

(19) ინტელექტუალური
საკუთრების
ეროვნული ცენტრი
“საქპატენტი”



(11) **GE P 2002 2813 B**

(10) AP 2002 2772 A

(51)⁷ A 61 K 35/22, 38/02, 39/002,
39/02, 39/118, 39/2;
C 07 K 14/00, 17/00;
C12N 15/12

(12) **ბამოგონებაზე პატენტის აღწერილობა**

(21) AP 2000 004056

(22) 2000 10 18

(24) 2000 10 18

(44) 2002 04 10 № 7

(45) 2002 10 25 № 20

(76) თენგიზ ჯალიაშვილი (GE)
380007, თბილისი, გრიბოდლოვის ქ.21,
ბ.17 (GE)

(56) WO 95/24923 გამოქვ. 21.09.95

(74) ლილიანა დარახველიძე

GE

(54) *გაქცინები და იმუნოგენური კომპლექსი და/ან ნარევი მცენარეულ-
უჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინების
საშუაშუაზე და მათი მიღების ხერხი*

(57) 1. ტექნიკური შედეგი

ძუძუმწოვრებში იმუნური რეზისტენტობის გასაძლიერებელი სამკურ-
ნალო საშუალებების ასორტიმენტის გაზრდა.

2. არსი

ვაქცინა შეიცავს იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდურ კომპლექსს
და/ან ნარევს შემდგარს პეპტიდისა და მცენარეულუჯრედული წარმოშობის
სითბური სტრესის პროტეინისაგან ან იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-
პეპტიდურ კომპლექსს და/ან ნარევს შემდგარს in-vitro ადამიანის შარდისაგან
მიღებული პეპტიდისა და მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური
სტრესის პროტეინისაგან, და ფარმაცევტულად მისაღებ მატარებელს.

3. გამოყენების სფერო

ბიოქიმია და ბიოტექნოლოგია.

მუხლები: 12 დამოუკიდებელი

25 დამოკიდებული

2813 B

გამოგონებაზე პატენტის აღწერილობა

გამოგონება განეკუთვნება ძირითადად ბიოქიმიას და ბიოტექნოლოგიას, უფრო ზუსტად, ის შეეხება არაპვირადღირებული და ეფექტური ვაქცინების გაუმჯობესებას, რაც ეფუძნება მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინების (HSP) უნარს სპეციფიკურ ანტიგენებთან კავშირში გამოიწვიონ ორგანიზმის იმუნური რეზისტენტობა პათოგენების წინააღმდეგ.

გამოგონების წინამძღვრები

ახალი მეცნიერული აღმოჩენა: HSP წარმოადგენენ უნივერსალურ ბუნებრივ სამკურნალო საშუალებას.

მყარმა მეცნიერულმა მონაცემებმა (1-21, 27, 32) აჩვენეს რომ HSP-ის სინთეზი იზრდება ეუკარიოტებში (და ასევე, პროკარიოტებში), როცა:

- უჯრედები ინფიცირებულია პათოგენებით ან განიცდის ბიოტურ სტრესს,
- უჯრედები და მათი სუბუჯრედული სტრუქტურები ამოვარდნილია კონტროლიდან აბიოტური სტრესების დროს,
- პროტეინებმა დაკარგა 3D -სტრუქტურა ან მათი ფუნქცია, ან გაშლილია (არ არის დაგრაგნილი).

გარდა ამისა, HSP ავლენს სიცოცხლის სტატუსის გაგრძელების უნარს:

- 3D -სტრუქტურის დაცვის და/ან სტაბილიზაციის და/ან პროტეინების ფუნქციის აღდგენის,
- ინფიცირებული უჯრედების ზედაპირზე ანტიგენების რეპრეზენტაციის,
- კონტროლიდან ამოვარდნილი დაბერებული უჯრედების ელიმინაციის და მათი სუბუჯრედული სტრუქტურის ან პროტეინების,
- ციტოტოქსიკური T-უჯრედული პასუხის გამოწვევის,
- აბიოტური სტრესების წინააღმდეგ იმუნური და ენდოკრინული სრული პასუხის ინდუქციის,
- ნეირო-დეგენერაციული დაავადებების პრევენციის საშუალებით.

ყველა ამ მსოფლიო მეცნიერულმა მონაცემმა შექმნა მყარი აკადემიური საფუძველი, რომ HSP წარმოადგენს უნივერსალურ ბუნებრივ სამკურნალო საშუალებას.

ამ საფუძველმა ძლიერ დააჩქარა HSP -ის პრაქტიკული გამოყენება ფარმაციაში. Antigenics Inc. (აშშ) და StressGen Biotechnologies Corp. (კანადა) უზრუნველყოფენ ფართო კლინიკურ სამყაროს HSP სახეობების სოლიდური გამოკვლევებით და ახლახან საკუთარ სამეცნიერო-სამედიცინო მყარ ფაქტებზე დაყრდნობით დაამტკიცეს, რომ:

- HSP სახეობებს გააჩნია ანტიგენური პეპტიდების გადამტანის უნარი;
 - HSP სახეობებს გააჩნია ადიუვანტური უნარი ანტიგენების ეფექტურობის გასაძლიერებლად;
 - HSP სახეობებს ანტიგენურ პეპტიდებთან კავშირში აქვს ციტოტოქსიკური T-უჯრედული სისტემის სტიმულირების უნარი;
 - HSP -ის კომპლექსები ანტიგენურ პეპტიდებთან წარმოადგენს ეფექტურ ვაქცინებს მრავალი სახის დაავადების წინააღმდეგ.
- მაგ., 80 % ეფექტურია კიბოს წინააღმდეგ;
- ვაქცინების ახალი თაობა, რომელიც ემყარება HSP -ის გადამტანისა და ადიუვანტის უნარს, წარმატებით და ფართოდ იყო ტესტირებული და უკვე გაიარა I-II ფაზის კლინიკური გამოცდა და შევიდა ბოლო III ფაზის კლინიკურ გამოკვლევებში 2000 წელს (ინტერნეტისა და პრესის მიხედვით).

მსოფლიო ბრძოლა ვაქცინების ახალ თაობაში HSP -ის გამოყენებაზე:

ძირითადად ორი კომპანია: Antigenics Inc. (აშშ) და StressGen Biotechnologies Corp. (კანადა) იბრძვის HSP-ზე დამყარებული ვაქცინების, როგორც ახალი საკანძო ფარმაცოლოგიური საშუალების ფართო კომერციალიზაციისთვის. ორივე კომპანიამ დაარწმუნა ინვესტორები, რომ HSP-ის გამოყენებას ფარმაციაში დიდი მომავალი აქვს. ინვესტორები დაეხმარნენ მათ მსოფლიო მასშტაბის საწარმოებს სარისკო კაპიტალის გაზრდით დაახლოებით 109 მლნ აშშ დოლარამდე Antigenics Inc.-თვის მაშინ, როცა StressGen Corp.-მა გაზარდა 54 მლნ აშშ დოლარამდე 1998-2000 წწ-ში.

ამ ფირმების საპატენტო საქმიანობის შედარებითი ანალიზი მიუთითებს, რომ Antigenics Inc.-მა გაიკეთა მყარი საფუძველი 13 პატენტის სერიის გამოქვეყნებით, რომლებიც უფრო ფართოდ ადასტურებენ HSP -ის ეფექტებს და განსაკუთრებით, უკანასკნელ 4 პატენტში, რომლებიც 2000 წელს გამოიცა. მაგალითად:

- აშშ პატენტი № 6, 048, 530 “სტრესული პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსები, როგორც პროფილაქტიკური და სამკურნალო ვაქცინები უჯრედშიდა პათოგენების წინააღმდეგ”, 11 აპრილი, 2000., რომელიც პრეტენზიას აცხადებს პათოგენისაგან მიღებულ ანტიგენებთან კომპლექსირებული HSP -ის კომპოზიციის in vitro დამზადების მეთოდებზე.

- აშშ პატენტი № 6, 030, 618 “სამკურნალო და პროფილაქტიკური მეთოდები სითბური შოკის პროტეინების გამოყენებით”. 29 თებერვალი, 2000 წ., რომელიც

პრეტენზიას აცხადებს HSP -ებსა და სიმსივნეების ან პათოგენების ანტიგენების კომპოზიციებზე, რომლებიც *in vitro* არიან კომპლექსირებული, და ამ კომპოზიციებით იმუნური პასუხის გამოწვევის მეთოდებზე.

- აშშ პატენტი № 6, 0107, 540 “პირველადი და მეტასტაზური ნეოპლაზიური დაავადებებისა და ინფექციური დაავადებების პრევენცია და მკურნალობა სითბური შოკის/სტრესის პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსით” 25 იანვარი, 2000, რომელიც პრეტენზიას აცხადებს კიბოს მკურნალობის მეთოდებზე 10 მიკროგრამზე ნაკლები gp 96-ით (ონკოფაგი);

- აშშ პატენტი № 6, 017, 544 “კომპოზიცია, რომელიც მოიცავს იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდურ კომპლექსს კიბოს წინააღმდეგ და ციტოკინს”, 25 იანვარი, 2000, რომელიც პრეტენზიას აცხადებს კიბოს მკურნალობისა და ძუძუმწოვრებისაგან მიღებულ HSP -პეპტიდურ კომპლექსებისა და ციტოკინების კომბინაციით იმუნური პასუხის გამოწვევის მეთოდებზე.

ზემოთ აღნიშნული პატენტების სერიასთან ერთად Antigenics Inc. დაეუფლა:

- დადასტურებას, რომ HSP სახეობების უმეტესობას აქვს უნარი იყოს უნივერსალური გადამტანი ძლიერი ადიუვანტური ეფექტებით სხვადასხვა ანტიგენებისათვის, და

- პრეტენზიას თითქმის ყველა HSP სახეობის გამოყენებაზე ფარმაციაში კიბოს, სიმსივნის, დიაბეტის, ასევე, ბაქტერიული და ვირუსული დაავადებების წინააღმდეგ.

