру пассировали, нарабатывали биомассу до  $4 \times 10^8$  клеток. Дальнейшее культивирование клеток проводили в биореакторе.

Успех культивирования клеток на МН в биореакторе зависит от процесса адгезии клеток на МН. Низкая эффективность прикрепления и неоднородное распределение клеток на МН в момент посева может привести к пустым носителям и, следовательно, к уменьшению максимальной клеточной плотности на выходе. Клетки, не прикрепившиеся к МН, остаются в суспензии и после нескольких часов погибают.

Нами был оптимизирован процесс подготовки МН. Перед использованием МН предварительно обрабатывали в течение 3 ч сывороткой крови плодов коровы, что способствовало равномерному прикреплению клеток к поверхности МН. Процесс адгезии клеток к МН длился от 6 до 12 ч. Если к этому времени большая часть клеток не прикреплялась к носителям, время адгезии увеличивали. В течение 12 ч клетки оседали на МН, распластывались и прикреплялись на поверхности МН, через 24 ч на МН появлялись очаги роста, к 48 ч образовывался монослой на каждой отдельной частице МН. Следует отметить, что при культивировании клеток 4647 на МН в биореакторе морфология культуры не изменялась.

В работе использовали МН разного типа. Так, МН Hillaх II представляет собой модифицированные полистироловые сферы с закрепленными на поверхности катионами триметиламмония для придания поверхности МН положительного заряда. МН Cytodex-1 – это декстрановые поперечно сшитые с пористой структурой частицы, пригодные для выращивания различных клеточных линий, они имеют заряд, который равномерно распределен по всему объему частицы. МН Cytodex-2 в отличие от Cytodex-1 обладает несколько сниженной способностью клеток к сорбции субстрата. МН Cytodex-3 представлен декстрановыми частицами, покрытыми денатурированным коллагеном или перекрестно сшитым желатином [6].

С целью выбора оптимальных МН для культивирования клеток 4647 проводили сравнительную оценку качества МН разного типа, при этом определяли динамику прикрепления и распластывания клеток, сроки формирования монослоя, а также выход клеточного материала.

Наибольшую адгезивную активность клеток через 6 ч после посева отмечали на МН Hilleх II, клетки собирались в конгломераты по периметру частиц, при этом пустые МН отсутствовали, в то время как на МН Cytodex-1, Cytodex-2, Cytodex-3 наблюдали равномерное оседание отдельных клеток. Через 24 ч роста клеток картина резко менялась, на частицах Hilleх II монослой не формировался, около 50 % МН были пустыми, а к 48 ч количество пустых МН достигало 100 % (рис. 2).

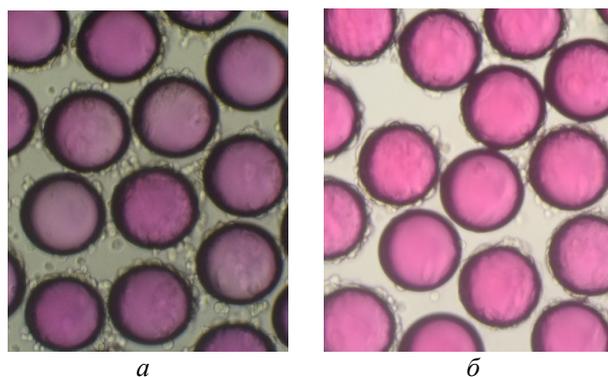


Рис. 2. Культивирование клеток 4647 в биореакторе на МН Hilleх II: через 6 ч (а) и 24 ч (б) роста клеток

При культивировании клеток 4647 на МН Cytodex-1, Cytodex-2 и Cytodex-3 существенного различия между кратностью прироста клеток не обнаружено. В течение 24 ч клетки оседали, прикреплялись и рас-

пластывались на МН, появились очаги роста, через 48 ч клетки занимали более 80 % МН, образовывали монослой, количество клеточного материала увеличивалось до  $(1,0-1,2) \times 10^9$  клеток (рис. 3). Следует отметить, что при культивировании клеток в биореакторе на МН Cytodex-1 была отмечена наиболее интенсивная пролиферация клеток, процент заполнения МН достигал 90 %.

