



УКРАЇНА

(19) UA (11) 4575 (13) U

(51) 7 A61K39/00, C12N1/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬВИДІВЛЯЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ОЧИСТКИ ТА СТАБІЛІЗАЦІЇ ВІРУСІВ

1

(21) 20040604494
(22) 09.06.2004
(24) 17.01.2005
(46) 17.01.2005, Бюл. № 1, 2005 р.
(72) Стегній Марина Юріана, Стегній Борис Тимофійович, Дикий Ігор Леонідович, Білоконов Іван Іванович
(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧ-

2

НОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

(57) Спосіб очистки та стабілізації вірусів, що містить ультрафільтрацію, який відрізняється тим, що додатково використовують як стабілізуюче середовище нейтральний гліцерин у кінцевій концентрації 2-5 % в умовах гіпотермії при температурі 6-10°C.

Запропонована корисна модель відноситься до вірусології та біотехнології і може бути застосована на підприємствах біологічної промисловості при виготовленні вакцинних препаратів, що використовуються для профілактики вірусних хвороб великої рогатої худоби (ВРХ).

Для досягнення максимального ступеню очистки вірусних часток від домішок, зміна концентрації речовини, що створює градієнт, повинна бути плавною.

Для очищення та стабілізації конкретного вірусу запроваджують цілу серію послідовних стадій фільтрування для того, щоб отримати потрібний ступінь очистки (Вірусологія. Методи. Під редакцією Б. Мейхи, Москва "Мир", 1988 г.).

Є рішення, в якому використовується глибоке заморожування для одержання чистого вірусу або антигену (RU №2152224 от 30.06.98, кл. G01N 33/53 «Способ получения антигена»).

Для очистки вірусу використовують ультрафільтрацію та різні стабілізуючі середовища. Ультрафільтрація дає можливість обробляти значні об'єми вірусмішуючої суспензії (Залевский Д.И. «Получение вируспродуцирующих культур клеток и антигена онкорнавируса крупного рогатого скота». Бюл. ВИЭВ, М 1979, вып. 36).

Це рішення може бути прототипом. В цьому рішенні використовується очистка вірусу тільки для значних об'ємів культурального вірусу.

В основу винаходу поставлено задачу розробити спосіб очистки та стабілізації вірусів великої рогатої худоби (ВРХ), що містить ультрафільтрацію шляхом використання як стабілізуючого середовища нейтрального гліцерину у кінцевій концентрації 2-5% в умовах гіпотермії при температурі 6-

10°C, щоб забезпечити спосіб очистки та стабілізації вірусів ВРХ.

Спосіб виконується ультрафільтрацією та додаванням нейтрального гліцерину до вірусної суспензії в живильному середовищі з подальшим використанням гіпотермії (6-10°C).

Аналіз технічних рішень у галузі вірусології дозволяє зробити висновок про відсутність ознак, що схожі із суттєвими відмінними ознаками процесу, що заявляється та признати це рішення, відповідним критеріям «суттєві ознаки» та «новизна».

Приклад 1

Вірусмішуючу рідину після вирощування культури тканини, яка хронічно інфікована вірусом лейкозу ВРХ, заморожували у флаконах. Після відтавання відбирали рідину, що містить білок, яку потім контролювали на спектрофотометрі або якісною реакцією (додавання 50% розчину ПЕГ 6000).

Рідина, що не містила білок, відкидалась. Таку операцію повторювали багаторазово. При цьому концентрація білка підвищувалась у кінці процесу, після чого проводили ультрафільтрацію. Для того, щоб не руйнувати структуру вірусу додавали гліцерин - 2%, як захисне середовище, у живильне середовище при температурі 6-10°C. Таким чином очищали та стабілізували вірус лейкозу (ВРХ).

Приклад 2

Вірусмішуючу рідину, що хронічно інфікована вірусом інфекційного ринотрахеїту ВРХ рН 7,2-7,4 після ультрафільтрації при перемішуванні додавали нейтральний гліцерин як стабілізуюче середовище у кінцевій концентрації - 5%, знижували температуру до 6°C. Інактивованій таким чином вірус використовували при виготовленні вакцини

(13) U

(11) 4575

(19) UA

проти ІРТ.

На підставі одержаних результатів можна зробити висновок, що спосіб очистки і стабілізації вірусів ВРХ призначено для очистки вірусних білків

від білків культуральних клітин та рідини з метою подальшого використання вірусу ВРХ. Цей спосіб є ефективним у порівнянні з іншими.