

Винахід відноситься до біотехнології та фармацевції і може бути використаний в процесах отримання інтерферонів.

Прототипом запропонованого індуктору можна вважати індуктор інтерферону першого типу в культурах клітин (Пат. №9690А кл. А61К37/66, опубл. 30.09.96. Бюл. №3).

Недоліком прототипу є його здатність розчинятися в культуральній рідині, що не дозволяє використовувати цей індуктор протягом декількох промислових циклів.

За основу винаходу поставлена задача створення нового індуктору інтерферонів першого типу, який може бути використаний в широкомасштабному виробництві препаратів інтерферону та має такі додаткові переваги, як простота, технологічність, невелика вартість виготовлення, багаторазовість використання, а також відсутність потреби очистки отриманого матеріалу від вірусів та токсичних речовин.

Поставлена задача досягається тим, що індуктор містить тилорон. Згідно винаходу одноланцюгова РНК ковалентно зв'язана з нерозчинною поверхнею, яка представляє собою полігліколеві гранули - сферою (СРТ), співвідношення тилорону до РНК 1:10моль/моль.

Прийчинно-наслідковий зв'язок між запропонованими ознаками і технічним результатом показаний нижче.

Одноланцюгова РНК ковалентно зв'язана з нерозчинною поверхнею, яка представляє собою полігліколеві гранули - сферою, співвідношення тилорону до РНК 1:10моль/моль, що дає змогу виключення стадії накопичення вірусу-індуктору, видалення неадсорбованого клітинами вірусу, а також інактивації вірусу-індуктору в цільовому продукті.

З метою встановлення і характеристики інтерферогенних властивостей СРТ в культурах клітин був поставлений ряд дослідів на культурах клітин L41.

Стандартними індукторами порівняння були ридостин та комплекс дріжджової РНК з тилороном, які вносили в культуру, в вигляді розчинів у згаданому вище буфері, в концентраціях, що забезпечують, згідно літературним даним, максимальний індукторний ефект.

Рівні екзогенного інтерферону визначали в культуральному середовищі через 18 години, після контакту клітин з індукторами інтерферону. Визначення інтерферону проводили в культурі клітин L41 на 96-лункових планшетах за стандартною методикою, використовуючи, в якості тесту, вірус везикулярного стоматиту (ВВС) штам Індіана в дозі 100 ТЦД₅₀.

Приклад 1.

Пряме порівняння інтерферогенної здатності СРТ проводили в культурах клітин L41. Результати на фіг.1.

Результати, представлені на фіг.1, свідчать, що в культурі клітин L41 під дією СРТ найбільша кількість інтерферону спостерігається вже на третю годину після контакту клітин з індуктором. Далі титри інтерферону не зростають, залишаючись практично без змін до 18 години (строк спостереження).

Приклад 2.

З метою перевірки багаторазової дії СРТ після проведення кожної індукції СРТ дворазове відмивався десятикратними об'ємами дистильованої води та знову насичувався тилороном. Результати представлені на фіг.2.

Виходячи із результатів, що представлені на фіг.2 можна зробити висновок, що СРТ, в якості індуктору інтерферону, можна використовувати протягом шести промислових циклів.

Приклад 3.

Пряме порівняння інтерферогенної здатності СРТ проводили по відношенню до відомих стандартних індукторів. Результати зведені в таблицю.

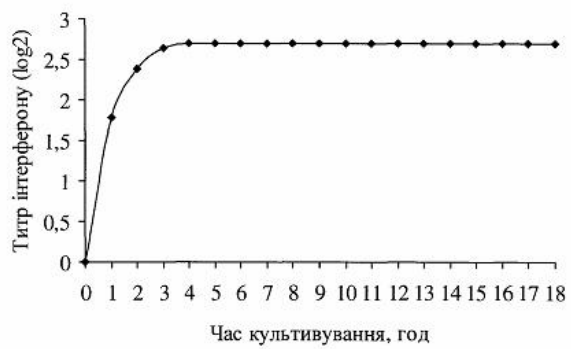
Результати, представлені в таблиці, свідчать, що хоча СРТ індукує меншу, порівняно з стандартними індукторами кількість інтерферону в культурі клітин L41, але сумарна доза інтерферону, отримана протягом шести циклів використання СРТ, значно перевищує кількість інтерферону, отриману під дією стандартних індукторів. Слід відмітити, що доза СРТ, яка вводилася (відносно її нуклеїнового компоненту), практично відповідала дозам стандартних індукторів, в яких, згідно літературним даним, вони виражають оптимальну дію.

Позитивний ефект полягає у тому, що запропонований індуктор може використовуватись протягом декількох промислових циклів, забезпечуючи титри інтерферону на рівні технологічних потреб.

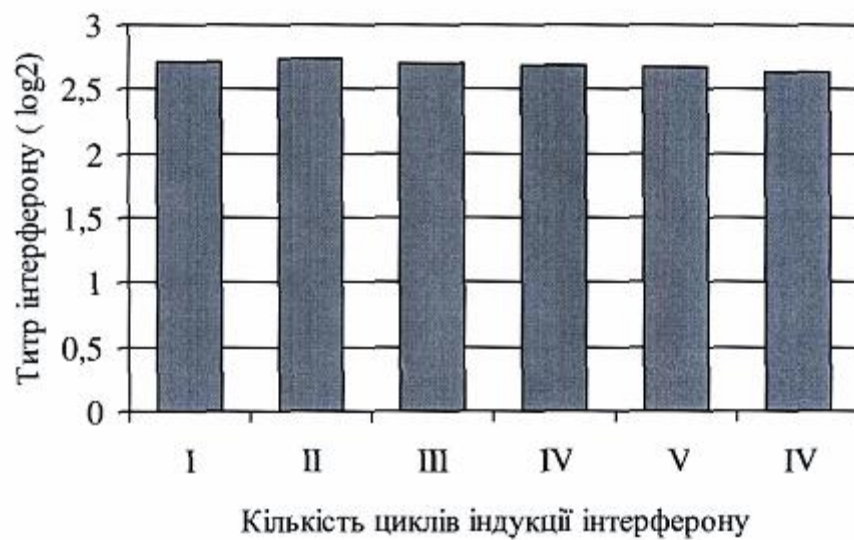
Запропонований індуктор має такі переваги, як простота, технологічність, невелика вартість виготовлення, багаторазовість використання, а також відсутність потреби очистки отриманого матеріалу від вірусів та токсичних речовин.

Таблиця

Індуктор, що вводився	Доза, мкг/10 ⁶ кл	Середній титр (log ₂)	Сумарний титр (log ₂)
Контроль	-	-	-
СРТ (нуклеїновий компонент)	25,0	2,7	16,14
Ридостин	50,0	4,8	4,8
МК	25,0	6,4	6,4



Фіг. 1



Фіг. 2