

Изобретение относится к медицине и биологии, может быть использовано при получении специфических высокоактивных антигенов различной природы и предназначено как для научно-практической работы, так и для создания высокоэффективных биологических препаратов специфического действия.

Известен способ стимуляции иммунологического статуса животных и иммунного ответа на антигены, по которому для стимуляции иммунного ответа на антигены животным вводят одновременно с этими антигенами штамм Enterovirus suis-3 УНИВИ, двукратно с интервалом 12-21 день о дозе 10^4 - 10^6 ТЦД₅₀ на 1 кг массы тела. Недостатком указанного способа является двукратное введение в организм помимо нужного антигена, культуральной жидкости, содержащей дополнительный вирус. При этом требуются расходы на получение культурального вируса, на повторную иммунизацию, удлиняются сроки иммунизации, нельзя предсказать возможные последствий генетического взаимодействия вводимого вируса с другими вирусами, циркулирующими среди животных.

В основу изобретения поставлена задача разработать ускоренный и упрощенный способ повышения специфической активности антигенов, что позволило бы оперативно и без привлечения сложных технологий получать необходимые вакцинные препараты с повышенной активностью и за счет этого повысить эффективность вакцин и вакцинопрофилактики.

Поставленная цель достигается тем, что в способе повышения иммуногенности антигенов, включающем иммунизацию животных предварительно обработанным антигеном, согласно изобретению, антиген, помещенный в катодную часть камеры, отделенную полупроницаемой мембраной, обрабатывают постоянным электрическим током.

В результате указанной обработки за короткое время (в пределах одного часа) повышается специфическая активность антигена.

Обработка по указанному способу, помимо повышения иммуногенности, приводит к повышению специфической антигенной активности антигенов, что проявляется в их более активном связывании со специфическими антителами. Данный эффект можно использовать для повышения специфической активности антигенов, применяемых в диагностических тест-системах, что позволит повысить чувствительность тест-систем, выявляющих специфические антитела в биологических жидкостях и за счет этого повысить качество диагностики.

Изучение иммуностимулирующих свойств антигена проводят путем иммунизации животных и последующей оценки иммуногенности по изменению титров антител в сыворотках крови. Антигенную активность антигена оценивают методом иммуноферментного анализа (ИФА) в реакциях со стандартными диагностическими сыворотками. В качестве антигенов используют: антиген, не обработанный электрическим током и антиген, полученный после электрохимического воздействия из катодной части камеры.

Заявляемый способ повышения иммуногенности антигенов имеет следующие преимущества:

1) повышение специфической активности антигена не сопровождается введением в организм дополнительных, балластных белков (антигенов);

2) сохраняются биологические свойства антигена;

3) повышение специфической активности антигена осуществляется в короткие сроки (в пределах одного часа).

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Аллантоисную жидкость, содержащую вирус гриппа А /Ленинград /92/17/89 (H1N1), титр ГА 1/64. в количестве 9 мл помещают в катодную часть камеры, разделенной полупроницаемой мембраной, в анодную часть помещают 9 мл раствора нормальной аллантоисной жидкости куриных эмбрионов. В течение 5 мин. пропускают постоянный электрический ток силой 15 мА, напряжением 6 В. В дальнейшей работе используют раствор антигена из катодной части камеры. Для группы животных (белые мыши) иммунизируют под эфирным наркозом по 0,3 мл внутрибрюшинно: вирусосодержащей жидкостью, не прошедшей обработку и прошедшей обработку электрическим током. Сыворотки крови животных исследовали на реакции торможения гемагглютинации (РТГА) на наличие специфических антител спустя 5 недель от момента иммунизации. РТГА ставили по общепринятой методике в плексигласовых пластинах с 1 % взвесью куриных эритроцитов в изотоническом растворе хлорида натрия. Данные РТГА (табл. 1) свидетельствуют о том, что иммуногенная активность вируса группа А /Ленинград /92/17/89 обработанного электрическим током в 2,35 раза превышает иммуногенность необработанного вируса.

Пример 2. Стандартный токсоплазменный антиген из ИФА-тест-системы, в рабочем разведении, разделяют на 2 части: одну часть оставляют в качестве контроля, а вторую часть подвергают обработке постоянным током: 10 мл раствора антигена помещают в катодную часть камеры, разделенной полупроницаемой мембраной, в анодную часть помещают 10 мл фосфатного буфера. В течение 10 мин пропускают постоянный электрический ток силой 2 мА, напряжением 2 В. Раствор из катодной части камеры отбирают, выдерживают 3 ч при 4°C и используют в дальнейшей работе. Одну половину планшеты для ИФА сенсибилизируют необработанным раствором токсоплазменного антигена, другую половину - обработанным раствором антигена. После инкубации в течение 16 ч при 4°C и отмывки, в лунки планшета вносят контрольные сыворотки: положительную и отрицательную. Учет результатов проводят на аппарате "Мультискан" МСС/340 Р. Результаты опыта (табл. 2) свидетельствуют о том, что специфическая активность обработанного электрическим током токсоплазменного антигена по выявлению специфических антител достоверно превышает соответствующую активность необработанного антигена в 1,5-2 раза.

Таблица 1

Уровень антигемагглютининов в сыворотках крови животных после иммунизации вирусом гриппа А/Ленинград/92/17/89, прошедшим и не прошедшим обработку электрическим током

Препарат для иммунизации	Гемагглютинирующая активность в препарате	Титры антигемагглютининов в сыворотках крови животных через 5 недель после иммунизации (обратные величины)
1. Исходный вирус гриппа	1:64	$44,17 \pm 10,14$
2. Вирус, обработанный электрическим током	1:64	$103,76 \pm 16,63$
Кратность прироста титра антител		2,35
Достоверность отличия (p)		< 0,01

Таблица 2

Результаты ИФА при использовании в тест-системе обработанного и необработанного электрическим током токсоплазменного антигена

Разведения антигена	Оптическая плотность в лунках, содержащих контрольную положительную сыворотку плюс:		Коэффициент увеличения оптической плотности	Достоверность отличий
	необработанный антиген	антиген, обработанный электрическим током		
x	$0,358 \pm 0,0020$	$0,537 \pm 0,0044$	1,5	$p < 0,001$
x:2	$0,235 \pm 0,0030$	$0,423 \pm 0,0050$	1,8	$p < 0,001$
x:4	$0,170 \pm 0,0020$	$0,291 \pm 0,0021$	1,7	$p < 0,001$
x:8	$0,081 \pm 0,0015$	$0,159 \pm 0,0064$	2,0	$p < 0,001$
x:16	$0,045 \pm 0,0020$	$0,082 \pm 0,0043$	1,8	$p < 0,001$

Контроль антигена (с отрицательной сывороткой): необработанный — 0,069, обработанный — 0,060.