1. Iнтерферон

.1 Загальна характеристика інтерферону

Інтерферон, точніше інтерферони, ─ глікопротеїди з молекулярною масою від 12 до 160 кДа, що володіють широким спектром біологічної активності: придушення репродукції вірусів; участь у регуляції імунологічних реакцій; мають радіозащитну дію, придушення розмноження пухлинних клітин і інші ефекти. "Багатоликість" інтерферонів дозволяє віднести їх до біорегуляторів.

Інтерферон виробляється клітинами тільки під впливом зовнішнього стимулу. Індукцію інтерферону можливо здійснити в клітинах різних видів тварин, починаючи з риб і кінчаючи ссавцями. При багатьох вірусних захворюваннях інтерферон знаходять у різних клінічних матеріалах: у виділеннях з носа, крові, в сечі хворих на грип, парагрип, при аденовірусній, респіраторно-синцитіальних інфекціях; в сльозах при пікорнавірусному епідемічному кон’юнктивіті; в крові при вірусному гепатиті В; в спинномозковій рідині хворих асептичним менінгітом ентеровірусної та паротитної етіології. Інтерферон є як би "побічним продуктом" вірусної інфекції, і йому приписують важливу роль в її обмеженні.

Інтерферони (IFN) - клас білків, що виділяються клітинами організмів більшості хребетних тварин у відповідь на вторгнення інородних агентів, таких як віруси, деякі інші паразити та ракові білки. Завдяки інтерферонам клітини стають несприйнятливими по відношенню до цих агентів. Механізм дії інтерферонів полягає у викликанні каскаду реакцій, що приводять до руйнування дволанцюжкових РНК та деяких інших молекул.

Інтерферони людини підрозділяють на групи залежно від типу клітин, в яких вони утворюються: α, β, γ і т. д. α-інтерферони включають кілька видів білків з молекулярною масою близько 20 000 Да. За типом рецепторів, через які відбувається сигнальна дія інтерферонів, інтерферони поділяють на типи I (IFN-α, IFN-β, IFN-ω), II (IFN-γ) і III (IFNLR1, IL10R2).

1.2 Історія відкриття інтерферону

Відкриття інтерферону починалося з вивчення відомого у вірусології явища інтерференції. Англійський вчений А. Айзекс і його помічник Дж. Лінденман в 1957 році, вводячи в курячі ембріони інактивований УФ-променями вірус грипу, виявили в аллантоісній рідині інгібітор, який володів широким спектром противірусної дії і придушував репродукцію різних РНК-геномних і ДНК-геномних вірусів. Вони показали, що інгібітор є білком, і назвали його інтерфероном.

За півстоліття з моменту відкриття інтерферону проведено величезну кількість досліджень його фізико-хімічних властивостей, механізмів утворення клітиною і противірусної, і непротівовірусногї дії, методів отримання та практичного застосування для профілактики вірусних хвороб людей і тварин. Тим часом інтерес до інтерферону як фактору противірусного імунітету і противірусного препарату не згасає і в даний час.

У культурі клітин інтерферон синтезують клітини самого різного типу, але особливо хорошими продуцентами його є лейкоцити крові. Ця обставина лягла в основу виробництва людського лейкоцитарного інтерферону. Перша вітчизняна лабораторія з виробництва лейкоцитарного інтерферону була організована з ініціативи академіків В.Д. Соловйова та З.В. Єрмольєвої в Москві в 1968 році. Для синтезу інтерферону використовувалася лейкоцитарна маса, одержувана зі станцій переливання крові.

У клітинах продукція інтерферону і формування противірусної резистентності знаходяться під жорстким генетичним контролем. Гени для утворення інтерферону локалізовані в 5, 9 і 13 хромосомах людини, а для дії ─ в 16 і 21 хромосомах. Втрата, наприклад, 21 хромосоми призводить до нечутливості клітин до інтерферону.

Вперше в 1975 році з фібробластів людини вдалося екстрагувати інтерферонову інформаційну РНК і в безклітинної рибосомальної системі відтворити її трансляцію з утворенням людського інтерферону з молекулярною масою 25 кДа. Пізніше було продемонстровано здатність клітин бактерій (E. coli) транслювати інтерферонову іРНК, отриману з кісткового мозку людини.

