

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДУЛИРОВАННЫХ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОЛН В ПРОЦЕССЕ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕЙКОЦИТАРНОГО ИНТЕРФЕРОНА

А.А. Олешкевич

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

Возможность применения непрерывного ультразвука (УЗ) в процессе суспензионного биосинтеза была доказана ранее и защищена Авторским свидетельством [1]. Целью настоящей работы являлось нахождение оптимальных режимов акустического воздействия при использовании модулированных ультразвуковых волн в процессе получения лейкоцитарного интерферона (ИФН).

Для стимуляции интерфероногенеза, а именно – выхода лейкоинферона с помощью обработки УЗ суспензии лейкоцитов, использовали разработанную нами ранее методику [2], дополненную использованием амплитудно-модулированного УЗ (синусоидальная модуляция с глубиной модуляции 100 %, модулирующие генераторы ГЗ-112 и ГЗ-110, несущая частота 0.88 МГц и 2,64 МГц, непрерывный и импульсный режим). При выборе оптимальных режимов акустического воздействия в течение 1–5 мин инсонировали «отработанные» лейкоциты с целью их повторного использования для продукции ИФН. Объем обрабатываемой суспензии 8–10 мл содержал 6×10^6 кл/см³. Время воздействия варьировали от 3 с до 300 с. Значение усреднённой по пространству интенсивности излучения УЗ составляло 0.01–2.0 Вт/см². Опытные и контрольные образцы помещали в колбы со средой для биосинтеза. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Достоверность различий средних значений определяли, используя парный t-критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Было выявлено, что режимы иницирующего интерфероногенез облучения во многом зависят от исходного состояния лейкоцитов и их активности. Для клеток, однократно использованных при суспензионном биосинтезе («отработанных»), и лейкоцитов с низкой исходной активностью [1] стимулирующими были интенсивности 0.05–0.7 Вт/см² при времени экспозиции от 30 с до 3 мин (табл. 1). На клетках крови разных видов животных нами были определены режимы направленного акустического воздействия на отдельные виды клеток крови и на клеточные структуры: цитоплазматическую мембрану, гранулы и цитоплазматические включения, ядра. В связи с этим, с целью стимуляции выхода ИФН, был апробирован диапазон режима ультразвука, способный одновременно действовать направленно как на отдельные клетки в суспензии в целом, так и на цитоплазматическую мембрану, в частности: интенсивность 0,05–0,7 Вт/см², частота модуляции 800–1000 Гц и время экспозиции 15 с – 3 мин. В результате были установлены режимы стимуляции выхода ИФН при суспензионном биосинтезе, позволяющий значительно (в 20 раз) повысить выход ИФН (табл. 2).

Таблица 1. Влияние непрерывного УЗ на биосинтез ИФН при времени обработки до 3 мин.

Интенсивность УЗ, Вт/см ²	Контроль	0.05	0.1	0.2	0.4	0.7	1
Активность ИФН, МЕ, ± 50	150	2800	2800	2800	2900	2100	150

Таблица 2. Влияние времени воздействия амплитудно-модулированного УЗ интенсивностью 0.05 Вт/см² с частотой модуляции 800–1000 Гц на выход ИФН.

Время УЗ-обработки, с	Контроль	15	30	45	60	75	90
Активность ИФН, МЕ, ± 50	150	≥ 500	≥ 2100	≥ 2900	≤ 2600	≤ 700	150

Итак, в лабораторных условиях после стимулирующего действия амплитудно-модулированных УЗ волн при найденных оптимальных режимах воздействия: диапазоне интенсивности, частот модуляции, время экспозиции, был получен лейкоцитарный интерферон. Качество и степень очистки синтезированного методом суспензионного биосинтеза ИФН были оценены биохимически.

Методы иммуноферментного анализа на твердом носителе (ELISA – тест) и SDS-электрофореза в ПААГ позволили идентифицировать и установить молекулярную массу полученного и очищенного ИФН; она равна 20500 Дальтон. Экспресс-тест с люминесцирующими бактериями подтвердил отсутствие токсичности синтезированного препарата.

Литература

- Олешкевич А.А., Кузнецов В.П., Каминская Е.В. – Биомедицинская радиоэлектроника. 2014. № 11. С. 45–50.
- Олешкевич А.А., Пашовкин Т.Н. – Ветеринария, зоотехния и биотехнология. –2014. – № 5. – С. 27–33.