БЕССЫВОРОТОЧНЫЕ ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ: НАУЧНЫЕ, ЭТИЧЕСКИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

УДК 57.086.33
БАК 03.01.06

Василевич Н.И., к.х.н., ООО "ЛабПро Медиа", Честков В.В., к.б.н., ООО "НПП "ПанЭко",
chestkov@med-gen.ru

Биохимик изучает, при каких условиях процесс идет, а биотехнолог – какие факторы могут помешать этому.

Культивирование клеток *in vitro* играет важнейшую роль в фундаментальных исследованиях в области клеточной и молекулярной биологии, в прикладной биотехнологии, тканевой инженерии и технологии стволовых клеток, в клеточной терапии. Для успешного роста, выживания и пролиферации клеток человека или животных необходимо создать условия культивирования, которые имитируют физиологические условия: температуру, pH, осмолярность и обеспечение кислородом. Наиболее важным фактором служит культуральная среда, которая должна обеспечивать клетки всеми необходимыми питательными веществами для метаболизма, роста и пролиферации: биосинтетическими предшественниками для анаболизма клеток, каталитическими субстратами для энергетического обмена, витаминами и микроэлементами. Кроме того, среда должна содержать неорганические ионы, функции которых могут быть как каталитическими, так и физиологическими. Обычная практика состоит в добавлении в среду сыворотки животных, преимущественно эмбриональной телячьей сыворотки, которая несет в себе широкий спектр макромолекул, белков, факторов прикрепления, низкомолекулярных питательных веществ, гормонов и факторов роста. Такая добавка обеспечивает культивирование *in vitro* большинства типов клеток. Тем не менее существуют факторы как биологического, так и этического характера, побуждающие к разработке бессывороточных питательных сред, которые сегодня завоевывают все большую популярность.

СЫВОРОТОЧНЫЕ ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

Начало разработки синтетических питательных сред относится к 50-м годам прошлого столетия и связано с работами Игла (Eagle), Искова (Iscove), Дульбекко (Dulbecco) и Хэма (Ham), чьи имена входят теперь в название классических сред. Несколько первых публикаций о составах питательной среды для различных культур клеток принадлежит Иглу [1, 2]. Последующие 15 лет были посвящены разработке питательных сред для различного типа клеток. К классическим средам, состав которых опубликован в открытой печати, относятся семейство сред Игла: BME, MEM, DMEM, IMDM, а также среды F10, F12, 199, RPMI-1640, Лейбовица и др. [3]. Подробная информация о составе этих сред, истории их создания и клеточных культурах, для которых они разрабатывались, даны в обзоре [4]. Тогда же было показано, что для эффективного культивирования клеток в этих средах требуются добавки сывороток животного происхождения, в частности эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) [5, 6].

ЭТС представляет собой чрезвычайно сложную смесь большого количества низкомолекулярных и высокомолекулярных компонентов с различными физиологически сбалансированными активностями (табл.1) [7]. Сыворотка обеспечивает культуральную среду:

- факторами роста и гормонами;
- связывающими и транспортными белками;
- факторами прикрепления;
- дополнительными аминокислотами, витаминами и микроэлементами;
- жирными кислотами и липидами;
- ингибиторами протеазы;
- детоксифицирующими факторами (благодаря связыванию и инактивации);
- стабилизирующими факторами.

Несмотря на то что ЭТС служит универсальной добавкой и обеспечивает культивирование *in vitro* большинства типов клеток, существуют факторы как биологического, так и этического характера, побуждающие к разработке бессывороточных питательных сред.