Результати цих досліджень з’явилися передумовою для експериментів по зворотній транскрипції інтерферонової іРНК (за допомогою ферменту зворотної транскриптази) для отримання генів інтерферону людини. І в 1981 році М. Едж із співробітниками Лейчестерського університету у Великобританії синтезував ген лейкоцитарного інтерферону людини, який ідентичний гену, що міститься в клітинах організму. А роком пізніше (1982 р.) бактеріальний інтерферон методом генної інженерії було синтезовано і в нашій країні. В даний час учені синтезували ДНК-гени всіх трьох антигенних різновидів інтерферону людини і деяких видів тварин. За допомогою методів генної інженерії здійснена успішна пересадка отриманих генів у кишкову паличку і дріжджові клітини. Таким чином були отримані нові клітини-продуценти людського інтерферону. Конструюванням бактерій, які продукують інтерферон, давно займаються вітчизняні вчені Інституту біоорганічної хімії, НДІ епідеміології та мікробіології ім. Н.Ф. Гамалії та Інституту вірусології ім. Д.І. Іванівського.

Інтерферон не проникає в клітину, а активує її до формування противірусної резистентності непрямим шляхом, взаємодіючи з рецепторами на клітинній поверхні. Хромосома 21 є носієм гена, в якому закодований синтез інтерферонову рецепторів. Рецептори дозволяють клітині розпізнати інтерферон і передати сигнал про його присутність іншим структурам, які повинні на цей сигнал прореагувати. Взаємодія інтерферону з рецептором супроводжується зміною конформації останнього, а це є необхідним етапом для подальшої передачі інформації в клітині та формування антивірусного стану.

Важливо відзначити, що пріоритет використання інтерферону як противірусного препарату належить вітчизняним ученим. Так, в 1968 ─ 1969 рр.. з ініціативи В.Д. Соловйова людський лейкоцитарний інтерферон був вперше з успіхом використаний для масової профілактики гонконгського грипу, пізніше ─ для лікування грипу А у вигляді аерозолю в перші два дні хвороби. Ефективним виявилося профілактичне застосування інтерферону серед дітей дошкільних установ в період спалахів грипу А. Інтраназальне введення препарату, якщо не попереджало інфікування вірусом, то завжди пом’якшувало протікання викликаного їм захворювання. Інтерферон виявився дуже ефективним засобом для профілактики і лікування риновірусні інфекцій при частому закапуванні в ніс.

Роком пізніше (1970 р.) З.В. Ермольева із співробітниками успішно застосувала інтерферон для лікування герпетичного кератиту та оперізувального лишаю. У подальшому інтерферон знайшов широке застосування при герпетичної інфекції різної локалізації у вигляді крапель, мазі, ін’єкцій. Є окремі повідомлення про вираженому терапевтичному ефекті інтерферону при цитомегаловірусної інфекції, вродженої краснухи, гепатиті В. Широке застосування інтерферону для профілактики і лікування вірусних інфекцій вимагає розширення виробництва препаратів людського походження. У цьому відношенні великі надії покладаються на отримання генноінженерних препаратів людського інтерферону.

2. Технологія виробництва інтерферону. Основні недоліки, які виникають при виробництві

Відомі способи отримання лейкоцитарного інтерферону людини з лейкоцитів донорської крові людини, індукованих вірусами та іншими індукторами.

Основним недоліком цих способів отримання інтерферонів є ймовірність контамінації кінцевого продукту вірусами людини, такими як вірус гепатитів В і С, вірусу імунодефіциту та ін.

В даний час більш перспективним визнаний спосіб отримання інтерферону мікробіологічним синтезом, який забезпечує можливість отримання цільового продукту зі значно більш високим виходом з порівняно недорогого вихідної сировини. Використовувані при цьому підходи дозволяють створити оптимальні для бактеріальної експресії варіанти структурного гена, а також регуляторних елементів, контролюючих його експресію.

У якості вихідних мікроорганізмів використовують різні конструкції штамів Pichia pastoris, Pseudomonas putida і Escherichia coli. Недоліком використання P. pastoris в якості продуцента інтерферону, є вкрай складні умови ферментації цього типу дріжджів, необхідність суворо підтримувати концентрацію індуктора, зокрема метанолу, в процесі біосинтезу.

