



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **66610** (13) **U**
(51) МПК
A61K 39/12 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ТРАНСФЕР-ФАКТОРА, СПЕЦИФІЧНОГО ЩОДО ЗБУДНИКА ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

1

2

(21) u201107764

(22) 20.06.2011

(24) 10.01.2012

(46) 10.01.2012, Бюл. № 1, 2012 р.

(72) БУСОЛ ВОЛОДИМИР ОЛЕКСАНДРОВИЧ,
КОВАЛЕНКО ЛАРИСА ВОЛОДИМИРІВНА, ТОН-
СЬКА ТЕТЯНА ГЕННАДІЇВНА, СИТНИК ВІТАЛІЙ
АНАТОЛІЙОВИЧ

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

(57) Спосіб отримання трансфер-фактора, специфічного щодо збудника лейкозу великої рогатої худоби, із лейкоцитів тварин, який **відрізняється** тим, що включає попередню сенсibilізацію овець-донорів підшкірно відповідним специфічним антигеном, який містить сорбовані білки вірусу лейкозу великої рогатої худоби, при цьому отримують трансфер-фактор із спленоцитів селезінки вівці на 28 добу після імунізації.

Корисна модель належить до ветеринарної медицини, а саме до біотехнології та імунології.

Найближчим аналогом корисної моделі може бути спосіб (Пат. № 43728, МПК А61К35/28, опубл. 25.08.2009, бюл. № 16. Спосіб отримання фактора переносу, специфічного до клітин ксеногенної пухлини. Фільчаков Ф.В., Шуміліна К.С., Льон Г.Д., Гріневич Ю.Я.), згідно з яким препарат отримують на 14 добу із лімфоцитів селезінки щурів, попередньо імунізованих внутрішньочеревно живими клітинами ксеногенних пухлин.

Неможливість використання у ветеринарії такого способу обумовлено інфікуванням тварин вірусом лейкозу при введенні в організм живих клітин неопластичного процесу, отриманням малого об'єму препарату, короткостроковістю періоду розвитку сенсibilізації, несприйнятливості щурів до вірусу лейкозу великої рогатої худоби і, як наслідок, низькою специфічністю імуномодулятора до ретровірусу.

В основу пропонованої корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб отримання трансфер-фактора, специфічного щодо збудника лейкозу великої рогатої худоби.

Поставлена задача вирішується тим, що для сенсibilізації використовують овець-донорів, а як антиген - імунний препарат, що містить інактивованний вірус лейкозу великої рогатої худоби, отриманий з інфікованої культури клітин нирки ембріона вівці (FLK), та сорбований на поверхню біологічного клітинного сорбенту. Препарат іноку-

люють в ділянці правого стегна підшкірно у дозі 1 см³ на тварину, двічі з інтервалом 7 днів.

На 28 добу після першого введення антигену, за умов встановлення специфічної імунної відповіді на антиген вірусу лейкозу тварин забивають. Від піддослідних овець відбирають селезінку в стерильні поліетиленові пакети, охолоджують до температури від +4 °С до +6 °С, доставляють до місця переробки не пізніше як за 24 год. після відбору. Тканину селезінки дезагрегують у гомогенізаторі. Отриману суспензію фільтрують через стерильну капронову сітку, розводять 10 об'ємами стерильної дистильованої води, з попереднім додаванням антибіотиків: в дозі 100 ОД/см³ пеніциліну та 100 мкг/см³ стрептоміцину, ретельно перемішують та витримують 10-15 с. Ізотонію відновлюють додаванням 10 % натрію хлориду із розрахунку 0,9 мл розчину на 100 мл дистильованої води. Завись клітин осаджують центрифугуванням 1500 об./хв. протягом 10 хв. Спленоцитарну масу декантують, двічі промивають розчином Хенкса у співвідношенні 1:2-1:5 при центрифугуванні 1000 об./хв. Відбирають пробу 2-5 см³, підраховують концентрацію спленоцитів у 1 см³ суспензії в камері Горяєва. Спленоцитарну суспензію переносять у стерильні поліетиленові пробірки. Для руйнування клітин, суспензію дезінтегрують за допомогою ультразвуку при частоті 3МГц протягом 15 с. Після руйнування клітин масу, розводять стерильною дистильованою водою так, щоб кінцева концентрація становила 5×10 клітин в 1 см³ рідини. Отриманий екстракт спленоцитів

(19) **UA** (11) **66610** (13) **U**

обережно переміщують у діалізний мішок із проникністю пор 10 кД. Діалізний мішок зав'язують та ополіскують 0,9 % розчином натрію хлориду, поміщають в ємність з стерильною дистильованою водою. Діаліз проводять протягом 24 год. при 4 °С при постійному перемішуванні на магнітній мішалці. Діалізат стерилізують через бактерійні фільтри з діаметром пор 0,22 мкм в асептичних умовах. Препарат розфасовують в асептичних умовах у стерильні флакони.

Запропонований спосіб дає можливість отримати високоспецифічний імуномодулятор щодо збудника лейкозу великої рогатої худоби, підвищити імуногенність вакцин проти лейкозу великої рогатої худоби, а також отримати в достатньому об'ємі сировину для виділення трансфер-фактора, використання їх є більш технологічно обґрунтоване.