HSP სახეობების გაუმჯობესება ვაქცინებში გამოსაყენებლად

არსებობს ორი ტექნოლოგიური მიდგომა HSP სახეობების გამოსაყენებლად უნივერსალური გადამტან-ადიუვანტის როლში ადამიანის ან ცხოველის იმუნური სისტემისთვის ანტიგენის ეფექტური რეპრეზენტაციის მიზნით (1-5) და კერძოდ:

1. HSP სახეობების ასოცირება კოვალენტურად ანტიგენურ პეპტიდებთან და ამ მიღებული კომპლექსების გამოყენება ვაქცინების სახით (StressGen Biotechnologies Corp.-ის მიერ);
2. HSP სახეობების არაკოვალენტურად ასოცირება ანტიგენურ პეპტიდებთან და ამ მიღებული კომპლექსების გამოყენება ვაქცინების სახით (Antigenics Inc.-ის მიერ).

HSP სახეობების ანტიგენურ პეპტიდებთან კოვალენტურად ასოცირების მეთოდს ბევრი ნაკლი აქვს (HSP-ის ანტიგენთან არაკოვალენტურად ასოცირების მეთოდთან შედარებით) და კერძოდ:

უფრო ჰუმორული, ვიდრე დროებითი იმუნური პასუხის განპირობება, სწორედ ამ მიზეზით ასეთი კომპლექსები ნაკლებ ეფექტურია უჯრედშიდა პათოგენების წინააღმდეგ. გარდა ამისა, როცა HSP სახეობები კოვალენტურად არის გადაჯვარედინებული ანტიგენურ პეპტიდებთან, ორივე მთლიანად ან ნაწილობრივ კარგავს თავის მოლეკულურ მოქნილობას და ამრიგად, HSP-ის ბევრ მომგებიან თვისებას, როგორიცაა მათი გადამტანის უნარი ან ანტიგენური პეპტიდების ატფ-დამოკიდებული გამონთავისუფლება, და ა.შ.

მეორე მეთოდში შემუშავებულია HSP-სახეობების არაკოვალენტური ასოციაცია ანტიგენურ პეპტიდებთან, იმ მიზნით, რომ უკეთ შენარჩუნდეს HSP-სახეობების, როგორც გადამტანის და ადიუვანტის შესაძლებლობები, და ანტიგენური პეპტიდების ატფ-დამოკიდებული გამონთავისუფლება. მეორე მეთოდი უფრო წარმატებულია, რადგან საშუალებას იძლევა გამოწვეულ იქნეს ციტოტოქსიკური T – უჯრედული პასუხი და ამრიგად, დამზადდეს უფრო ეფექტური ვაქცინები HSP-ის საფუძველზე. ამგვარი ვაქცინების გაძლიერებული ეფექტურობის მიზეზია ანტიგენურ პეპტიდებთან არაკოვალენტურად ასოცირებული HSP-სახეობის გაზრდილი მოლეკულური მოქნილობა. Dr. Srivastava-ს თანახმად, HSP-სახეობებს არა აქვთ უნარი გამოიწვიონ ციტოტოქსიკური T - უჯრედული იმუნური პასუხი. სწორედ ამ მიზეზის გამო უნდა ასოცირდნენ ადამიანის/ცხოველის უჯრედული წარმოშობის HSP კომპლექსებად და უმჯობესია, არაკოვალენტურად მიკრობული წარმოშობის ანტიგენურ პეპტიდებთან, რომლებიც დომინანტურ ანტიგენს უნდა წარმოადგენდნენ სამიზნე პათოგენისათვის. Dr. Srivastava-მ გამოიყენა HSP-ის ბუნებრივი უნარი არაკოვალენტურად ასოცირდეს პეპტიდებთან. მან გამოიყენა თითქმის ყველა HSP-სახეობის გადამტანის უნარი ახალი ვაქცინების ადვილად დასამზადებლად. სხვადასხვა კომპლექსები HSP -ებისა ანტიგენურ პეპტიდებთან შეიძლება მიღებულ იქნეს:

- ან ძუძუმწოვრების ქსოვილის/უჯრედების გამიზნული ინფიცირების შემდეგ უჯრედშიდა პათოგენით, რომელიც არჩეულია ბაქტერიებს ან პროტოზოებს ან სოკოებს ან პარაზიტებს შორის ადამიანის/ცხოველის უჯრედებში HSP-ის სინთეზის გასაძლიერებლად და ცნობილი პათოგენის დომინანტურ ანტიგენთან არაკოვალენტურად ასოცირებული კომპლექსის შესაქმნელად,

- ან ადამიანის/ცხოველის ქსოვილოვანი/უჯრედული კულტურების ინფიცირების შემდეგ ვირუსით ჯგუფიდან, რომელიც შედგება ჰეპატიტის A, B და C ტიპის, ჩუტყვავილას, ადენოვირუსის, ჰერპეს სიმპლექსის I და II ტიპის, შავი ჭირის, რინოვირუსის, ეპოვირუსის, როტავირუსის, პოლიოვირუსის, აივ I და II და სხვა ვირუსებისაგან იმ მიზნით, რომ გაძლიერდეს ადამიანის/ცხოველის უჯრედებში HSP-ს სინთეზი და შეიქმნას არაკოვალენტურად ასოცირებული კომპლექსები ცნობილი ვირუსების ანტიგენებთან. ცნობილი პათოგენებით ასეთი გამოიზნულად ინფიცირებული ძუძუმწოვრების ქსოვილოვანი/უჯრედული კულტურები გამოყენებული იყო როგორც წყაროდ საჭირო რაოდენობით HSP-სახეობების მისაღებად, ისე არჩეული პათოგენების ანტიგენური პეპტიდებით მათ სამიზნედ გადასაქცევად კომპლექსის სახით მიღებამდე. HSP-ის თითქმის ყველა სახეობა ძუძუმწოვრების ინფიცირებულ უჯრედებში შეიძლება მხოლოდ არაკოვალენტურად ასოცირდეს პეპტიდებთან, რომლებიც გამონთავისუფლებულია პათოგენის წინააღმდეგ ინფიცირებული უჯრედის ბრძოლის დროს. ასეთ მომიზნულ HSP-ებსა და ინფიცირებული უჯრედების ანტიგენურ პეპტიდებს შორის კომპლექსების მიღების შემდეგ მათი გამოყენება ვაქცინების სახით იწვევს ციტოტოქსიკურ T - უჯრედულ პასუხს მხოლოდ უჯრედშიდა პათოგენით ინფიცირებული უჯრედების წინააღმდეგ.

ხაზი უნდა გაესვას იმას, რომ ახალი ვაქცინების სპეციფიკურობა მკაცრადაა დეტერმინირებული:

- HSP-ების უნარით წინასწარ შეარჩიოს ბუნებრივი ანტიგენები ძუძუმწოვრების ქსოვილიდან/უჯრედიდან, რომლებიც ხელოვნურად ან ბუნებრივად არის ინფიცირებული პათოგენით;

მაშინ, როცა ახალი ვაქცინების ეფექტურობის დონე ძირითადად დამოკიდებულია:

- HSP სახეობების თვისებაზე გადაიტანონ ანტიგენური პეპტიდები და

- HSP-ანტიგენ კომპლექსების რაოდენობაზე.

ამ აღმოჩენის საფუძველზე Dr. P. Srivastava, Antigenics Inc.-ის სამეცნიერო საბჭოს თავმჯდომარე (იხ. პატენტები, გამოცემული 29 თებერვალს და 11 აპრილს, 2000 წ.) ამტკიცებს, რომ

- HSP სახეობები, მიღებული ადამიანის/ცხოველის სიმსივნური ქსოვილისაგან უკვე ასოცირებულია სიმსივნური უჯრედების მიმართ მაღალსპეციფიკურ ანტიგენებთან;

- HSP პეპტიდების ასეთ ბუნებრივ კომპლექსებს, გამოყენებულს ვაქცინების სახით, შეუძლია სიმსივნის ელიმინირება ციტოტოქსიკური T - უჯრედების სტიმულაციის საშუალებით;

- HSP სახეობებს, მიღებულს ნებისმიერი ტიპის ნორმალური უჯრედებისაგან, არ შეუძლია უჯრედშიდა პათოგენების წინააღმდეგ ციტოტოქსიკური T - უჯრედული პასუხის სტიმულირება;

- HSP სახეობებს, მიღებულს ნორმალური უჯრედებიდან შეუძლია *in vitro* ასოცირება ცნობილი პათოგენის სინთეზურ ან ბუნებრივ ანტიგენებთან და ასეთ HSP ანტიგენ კომპლექსებს შეუძლია ამ პათოგენის ელიმინირება ციტოტოქსიკური T - უჯრედების აქტივაციის საშუალებით.

აღმოჩენების სერიამ, და კერძოდ, იმან, რომ:

- HSP სახეობებს, მიღებულს ძუძუმწოვრებისა და მცენარეული უჯრედებისაგან, გააჩნია ამინომჟავების თანმიმდევრობების მაღალი მსგავსება - 65-75%-მდე;

- HSP სახეობები ადვილად ასოცირდება *in vitro* ნებისმიერ სასურველ სინთეზურ თუ ბუნებრივ ანტიგენთან;

გამოაჩინა დიდი შესაძლებლობები მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობების გამოსაყენებლად ვაქცინებში.

HSP-ის სამკურნალო დოზა და მოთხოვნილება

ლაბორატორიული და კლინიკური გამოკვლევების საფუძველზე დადგენილ იქნა, რომ HSP ანტიგენ კომპლექსების უკიდურესად მცირე რაოდენობა (0,01-0,05 მგ) საკმარისია ციტოტოქსიკური T - უჯრედული პასუხის სტიმულირებისათვის პისტოშეთავსების მთავარი კომპლექსის (MHC) I კასკადის საშუალებით (3-4, 22, 27); როგორც წესი, ძუძუმწოვრების იმუნიზაციისათვის საჭირო რაოდენობა ვაქცინებისა, რომლებშიც გამოყენებულია HSP- ანტიგენ კომპლექსები, მერყეობს 0,1-დან 1,0 მგ/სხეულის წონის 1 კგ-ზე.