Табл.1. Основные сывороточные компоненты [7]

Классы соединений	Вещества
Белковые компоненты	
Сывороточные белки	Альбумин Глобулины (например, иммуноглобулины, IgG) α 1-Антитрипсин (ингибитор протеазы) α 2-Макроглобулин (ингибитор протеазы)
Транспортные белки	Альбумин Трансферрин Транскортин α 1-Липопротеины β 1-Липопротеины
Факторы прикрепления и распластывания	Фибронектин Ламинин
Ферменты	Лактатдегидрогеназа Щелочная фосфатаза γ -Глутамилтрансфераза Аланинаминотрансфераза (АЛТ) Аспаратаминотрансфераза (АСТ)
Гормоны	Инсулин Глюкагон Кортикостероиды Вазопрессин Гормоны щитовидной железы Гормон паращитовидной железы Гормон роста Гландотропные факторы Простагландины
Факторы роста и цитокины	Эпидермальный фактор роста (EGF) Фактор роста фибробластов (FGF) Фактор роста нервной ткани (NGF) Фактор роста эндотелиальных клеток (ECGF) Фактор роста тромбоцитов (PDGF) Инсулиноподобные факторы роста (IGF) Интерлейкины Интерфероны Трансформирующие факторы роста (TGFs)

Классы соединений	Вещества
Жирные кислоты и липиды	Свободные и связанные с белками жирные кислоты Триглицериды Фосфолипиды Холестерин Фосфатидилэтаноламин
Витамины и микроэлементы	Ретинол / Ретиноевая кислота (витамин А) Витамины группы В: • Тиамин • Рибофлавин • Пиридоксин • Кобаламин • Фолиевая кислота • Ниацинамид / никотиновая кислота • Пантотеновая кислота • Биотин Аскорбиновая кислота (витамин С) α -Токоферол (витамин Е) Se, Fe, Zn, Cu, Co, Cr, I, F, Mn, Mo, V, Ni, Sn
Углеводы	Глюкоза Галактоза Фруктоза Манноза Рибоза Гликолитические метаболиты
Азотистые небелковые компоненты	Мочевина Пурины / Пиримидины Полиамины Креатинин Этаноламин Аминокислоты

Вариабельность качественного и количественного состава сыворотки от партии к партии делает невозможным ее стандартизацию. Кроме того, сыворотка может содержать различные токсические факторы, нежела-

тельные для культивирования, а также быть потенциальным источником инфекций, таких как грибы, бактерии, микоплазма, вирусы или прионы. Несмотря на возрастающее внимание к биологической, т.е. инфекционной

Табл.2. Положительные и отрицательные факторы содержания сыворотки в питательной среде [10]

Положительные	Отрицательные
Содержит различные факторы роста и гормоны, которые стимулируют рост и функции клеток Участвует в прикреплении клеток Действует как буфер, поддерживая pH Содержит связывающий белок Уменьшает механические повреждения и повреждения, связанные с поверхностным натяжением среды	Неопределенность состава Необходимость контроля качества каждой партии Может содержать ингибиторы факторов роста Опасность контаминации микроорганизмами Трудности с очисткой и выделением продуктов Зависимость от рынка сельскохозяйственной продукции Этические проблемы

опасности сывороток, необходимо уточнить, что большинство методов тестирования сывороток на вирусы и прионы страдает одним недостатком: их чувствительность оптимизирована для выявления больного животного. А современное производство сывороток объединяет кровь тысяч животных, так что чувствительность метода может быть недостаточной для выявления инфекционного агента. Единственным методом эффективного обеззараживания сывороток является их облучение при 25 кГр [8].

По мнению авторов [9], среды с ЭТС не подходят для следующих применений:

- изучение функциональных или регуляторных эффектов экзосом, факторов роста или гормонов;
- индуцирование дифференцировки стволовых клеток контролируемым или воспроизводимым образом;
- проведение совместных культивирований с фибробластами.

Существуют препятствия этического характера: мировой рынок ЭТС оценивается примерно в 500 000 литров в год, что означает умерщвление более 1 000 000 эмбрионов телят. Кроме того, ЭТС – побочный продукт мясной промышленности, и его производство зависит от ряда внешних факторов, таких как погодные условия (например, изменения климата в результате засухи или наводнения) или изменения потребления говядины (например, переход на птицу), которые сложно контролировать и прогнозировать.