Недоліком використання штамів Ps. putida є складність процесу ферментації при низькому рівні експресії (10 мг інтерферону на 1 л культурального середовища). Більш продуктивним є використання штамів Escherichia coli.

Відомо велика кількість плазмід та створених на їх основі штамів Е. coli, експресують інтерферон: штами Е. coli ATCC 31633 і 31644 з плазмідами Z-pBR322 (Psti) HclF-11-206 або Z-pBR 322 (Pstl) / HclN SN 35 -AHL6 (SU 1764515), штам Е. coli pINF-AP2 (SU 1312961), штам Е. coli pINF-F-Pa (AU 1312962), штам E. Coli SG 20050 з плазмидой p280/21FN (Кравченко В.В. та ін Біоорганічна хімія, 1987, т.13, № 9, с.1186-1193), штам E. Coli SG 20050 з плазмидой pINF14 (SU 1703691), штам E.coli SG 20050 з плазмидой pINF16 (RU 2054041) і др. Недоліком технологій, заснованих на використанні цих штамів, є їх нестабільність, а також недостатній рівень експресії інтерферону.

Поряд з особливостями використовуваних штамів ефективність процесу багато в чому залежить від використовуваної технології виділення і очищення інтерферону.

Відомий спосіб отримання інтерферону, що включає в себе культивування клітин Ps. putida, руйнування біомаси, обробку поліетиленіміну, фракціонування сірчанокислим амонієм, гідрофобну хроматографію на фенілсілохроме С-80, рН-фракціонування лізата, його концентрування і діафільтрація, іонообмінну хроматографію на целюлозі DE-52, елюювання в градієнті рН, іонообмінну хроматографію отриманого елюента на целюлозі СМ -52, концентрування пропусканням через касету фільтрів і гель-фільтрацію на сефадекса G-100 (SU 1640996). Недоліком цього способу крім складної багатостадійної ферментації є багатостадійність при отриманні кінцевого продукту.

Відомий також спосіб отримання інтерферону, що включає в себе культивування штаму E.coli SG 20050/pIF16, в LB-бульйоні в колбах в термостатированной шейкері, центрифугування біомаси, її промивання буферним розчином і обробку ультразвуком для руйнування клітин. Отриманий лізат центрифугують, промивають 3М розчином сечовини в буфері, розчиняють в розчині гуанидін хлориду в буфері, обробляють ультразвуком, центрифугують, проводять окислювальний сульфітоліз, діаліз проти 8 М сечовини, ренатурацією і остаточну двостадійну хроматографію на СМ-52 целюлозі і сефадексі G-50 (RU 2054041).

Недоліками цього способу є його відносно невисока продуктивність основних етапів процесу виділення та очищення. Особливо це відноситься до ультразвукової обробки продукту, діалізу і окислювальному сульфітолізу, що призводить до нестабільності виходу інтерферону, а також до неможливості використання цього методу для промислового виробництва інтерферону. Як найбільш близького аналога (прототипу) може бути зазначений спосіб отримання лейкоцитарного інтерферону людини, що полягає в культивуванні рекомбінантного штаму E.coli, заморожування отриманої біомаси при температурі не вище -70°С, розморожування, руйнуванні клітин мікроорганізму лізоцимом, видаленні ДНК і РНК введенням в лізат ДНК-ази та очищенням виділеної нерозчинної форми інтерферону відмиванням буферним розчином з детергентами, розчиненні осаду інтерферону в розчині гуанидин гідрохлориду, ренатурації і одностадійної очищенню іонообмінної хроматографією. Як продуцент використовують штам E.coli SS5, отриманий за допомогою рекомбінантної плазміди pSS5, яка містить три промотора: Plac, Pt7 і Ptrp, і ген альфа-інтерферону з введеними нуклеотидними замінами.

Експресія інтерферону штамом E.coli SS5, що містить цю плазміду, контролюється трьома промоторами: Plac, Pt7 і Ptrp. Рівень експресії інтерферону складає близько 800 мг на 1 л клітинної суспензії. Недоліком способу є низька технологічність використання ферментативного руйнування клітин, ДНК і РНК мікроорганізму і одностадійна хроматографічна очищення інтерферону. Це обумовлює нестабільність процесу виділення інтерферону, призводить до зниження його якості та обмежує можливість використання наведеної схеми для промислового виробництва інтерферону.