მოცემული HSP-ანტიგენ კომპლექსის ერთჯერადად სამკურნალოდ აუცილებელი დოზა მერყეობს 0,1-დან 0,5 მგ/კგ საზღვრებში, მაშინ, როცა თითქმის 80%-იანი პოზიტიური მკურნალობის დონისთვის (მაგალითად, კიბოს შემთხვევაში) გამოყენებული ტოტალური რაოდენობაა 6 მგ-მდე HSP 70 75 კგ-იან ავადმყოფზე, რომელიც უნდა გაიყოს 3 ან 5 ინექციაზე ერთი ან ორკვირიანი ინტერვალებით (პატენტი № 6, 048, 530, 11 აპრილი, 2000-ის თანახმად).

HSP- ანტიგენ კომპლექსების ამ უკიდურესად მცირე რაოდენობებს საზოგადოდ არ ჰქონდათ ის გვერდითი მოვლენები, რომლებიც აქვთ ჩვეულებრივ ვაქცინებს.

ადრეული მითითების თანახმად, ყოველი 100000 ავადმყოფისათვის მხოლოდ 1 ტიპის სიმსივნით, წამლის გამოთვლილმა საჭიროებამ (მაგ. HSP 70) უნდა მიაღწიოს დაახლოებით 600 გ-ს და ამრიგად, მოთხოვნილებამ HSP 70 -ზე 1 მილიონი ავადმყოფისათვის 10-ზე მეტი ტიპის სიმსივნით HSP-ს მოლიანმა საჭიროებამ შეიძლება მიაღწიოს 1 კგ-მდე (85 % სისუფთავით).

პატენტების ანალიზი და პათოგენების ფართო სპექტრის წინააღმდეგ HSP სახეობების გამოყენების კლინიკური I-II-III გამოცდის დადებითი შედეგები უფლებას გვაძლევს ვიფიქროთ, რომ ადამიანის /ცხოველის უჯრედული წარმოშობის HSP სახეობებზე მოთხოვნილება მსოფლიოში უახლოეს 5 წელიწადში შეიძლება გაიზარდოს 60 კგ-მდე (85 % სისუფთავით).

ასეთმა ზომიერმა გეგმამ თითქმის ყველა HSP სახეობაზე მოთხოვნის გაზრდის შესახებ წარმოშვა HSP სახეობების ყველა წყაროსა და მათი მსოფლიო საბაზრო ფასების შედარებითი ანალიზის მწვავე აუცილებლობა.

საბაზრო ფასები და HSP-ის წყაროები

ყველა შესაძლო წყაროდან მიღებული HSP სახეობების მსოფლიო საბაზრო ფასების შედარებითმა ანალიზმა აჩვენა შემდეგი:

- ა) ყველა HSP სახეობა შეიძლება დამზადებულ იქნეს ბუნებრივი წყაროებიდან: ცხოველური უჯრედებისა და მიკროორგანიზმებისაგან (2000 წლის Sigma Biochemicals-ის კატალოგის თანახმად);
- ბ) ყველა HSP სახეობა იყიდება ძალიან მცირე ოდენობებით (0,025 - 1,0 მგ), მაგრამ უკიდურესად მაღალი საბაზრო ფასით.

მაგალითად:

ცხოველური უჯრედებისაგან მიღებული HSP სახეობების ფასები:

0,025 მგ HSP 78 (ხბოს ღვიძლისაგან) - 579,80 DM

0,2 მგ HSP 70 (ხარის ტვინისაგან) - 648,6 DM

0,2 მგ HSP 90 (ხარის ტვინისაგან) - 684,5 DM

მიკროორგანიზმებისაგან მიღებული HSP სახეობების ფასები:

0,2 მგ HSP 70 (*Mycobacterium smegmatis*-დან) - 617,6 DM

0,2 მგ HSP 90 (*Saecharomyces cerevisiae*-დან) - 684,5 DM

0,25 მგ HSP 10 (*E. coli*-ის, ზეექსპრესირებული *E. coli*-ში) - 522,8 DM

1,0 მგ HSP 60 (*E. coli*-ის, ზეექსპრესირებული *E. coli*-ში) - 580,7 DM

ადამიანის/ცხოველის უჯრედისაგან მიღებული HSP სახეობების ინდუსტრიალიზაცია პრაქტიკულად შეუძლებელია და ეს არის მიზეზი

უკანასკნელი 10 წლის განმავლობაში უკიდურესად მაღალი საბაზრო ფასებისა რაც მიუთითებს იმაზე, რომ მოთხოვნა აღემატება HSP სახეობების პროდუქციას.

ადამიანის/ცხოველის უჯრედული წარმოშობის HSP სახეობებზე მკვეთრად გაზრდილი მოთხოვნილების დაკმაყოფილების მიზნით ჩატარდა მცდელობა გენური ტექნოლოგიის გამოყენებისა ადამიანის/ცხოველის უჯრედული წარმოშობის HSP სახეობების მაკოდირებელი გენების *E. coli*-ში ექსპრესირების გაზრდის მიზნით. HSP-ის მაკოდირებელი ადამიანის/ცხოველის გენებისთვის შესაფერისი ვექტორებისა და პრომოტორების საწარმოო ფასი საკმაოდ მაღალია, მაშინ, როცა ხსნადი რეკომბინანტული HSP-ის გამოსავალი დაბალია. უფრო მეტიც, თვითონ *E. coli*-ს, რეკომბინანტული HSP-ის ექსპრესირების შემდეგ არა აქვს ღირებულება და ადგენს სოლიდურ საწარმოო დანაკარგს. ყველა ეს ასპექტი რეკომბინანტული HSP-ის პროდუქციებისა აისახება მის საბაზრო ფასზე, მაგალითად, Sigma Biochemicals 2000-ის თანახმად:

E. coli-ში ექსპრესირებული ეუკარიოტული რეკომბინანტული HSP - სახეობების ფასები:

0,2 მგ HSP 25 (თაგვის, ექსპრესირებული *E. coli*-ში) - 748,8 DM

0,1 მგ HSP 32 (ვირთაგვის, ექსპრესირებული *E. coli*-ში) - 625,5 DM

0,1 მგ HSP 60 (ადამიანის, ექსპრესირებული *E. coli*-ში) - 625,5 DM

0,1 მგ HSP 70 (ადამიანის, ექსპრესირებული *E. coli*-ში) - 629,5 DM

ვინაიდან გენური ტექნოლოგია ეფუძნება *E. coli*-ის უნარს როგორც “ბიო-ფაქტორმა” აწარმოოს HSP სახეობების ყველა სახის რეკომბინანტული და შეკვეცილი ანალოგები, რომელთაგან თითოეულმა უნდა მოახდინოს პეპტიდური კავშირის იმიტირება, არსებობს რეალური აუცილებლობა ხაზი გაესვას იმას, რომ არც ერთ HSP სახეობას ექსპრესირებულს *E. coli*-ში არ გააჩნია ისეთივე პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიკაცია, როგორიც მიღებულია ძუძუმწოვრების უჯრედებში. ამრიგად, რეკომბინანტული HSP სახეობების ამინომჟავების 100 %-იანი მსგავსება, მაგრამ მნიშვნელოვანი განსხვავებები პოსტ-ტრანსლაციურ მოდიფიკაციაში, შესაძლოა იწვევს გაზრდილ იმუნურ მგრძნობელობას რეკომბინანტული HSP სახეობების მიმართ. ამრიგად, არსებობს მოთხოვნილება (საჭიროება) “ბიო-ფაქტორისა”, რომელსაც შეუძლია დაამზადოს HSP სახეობები ბუნებრივი პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიკაციით და შეამციროს მათზე დაფუძნებული ვაქცინების გვერდითი ეფექტები. ძუძუმწოვრების და მცენარეული უჯრედების უმეტესობა შეიძლება იყოს იდეალური “ბიო-ფაქტორი”.

საბედნიეროდ, ახლახან StressGen Inc.-მა გააცნო მსოფლიო ბაზარს ხორბლის ჩანასახისაგან მიღებული HSP 70 სახეობა ბუნებრივი პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიცირებული სტრუქტურით. ხორბლის უჯრედული წარმოშობის HSP 70 სახეობის პროდუქცია პრაქტიკულად მომგებიანია მცირე მასშტაბით. ჩვენ ვთვლით, რომ საფურაჟე ბალახოვანი მცენარის გამოყენება ძირითად წყაროდ HSP სახეობების წარმოების გასაზრდელად უფრო პრაქტიკული იქნება, ვიდრე ხორბლის, რომელიც ძირითადი საკვები მარცვლოვანია. ნათქვამის დადასტურებაა ხორბლის HSP სახეობების საბაზრო ფასები, რომლებიც ისევე მაღალია, როგორც ძუძუმწოვრების უჯრედული წარმოშობის HSP სახეობების უკიდურესად მაღალი ფასები. მაგალითად:

ხორბლის ჩანასახის ციტოზოლისაგან მიღებული HSP 70-ის საბაზრო ფასი (2000 წლის StressGen Biotechnologies Corp.-ის კატალოგის თანახმად):

0,1 მგ HSP 70 (ხორბლის ჩანასახის ციტოზოლიდან) - 814,14 DM (გადათვლილი 16792 Bfr, კოეფიციენტი 206256).

ამრიგად, საკითხი როგორ დავაკმაყოფილოთ სასწრაფო საჭიროება იაფი HSP ბიო-ქიმიური პრეპარატისა ბუნებრივი პოსტტრანსლაციური მოდიფიკაციით სამეცნიერო-სამედიცინო გამოკვლევებისათვის იმ მიზნით, რომ ნაპოვნი იქნეს რეკომბინანტული HSP სახეობების ყველა სახის გვერდითი ეფექტები, დღეისათვის რჩება გადაუწყვეტელი.