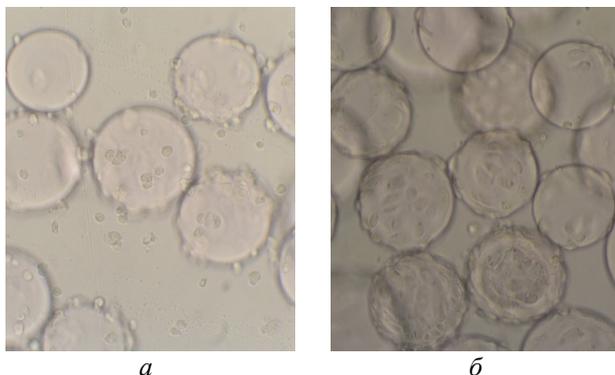


Рис. 3. Культивирование клеток 4647 в биореакторе на МН Cytodex-1 через 6 ч (а) 24 ч (б) роста клеток

В результате проведенных исследований было установлено, что пригодными для культивирования субстратзависимых клеток 4647 в биореакторе являются декстрановые МН.

При создании и производстве вирусных вакцин одним из важнейших факторов является состав питательной среды. Культивирование клеток в суспензии требует применения более сложной среды с высокой концентрацией питательных веществ, обогащенной микроэлементами, витаминами, факторами роста и другими компонентами. Использование в производстве вакцин БС позволяет избежать присутствия чужеродного белка и, как следствие, значительно снизить затраты по очистке препарата [8–10].

Проведено сравнительное изучение эффективности бессывороточных сред ВекторВак-ПС2, SFM4 MegaVir и OptiMEM при культивировании клеток 4647 на МН в биореакторе (рис. 4).

БС SFM4 MegaVir и OptiMEM обеспечивают рост клеток на МН, клетки имеют типичную для данной культуры морфологию, МН заполнены клетками, культура обладает высокой пролиферативной активностью (индекс пролиферации через 48 ч составляет 3,0). При культивировании в БС ВекторВак-ПС2 клетками были закрыты почти все МН, но при этом наблюдали снижение пролиферативной активности до 1,5.

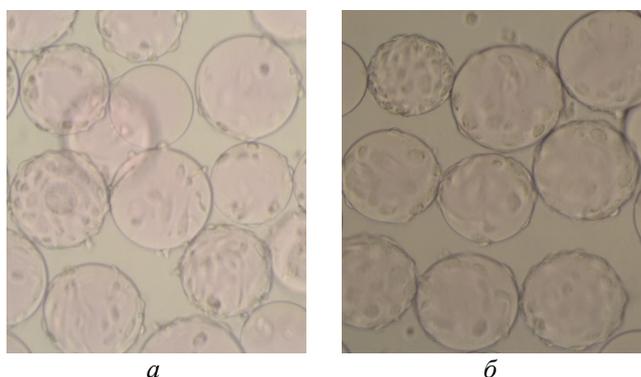


Рис. 4. Культивирование клеток 4647 на МН Cytodex-1 в различных БС:  
а – БС ВекторВак-ПС2; б – БС SFM4 MegaVir

Таким образом, отработан метод культивирования клеток 4647 в БС на МН в биореакторе. Установлено, что использование декстрановых МН Cytodex-1, Cytodex-2 и Cytodex-3 в качестве подложки не отражается на морфологии клеток и на особенностях их репродукции. Для культуры клеток 4647 оптимальным является МН Cytodex-1. БС SFM4 MegaVir и OptiMEM пригодны для культивирования клеток и могут быть использованы в процессе получения вакцин.

*Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания ГЗ-10/19 «Разработка технологии высокоэффективного производства противоспенной вакцины VАСДб на микроносителях в биореакторах».*

### **Список литературы**

1. Сравнение кандидатных вакцин нового поколения против ортопоксвирусных инфекций человека / Р.А. Максюттов, С.Н. Якубицкий, И.В. Колосова, С.Н. Щелкунов // Acta Naturae. – 2017. – Т. 9, № 2. – С. 93–99.
2. Максюттов Р.А. Живые противоспенные вакцины // Проблемы особо опасных инфекций. – 2017. – № 2. – С. 72–77.
3. Высокоиммуногенный вариант аттенуированного вируса осповакцины / С.Н. Якубицкий, И.В. Колосова, Р.А. Максюттов, С.Н. Щелкунов // Доклады Академии наук. – 2016. – Т. 466, № 2. – С. 241–244.
4. Хапчаев Ю.Х. Разработка методов получения и культивирования первичных и перевиваемых культур клеток животных для производства вирусных вакцин: дис. ... д-ра биол. наук. – М., 2003. – 180 с.
5. Новые биорезорбируемые микроносители на основе фиброина шелка / М.С. Котлярова, С.Г. Новичкова, О.И. Агапова, Д.А. Куликов, А.В. Куликов,

М.С. Друцкая, И.И. Агапов, М.М. Мойсенович // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – № 10. – С. 497–501.