Вышеизложенные факторы (табл.2) привели к тому, что дальнейшее развитие питательных сред было направлено на исключение сывороток из среды культивирования клеток.

БЕССЫВОРОТОЧНЫЕ ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

В последние десятилетия ученые и промышленность предпринимали усилия по разработке заменителей сыворотки для питательных сред. Обычно питательная среда для культивирования клеток состоит из основной среды и добавок для роста, которые часто классифици-

руют по их источнику: сыворотка животного, человеческая сыворотка или тромбоцитарный лизат, гидролизат животных или растений или рекомбинантные белки. Включение в питательную среду сыворотки, лизата тромбоцитов, гидролизата животных или растений делает ее состав неопределенным.

Бессывороточные питательные среды (БПС) можно разделить на три основные группы:

- собственно бессывороточные среды, допускающие включение в свой состав компонентов животного происхождения;
- безбелковые, но содержащие материалы неопределенного химического состава, гидролизаты, пептоны и др.;
- химически определенные питательные среды, не только не содержащие продуктов животного происхождения, но включающие исключительно компоненты определенного химического состава.

На рис.1 представлена общая классификация сред для культивирования клеток [11].

К 1990-м годам была не только показана принципиальная возможность успешного культивирования животных клеток в БПС всех трех групп, но и началось вытеснение сывороток из фармацевтических производств. При этом БПС химически определенного состава во многих случаях обладают наилучшими ростовыми свойствами для распространенных промышленных клеточных линий [12, 13].

В настоящее время БПС нашли широкое применение в различных областях медицины и индустрии:

- в научно-исследовательской и диагностической работе;
- при производстве вакцин как для медицины, так и в животноводстве;
- в технологии экстракорпорального оплодотворения;
- для клеточной терапии в медицине;
- при создании клеточных банков.

Столь широкое применение БПС определяет разнообразие требований к ним как по эффективности культивирования клеток, так и по биологической безопасности. Поэтому свойства и технологии применения БПС

Рис.1. Общая классификация сред для культивирования клеток: SB – сывороточная среда; SF – бессывороточная питательная среда (БПС); XF – Xeno-Free среда (содержащая только компоненты человеческого происхождения); ACF – среда, не содержащая компонентов животного происхождения; PF – безбелковая питательная среда; CD – химически определенная питательная среда [11]

чрезвычайно разнообразны, и не существует единых подходов к их разработке и применению.

В качестве основы БПС наиболее широко используются композиции из смеси DMEM:F12 [14] в отношении 1:1 и eRDF (RPMI-1640:DMEM:F12) в отношении 2:1:1 [13]. Для обеспечения трофических функций клеток к основе БПС добавляют различные вещества, основные группы которых перечислены в табл.3. Многие из этих веществ могут быть синтезированы клетками из имеющихся в среде предшественников, однако питательные свойства среды значительно улучшаются, если эти компоненты присутствуют в БПС.

Важным компонентом БПС являются транспортные белки: альбумин и трансферрин. В безбелковых средах трансферрин заменяют комплексными солями железа [15], а альбумин – циклодекстринами и другими веществами [16], хотя последняя замена не всегда эффективна.

Факторы прикрепления клеток нечасто входят в состав БПС, но их рекомендуется использовать дополнительно к БПС в виде специально покрытой пластиковой посуды, используемой для культивирования клеток. К ним относятся желатин, поли-D-лизин и поли-L-лизин, коллаген, ламинин и фибронектин.

В последнее время в состав БПС все чаще включают водо- и жирорастворимые антиоксиданты для защиты

компонентов среды и клеток от окисления кислородом.

