



УКРАЇНА

(19) (UA)

(11) 70637 A

(51) 7 A61K33/21

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І
НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

Деклараційний патент на винахід

видано відповідно до Закону України
"Про охорону прав на винаходи і корисні моделі"

Голова Державного Департаменту
інтелектуальної власності



М. Паладій

(21) 20031211868

(22) 18.12.2003

(24) 15.10.2004

(46) 15.10.2004. Бюл. № 10

(72) Карпов Олександр Вікторович, Поводзинський Вадим Миколайович, Пенчук Юрій
Миколайович, Жолобак Надія Михайлівна, Верьовка Сергій Вікторович

(73) Національний університет харчових технологій

(54) ІНДУКТОР ІНТЕРФЕРОНУ ПЕРШОГО ТИПУ В КУЛЬТУРАХ КЛІТИН



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 70637

(13) A

(51) 7 A61K38/21

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ІНДУКТОР ІНТЕРФЕРОНУ ПЕРШОГО ТИПУ В КУЛЬТУРАХ КЛІТИН

1

(21) 20031211868
(22) 18.12.2003
(24) 15.10.2004
(46) 15.10.2004, Бюл. № 10, 2004 р.
(72) Карпов Олександр Вікторович, Поводзинський
Вадим Миколайович, Пенчук Юрій Миколайович,
Жолобак Надія Михайлівна, Верьовка Сергій
Вікторович

2

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ
ТЕХНОЛОГІЙ
(57) Індуктор інтерферону першого типу в культу-
рах клітин, що містить тилорон, який
відрізняється тим, що одноланцюгова РНК кова-
лентно зв'язана з нерозчинною поверхнею, яка
являє собою полігліколеві гранули - сферон,
співвідношення тилорону до РНК - 1:10 моль/моль.

Винахід відноситься до біотехнології та фар-
мації і може бути використаний в процесах отри-
мання 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 розчи-
нятися в культуральній рідині, що не дозволяє
використовувати цей індуктор протягом декількох
промислових циклів.

За основу винаходу поставлена задача ство-
рення нового індуктору інтерферонів першого ти-
пу, який може бути використаний в широкомас-
штабному виробництві препаратів інтерферону та
має такі додаткові переваги, як простота, техно-
логічність, невелика вартість виготовлення, бага-
торазовість використання, а також відсутність по-
треби очистки отриманого матеріалу від вірусів та
токсичних речовин.

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

Причинно-наслідковий зв'язок між запропоно-
ваними ознаками і технічним результатом показан-
ий 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
рибостин та комплекс дріжджової РНК з тилоро-
ном, які вносили в культуру, в вигляді розчинів у
згаданому вище буфері, в концентраціях, що за-
безпечують, згідно літературним даним, максима-
льний 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 стандарт-
ною методикою, використовуючи, в якості тесту,
вірус везикулярного стоматиту (ВВС) штам Індіана
в дозі 100 ТЦД₅₀.

Приклад 1.

Пряме порівняння інтерферогенної здат-
ності СРТ проводили в культурах клітин L41. Ре-
зультати на фіг.1.

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

Приклад 2.

З метою перевірки багаторазової дії СРТ після
проведення кожної індукції СРТ дворазове відми-
вання десятикратними об'ємами дистильованої

(13) A

(11) 70637

(19) UA

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 індуктує 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

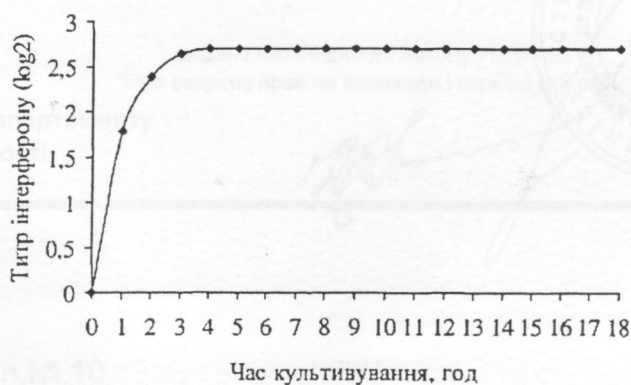
індукторів, в яких, згідно літературним даним, вони виражають оптимальну дію.

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

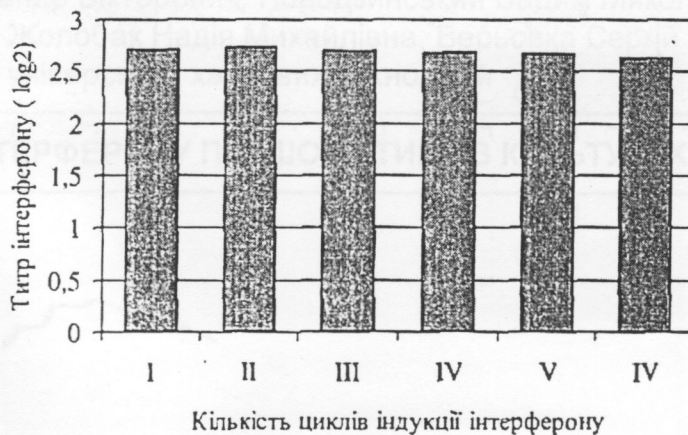
Запропонований індуктор має такі переваги, як простота, технологічність, невелика вартість виготовлення, багаторазовість використання, а також відсутність потреби очистки отриманого матеріалу від вірусів та токсичних речовин.

Таблиця

Індуктор, що вводився	Доза, мкг/10 ⁶ кл	Середній титр (log ₂)	Сумарний титр (log ₂)
Контроль	-	-	-
СРТ (нулеїновий 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