6. Котов А.Н. Культивирование клеток на микроносителях в качестве субстрата для накопления вируса Эбола: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Новосибирск, 1996. – 30 с.

7. Бессывороточная питательная среда для культивирования клеток и вирусов / Е.А. Нечаева, И.Ф. Радаева, Н.Б. Думченко, Т.П. Сумкина, М.П. Богрянцева, Т.Ю. Сенькина // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Химическая технология и биотехнология. – 2018. – № 4. – С. 85–97.

8. Бессывороточная питательная среда для культивирования клеток Vero / Г.П. Трошкова, Л.Д. Мартынец, Е.В. Кирова, Т.П. Сумкина, А.В. Юдин // Фундаментальные исследования. – 2005. – № 5. – С. 94–94.

9. The new medium MDSS2N, free of any animal protein supports cell growth and production of various viruses / O.-W. Merten, H. Kallel, J.-C. Manuguerra, M. Tardy-Panit, R. Crainic, F. Delpeyroux, S. Van der Werf, P. Perrin // Cytotechnology. – 1999. – Vol. 30. – P. 191–201.

10. Думченко Н.Б. Изучение влияния растительных гидролизатов на жизнеспособность культуры клеток MDCK // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Естественные и технические науки. – 2018. – № 12/2. – С. 9–12.

11. Радаева И.Ф., Нечаева Е.А., Дроздов И.Г. Коллекция культур клеток ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. – Новосибирск: ЦЕРИС, 2009. – 251 с.

12. Фармакопейная статья ОФС.1.7.2.0011.15 «Требования к клеточным культурам-субстратам производства иммунобиологических лекарственных препаратов» // Государственная Фармакопея 13. – 2015. – Т. 2. – С. 672–688.

13. Миронова Л.Л., Курбатов А.В., Грачев В.П. Линия № 4647 перевиваемых клеток почки взрослой зеленой мартышки и ее применение в вирусологической практике // Вопросы вирусологии. – 1984. – № 4. – С. 503–506.

14. Культура клеток 4647 для производства рекомбинантной бивакцины против натуральной оспы и гепатита В / М.О. Скарнович, И.Ф. Радаева, Г.В. Вдовиченко, Е.А. Нечаева, А.А. Сергеев, В.А. Петрищенко, И.В. Плясунов, Л.Н. Шишкина, В.А. Терновой, М.А. Сметанников, А.П. Агафонов, А.Н. Сергеев // Вопросы вирусологии. – 2007. – № 2. – С. 37–40.

## References

1. Maksiotov R.A., Iakubitskii S.N., Kolosova I.V., Shchelkunov S.N. Sravnenie kandidatnykh vaktzin novogo pokoleniia protiv ortopoksvirusnykh infektsii cheloveka [Comparison of candidate vaccines of a new generation against human orthopoxvirus infections]. *Acta Naturae*, 2017, vol. 9, no. 2, pp. 93-99.