Наиболее разнообразный и многочисленный класс компонентов БПС, включающий более 100 веществ, – стимуляторы роста клеток, к которому можно отнести

Табл.3. Дополнительные трофические компоненты БПС

Группы дополнительных веществ БПС	Вещества, входящие в группу
Аминокислоты	Заменимые аминокислоты Пептоны Белковые гидролизаты
Витамины	Витамин К (менадион)
Липиды	Насыщенные и ненасыщенные липиды Детергенты (Tween-20, Pluronic F-68)
Нуклеотиды	Аденин, гуанин, тимин, цитозин и уридин
Гормоны	Инсулин Глюкокортикоиды

Табл.4. Физико-химические показатели БПС

Показатели	Классические ПС	БПС
рН среды Буферная емкость Осмолярность	7,0–7,4 1,5–6,0 280–340	Те же
Содержание эндотоксинов Поверхностное натяжение воды Вязкость среды	– – –	Менее 0,3 ед/мл Снижают добавлением полимеров (белки, ПЭГ и др.) Оптимизируют добавлением полимеров (метилцеллюлоза и др.)

факторы роста клеток, интерлейкины (обособленная группа факторов роста гемопоэтических клеток) и лектины.

В табл.4 приведены физико-химические показатели, по которым контролируются классические питательные среды и дополнительные показатели, которые важны для БПС.

Разработаны БПС, подходящие для культивирования стволовых клеток [17–19], среди которых можно выделить среду TeSR1, полный состав которой опубликован в [17]. Ряд примеров использования БПС для выращивания различных типов клеток приведен в работе [9].

Как бы ни были велики успехи биотехнологии в создании БПС, необходимо упомянуть о характерных недостатках. Культивирование большинства клеток требует длительного периода адаптации к БПС, достигающего в некоторых случаях более 1 месяца. Кроме того, культивирование клеток *in vitro* вообще [20], а особенно в БПС, может приводить к разнообразным изменениям кариотипа клеток. Причем по мере совершенствования БПС внимание исследователей стало переходить от изменений генома к изменениям транскриптома клеток [21, 22]. И, наконец, узкая специализация БПС, предназначенных часто для культивирования строго определенных клеточных линий. Использование БПС для нецелевых клеточных линий, как правило, менее эффективно, что затрудняет сравнительные исследования.

СРЕДЫ "ГИБРИС" ПРОИЗВОДСТВА НПП "ПАНЭКО"

НПП "ПанЭко" начало свою историю в 1991 году с разработки технологии производства фитогемагглютинаина – важного компонента питательных сред для получения культур пролиферирующих лимфоцитов, а к 2003 году компания начала производить полную среду "Лимфокар" для культивирования лимфоцитов человека в образцах цельной крови. Тогда же были начаты работы по созданию бессывороточных сред, приведшие в 2007 году к созданию первой бессывороточной среды "Гибрис" для культивирования клеток гибридом.

Эта среда поддерживала рост иммортализованных клеточных линий, но совершенно не отвечала требованиям промышленной биотехнологии по интенсивности метаболизма клеток в перемешиваемой культуре. Для удовлетворения этих требований нам пришлось не только поднять концентрацию трофических компонентов, но и обеспечить эффективное дыхание клеток путем увеличения концентраций транспортных систем для кислорода. А вслед за этим потребовалось увеличение концентрации антиоксидантов для защиты клеток от неспецифической активности кислорода. Это привело к возрастанию потребности в липидах и т.д. В результате были разработаны химически определенные БПС "Гибрис-1-293" для высокоэффективного суспензионного культивирования клеток НЕК 293 и "Гибрис-1-СНО" – для суспензионного культивирования и продукции рекомбинантных белков клетками генно-инженерных линий СНО. Последняя наша разработка, "Гибрис-8", предназначена для культивирования индуцированных плюрипотентных и эмбриональных стволовых клеток без использования фидерного слоя.

