

Запропонована корисна модель відноситься до галузі медицини, а саме до імунології.

Відомий спосіб відтворення імунної відповіді організму шляхом активної імунізації полягає у введенні в організм відповідних антигенів (наприклад, мікробних у складі хімічних вакцин). Такі вакцини складаються з антигенів, отриманих з мікроорганізмів переважно хімічними методами. Як правило хімічні вакцини не є гомогенними, містять домішки окремих органічних сполук або комплексів, що складаються з білків, полісахаридів та ліпідів. Більшість вакцин вводиться підшкірно, [Н.В. Медуніцин. Вакцинологія // Москва : Триада-Х - 1999. - 272с.; А.И. Коротяев, С.А. Бабичев. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология // Санкт-Петербург: Спец Лит - 2000. - 580с.].

Найбільш близьким до запропонованого нами є спосіб відтворення імунної відповіді [Zanetti M., Castiglioni P., Rizzi M., Wheeler M., Gerioni M. B lymphocytes as antigen-presenting cell-based genetic vaccines // Immunol Rev. 2004 Jun; 199:264-78 - The Department of Medicine and Cancer Center, University of California, San Diego, La Jolla, CA 92093-0837, USA], що здійснюють наступним чином:

Спочатку із застосуванням методів генної інженерії отримують плазмиду, яка б містила у своєму складі генетичну послідовність, що несе інформацію про структуру відповідного антигену, та здійснюють генетичне програмування В-лімфоцитів як антигенпрезентуючих клітин вакцини. Для цього беруться зрілі В-лімфоцити і вони спонтанно приймають плазмідну дезоксирибонуклеїнову кислоту (ДНК), в результаті чого виникають трансгенні лімфоцити. Надалі В-лімфоцити перетворюються у антигенпрезентуючі клітини з подвійними характеристиками: вони мають поверхневі регуляторні стимулюючі молекули та ендогенно синтезують антиген. В дослідях, відтворених на мишах, трансгенні В-лімфоцити стимулюють напружену та тривалу стійкість Т-клітин після одноразового внутрішньовенного введення 3×10^2 .

Недоліками відомого способу є:

1) трудомісткість процесу отримання вакцини, що складається з таких етапів: отримання генно-інженерним шляхом плазмиди, що містить у своєму складі відповідну послідовність ДНК; отримання В-лімфоцитів із периферичних лімфоїдних органів пацієнта, якого слід імунізувати; необхідність виготовлення індивідуальної трансгенної вакцини, що являє собою трансгенні В-лімфоцити;

2) спосіб потребує великих затрат робочого часу, використання великої кількості лабораторного посуду та реактивів;

3) вакцина готується для пацієнта індивідуально, що також здорожує її;

4) в результаті імунізації організму трансгенною вакциною може формуватись імунна відповідь не тільки на задані білки, але й на інші, інформація про які входить до складу геному плазмиди, що може мати непередбачувані наслідки;

5) з плазмідами може бути пов'язана онкогенна небезпека;

6) тривала експресія антигена може призвести до імунопатологічних реакцій;

7) експресований антиген може мати побічну біологічну дію.

Ці недоліки способу є причиною затриваного його виконання, а отже, і впровадження в повсякденну роботу, що здійснюється з метою специфічної профілактики та лікування інфекційних та пухлинних захворювань.

В основу корисної моделі поставлене завдання розробити принципово новий спосіб створення активної імунної відповіді на антигени, досягти формування імунної відповіді на антигени без їх безпосереднього введення в організм, що імунізують, розширити спектр антигенів, на які можливо формувати імунну відповідь, зменшити кількість чужорідної субстанції, яку слід вводити в організм, що імунізують.

Поставлене завдання вирішують створенням способу формування імунної відповіді, що включає приготування розчину нуклеїнової кислоти (у фізіологічному розчині) з тих клітин, імунну відповідь на антигени яких слід відтворити, або нуклеїнову послідовність, отриману шляхом проведення полімеразної ланцюгової реакції за умови, якщо генетична послідовність визначена, парентеральне введення даного розчину в організм, що імунізують, який згідно корисної моделі, відрізняється тим, що препарат нуклеїнової кислоти сприймається імунною системою безпосередньо як антиген, але також і як джерело генетичної інформації про структуру речовини, перш за все білкових, характерних для організму, з клітин якого отримано даний препарат і, як наслідок, після введення розчину нуклеїнової кислоти в організм імунна система відповідає як на присутню речовину (нуклеїнову кислоту), так і на ті, що безпосередньо в організм не вводились (наприклад, речовини, що входять до складу цитоплазматичних мембран клітин, з яких було отримано нуклеїнову кислоту).