2. Maksutov R.A. Zhivye protivospennye vaksiny [Live smallpox vaccines]. *Problemy osobo opasnykh infektsii*, 2017, no. 2, pp. 72-77.
3. Iakubitskii S.N., Kolosova I.V., Maksutov R.A., Shchelkunov S.N. Vysokoimmunogennyi variant attenuirovannogo virusa ospovaksiny [Highly immunogenic variant of attenuated vaccinia virus]. *Doklady Akademii nauk*, 2016, vol. 466, no. 2, pp. 241–244.
4. Khapchaev Iu. Kh. Razrabotka metodov polucheniia i kul'tivirovaniia pervichnykh i perevivaemykh kul'tur kletok zhivotnykh dlia proizvodstva virusnykh vaksin [Development of methods for obtaining and cultivating primary and transplanted cultures of animal cells for the production of viral vaccines]. Doctor's degree dissertation. Moscow, 2003, 180 p.
5. Kotliarova M.S., Novichkova S.G., Agapova O.I., Kulikov D.A., Kulikov A.V., Drutskaiia M.S., Agapov I.I., Moisenovich M.M. Novye biorezorbiruemye mikronositeli na osnove fibroina shelka [New bioresorbable microcarriers based on silk fibroin]. *Biulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*, 2015, no. 10, pp. 497-501.
6. Kotov A. N. Kul'tivirovanie kletok na mikronositeliakh v kachestve substrata dlia nakopleniia virusa Ebola [Cultivation of cells on microcarriers as a substrate for accumulation of the Ebola virus]. Abstract of Ph. D. thesis. Novosibirsk, 1996, 30 p.
7. Nechaeva E.A., Radaeva I.F., Dumchenko N.B., Sumkina T.P., Bogriantseva M.P., Sen'kina T.Iu. Bessyvorotochnaia pitatel'naia sreda dlia kul'tivirovaniia kletok i virusov [Serum-free nutrient medium for the cultivation of cells and viruses]. *Vestnik permskogo natsional'nogo issledovatel'skogo politekhnicheskogo universiteta. Khimicheskaiia tekhnologiia i biotekhnologiia*, 2018, no. 4, pp. 85-97.
8. Troshkova G.P., Martynets L.D., Kirova E.V., Sumkina T.P., Iudin A.V. Bessyvorotochnaia pitatel'naia sreda dlia kul'tivirovaniia kletok Vero [Serum-free culture medium for culturing Vero cells]. *Fundamental'nye issledovaniia*, 2005, no. 5, pp. 94-94.
9. Merten O.-W., Kallel H., Manuguerra J.-C., Tardy-Panit M., Crainic R., Delpeyroux F., Van der Werf S., Perrin P. The new medium MDSS2N, free of any animal protein supports cell growth and production of various viruses. *Cytotecchnology*, 1999, vol. 30, pp. 191-201.
10. Dumchenko N.B. Izuchenie vliianiia rastitel'nykh gidrolizatov na zhiznesposobnost' kul'tury kletok MDCK [Study of the effect of plant hydrolysates on the viability of the MDCK cell culture]. *Zhurnal Sovremennaia nauka: aktual'nye problemy teorii i praktiki: Seriia «Estestvennye i Tekhnicheskie nauki»*, 2018, no. 12/2, pp. 9-12.
11. Radaeva I.F., Nechaeva E.A., Drozdov I.G. Kolleksiia kul'tur kletok FGUN GNTs VB «Vektor» Rospotrebnadzora [Cell culture collection of the FSUE SRC VB Vektor of the Rospotrebnadzor]. Novosibirsk, TsERIS, 2009, 251 p.
12. Farmakopeinaia stat'ia OFS.1.7.2.0011.15 «Trebovaniia k kletochnym kul'turam-substratam proizvodstva immunobiologicheskikh lekarstvennykh preparatov» [Requirements for cell cultures-substrates for the production of immunobiological drugs]. *Gosudarstvennaia Farmakopeia* 13, 2015, vol. 2, pp. 672-688.
13. Mironova L.L., Kurbatov A.V., Grachev V.P. Liniia № 4647 perevivaemykh kletok pochki vzrosloi zelenoi martyshki i ee primenenie v virusologicheskoi praktike [Line No. 4647 of transplanted kidney cells of the adult green monkey and its use in virological practice]. *Voprosy virusologii*, 1984, no. 4, pp. 503-506.

14. Skarnovich M.O., Radaeva I.F., Vdovichenko G.V., Nechaeva E.A., Sergeev A.A., Petrishchenko V.A., Pliasunov I.V., Shishkina L.N., Ternovoi V.A., Smetannikov M.A., Agafonov A.P., Sergeev A.N. Kul'tura kletok 4647 dlia proizvodstva rekombinantnoi bivaktsiny protiv natural'noi ospy i gepatita B [Cell culture 4647 for the production of recombinant bivaccine against smallpox and hepatitis B]. *Voprosy virusologii*, 2007, no. 2, pp. 37-40.

Получено 26.04.2019

### **Об авторах**

**Радаева Ирина Федоровна** (Кольцово, Россия) – заведующая лабораторией ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область, e-mail: radaeva@vector.nsc.ru).

**Думченко Наталья Борисовна** (Кольцово, Россия) – научный сотрудник ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область, e-mail: dumchenko@vector.nsc.ru).

**Нечаева Елена Августовна** (Кольцово, Россия) – кандидат медицинских наук, заместитель директора по научной и производственной работе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область, e-mail: nechaeva@vector.nsc.ru).

### **About the author**

**Irina F. Radaeva** (Koltsovo, Russian Federation) – Head of the laboratory of FBRI SRC VB “Vector” of Rospotrebnadzor (630559, Koltsovo, Novosibirsk region, e-mail: radaeva@vector.nsc.ru).

**Natalya B. Dumchenko** (Koltsovo, Russian Federation) – Researcher of FBRI SRC VB “Vector” of Rospotrebnadzor (630559, Koltsovo, Novosibirsk region, e-mail: dumchenko@vector.nsc.ru).

**Elena A. Nechaeva** (Koltsovo, Russian Federation) – Ph.D. in Medical Sciences, Deputy Director for Research and Production Work of FBRI SRC VB “Vector” of Rospotrebnadzor (630559, Koltsovo, Novosibirsk region, e-mail: nechaeva@vector.nsc.ru).