Недоліками даної плазміди і штаму на її основі є використання в плазміді сильного нерегульованого промотора фага Т7 в штамі Є. coli BL21 (DE3), в якому ген Т7 РНК полімерази знаходиться під промотором lac оперона і який завжди "тече". Отже, в клітці безперервно відбувається синтез інтерферону, що призводить до дисоціації плазміди і зниження життєздатності клітин штаму, і в результаті - зниження виходу інтерферону. Для отримання великих кількостей ІФН використовують шестиденні одношарові культури клітин курячого ембріона або культивовані лейкоцити крові людини, заражені певним видом вірусу. Іншими словами, для отримання ІФН створюють певну систему вірус-клітина.

З клітки людини ізольований ген, відповідальний за біосинтез ІФН. Екзогенний людський ІФН отримують, використовуючи технологію рекомбінантних ДНК. Процедура виділення кДНК ІФН-ів полягає в наступному:

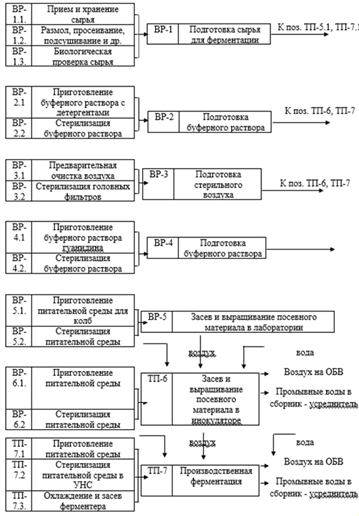
1) З лейкоцитів людини виділяють мРНК, фракціонують її за розмірами, проводять зворотну транскрипцію, вбудовують в сайт модифікованої плазміди.

2) Отриманим продуктом трансформують Є. соli; утворилися клони, які підрозділяють на групи, потім ідентифікують.

) Кожну групу клонів гібридизують з ІФН - мРНК.

4) З утворених гібридів, які містять кДНК і хРНК, виділяють мРНК, проводять її трансляцію в системі синтезу білка [4].

5) Визначають інтерферону противірусну активність кожної суміші, отриманої в результаті трансляції. Групи, що проявили інтерферону активність, містять клон з кДНК, гібридизувати з ІФН - мРНК; повторно ідентифікують клон, що містить повнорозмірну ІФН - кДНК людини.



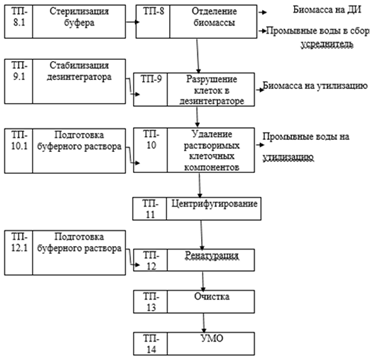


Рисунок 1. Схема виробництва інтерферону.

3. Основне обладнання для виробництва інтерферону

.1 Реактор-змішувач

# Основним технологічним обладнанням являється реактор-змішувач , в якому безпосередньо і відбувається приготування розчину . Схема реактора-змішувача представлена на рисунку 2.

# Технічна характеристика реактора:

Апарат призначено для перемішування, нагрівання та охолодження суміші

1. Об’єм апарату, м3 1;

. Частота обертання вала мішалки, об/хв. 75;

4. Потужність електродвигуна, кВт 1;

. Коефіцієнт заповнення 0,8;

. Площа поверхні теплообміну рубашки, м2 4,4;

. Робочий тиск, МПа

в корпусі 0,1;

в рубашці: 0,1 - 0,3;

. Температура середовища, °С

в корпусі: 20 - 80;

в рубашці: 10 - 130;

9. Маса апарату без привода, кг 430;

. Габаритні розміри, мм

висота 1350;

діаметр 1104;

11. Виробник "Дезхімобладнання", м. Пенза.