Спосіб здійснюють наступним чином:

Готують розчин нуклеїнової кислоти у фізіологічному розчині. Препарат слід вводити парентерально, при потребі - декілька разів (аналогічно тому, як відомим способом вводяться білкові антигени: це може бути трьохразове введення з метою вакцинації, а в подальшому - через певні проміжки часу - одноразове введення препарату з метою підтримання та підсилення ефекту - відтворення вторинної імунної відповіді). Наявність імунної відповіді, її характер та напруженість реакції можуть бути проконтрольовані шляхом постановки серологічних реакцій з антигенами, структура яких закодована в нуклеїновій кислоті, що вводилась. Це можуть бути реакції преципітації, аглютинації, зв'язування комплекменту, імуноферментний аналіз, реакція імунофлюоресценції і таке інше.

Запропонований нами спосіб відрізняється від відомого способу відтворення імунної відповіді на антигени наступним:

1) імунізацію з метою отримання імунної відповіді на білкові антигени проводять шляхом введення в організм, що імунізується, розчину нуклеїнових кислот, що містять генетичну інформацію про структуру антигенів, а не безпосередньо білкових субстанцій, на які формується імунна відповідь, чи трансгенних В-лімфоцитів, які мають продукувати ці білкові субстанції, як при використанні способу-прототипу;

2) імунна система організму, що імунізується, отримує сигнал про структуру антигену в інформаційному вигляді, здатна стрийняти таку інформацію та формувати імунну відповідь на отриманий сигнал, а не знайомитись із просторовою структурою антигену за принципом компліментарності (ключ-замок), як при використанні способу-прототипу;

3) зменшується у порівнянні із способом-прототипом ймовірність алергічних реакцій реагінового типу у

відповідь на введення зазначеної речовини у порівнянні із введенням білкових субстанцій, як це передбачено у способі-прототипу.

Приклад

Необхідно отримати імунну відповідь організму щурів лінії Wistar на поверхневі мембранні структури курячих еритроцитів. Готують розчин ДНК з курячих еритроцитів та вводять його підшкірно в організм щурів у кількості 0,1нг/г ваги тварини двічі на тиждень протягом місяця. Через місяць після цього додатково одноразово вводять розчин ДНК у тій самій кількості. Сироватку для контролю титру антитіл забирають через півтора місяці від початку імунізації, а також через тиждень після останнього введення антигену. Контролюють результат шляхом постановки серологічних реакцій: реакції гемаглютинації з курячими еритроцитами у якості антигена, а також реакції непрямой, або пасивной гемаглютинації, де додатково застосовується ще анти-щуряча антивидова сироватка, отримана шляхом імунізації сирійських ховрашків сироваткою крові щурів. За умов постановки такого досліду титри цих реакцій становитимуть відповідно:

Сироватка	Реакція	Титр
Сироватка інтактних тварини	РГА	1:640
	РНГА	1:1280
Сироватка тварин, взята через 1,5 місяці від початку імунізації	РГА	1:40
	РНГА	1:640
Сироватка тварин, взята за тиждень після останнього введення антигену	РГА	0
	РНГА	1:320

Такі результати поставлених серологічних реакцій розцінюються авторами як такі, що свідчать про зниження титру макроглобулінів від 1:640 до 0, а також зростання титру Ig G від низьких (їх коректне визначення в даний момент неможливе застосованими методами, так як їх титр екранується певною мірою реакцією гемаглютинації) до 1:320.

Висновок: виходячи з вищевказаного, позитивний ефект від використання запропонованого нами способу відтворення імунної відповіді полягає у застосуванні білкових структур для імунізації не у натуральному вигляді, а у стані інформації про структуру цих білків, закодованій у нуклеїновій кислоті, це відкриває можливість розробки методів профілактики інфекційних захворювань, що на сьогоднішній день не розроблені (наприклад, профілактики СНІДу), лікування інфекційних захворювань (зокрема з хронічним перебігом).