Особое место среди разработанных БПС занимают питательные среды для экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Они относительно просты по составу, но к ним предъявляются очень высокие требования по биологической безопасности и физико-химическим характеристикам. Среда ЭКО относится к узкому классу xeno-free-сред, содержащих только сывороточный альбумин человека. А уникальны они тем, что обычные питательные компоненты всех БПС: глюкоза и лактат – являются в средах для ЭКО регуляторными факторами, концентрация которых определяет нормальное развитие ранних эмбрионов млекопитающих.

АДАПТАЦИЯ МЕТОДИК КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК К БЕССЫВОРОТОЧНЫМ СРЕДАМ

Несмотря на эффективное культивирование гибридомных клеток в среде "Гибрис", длительное время не удавалось добиться пролиферации лимфоцитов человека на этой среде. Причина неудач заключалась не в непол-

ноценности среды по трофическим компонентам, а в особенностях поведения фитогемагглютинаина (ФГА), стимулятора пролиферации лимфоцитов, в сывороточной среде и БПС "Гибрис" (рис.2). Мы обнаружили, что, в отличие от среды RPMI-1640, содержащей 10% ЭТС, в которой ФГА стимулировал пролиферацию лимфоцитов в широком диапазоне концентраций от 0,5 мкг до более 10 мкг/мл, с максимумом пролиферации при 5 мкг/мл, оптимальная концентрация ФГА в среде "Гибрис" составила всего 0,5 мкг/мл. Дальнейшее увеличение концентрации ФГА приводило к резкому угнетению пролиферации лимфоцитов и их гибели в апоптозе. Таким образом, в отсутствие связывания ФГА с белками сыворотки его оптимальная концентрация существенно снижалась, что соответствует данным других авторов [23].

Кроме этого, различалась оптимальная концентрация IL-2 в сывороточной (RPMI 1640 + 10% ЭТС) и бессывороточной ("Гибрис-2") средах.

Бессывороточные среды "Гибрис-1" и "Гибрис-2" позволяют неограниченно культивировать клетки целого ряда клеточных линий со временем удвоения, незначительно превышающим данный показатель для сывороточных сред (табл.5) [24]. В то же время отдельные клеточные линии демонстрируют сильное ингибирование скорости

Рис.2. Количество лимфоцитов человека после 120 часов инкубации при 37°C в сывороточной среде (RPMI 1640 + 10% ЭТС) (1) и бессывороточной среде "Гибрис-2" (2)

РЕКЛАМА

ПанЭко

- ✓ Более 20 лет на рынке обеспечения лабораторий и производств расходными материалами и оборудованием.
- ✓ Собственное производство питательных сред, соответствующее стандартам GMP, а также стерильные растворы и митогены для работ с культурами клеток.
- ✓ Разработка бессывороточных питательных сред для промышленного культивирования клеток CHO, HEK293 и др.
- ✓ Поставки реактивов, аминокислот, сывороток крови, культурального и лабораторного пластика и др.
- ✓ Собственный контроль качества

8-800-550-72-31

www.paneco-ltd.ru
www.paneco.ru

Табл.5. Сравнительная характеристика времени удвоения клеток перевиваемых линий в классической сывороточной среде (DMEM + ЭТС 10%) и бессывороточной среде "Гибрис-2"

Линия клеток	Время удвоения T2, ч	
	DMEM + ЭТС 10%	"Гибрис-2"
Sp2/0	12–16	13–18
HeLa	20–25	22–26
CHO-K1	16–21	19–23
Vero	22–26	32–48
NIH/3T3	18–22	42–46 при введении дополнительных факторов роста
MDCK	23–28	25–31

роста по сравнению с сывороточной средой, что говорит об участии ряда сывороточных факторов в обеспечении пролиферативной активности клеток таких линий. Так, пролиферация адаптированной к бессывороточным условиям культивирования сублинии клеток эмбриональных фибробластов мыши – NIH/3T3-SF – происходит только при введении в состав бессывороточной среды митогенных факторов роста (например, FGF-b) [25].