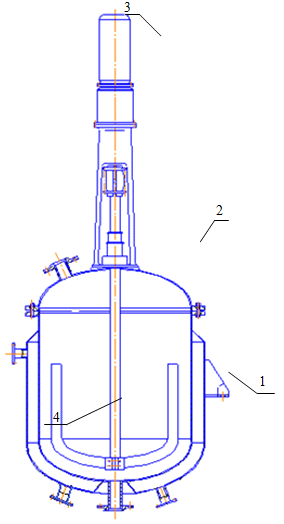


Рисунок 3.2. Схема реактора-змішувача:

1 - корпус; 2 - кришка; 3 - привід; 4 - перемішуючий пристрій.

.2 Освітлююча центрифуга

інтерферон глікопротеїд реактор центрифуга

Центрифуга являє собою освітлюючу, вертикальну, трубчасту машину з ручним вивантаженням осаду.

Центрифуга призначена для освітлення суспензій методом осадження частинок під дією відцентрових сил.

У центрифузі можуть оброблятися суспензії з тонкодисперсної твердою фазою, із вмістом частинок до 1% і ставленням питомих ваг твердої і рідкої фаз не менше 1,1.

**Технічні дані**

Найбільший внутрішній діаметр ротора - 105 мм.

Робоча висота ротора - 745 мм

Робочий об'єм ротора - 6 л.

максимальне завантаження - 7.7 кг

Частота обертання ротора - максимальна - 17 000 +325

- робоча - 15000 +400

Фактор поділу - максимальний - 16800

робітник - 13200

Електродвигун приводу - потужність - 3 кВт

напруга - 220/380 В

Габаритні розміри центрифуги з електродвигуном

довжина - 970 мм

ширина - 470 мм

висота - 1830 мм

Маса центрифуги з електродвигуном - 355 кг

**Робота виробу**

Основним робочим органом центрифуги є ротор освітлення і, відповідно, ротор сепарації трубчастої форми, розташований вертикально.

Обертання ротору передається від шківа електродвигуна, за допомогою плоскопасової передачі через шків верхньої опори, з'єднаний з допомогою гайки з пружним елементом, муфтою і гнучким валом (веретеном), на якому підвішений ротор.

Нижня опора являє собою підшипник ковзання. Осьових навантажень вона не сприймає, а тільки пружно обмежує відхилення ротора в радіальних напрямках при розгоні і зупинці ротора.

Для збільшення кута обхвату в пасової передачі служить механізм натягу ременя.

Станина є остовом, на якому кріпляться всі вузли центрифуги.

Ротор розташований в порожнині, яка охоплюється секціями холодильників, які в свою чергу, укладені між передніми і задніми кожухами, причому сусідній кожух з'єднаний із заднім шарнірно і ущільнений прокладкою. Оброблюваний продукт надходить в ротор по живильної трубі і порожнисту нижню кришку ротора. Далі через отвори в клапані або вікно в розсікачі проходить в ротор і відцентровою силою відкидає його до стінок, розподіляючись циліндричним шаром. Циліндричний шар накопичується в роторі до тих пір, поки його внутрішня поверхня не досягне рівня вихідних отворів верхньої кришки, розташованих на певній діаметрі по колу. Подальше надходження продукту в ротор викликає безперервний слив освітленого фугату у вихідні отвори і постійне переміщення знову надходить суспензії в напрямку зливу, що супроводжується виділенням з нього твердих частинок. Пройшовши вихідні отвори ротора рідка фаза (фугат) потрапляє в зливну тарілку, а потім в приймальний кишеню, звідки виводитися з центрифуги. Ступінь освітлення проходить по ротору суспензії залежить від швидкості її течії по ротору. Чим менше швидкість течії, тим довше перебувати суспензія під дією відцентрових сил і тим повніше здійснюється процес відстоювання. Осад твердих частинок, що накопичуються на глухий стінці ротора, повинен періодично віддалятися, для чого ротор необхідно зупинити і піддати чищенню в спеціальному пристосуванні, яким комплектується центрифуга.

**Технічне обслуговування**

1. Технічний огляд проводитися рідше одного разу на тиждень. У процесі огляду проводитися підтяжка всіх різьбових з'єднань, особлива увага звертається на деталі ротора, приводу, верхньої та нижньої опори, деталі гальма.

. При чищенні ротора необхідно контролювати стан поверхні нижнього підшипника (вкладиша) відсутність зазорів.

. При розбиранні центрифуги необхідно стежити за тим, щоб на сполучених деталях були ризики, за якими проводитиметься збірка.