ჩვენს მიერ მოწოდებულ იქნა მცენარეული უჯრედებისაგან მიღებული HSP სახეობების ყველა უპირატესობა და შემუშავებულ იქნა ბიო-რაციონალური ტექნოლოგია ეფექტური ღირებულებისა და დანაკარგების გარეშე ბუნებრივი პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიკაციის მქონე არაძვირადღირებული HSP სახეობების დასამზადებლად უიაფესი წყაროდან, როგორიცაა ბალახოვანი მცენარეები (საერთაშორისო განაცხადი PCT/GE 00/00003, 19.05.1999 წ. პრიორიტეტით).

ვაქცინებში HSP-ის გამოყენების კრიტერიუმები

სამეცნიერო-სამედიცინო ინფორმაციის ანალიზის საფუძველზე, რომელიც ხსნის (გამოავლენს) ყველა სახის HSP სახეობების უნივერსალურ პროფილაქტიკურ და სამკურნალო ეფექტებს, დადგენილ იქნა HSP სახეობების ვაქცინებში გამოყენების შემდეგი შერჩევითი კრიტერიუმები (3, 4):

- 35 % ამინომჟავების თანმიმდევრობების ჰომოლოგია HSP სახეობებს შორის როგორც ყველაზე დაბალი ზღვარი მაშინ, როცა ადამიანის უჯრედული

წარმოშობის HSP ოჯახების 55 %-დან 75 %-მდე, ან მეტი, სტრუქტურული ჰომოლოგია უმჯობესია;

- HSP-ის უნარი გაზარდოს სინთეზი სითბური სტრესის საპასუხოდ (სტრესი არ არის ლიმიტირებული და შეიძლება გამოწვეულ იქნეს უჯრედშიდა პათოგენით ინფიცირების, საკვების უკმარისობის შედეგად, ჟანგბადის რადიკალებით და სხვ.)

- HSP სახეობების უნარი შეასრულოს გადამტანის ფუნქცია, მაგალითად, შებოჭოს ენზიმი ან დაიცვას ან მოახდინოს რეცეპტორების 3D სტრუქტურის დაზიანებების კორექცია, გაატაროს პროტეინები მემბრანებში და სხვა.

- HSP სახეობების უნარი შებოჭოს და გადაიტანოს სხვადასხვა პეპტიდები და/ან პროტეინები;

- მრავალი HSP სახეობის უნარი გამოანთავისუფლოს აბსორბირებული პეპტიდები და/ან პროტეინები ადენოზინ ტრიფოსფატის (ატფ) თანაობისას ან დაბალი pH-ის დროს;

- მრავალი HSP სახეობის უნარი ხელახლა მიაწოდოს შებოჭილი პეპტიდები და/ან პროტეინები ანტიგენ-მაპროცესირებელ (APC) უჯრედებს და გამოიწვიოს ციტოტოქსიკური T-უჯრედული პასუხი წინასწარ შერჩეული პათოგენის წინააღმდეგ.

ვაქცინებში ადამიანის HSP-ების გამოყენების შეზღუდვები.

ადამიანის უჯრედები და მათი სუბ-უჯრედული სტრუქტურები ან პროტეინები განუწყვეტლივ განიცდის აბიოტური ან ბიოტური სტრესების გავლენას, რაც არის მიზეზი იმისა, რომ ხშირად, და კერძოდ, ასაკში შესვლისას, ისინი კარგავენ თავიანთ ფუნქციას ან ამოვარდებიან კონტროლიდან (23-25, 34). ანტიგენების განსაზღვრა ყველა დაბერებულია უჯრედისათვის, რომლებიც ამოვარდა კონტროლიდან ან დაზიანებულია ან დაკარგული აქვს თავისი პირველადი ფუნქცია, უმეტეს შემთხვევაში პრაქტიკულად შეუძლებელია. არსებობს ისეთი მიზეზები, რომლებსაც შეუძლია შეზღუდოს არსებული მეთოდების შესაძლებლობები HSP- ანტიგენ კომპლექსების ექსტრაგირებისა ძუძუმწოვრების ქსოვილებიდან და მათი გამოყენება ვაქცინებად და კერძოდ:

- დაავადების დაწყების ადრეულ ფაზაში, როცა პათოგენის დიაგნოზირება ან დაავადების ეტიოლოგიის განსაზღვრა პრაქტიკულად შეუძლებელია;

- როცა მრავალი სიმპტომი გადაიკვეთება და დაავადების სწორი დიაგნოზის დადგენა ძალიან რთულია რეგიონულ საავადმყოფოებსა და პოლიკლინიკებში არსებული მეთოდებით;

- როცა დაბერებული უჯრედები ბიოტური სტრესის ფაქტორების გავლენით ვარდება კონტროლიდან;

- როცა დაბერებული უჯრედები ვარდება კონტროლიდან ისეთი სტრესების დროს, როგორიცაა მძიმე და ტოქსიკური მეტალები აგროქიმიკატები საკვებში, სოკოვანი და მცენარეული ტოქსინების შემცველი საკვები, ქსენობიოტების ნებისმიერი ტიპი, სამედიცინო და ნარკოტიკული წამლები, ალკოჰოლი, მაღალი რადიაცია, გარემოს დაბინძურება, ფსიქოლოგიური ტრავმა, თავისუფალი რადიკალები და სხვა.

დილემა და რისკი, დაკავშირებული ვაქცინებში გამოყენებულ ადამიანის HSP-ებთან.

უდიდესი დილემა, რომელიც ახლავს ადამიანის HSP-ებს გამოყენების ვაქცინებში, შემდეგია:

- როგორ მივიღოთ ადამიანის უჯრედული წარმოშობის მზა HSP- ანტიგენ კომპლექსები სპეციფიკურობით იმ უჯრედების მიმართ, რომლებიც ამოვარდა კონტროლიდან ორგანიზმის დაბერების მიზეზით;

- როგორ შევქმნათ ადამიანის ეფექტური HSP- ანტიგენ კომპლექსები in vitro, რომლებსაც შეუძლია პერმანენტული აბიოტური სტრესებით გამოწვეული დაზიანებების პრევენცია;

- როგორ დავამზადოთ ადამიანის HSP- მულტი-ანტიგენ კომპლექსები ჯვარდინი სპეციფიკურობის სპექტრით აბიოტური და ბიოტური სტრესების წინააღმდეგ.

გარდა ამისა, ხაზი უნდა გაესვას მრავალ პრობლემას და რისკსაც კი HSP ანტიგენ კომპლექსების ექსტრაქციისა და გაწმენდის დროს, მაგალითად:

ა) ადამიანის უჯრედული წარმოშობის HSP პეპტიდური კომპლექსების გამოსავალი ადამიანის სიმსივნური ქსოვილის 1 გრამიდან არის დაახლოებით 0,01-0,1 % და ცალკეული HSP სახეობების გამოსავალი შემდეგია:

- HSP 70 არის დაახლოებით 1000 მკგ;

- HSP 90 არის დაახლოებით 150-200 მკგ;

- gp 96 არის მხოლოდ 10-20 მკგ.

ა) ასეთი დაბალი გამოსავალი HSP სახეობებისა ადამიანის/ცხოველის ქსოვილებიდან ყოველთვის დაგვაყენებს დამატებითი შეზღუდვის პირისპირ კიბოს ან სიმსივნური ქსოვილების რეალური ზომებიდან გამომდინარე. გარდა ამისა, რადგან ნორმალური ქსოვილიდან მიღებულ HSP -ებს არა აქვს არც

პროფილაქტიკური და არც სამკურნალო ეფექტი, ამდენად არსებობს მწვავე საჭიროება მკაცრად განისაზღვროს კიბოს/სიმსივნური ქსოვილის ზუსტი ზომა HSP-პეპტიდური კომპლექსების ექსტრაქციისათვის. ამ მიზნის მისაღწევად მაშინ, როცა კიბოს ან სიმსივნის ზომა ადამიანის სხეულში განვითარების ადრეულ ფაზაში არის მეტად მცირე, არ არსებობს სიმსივნის სპეციფიკური ანტიგენით ადამიანის HSP-ების ექსტრაგირების შანსი.

ბ) არ არსებობენ საერთო ანტიგენები სიმსივნიან ავადმყოფებს შორის. სიმსივნური ანტიგენების ასეთი მკაცრი პერსონიფიცირება ზღუდავს ადამიანის უჯრედული წარმოშობის HSP-ანტიგენ კომპლექსების წარმოების განზოგადებას სხვა ავადმყოფების სამკურნალოდ. ამის გამოა, რომ პერსონალურ ვაქცინებზე დაფუძნებული ასეთი HSP-ანტიგენ კომპლექსების წარმოების ფასი ყოველთვის იქნება ძალიან ძვირი;

გ) ადამიანის უჯრედული წარმოშობის HSP-ანტიგენ კომპლექსების ექსტრაგირება ვოლონტიორებისაგან არაეთიკურია და აბსოლუტურად არაპრაქტიკული არც იგივე დაავადებისა და არც სხვა ეტიოლოგიის დაავადებების სამკურნალოდ;

დ) პათოგენებით ხელოვნურად ინფიცირებული ადამიანის ქსოვილოვანი/უჯრედული კულტურის გამოყენებამ HSP-პეპტიდური კომპლექსების გასაწმენდად შეიძლება წარმოშვას აუტოიმუნური დაავადებების დიდი რისკი, ან შეიძლება ცილების გაშლა და ისეთი ძლიერი ფსიქიკური დარღვევების განვითარების დაჩქარება, როგორიცაა კროიცფელდ ჟაკობის დაავადება, ალცჰეიმერის დაავადება და სხვა (28 - 31).

ე) ვირუსებით, მაგალითად როგორიცაა ადამიანის იმუნოდეფიციტის ვირუსის (აივ) I და II ტიპი ან სხვა ხელოვნურად ინფიცირებული ადამიანის ქსოვილოვანი/უჯრედული კულტურის გამოყენებამ ადამიანის HSP-ების გადასაქცევად სამიზნედ შეიძლება წარმოქმნას ვირუსული დაავადებების გადატანის (ტრანსმისიის) რისკი სამეცნიერო-სამედიცინო პერსონალში ვაქცინებისათვის HSP- პეპტიდების უხეში ფრაქციის ექსტრაგირების განმავლობაში.