ЛИТЕРАТУРА

1. **Eagle H.** Nutrition needs of mammalian cells in tissue culture // Science. 1955. V. 122. No. 3168. P. 501–514.
2. **Eagle H.** The specific amino acid requirements of a human carcinoma cell (Stain HeLa) in tissue culture // J.Exp.Med. 1955. V. 102. No. 1. P. 37–48.
3. **Ham R.G., McKeehan W.L.** Media and growth requirements // Methods in Enzym. 1979. V. 58. P. 44–93.
4. **Morton H.J.** A survey of commercially available tissue culture media // In Vitro. 1970. V. 6. No. 2. P. 89–108.
5. **Boone C.W., Mantel N., Caruso T.D.** et al. Quality control studies on fetal bovine serum used in tissue culture // In vitro. 1972. V. 7. No. 3. P. 174–188.
6. **Goodheart C.R., Casto B.C., Zwiers A.** et al. Plating efficiency for primary hamster embryo cells as an index of efficacy of fetal bovine serum for cell culture // Applied Microbiology. 1973. V. 26. No. 4. P. 525–528.
7. **Brunner D., Frank J., Appl H., Schöff H.**, et.al. Serum-free Cell Culture: The Serum-free Media Interactive Online Database // ALTEX. 2010. V. 27. No. 1. P. 53–6.
8. **Plavsic M., Nims R., Wintgens M., Versteegen R.** Gamma Irradiation of Animal Serum: Validation of Efficacy for Pathogen Reduction and Assessment of Impacts on Serum Performance. // BioProcessing Journal. 2016. V. 15. No. 2. P. 12–21.
9. **van der Valk J., Bieback K., Buta Ch.** et.al. Fetal Bovine Serum (FBS): Past – Present – Future // ALTEX. 2018. V. 35. No. 1. P. 99–118.
10. **Arora M.** Cell Culture Media: A Review // Materials and Methods. 2013. V. 3. P. 175.
11. **Karnieli O., Friedner O.M., Allickson J.G., Zhang N.** et.al. A consensus introduction to serum replacements and serum-free media for cellular therapies // Cytotherapy. 2017. V. 19. No. 2. P. 155–169.

Приведенные данные демонстрируют не только методические особенности определения состава БПС в отношении факторов роста. При интерпретации данных, полученных в сывороточной среде, о взаимодействии биологически активных веществ с клетками необходимо учитывать как связывание исследуемого вещества с компонентами сыворотки, так и наличие в сыворотке модераторов, влияющих на показатели функционирования клетки.

***

Культивирование клеток в бессывороточных средах имеет много преимуществ:

- создание контролируемой среды культивирования клеток;
- возможность изменения вязкости среды и создания полужидких сред (клональное культивирование);
- удешевление себестоимости культивирования клеток за счет перевода прикрепляемых культур в суспензионное культивирование;
- упрощенное выделение интересующих продуктов.

В то же время необходимо отметить, что, несмотря на широкое применение БПС для культивирования иммортализованных клеточных линий и некоторых первичных клеточных культур, разработка БПС для большинства клеток с нормальным клеточным циклом является трудной и до сих пор не решенной задачей. Первичные клеточные линии, как правило, имеют ограниченный период размножения и через 3–4 пассажа останавливаются в росте.

Сегодня выпускается большое разнообразие БСП, предназначенных для культивирования клеток различных типов, обширная база которых представлена на сайте 3RS-центра Утрехтского университета в Нидерландах – <https://fcs-free.org/fcs-database>.