. Демонтаж натяжної ролика проводитися разом з віссю. Розбирання ролика не представляє особливої ​​складності.

. Посадочні поверхні повинні бути чистими, без подряпин і зазорів.

. Розбирання верхньої, нижньої опори і натяжної ролика повинна проводитись на столі в приміщенні, де відсутня пил і вплив агресивних середовищ.

**Вказівка ​​заходів безпеки**

1. Центрифуга вимагає особливої ​​уваги в дотриманні правил техніки безпеки. До обслуговування центрифуги повинен бути допущений персонал, ознайомлений з цією інструкцією і минулий спеціальний інструктаж з техніки безпеки.

. Необхідно мати на увазі наступне:

· У приміщенні де встановлюється центрифуга повинні бути передбачені вільні проходи 1,5 - 2 м., для безпечного обслуговування центрифуг

· Монтаж і демонтаж центрифуги з використанням вантажопідіймальних механізмів, повинні проводитися робочими мають посвідчення на право роботи на вантажопідіймальних механізмах.

· Всі рухомі частини центрифуги повинні бути закриті захисними кожухами і огорожами, передбаченими конструкціями.

· Перед введенням центрифуги в експлуатацію необхідно перевірити якість заземлення у відповідності з діючими "правил улаштування електроустановок".

· Робочий одяг обслуговуючого персоналу не повинна мати розвиваються решт, волосся повинні бути прибрані під головний убір або косинку.

· Пуск центрифуги після монтажу повинна провадити особа інженерно-технічного персоналу, відповідального за монтаж і підготовку центрифуги до пуску.

· Працююча центрифуга не повинна бути залишена без періодичного контролю обслуговуючого персоналу.

· При виявленні несправностей, виникненні сторонніх шумів, а так само в разі обриву ременя, веретена та інших аварійних ситуаціях центрифуга повинна бути негайно зупинена відключенням електродвигуна приводу, а ротор зупинений гальмом.

· Ремонтні роботи повинні проводитися при зупиненій центрифузі, відключених живлять технологічних трубопроводах і повністю знятій напрузі.

· На працюючої центрифузі забороняється проводити будь-які ремонтні та регулювальні роботи, знімати огородження, відкривати кожух передній центрифуги.

· Всі операції з приладами і електропроводкою проводити при знеструмленій магістралі і в присутності особи, відповідальної за техніку безпеки.

. Категорично забороняється:

· Обслуговувати центрифуги випадковим особам ;

· Здійснювати пуск центрифуги з ротором, на стінках якого матися залишок продукту від попередньої роботи ;

· Працювати при підвищеної вібрації центрифуги ;

· Для складання або розбирання центрифуги користуватися випадковим, не призначеним для цієї мети інструментом або пристосуваннями ;

· Включати центрифугу без змащення ;

· Працювати на центрифузі без стопоріння кріпильних чи інших деталей, передбачених кресленнями і технічними вимогами ;

· Застосовувати для змащення масло, не передбачене інструкцією

· Зупиняти ротор сторонніми предметами ;

· Виробляти підтяжку ременя і регулювання натяжної ролика на ходу машини ;

**Порядок роботи**

1. Натисканням кнопки "Пуск" вироблятися пуск електродвигуна приводу центрифуги

. По досягненні ротором робочої швидкості обертання (через 60 секунд) в центрифугу можна подавати продукт

. Для цього необхідно:

• Відкрити вентилі на комунікації відводу продукту ;

• Плавно відкривати вентиль на трубопроводі харчування, щоб величина подачі товару не викликала переповнення ротора.

Необхідно мати на увазі, що оброблюваний продукт повинен вводитися під напором, який забезпечує стійкий стан струменя до зустрічі її з розсікачем вставки.

Витрата подається в центрифугу продукту визначається перетином живильної форсунки, комплект з яких поставляється з центрифугою. Необхідна форсунка підбирається досвідченим шляхом.

. В процесі експлуатації необхідно стежити за тим, щоб:

• Нагрів корпусу верхньої опори і натяжної ролика не перевищував 70 ° С. Контрольний замір виробляти раз на зміну ;

• Кількість подається змащення в верхню опору було в межах 1-2 крапель на хвилину, в нижню 5-10 крапель ;

• Продукт не переливалася через кишеню (спостерігати в оглядові вікна і за покажчиками рівня продукту в кишені)

• Чи не виникла вібрація або періодичні різкі звуки, в разі чого необхідно зупинити машину і піддати огляду.

