**Лекция 6 Биотехнология производства интерферона**

1.  **Биотехнология производства интерферона**

В 1957г. Айзекс и Линдеман обнаружили, что клетки животных, инфицированных вирусами, выделяют в сферу фактор, который способен вызывать у гентактных (не обработанных вирусом) клеток устойчивость у вирусной инфекции. Этот фактор был назван интерфероном.

***Эффекты интерферона***

·  Обладает активируемым действием – интерферон не действует на внеклеточный вирус, а противодействует вирусной инфекции путем усиления фагоцитоза, активизации естественных киллерных клеток, стимулирует образование интерлейкина-2, увеличивает синтез ферментов.

·  Ингибирование клеточного роста – *Как противоопухолевое средств* – способен подавлять деление онкогенных клеток при сохранении функции актвации всех звеньев иммунной системы.

·  Обладает антимикробной активностью

·  Оказывает радиозащитное действие

·  Интерферон является иммуномодулятором – стимулирует иммунную систему организма.

***Эффекты интерферона***

1.  Обладает антивирусным действием. Самостоятельно интерферон не уничтожает вирусы. После проникновения в клетку вируса начинает синтезироваться интерферон, который выходит за пределы клетки и прикрепляется к поверхности гликозидных рецепторов клеток, пораженных вирусами или клеток, в которых вирус еще не проник.

Гликозидные рецепторы способен передавать внутрь клеток сигналы, запускающие механизм синтеза ферментов – эндонуклеазы и протеиназы.

Эндонуклиаза способна «разрезать» молекулы нуклеиновых кислот вирусов на уровне трансляции

2.  Интерферон вызывает ингибирование клеточного роста (используется как противоопухолевое средство) – способен подавлять деление онкогенных клеток при сохранении функции активации всех звеньев иммунной системы.

3.  Интерферон оказывает стимулирующее влияние на фагоцитоз, естественные клетки – киллеры и макрофаги; повышает неспецифическую резастентность клеток; а общая [иммунологическая реактивность](https://veterinarua.ru/immunologicheskaya-reaktivnost-i-immunitet/243-immunologicheskaya-reaktivnost.html) организма адекватна уровню интерферонообразования.

4.  Интерферон обладает антимикробной активностью

5.  Оказывает радиозащитное действие

6.  Интерферон является иммуномодулятором – т. е. регулирует иммунологические реакции, стимулирует иммунную систему организма.

*Интерферон* относится к протеинам или гликопротеинам, в состав которых включено 146-166 аминокислотных остатков. Молекулярная масса – 20-80 кДальтон.

Вырабатывать интерферон могут клетки позвоночных от рыб до человека. наиболее активными продуцентами интерферона являются лимфоциты и макрофаги. Наиболее активными индукторами среди вирусов являются вирус Ньюкаслской болезни, вирус Сендай, чумы свиней.

**Выделяют три класса интерферона**

1.  Лейкоцитарный или α-IFN-получают в культуре лейкоцитов выделенных из крови доноров. Различают 20 рекомбинантных вариантов, отличающихся последовательностью аминокислот в полепептидной цепи и биологической активностью.

2.  Фибробластный или β-IFN-для получения используют культуру фибрабластов.

3.  иммунный или γ-IFN - его синтезируют сенсебилизированные Т-лимфоциты при повторном контакте с митогенами, а также с бактериальными и вирусными антигенами.

Все три класса интерферонов обладают различными физико-химическими свойствами и отличаются друг от друга серологически.

*Различают следующие виды интерферонизации:*

1.  Экзогенная – введение готового интерферона в организм, использование мазей, содержащих интерферон.

2.  Эндогенная – введение в организм индукторов интерферон, которые стимулируют процесс образования интерферона.

Наиболее активными индукторами интерферона являются синтетические и природные двунитевые РНК.

**Механизм действия индукторов IFN:**

1.  Стимулируют фагоцитоз и биосинтез антител

2.  Тормозят рост и метастазирование опухолей

3.  Проявляют антиклеточную активность

4.  Оказывают радиозащитное действие

5.  Увеличивают чувствительность клеток к действию интерферона

6.  Принимают участие в регуляции биосинтеза белка в клетке

**Биотехнология производства IFN**

**Этапы на примере получения α-IFN**

1.  Суспензию лейкоцитарных клеток, выделенных из крови доноров, обрабатывают вирусом, оказывающим индуцирующий эффект на биосинтез IFN (н-р, вирусом Сендай).

2.  Из лейкоцитов получают и-РНК, которая программирует биосинтез интерферона, при этом концентрация и-РНК в индуцированных лейкоцитах не более 0,1%.

3.  С помощью фермента обратной транскриптитазы (ревертазы) на полипептидной основе и-РНК синтезируют комплементарную ей одноцепочечную копию ДНК.

4.  Эукариотический ген в условии in vitro перестраивают, удаляя рестриктазой ту часть нуклеотидов, которая кодирует ненужную информацию.

5.  Созданный ген переносят в плазмиду, где он совмещается с бактериальным промотором, а затем вводится в бактериальную клетку-хозяин.

Таким образом создан штамм-продуцент E. coli, синтезирующий IFN в высоких концентрациях.

В 1л полученной бактериальной суспензии содержится около 5 мг α-IFN, что в 5тыс. раз больше того количества, которое можно получить из 1л донорской крови.

Существуют другие способы получения интерферона:

1.  На основе сконструированных рекомбинантных ДНК, экспрессируемых в клетках E. coli (α, β, α-IFN).

2.  Возможен синтез химическим путем β и α- интерферона

3.  Повышение биосинтеза IFN возможно при введении в эукариотическую дрожжевую клетку вектора, на основе которого сконструирована рекомбинантная молекула ДНК с ионами β и α- интерферонов

4.  Производство IFN с применением моноклональных антител к соответствующему IFN.

**Применение интерферона в ветеринарной медицине**

1.  Для регуляции аппетита интерферон вводят в организм per os или в\в. Для этого используют интерферон, выделенный из крови КРС, а в качествые индуктора его образования используют вирус ИРТ.

IFN крови КРС повышает аппетит у с\х животных и, следовательно, продуктивность.

2.  Возможна передача интерферона через плаценту от супоросных свиноматок плоду.

3.  Возможна защита телят от аденовирусной инфекции интерфероном, синтез которого индуцирован интраназальным введением аттенуированного штамма вируса ИРТ.

4.  Установлена способность вируса чумы КРС продуцировать интерферон в культуре клеток. Различные штаммы ретровирусов поросят и телят введенные поросятам в [кишечник](https://veterinarua.ru/pishchevaritelnaya-sistema/60-kishechnik.html) или пупочную вену, также стимулируют синтез интерферона.

Местом синтеза IFN является кишечник индуцированных животных.

*Применение интерферона имеет ряд преимуществ:*

1.  Широкий спектр действия, что очень важно при терапии вирусных пневмоэнтеритов молодняка.

2.  Действие интерферона обуславливается активацией естественных механизмов защиты организма на ранних смтадиях инфекыионного процесса.

3.  Эффект проявляется сразу же после введения препарата.

Однако применение интерферона имеет ряд недостаткова:

Короткий период сохранения в организме (до 12ч.) Препарат применяется в основном только парэнтерально Через 2-3 дня после применения интерферона наблюдается угнетение защитных функций иммунной системы, что может привести к быстрому размножению в организме условно-патогенной микрофлоры Возможны [аллергические реакции](https://veterinarua.ru/referaty/1001-allergiya.html) при длительном применении.