საჭიროა ხაზი გაესვას ასევე მრავალ პრობლემას, რომლებსაც გენური ტექნოლოგია წამოჭრის რეკომბინანტული HSP სახეობების დამზადების დროს, და კერძოდ:

ვ) რადგანაც პროკარიოტებს (მიკროორგანიზმები) არა აქვთ ღიქსიოსომები (ანუ გოლჯის აპარატი), ყველა რეკომბინანტულ, ადამიანის უჯრედული

წარმოშობის HSP სახეობებს ექსპრესირებულს *E. coli*-ში უნდა ჰქონდეთ ბევრად უფრო ძლიერი იმუნური პასუხი ვაქცინებში მათი გამოყენების შემთხვევაში. ეს ვარაუდი შეიძლება აიხსნას იმ ფაქტით, რომ დიქტიოსომები წარმოადგენს მხოლოდ ეუკარიოტული (ადამიანის, ცხოველის, მცენარის) უჯრედების მაღალსპეციალიზებულ სუბ-უჯრედულ სისტემას, რომლებიც უზრუნველყოფს პროტეინების პოსტ-ტრანსლაციურ მოდიფიკაციას იმგვარად, რომ არ იქნას ამოცნობილი საკუთარი იმუნური სისტემის მიერ. ეს არის მიზეზი იმისა, თუ რატომ არის რომ წარმოების ფაქტორებად მიკროორგანიზმების გამოყენების შემთხვევაში ასეთი “გახდილი” (დაუმუშავებელი) რეკომბინანტული HSP სახეობები ადვილად ამოიცნობა ადამიანის იმუნური სისტემის მიერ. ამრიგად, რეკომბინანტული HSP -ის ბაზაზე შექმნილი ვაქცინების ეფექტურობა შეიძლება მნიშვნელოვნად შემცირდეს, რადგან ანტისხეულები მოახდენს თითქმის ყველა მათგანის ელიმინირებას. უფრო მეტიც, HSP -ის საწინააღმდეგო ანტისხეული ამოიცნობს აგრეთვე ენდოგენური HSP-ის მაკოდირებელ შესაბამის გენს და მოახდენს აუტო-იმუნური დაავადებების ინიციაციას (33). პროტეინების პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიკაციის მნიშვნელობა პროტეინების ბუნებრივი ფუნქციების დომინირებისას და განსაკუთრებით, საკუთარი იმუნური სისტემის იერიშისაგან იდუმალებით მოცულ დაცვაში მიუთითებს იმაზე, თუ როგორი დიდ ღირებულებისა და იშვიათი მოწყობილობაა დიქტიოსომები, რომლებსაც შეიცავს მხოლოდ ადამიანის და მცენარის უჯრედები. ამ მიზეზითაა, რომ თითქმის ყველა რეკომბინანტული პროტეინი თერაპიაში გამოყენებისათვის ექსპრესირებული *E. coli*-ში ღებდა პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიკაციის დამატების დამატებითი ხარჯის გადაუდებელი აუცილებლობის წინაშე ბუნებრივი ფუნქციების გადაწყვეტის შესაძლებლობისა და დომინირების მიღებისათვის. უფრო მეტიც, როგორც წესი, ყველა რეკომბინანტული პროტეინი განიცდის იმუნურ “ნეპოტიზმს” (ოჯახურობას) პატრონისაგან რაც იწვევს მძიმე აუტო-იმუნურ დარღვევებს.

ადამიანის ან ცხოველის ან მცენარის უჯრედების ტოლფას “ნატურალურ ფაქტორად” მიკროორგანიზმის წარმოდგენის წარუმატებლობის თვალსაჩინოებამ (სიცხადემ) გადაადგილა (გადაიყვანა) მსოფლიო ბიოტექნოლოგიური მრეწველობა მიკროორგანიზმებიდან პრაქტიკულად უფრო ძვირი მცენარეული უჯრედების მიმართულებით. Monsanto-ს ვიცე-პრეზიდენტის W.S. White-ის მოხსენების თანახმად მცენარეული უჯრედების გამოყენება, როგორც მოწინავე და ყველაზე სასურველი “ნატურალური ფაქტორისა” მხოლოდ ახლახან გახდა

რეალობა ნებისმიერი სახის თერაპიულად ღირებული პროტეინების წარმოებისათვის.

შემოთავაზებული გამოგონების ტექნიკური შედეგია ნაწილობრივ ჩაანაცვლოს ვაქცინებში ადამიანის (ცხოველის უჯრედული წარმოშობის HSP სახეობები არაძვირადღირებული მცენარეულუჯრედული წარმოშობის HSP სახეობებით, რომლებსაც გააჩნია 55-75 % სტრუქტურული ჰომოლოგია.

შემოთავაზებულია ახალი ვაქცინა, რომელიც შეიცავს იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდურ კომპლექსს და/ან ნარევს, რომელიც შემდგარია პეპტიდისა და მასთან კომპლექსში და/ან ნარევში მყოფი მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინისაგან ან პროტეინების ნარევისაგან. ამ ვაქცინაში ძუძუმწოვარი არის ადამიანი, პათოგენი კი არის ვირუსი, ბაქტერია, პროტოზოა, სოკოვანი წარმოშობის, აბიოტური სტრესების ზეგავლენით კონტროლიდან ამოვარდნილი დაბერებული უჯრედი. ამასთან იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდურ კომპლექსში და/ან ნარევში პეპტიდი არაკოვალენტურად დაკავშირებულია მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინთან, კერძოდ HSP 110, HSP 90, HSP 70, HSP 60 და HSP 55-6 (დაბალი მოლეკულური მასის 55000-6000 დალტონის ფარგლებში).

შემოთავაზებულია აგრეთვე ვაქცინა, რომელიც შეიცავს იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდურ კომპლექსს და/ან ნარევს, რომელიც შემდგარია *in-vitro* ადამიანის შარდისაგან მიღებული პერსონიფიცირებული იმუნოგენური ცილების, პოლიპეპტიდების და პეპტიდებისაგან და მასთან კომპლექსში და/ან ნარევში მყოფ მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინისაგან ან პროტეინების ნარევისაგან, და ფარმაცევტულად მისაღებ მატარებელს. ამ ვაქცინაში ძუძუმწოვარი არის ადამიანი, ხოლო პათოგენი არის ვირუსი, ბაქტერია, პროტოზოა, სოკოვანი წარმოშობის, უჯრედშიდა პარაზიტი, აბიოტური სტრესების ზეგავლენით კონტროლიდან ამოვარდნილი დაბერებული უჯრედი. ამასთან, იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდურ კომპლექსში და/ან ნარევში პეპტიდი არაკოვალენტურად დაკავშირებულია მცენარეულუჯრედულ წარმოშობის HSP, კერძოდ, HSP 110, HSP 90, HSP 70, HSP 60 და HSP 55-6 (დაბალი მოლეკულური მასის 55000-6000 დალტონის ფარგლებში).

ეს ვაქცინები გამოიყენება სამკურნალო და/ან პროფილაქტიკურ საშუალებად ვეტერინარიაში და/ან კვების მრეწველობაში, კერძოდ, შინაური და გარეული ცხოველების და თევზების სამკურნალოდ და/ან გამრავლება-წარმოება-დაცვის უზრუნველსაყოფად.

შემოთავაზებულია ახალი იმუნოგენური სტრესულ პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსი და/ან ნარევი, რომელიც შეიცავს *in-vitro* ადამიანის შარდისაგან მიღებულ პერსონიფიცირებულ იმუნოგენურ ცილებს, პოლიპეპტიდებს და პეპტიდებს და მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინს ან პროტეინების ნარევს.

ამ კომპლექსის და/ან ნარევის მიღების ხერხი ითვალისწინებს in-vitro ადამიანის შარდისაგან მიღებული პერსონიფიცირებული იმუნოგენური ცილების, პოლიპეპტიდების და პეპტიდების შერევას მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინთან ან პროტეინების ნარევთან, ამასთან, შერევას ახორციელებენ 10-75°C ტემპერატურის პირობებში და პროდუქტი მიიღება სითხის ან მშრალი ფხვნილის ან ჟელეს სახით. ეს ხერხი დამატებით ითვალისწინებს აგრეთვე ნარევის ინკუბირებას, ამასთან, ინკუბირებას ახორციელებენ 0,05-24 საათის განმავლობაში ოთახის ან 0°C ან 25-95°C ტემპერატურაზე რბილი ნჯღრევის პირობებში ან ნჯღრევის გარეშე, ან ენერგიული და/ან სუსტი ნჯღრევის პირობებში თბური ან ლაზერული ენერგიის მიწოდებით. მიღებული კომპლექსი და/ან ნარევი გამოიყენება ორალური ვაქცინის და/ან ფუნქციური საკვებდანამატის სახით.

შემოთავაზებულია in-vitro ადამიანის შარდისაგან მიღებული პერსონიფიცირებული იმუნოგენური ცილების, პოლიპეპტიდების და პეპტიდების მიღების ხერხი, რომელიც ითვალისწინებს შარდის მოგროვებას კონტეინერში, შარდის კონცენტრირებას ვაკუუმ-აორთქლების გზით, შარდიდან პერსონიფიცირებული იმუნოგენური ცილების, პოლიპეპტიდების და პეპტიდების გამოყოფას ქრომატოგრაფიული გელ-ფილტრაციით. ამასთან, შარდის კონცენტრირებას აგრეთვე ახორციელებენ მემბრანული ფილტრაციით და ვაკუუმ-აორთქლებას ან დაბალ ტემპერატურაზე (ლიოფილიზაცია) ან 25-95°C ტემპერატურაზე, გამოყოფას ქრომატოგრაფიული გელ-ფილტრაციით 25-45°C ტემპერატურაზე, ან 45-75°C ტემპერატურაზე 20 წუთის განმავლობაში და მათ იდენტიფიცირებას.