12. **Gorfien S., Paul B., Walowitz J.** et al. Growth of NS0 cells in protein free, chemically defined medium // *Biotechnol. Prog.* 2000. V. 16. No. 5. P. 682–687.
13. **Chua F., Oh S.K., Yap M., Teo W.K.** Enhanced IgG production in eRDF media with and without serum. A comparative study // *J. Immunol. Methods.* 1994. V. 167. No. 1–2. P. 109–119.
14. **Николаенко Н.С., Цупкина Н.В., Пинаев Г.П.** Культивирование лимфоидных клеток. мыши и человека в бессывороточных средах // *Цитология.* 1992. Т. 34. № 8. С. 88–95.
15. **Chen Z., Ke Y., Chen Y.** A serum-free medium for hybridoma cell culture // *Cytotechnology.* 1993. V. 11. No. 3. P. 169–174.
16. **Morgenthaler J., Baillo P., Friedli H.** Fatty acid patterns during plasma fractionation // *Vox Sang.* 1980. V. 38. P. 288–293.
17. **Ludwig T.E., Levenstein M.E., Jones J.M., et al.** Derivation of human embryonic stem cells in defined conditions // *Nat Biotechnol.* 2006. V. 24. No. 2. P. 185–187.
18. **Lu J., Hou R., Booth C.J.** et al. Defined culture conditions of human embryonic stem cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. V. 103. No. 15. P. 5688–5693.
19. **Kubota H., Avarbock M.R., Brinste R.L.** Culture conditions and single growth factors affect fate determination of mouse spermatogonial stem cells // *Biol. Reprod.* 2004. V. 71. No. 3. P. 722–731.
20. **Полянская Г.Г., Дьяконова М.Ю.** Влияние условий культивирования на кариотипическую структуру клеточной сублинии почки кенгуровой крысы // *Цитология.* 1988. Т. 30. № 11. С. 1355–1363.
21. **Pochampally R.R., Smith J.R., Ylostalo J., Prockop D.J.** Serum deprivation of human marrow stromal cells (hMSCs) selects for a subpopulation of early progenitor cells with enhanced expression of OCT-4 and other embryonic genes // *Blood.* 2004. V. 103. No. 5. P. 1647–1652.
22. **Tian J., Ishibashi K., Honda S.** et al. The expression of native and cultured human retinal pigment epithelial cells grown in different culture conditions // *Br. J. Ophthalmol.* 2005. V. 89. No. 11. P. 1510–1517.
23. **Lipson S.M.** Application of a serum-free medium in the growth and differentiation of human peripheral blood lymphocytes // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1986. V. 4. P. 203–214.
24. **Табаков В.Ю., Щепкина Ю.В., Честков В.В.** Современные принципы классификации и разработки питательных сред для культивирования клеток человека и животных // *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2013. Т. 1. С. 47–57.
25. **Lin V.K., Ortwerth B.J.** Competence and progression growth factors stimulate different tRNA^{lys} modification reactions in Balb/C 3T3 cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1983. V. 115. No. 2. P. 598–605.

РЕКЛАМА

ASSOCIATION OF
CHEMISTRY AND THE
ENVIRONMENT

I МЕЖДУНАРОДНАЯ ЛЕТНЯЯ ШКОЛА ПО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМ МЕТОДАМ АНАЛИЗА ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

С 22 по 27 июня 2020 года, Архангельск

22–27 июня 2020 года в Архангельске на базе Центра коллективного пользования “Арктика” Северного (Арктического) федерального университета имени М.В. Ломоносова пройдет I Международная летняя школа по физико-химическим методам анализа объектов окружающей среды.

Организаторы школы – Всероссийское масс-спектрометрическое общество и Европейская ассоциация химии и окружающей среды (Association of Chemistry and Environment).

Обучение включает лекции, семинары и практические занятия. Для практической работы слушатели могут привезти реальные образцы, либо экспериментальная задача будет предложена преподавателем.

Планируется участие 15 человек из России и 15 человек из Европы.

ЯЗЫК ШКОЛЫ

Английский

АДРЕС ДЛЯ ОТПРАВКИ ЗАЯВКИ И РЕЗЮМЕ УЧАСТНИКА

mail@vmso.ru

vmso.ru