. В процесі експлуатації необхідно не рідше одного разу на тиждень проводити ретельну промивку зливний тарілки і приймальної кишені.

. Зупинку центрифуги необхідно проводити в наступній послідовності:

• Припинити подачу суспензії в ротор ;

• Якщо необхідна промивка, то промити ротор ;

• Відключити електродвигун приводу натисканням кнопки "Стоп";

• Після повної зупинки відкрити кожух передній ;

• Загорнути притискну втулку нижньої різьбленням в корпус верхньої опори, підняти веретено рухом вгору ;

• Вийняти тарілку з кришкою ;

• Вийняти ротор для чистки ;

• Промити при необхідності тарілку, кишеню, донну частину корпусу;

• Збірка проводитися в зворотному порядку;

. Якщо в процесі зупинки виникла необхідність використовувати гальмо, то перед тим, як відкрити кожух передній, ротор растормаживается. Гальмувати треба плавно - різке гальмування може викликати поломку веретена, вихід з ладу гумової муфти і вкладиша нижньої опори. Мінімальний час гальмування - 2 хвилини.

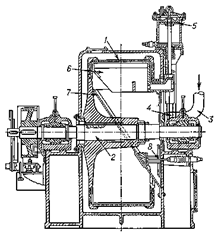


Рисунок. 3. Схема ротора осветляючої центрифуги: 1 - подача суспензії; 2 - відвід фугата; 3 - осад.

4. Механізм дії інтерферону

Найбільш вивченою властивістю інтерферону є його здатність перешкоджати розмноженню вірусів. Він утворюється в клітинах ссавців і птахів у відповідь на вірусну інфекцію.

Інтерферон - це активний противірусний агент, що характерний для більшості типів клітин і діє більшою чи меншою мірою проти більшості вірусів.

При зараженні клітини вірус починає реплікувати свій геном всередині клітини та розмножуватися, вбиваючи клітину. Клітина-хазяїн при зараженні вірусом починає продукцію інтерферону, який виходить з клітини і вступає в контакт з сусідніми клітинами, роблячи їх несприйнятливими до вірусу. Він діє, запускаючи ланцюг подій, що приводять до придушення синтезу вірусних білків, і в деяких випадках збірки і виходу вірусних частинок (шляхом активації олігоаденілатциклази).

Таким чином, інтерферон не володіє прямою противірусною дією, але викликає такі зміни в клітині, які перешкоджають розмноженню вірусу. Утворення інтерферону можуть стимулювати не тільки інтактні віруси, але і різні інші агенти, наприклад деякі інактивовані віруси, дволанцюжкові молекули РНК, синтетичні дволанцюжкові олігонуклеотиди і бактеріальні ендотоксини.

Механізм дії інтерферонів наочно представлений тут . Біологічна активність інтерферону дуже висока. У мишиного інтерферону вона становить 2 х 109 од./мг., одна одиниця означає зниження утворення сприйнятливих вірусів приблизно на 50%. Це означає, що достатньо однієї молекули інтерферону, щоб зробити клітину резистентною до вірусної інфекції.

Інтерферон викликає і цілий ряд інших біологічних ефектів, зокрема пригнічує розмноження клітин. В певних умовах він може перешкоджати розвитку раку. Встановлено також, що інтерферон діє на імунну систему і викликає зміну клітинних мембран. Побічною дією інтерферонів можуть бути деякі симптоми, притаманні для інфекційних хвороб - підвищення температури та відчуття ломки м'язів.

В результаті дії інтерферонів вірусам потрібно освоїти методи, що надають їм можливість розмножуватися за умовами дії інтерферонів. Ці методи включають блокування передачі сигналів, що приводять до синтезу інтерферону і блокування функцій активованих інтерферонами білків. Часто віруси застосовують кілька з цих механізмів одночасно.