შემოთავაზებულია აგრეთვე ვაქცინის მიღების ხერხი, რომელიც ითვალისწინებს იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსის და/ან ნარევის შექმნას, რომელიც შემდგარია პეპტიდისა და მასთან კომპლექსში და/ან ნარევში მყოფი მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინისაგან ან პროტეინების ნარევისაგან და მის შეთავსებას ფარმაცევტულად მისაღებ მატარებელთან.

მეორენაირად ვაქცინის მიღების ხერხი ითვალისწინებს იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსის და/ან ნარევის შექმნას, რომელიც შემდგარია in-vitro ადამიანის შარდისაგან მიღებული პერსონიფიცირებული იმუნოგენური ცილების, პოლიპეპტიდების და მასთან კომპლექსში და/ან ნარევში მყოფ მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინისაგან ან პროტეინების ნარევისაგან და მის შეთავსებას ფარმაცევტულად მისაღებ მატარებელთან.

ადამიანის უჯრედული წარმოშობის ანტიგენ-HSP კომპლექსები გახდა ვაქცინების ახალი თაობის დამზადების საფუძველი. ამასთან, მცენარის და

ადამიანის უჯრედული წარმოშობის HSP სახეობების ამინომჟავების თანმიმდევრობების 65-75 %-იანი მსგავსება წარმოადგენს კარგ გარანტს ფარმაციაში (და ვეტერინარიაშიც) მათი ურთიერთჩანაცვლებისათვის. უფრო მეტიც, HSP სახეობებისა იაფ ბალახოვან წყაროს და ეფექტური ხარჯით უდანაკარგო წარმოებას შეუძლია მათი როგორც საინექციო და ორალური ვაქცინების ფართო გამოყენების ინიცირება.

უძლიერესი დაშვებები მცენარეული წარმოშობის HSP -ების გამოყენებისათვის ვაქცინებში შემდეგია:

- მცენარეული და ადამიანის უჯრედული წარმოშობის HSP მსგავსი სახეობები უმეტესად ავლენს 65-75 % სტრუქტურულ ჰომოლოგიას;
- მცენარის უჯრედული წარმოშობის HSP სახეობების უმეტესობა მნიშვნელოვნად ზრდის სინთეზს, ტოტალური პროტეინის 1%-დან 3%-მდე 35-55°C ფარგლებში სითბური სტრესის საპასუხოდ;
- მცენარის უჯრედული წარმოშობის HSP სახეობების უმეტესობა გადამტანია და შეუძლია შებოჭოს და გადაიტანოს პროტეინები მემბრანების გასწვრივ და დაიცვას ან აღადგინოს ცხოველური წარმოშობის ენზიმებიც კი;
- მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობების უმეტესობას შეუძლია დაუკავშირდეს პეპტიდებისა და პროტეინების ფართო სპექტრს და გამოანთავისუფლოს ისინი ატფ-ით ან მჟავით დამუშავების დროს;
- მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობების უმეტესობას, მიუხედავად მაღალი (75 %-მდე) სტრუქტურული ჰომოლოგიისა ადამიანის HSP-თან, გააჩნია აგრეთვე განსაკუთრებული პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიკაციები, რაც მნიშვნელოვნად აქვეითებს აუტო-იმუნური დაავადებების რისკს ვაქცინებში მათი ფართო გამოყენების შემთხვევაში.

ამ მკაცრი მცენარეული ფაქტების (1-20) საფუძველზე ჩვენ პრეტენზიას ვაცხადებთ უდანაკარგო, ეფექტური ღირებულების ბიო-რაციონალურ ტექნოლოგიაზე, რომელსაც შეუძლია ისეთი იაფი წყაროს, როგორიცაა ბალახოვანი მინდვრის მცენარეები, ბუნებრივი პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიკაციის მქონე HSP-ის ყველა ოჯახის დასამზადებლად (საერთაშორისო განაცხადი PCT/GE 00/00003, 19.05.1999 წ. პრიორიტეტით). მცენარეული HSP სახეობების გამოყენების ყველაზე მნიშვნელოვანი უპირატესობები შემდეგია:

- ყველა მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობა ავლენს ბუნებრივ 3D-სტრუქტურებს;

- ყველა მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობა ავლენს განსაკუთრებულ პოსტ-ტრანსლაციურ მოდიფიკაციას ადამიანის უჯრედების HSP-ის ან რეკომბინანტული HSP-ს ან მიკრობული წარმოშობის HSP-გან განსხვავებით.

- მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობები შეიძლება ადვილად იქნას დამზადებული სამრეწველო თვალსაზრისით;

- მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობების სპექტრი ბევრად უფრო ფართოა, ვიდრე ადამიანის ან მიკრობული HSP სახეობები (განსაკუთრებით, მცირე მოლეკულური მასის HSP სახეობები);

- მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობების წარმოების ფასი ბევრად უფრო დაბალია, ვიდრე ადამიანის ან მიკრობული წარმოშობის ან რეკომბინანტული HSP სახეობებისა ც კი.

- მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობებმა შეიძლება მოახდინოს ინტეგრირება აგროკულტურებისა (სასოფლო-სამეურნეო კულტურების) მეცნიერებასთან და ასტიმულიროს გარემოს სტრესის მიმართ რეზისტენტული მცენარეული სახეობების ძიება და სელექცია მათ მიერ სტრესული პროტეინების პროდუცირების უნარის მიხედვით სკრინინგის საფუძველზე.

ყველა ეს წინადადება მხოლოდ ადასტურებს აუცილებლობას დაიწყო:

- მცენარეული უჯრედებიდან გამოყოფილი HSP სახეობების ბალახოვანი მცენარეებიდან გამოყოფის ინდუსტრიალიზება, და

- მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობების შედარება რეკომბინანტულ და ადამიანის HSP-თან ახალ ვაქცინებში.

საუკეთესო წყაროები მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობები სათვის.

საუკეთესო წყარო მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობებისათვის ბალახოვან მინდვრის მცენარეებს შორის არის:

- ალფალფა (ლუცერნა) - მოკლევადიანი განახლებადი ბალახი, რომელიც შეიცავს ყველა HSP სახეობის სრულ სპექტრს;

- ალფალფა არის ყველაზე იაფი სასოფლო-სამეურნეო წყარო ყველა HSP სახეობის უდანაკარგო წარმოებისათვის;

- ალფალფა არის მთელ მსოფლიოში კარგად ცნობილი, როგორც გამოსადეგი და საკვები შინაური ცხოველებისათვის, მაგალითად, ფერმერული გაერთიანება France Luzenne (4500 ფერმერი 85000 ჰა მიწით) არის ცენტრალიზებული მწარმოებელი თითქმის 4000000 ტონა ახალი ალფალფასი ყოველწლიურად. France Luzenne აგროვებს 4000000 ტონა ქორფა ალფალფას და ამზადებს მისგან თითქმის 1000000 ტონა ბურთულებს (სორსლებს) და ინახავს ცენტრალიზებულ საწყობში

საკვების კომერციალიზაციისათვის. ბურთულების წარმოების ტექნოლოგია არის ენერგიის უკიდურესად შთანთქმედი და ძვირადღირებული, მაგალითად, 1 ტონა ბურთულების დასამზადებლად 10 % ტენით საჭიროა 80 % ტენის შემცველი 4 ტონა ქორვა აღფალფას ტოტალური მასის 70 %-მდე წყლის აორთქლება. ენერგიის ხარჯი მხოლოდ ამ რაოდენობის წყლის აორთქლებაზე ქორვა აღფალფადან შეადგენს დაახლოებით 140 ფრანგულ ფრანკს 350 კგ ქვანახ-შირისათვის (2500 კგ/სთ) ან 85 FF 190 მ³ აირისათვის (1250 კგ/სთ) უფრო მეტიც, ქორვა აღფალფას გაშრობა 850°C-ზე დრამატულად “წვავს” (ამცირებს) პროტეინების ეფექტურობას ბურთულებში.

ჩვენ ვთვლით, რომ ჩვენს ბიო-რაციონალურ ტექნოლოგიურ პროცესს (რომელიც აღწერილია საერთაშორისო განაცხადში PCT/GE 00/00003, 19.05.1999 წ. პრიორიტეტით) შეუძლია:

- შეამციროს 80%-მდე ენერგიის ხარჯი აღფალფადან საკვების დამზადების დროს,
- გაზარდოს 50 %-ით ბურთულების ტექნოლოგიის გადამუშავების (პროტეინგის) მომგებიანობა;
- გაზარდოს საკვების ხარისხი აღფალფას პროტეინების საკვები ღირებულების შენარჩუნების გზით;
- ბურთულების ძველი ტექნოლოგიის კოეფიციენტის (20 ტ/სთ) მოდერნიზაციით დაადგინოს კოეფიციენტი უკეთესი ხარისხის საკვების ინტეგრალური და ეფექტური ღირებულების წარმოებისათვის და დამატებით;
- მიიღოს მნიშვნელოვანი რაოდენობა ყველა მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობისა ბუნებრივი პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიკაციით (85-95 % სისუფთავით).

HSP-ის ინდუქცია, ექსტრაქცია და გაწმენდა აღფალფადან.

მცენარეული წარმოშობის ყველა HSP სახეობის ინდუქცია, ექსტრაქცია და გაწმენდა ხდებოდა თანახმად საერთაშორისო განაცხადისა PCT/GE 00/00003, 19.05.1999 წ. პრიორიტეტით) “ბალახოვან მცენარეში სითბური სტრესის ცილების სინთეზის ინდუქციის ხერხი და მათი მიღების მეთოდი” და საქართველოში შეტანილი განაცხადისა 3015/01-2000 წ., 29.06.2000 წ. პრიორიტეტით “ბალახოვანი მცენარეებიდან ცხოველთა საკვების და საკვებდანამატის წარმოებისას მათი სითბური სტრესის ცილებით გამდიდრების ბიორაციონალური ხერხი”.

აუცილებელია ხაზი გაესვას, რომ მხოლოდ ქორვა ბალახოვან მცენარეს გააჩნია უნარი იგრძნოს სითბური სტრესი და გაზარდოს სითბური სტრესის პროტეინების სინთეზი, მაშინ, როცა არც ერთი არსებული კომერციული საკვები

(ბურთულები, თივა, სილოსი, ფურაჟი) არ ავლენს HSP-ის ინდუცირებისა და პროდუცირების ასეთ უნარს.

ამ უნარის საფუძველზე ჩვენ შევიმუშავეთ სპეციალური კონსტრუქცია, რომელსაც შეუძლია შექმნას მოკლე სითბური სტრესის (43°C -დან 55°C -მდე) პირობები ზუსტად ქორვა ალფალფას შეგროვების წინ. ამ მოკლე ტემპერატურულ სტრესს შეუძლია ნაწილობრივ გაშალოს სითბოს მიმართ ლაბილური Rubisco, ალფალფას ფოთლების ძირითადი პროტეინი. სითბური სტრესის სპეციალური პირობები და პროტეინის ნაწილობრივი დენატურაცია არის ძლიერი ფაქტორი თითქმის ყველა HSP ოჯახის HSP გენების ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის გასაძლიერებლად 3-24 საათის განმავლობაში ქორვა ალფალფას სითბური სტრესის შემდეგ.

სპეციალური სითბური სტრესის პირობების შემდეგ, თითქმის ყველა HSP სახეობის უჯრედშიდა შემცველობა იზრდება როგორც მინიმუმი, ქორვა შეგროვილი ალფალფას ტოტალური პროტეინის 1%-მდე. თუ ჩვენ ჩავთვლით, რომ ქორვა ალფალფას 100 კგ შეიცავს დაახლოებით 80 % ტენს და მხოლოდ 20 % მყარ ნივთიერებას (20 კგ), რომელთა შორის დაახლოებით 20 % არის პროტეინის წილი (ან 4 კგ), მაშინ 1% სტრესული პროტეინების წილი (მხოლოდ სითბური სტრესის შემდეგ) გამოითვლება დაახლოებით 0,04 კგ/100 კგ ქორვა ალფალფაზე.

ჩვენი გამოცდილების თანახმად, HSP სახეობების გამოსავალი ქრომატოგრაფიის სერიის შემდეგ 85 % სიწმინდის დონით შეადგენს 0,8 გ-დან 16 გ-მდე სხვადასხვა სახეობის ქორვა ალფალფასს (ქორვა ალფალფას სველი მასის 100 კგ-ზე გათვლით).

როგორც წესი, HSP 70 სახეობას აქვს უფრო მაღალი გამოსავალი, ყველა HSP სახეობის თითქმის 30-40 %. ეს არის მიზეზი იმისა, თუ რატომ ვიყენებდით უმეტესად HSP 70 სახეობას ჩვენს ადრინდელ გამოკვლევებში.

ძირითადი პრობლემა მცენარეული წარმოშობის HSP-ის გამოყენების ვაქცინების ახალ თაობაში არის ის, თუ როგორ მოვმართოთ ისინი:

- პათოგენური მიკროორგანიზმების ფართო სპექტრით ინდუცირებული ადამიანის დაავადების წინააღმდეგ და

- პერმანენტული აბიოტური სტრესის პირობებში ადამიანის კონტროლიდან ამოვარდნილი დაბერებული უჯრედების წინააღმდეგ, რომელთა განხილვისას, თუ როგორ მივიღოთ ანტიგენური პეპტიდები ისეთი ფართო სპეციფიკურობით, რომელიც შესძლებს გადაჭრას ეს ამოცანები, ჩვენ პრიორიტეტი მივანიჭეთ შარდის პეპტიდებს. ჩვენ ეჭვი არ გვუპარება, რომ ადამიანის შარდი არის სრული

(მთლიანი) ანტიგენური პეპტიდების უიაფესი და მაღალპერსონალიზებული წყარო. კარგადაა ცნობილი, რომ სისხლი და ლიმფა განუწყვეტლივ ექსტრაჰირებენ პეპტიდებს სხვადასხვა ქსოვილების უჯრედების უზარმაზარი სპექტრიდან. თირკმლები განუწყვეტლივ ახდენენ სხვადასხვა ქსოვილებიდან ექსტრაჰირებული დეგრადირებული პროტეინების შემცველი სისხლის ულტრაგაფილტრვას. ყველა ამ პროტეინის ფრაგმენტები იჭრება თირკმლის ულტრაფილტრაციული მემბრანების სპეციალურ სისტემაში და ინტეგრირდება შარდში. შარდში კონცენტრირებულ პეპტიდებს შორის უნდა იყონ ანტიგენები ცნობილი და უცნობი უჯრედშიდა პათოგენებისთვის ინფექციის ადრეულ სტადიაზე და ინფიცირებული უჯრედებისათვის, რომლებიც ასცდნენ კონტროლს. გარდა ამისა, შარდიდან მიღებული პეპტიდები წარმოადგენს ასევე პერმანენტული აბიოტური ან გარემოს სტრესის პირობებში კონტროლიდან ამოვარდნილი ყველა სახის ასაკოვანი უჯრედის ანტიგენების კრებულს. ამრიგად, შარდიდან მიღებული ანტიგენური პეპტიდები შეიძლება კარგად ასახავს სხეულის ყველა ნაწილის სასიცოცხლო სტატუსს მაშინაც კი, როცა დიაგნოზი შეუძლებელია პათოგენის ინვაზიის ან ასაკოვანი უჯრედების დისფუნქციის ადრეულ ფაზაში. ეს არის მიზეზი იმისა, თუ რატომ ვამჯობინებთ ჩვენ შარდიდან გამოყოფილ ანტიგენურ პეპტიდებს მცენარეული წარმოშობის HSP-ის მოსამიზნად. ჩვენ ვთვლით, რომ ჩვენმა ინოვაციამ, დავაკავშიროთ მცენარეული წარმოშობის HSP შარდის პეპტიდებთან, უნდა მოგვცეს ვაქცინები აქტივობის უფრო ფართო სპექტრით, ვიდრე ვაქცინები მიღებული Dr. P. Srivastava-ს ცნობილი პათოგენური მიკროორგანიზმით ხელოვნურად ინფიცირებული მარტივი ტიპის ქსოვილისაგან.

ამრიგად, შარდიდან მიღებული პეპტიდები შეიცავს ანტიგენური პეპტიდების ინტეგრალურ სპექტრს მცენარეული წარმოშობის HSP -ის მოსამიზნად. ამ მიზეზით, ვაქცინებს არაკოვალენტურად ასოცირებული მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობებისა და შარდის ანტიგენური პეპტიდების კომპლექსების საფუძველზე უნდა ჰქონდეს პერსონალიზებული მულტი-სპეციფიკური ეფექტები.

ამგვარი ოპტიმიზმი ეყრდნობა, ერთის მხრივ HSP სახეობების ეფექტურობას ვაქცინების ახალ თაობაში და, მეორე მხრივ, სხვადასხვა დაავადებების შარდით მეურნელობის ფართო საზღვრებს, მაგალითად, შიდსის, კიბოს, დიაბეტის, მრავლობითი სკლეროზის, დეპრესიის და სხვ.

ხაზი უნდა გაესვას იმას, რომ საუკუნოვანი დებატების შემდეგ, ურინოთერაპია მიღებულია ჰომეოპათურ საშუალებებს შორის მთელ მსოფლიოში (35-40).

ჩვენ ვვარაუდობთ, რომ ჩვენს მიერ შემოთავაზებული სიახლე, შარდის პეპტიდების გამოყენება მცენარეული წარმოშობის HSP-ის დასამიზნებლად, მშვიდად გადალახავს ფსიქო-ემოციურ და ესთეტიკურ წინააღმდეგობებს, რომლებსაც აწელება ურინოთერაპია.

ამ მიზეზის გამო, ჩვენ ვიმედოვნებთ, რომ მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობების წარმოება და შარდიდან მიღებული ინტეგრალური ანტიგენები და მათი ადვილი შედგენა *in vitro*, როგორც არაკოვალენტურად დაკავშირებული კომპლექსებისა, რეალურად აჩენს შანსს იდეალური და ეფექტური უნივერსალური ვაქცინების დასამზადებლად ერთდროულად ადამიანის ორგანიზმის დარღვევების ფართო სპექტრის სამკურნალოდ, აგრეთვე უცნობი ეტიოლოგიის დაავადებებისასაც კი.

მაგალითი 1.

ადამიანის შარდიდან ინტეგრალური ანტიგენური პეპტიდების გამოყოფა
(გაწმენდა)

ადამიანის შარდი 0.31-დან 0.81-მდე გროვდება ყოველ დღით სუფთა მშრალ მინის კონტეინერში და მაშინვე ექვემდებარება ვაკუუმ-აორთქლებას 55°C-ზე 50-100 მლ-მდე. კონცენტრირებულ შარდს მაშინვე უნდა ჩაუტარდეს ქრომატოგრაფიული გელ-ფილტრაცია (TSK-40) 35°C-ზე ან 45°C-55°C-ზე. დრო შარდში შემავალი ყველა სახის დაბალი მოლეკულური ზომის სუბსტანციებიდან შარდის პეპტიდების გამოსაყოფად შეადგენს დაახლოებით 35 წუთს 35°C-ზე. ხაზი უნდა გაესვას, რომ ქრომატოგრაფია 45°C-55°C-ზე უფრო მაღალ ტემპერატურაზე მნიშვნელოვნად ამცირებს გელ-ფილტრაციით (TSK-40) შარდის პეპტიდების გამოყოფისა და ფრაქციონირებისათვის საჭირო დროს დაახლოებით 20 წუთამდე. დაბალმოლეკულური სუბსტანციებიდან პეპტიდების გამოყოფის პროცესი ჩატარდა გელ-ქრომატოგრაფიის სვეტზე (TSK-40 15 სმ X2 სმ) ქიმიურად სუფთა წყლით (ხვედრითი გამტარობა დაახლოებით 0,3 მარცვალი/სმ), რომელსაც აქვს იგივე 35°C (ან 45°C-55°C) ტემპერატურა და pH 5,5-5,8. ყველა პეპტიდური ფრაქცია შემოწმდა 210 წმ-ზე და ცალ-ცალკე შეგროვების შემდეგ, ან შენახული იქნა -20°C-ზე გამოყენებამდე ან მაშინვე გამოყენებულ იქნა მცენარეულ HSP-სახეობებთან დასაკავშირებლად (უმეტესად HSP 70 ოჯახებთან).