Розробка методів отримання лейкоцитарного і рекомбінантного інтерферону в препаративних кількостях, а також високоефективних методів їх очищення відкрила можливість застосування цих препаратів в лікуванні вірусних гепатитів. В наш часвипускаються комерційні препарати: людський лейкоцитарний, лімфобластний "Велферон" (Wellferon), фібробластний (Ферон); інтерферон і інтерферони, отримані генно-інженерними методами: рекомбінантні альфа-(Роферон, Реальдерон та інші), бета- і гамма-інтерферон (Гаммаферон).

5. Терапевтичне застосування інтерферонів

Розрізняють два покоління препаратів інтерферону. Для першого покоління характерне натуральне походження, при якому його отримують з крові донорів. З нього отримують інтерферон лейкоцитарний людський сухий, який застосовують для інгаляцій і закапування у носові проходи. Також виробляють інтерферон в свічках, очищений концентрований інтерферон в сухому вигляді і Лейкінферон.

Цей метод отримання препаратів на основі інтерферону є досить дорогим і малодоступним, тому в кінці 20 століття за допомогою генної інженерії були створені препарати інтерферону другого покоління.

Таким чином, вдалося розробити препарати Віферон, Інтераль та інші, що містять в собі рекомбінантний людський інтерферон альфа-

По причині своїх унікальних властивостей препарати інтерферону застосовують при лікуванні та профілактики всіх респіраторних захворювань, більшості онкозахворювань, для лікування багатьох вірусних захворювань і грипу. Препарати інтерферону широко застосовуються в лікуванні гепатиту В і С: інтерферон обмежує розвиток вірусу, перешкоджає виникненню цирозу і виключає смертельний результат.

У деяких препаратів інтерферону є побічні ефекти, наприклад, шкірні висипання, алергії і захворювання кровотворної системи.

При тривалому прийомі інтерферону в організмі виробляються антитіла до інтерферону, що робить його нездатним до боротьби з вірусами. Причина цих явищ криється в наявності альбуміну в препаратах на основі інтерферону.

Висновок

Розробка методів отримання лейкоцитарного і рекомбінантного інтерферону в препаративних кількостях, а також високоефективних методів їх очищення відкрила можливість застосування цих препаратів в лікуванні вірусних гепатитів.

В даний Тоді як у нас в країні, так і за кордоном випускаються комерційні препарати: людський лейкоцитарний, лімфобластний В"ВелферонВ" (Wellferon), фібробластний (Ферон); інтерферон і інтерферони, отримані генно-інженерними методами: рекомбінантні альфа-(Роферон, Реальдерон та інші), бета-і гамма-інтерферон (Гаммаферон) [3].

Головним з ІНФ є ІФН.

ІФН - ключовий медіатор активації системи природної цитотоксичності, регулює процес диференціювання природних кілерних клітин і їх цитотоксичну взаємодія з клітинами-мішенями, стимулює цитотоксичні та регуляторні функції макрофагів, активує цито-токсичні лімфоцити.

Під дією ІФН підвищується продукція цитокінів, таких, як інтерлейкін-1, інтерлейкін-2, інтерлейкін-12, ІФНОІ, і фактора некрозу пухлин-О±.

Список літератури

1. www.antibiotic.ru/ab/brviri.shtml

2. www.interferon.su/php/content.php?id=71

3. www.pharmvestnik.ru

. Тимчасова фармакопейна стаття 42У-23/60-439-97. Інтерферон людський рекомбінантний альфа-два.

5. Гавріков А.В. Оптимізація біотехнологічного виробництва субстанцій рекомбінантних інтерферонів людини. - М., 2003

. Глік Б., Пастернак Дж. Молекулярна біотехнологія/Б.Глік, Дж. Пастернак. - М., Мир, 2002.

. Державна Фармакопея СРСР. ХI вид., Вип.1...

8. Техническая документация. Центрифуга ОТР-102К-01.

9. Соколов В.Н., Яблокова М.А. Аппаратура микробиологической промышленности.- Л.: Машиностроение, 1988.-278с.

10. Касаткин А.Г. Основные процессы и аппараты химической технологи / МГУ - М.: "Химия", 1973 - 752 с. Библиогр.: с. 750 - 752.

. Батунер Л.М. Процессы и аппараты органического синтеза и биохимической технологи / ЛЭТИ М.-Л., 1966 - 511 с. Библиогр.: с. 485 - 520.