მაგალითი II.

მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობების დაკავშირება ინტეგრალურ პეპტიდებთან

ბალახოვანი მცენარის აღფაღვასგან გამოყოფილი HSP სახეობები შეიძლება აღვიღად დაუკავშირდეს *in vitro* შარდიდან გამოყოფილ პეპტიდებს, ოთახის ტემპერატურაზე ან 37°C-ზე.

გამოყოფილი თხევადი ფრაქციების გელ-ქრომატოგრაფია:

ა) შარდიდან მიღებული ინტეგრალური პეპტიდების ფრაქცია დაახლოებით 5-10 მლ (დაახლოებით 50 მკ პროტეინის ექვივალენტი);

ბ) მცენარეული წარმოშობის HSP ოჯახების ფრაქცია დაახლოებით 5-10 მლ (დაახლოებით 10 მკ პროტეინის ექვივალენტი) შეერევა ერთმანეთს და ინკუბირდება 30 წუთის განმავლობაში 37°C-ზე, ან 3 საათის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე რბილი ნჯღრევით.

იგივე ფრაქციების გაშრობისა და ფხენილის სახით გამოყენების შემთხვევაში ისინი ცალ-ცალკე იხსნებოდა ზუსტად ინკუბაციის წინ ქიმიურად სუფთა 3-51 წყალში ან ბუფერში, რაც აღწერილია პატენტში 6, 048, 530.

ინკუბაციის ბოლოს გვაქვს კომპონენტების ორი ტიპი, კერძოდ:

- დაახლოებით 40-60 % იმუნოგენური სტრესულ პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსი მცენარეულუჯრედული წარმოშობის HSP სახეობებსა და შარდის პეპტიდებს შორის,

- HSP-სა და პეპტიდების საწყისი კომპონენტების დაახლოებით 40 %, რომლებიც ინკუბაციის განმავლობაში ჯერ კიდევ არ ასოცირდა კომპლექსებად.

HSP პეპტიდურ კომპლექსებს აქვს უფრო მაღალი მოლეკულური მასა, ვიდრე საწყის კომპონენტებს და შეიძლება გამოყოფილ იქნეს მათგან მოკლევადიანი (10 წთ) ცენტრიფუგირების საშუალებით ცენტრიკონ 10-ში (მილიპორი) ან გელ-ქრომატოგრაფიით TSK-40-ზე 35°C-ზე 20 წუთის განმავლობაში.

HSP პეპტიდური კომპლექსების გამოსავლის გაზრდის მიზნით ჯერ ინკუბირებულ იქნა არასოცირებული კომპონენტები, მეორეჯერ იგივე დროსა და პირობებში. მეორე ინკუბაციის წინ ჩვენ გირჩევთ დაამატოთ მხოლოდ შარდის პეპტიდური ფრაქცია საწყისი მოცულობის დაახლოებით 1/3. ინკუბაციის შემდეგ HSP პეპტიდების კომპლექსები გამოეყოფა ჯერ კიდევ დაუკავშირებელ საწყის კომპონენტებს იგივე პროცედურის საშუალებით. მეორე ინკუბაციის შემდეგ კომპლექსების გამოსავალი შეადგენს დაახლოებით 20 %-ს.

იმის შემდეგ, როცა მცენარეულუჯრედული წარმოშობის HSP-სა შარდის ინტეგრალურ ანტიგენების კომპლექსები რეკონსტრუირდება, შეიძლება მათი

შემდგომი დახასიათება იმუნოგენურობის განსაზღვრით გაუმჯობესებული შეყვანის პროტოკოლების გამოყენებით, როგორც აღწერილი იყო Antigenie Inc.- ის მიერ გამოქვეყნებულ მრავალ პატენტში.

შემოთავაზებული გამოგონების სხვა უპირატესობა არის ის, რომ მცენარეული წარმოშობის HSP-ებს, ასოცირებულს სინთეზურ ან ბუნებრივ ანტიგენებთან, შეუძლიათ ჩაანაცვლოს ანტიბიოტიკები და შეიძლება გამოყენებულ იყოს როგორც ორალური ვაქცინები, ან საკვები დანამატები ფერმის ცხოველების, მათ შორის ცხენების, მსხვილფეხა რქიანი პირუტყვის, ცხვრის, თხების, ღორების, შინაური ფრინველის, ინდაურის, ბატების და თევზების და შინგაზრდილი ცხოველებისა და ფრინველების, ან აგრეთვე ზოოპარკის ცხოველების ამტანობის შენარჩუნებისათვის.

გამოგონების კიდევ ერთი უპირატესობა არის კომერციულად მომგებიანი რაოდენობებით ორალური ან საინექციო ვაქცინების დამზადება არაძვირადღირებული მცენარეული წარმოშობის HSP სახეობების საფუძველზე არაგანვითარებულ ქვეყნებში.

გამოგონების ფორმულა

1. ვაქცინა ძუძუმწოვრებში იმუნური რეზისტენტობის გასაძლიერებლად პათოგენების წინააღმდეგ, რომელიც შეიცავს იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდურ კომპლექსს შემდგარს პეპტიდისა და მასთან კომპლექსში მყოფი სტრესული პროტეინისაგან, და ფარმაცევტულად მისაღებ მატარებელს, განსხვავდება იმით, რომ ვაქცინა შეიცავს იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდურ კომპლექსს და/ან ნარევს, რომელიც შემდგარია პეპტიდისა და მასთან კომპლექსში და/ან ნარევში მყოფი მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინისაგან ან პროტეინების ნარევისაგან.

2. ვაქცინა მუხლი 1-ის მიხედვით, სადაც ძუძუმწოვარი არის ადამიანი.

3. ვაქცინა მუხლი 1-ის მიხედვით, სადაც პათოგენი არის ვირუსი.

4. ვაქცინა მუხლი 1-ის მიხედვით, სადაც პათოგენი არის ბაქტერია.

5. ვაქცინა მუხლი 1-ის მიხედვით, სადაც პათოგენი არის პროტოზოა.

6. ვაქცინა მუხლი 1-ის მიხედვით, სადაც პათოგენი არის სოკოვანი წარმოშობის.

7. ვაქცინა მუხლი 1-ის მიხედვით, სადაც პათოგენი არის უჯრედშიდა პარაზიტი.

8. ვაქცინა მუხლი 1-ის მიხედვით, სადაც პათოგენი არის აბიოტური სტრესების ზეგავლენით კონტროლიდან ამოვარდნილი დაბერებული უჯრედი.

9. ვაქცინა მუხლი 1-ის მიხედვით განსხვავდება იმით, რომ იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდურ კომპლექსში და/ან ნარევეში პეპტიდი არაკოვალენტურად დაკავშირებულია მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინთან, კერძოდ HSP 110, HSP 90, HSP 70, HSP 60 და HSP 55-6 (დაბალი მოლეკულური მასის 55000-6000 დალტონის ფარგლებში).

10. ვაქცინის მ. 1-ის მიხედვით გამოყენება სამკურნალო და/ან პროფილაქტიკურ საშუალებად ვეტერინარიაში და/ან კვების მრეწველობაში, კერძოდ შინაური და გარეული ცხოველების და თევზების სამკურნალოდ და/ან გამრავლება-წარმოება-დაცვის უზრუნველსაყოფად.

11. ვაქცინა ძუძუმწოვრებში იმუნური რეზისტენტობის გასაძლიერებლად პათოგენის წინააღმდეგ, რომელიც შეიცავს იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდურ კომპლექსს, შემდგარს პეპტიდისა და მასთან კომპლექსში მყოფი სტრესული პროტეინისაგან, და ფარმაცევტულად მისაღებ მატარებელს, განსხვავდება იმით, რომ ვაქცინა შეიცავს იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდურ კომპლექსს და/ან ნარევს, რომელიც შემდგარია in-vitro ადამიანის შარდისაგან მიღებული პერსონიფიცირებული იმუნოგენური ცილების, პოლი-პეპტიდების და პეპტიდებისაგან და მასთან კომპლექსში და/ან ნარევეში მყოფი მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინისაგან ან პროტეინების ნარევისაგან.

12. ვაქცინა მუხლი 11-ის მიხედვით, სადაც ძუძუმწოვარი არის ადამიანი.

13. ვაქცინა მუხლი 11-ის მიხედვით, სადაც პათოგენი არის ვირუსი.

14. ვაქცინა მუხლი 11-ის მიხედვით, სადაც პათოგენი არის ბაქტერია.

15. ვაქცინა მუხლი 11-ის მიხედვით, სადაც პათოგენი არის პროტოზოა.

16. ვაქცინა მუხლი 11-ის მიხედვით, სადაც პათოგენი არის სოკოვანი წარმოშობის.

17. ვაქცინა მუხლი 11-ის მიხედვით, სადაც პათოგენი არის უჯრედშიდა პარაზიტი.

18. ვაქცინა მუხლი 11-ის მიხედვით, სადაც პათოგენი არის აბიოტური სტრესების ზეგავლენით კონტროლიდან ამოვარდნილი დაბერებული უჯრედი.

19. ვაქცინა მუხლი 11-ის მიხედვით განსხვავდება იმით, რომ იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდურ კომპლექსში და/ან ნარევეში პეპტიდი არაკოვალენტურად დაკავშირებულია მცენარეულუჯრედულ წარმოშობის

სითბური სტრესის პროტეინთან, კერძოდ HSP 110, HSP 90, HSP 70, HSP 60 და HSP 55-6 (დაბალი მოლეკულური მასის 55000-6000 დალტონის ფარგლებში).

20. ვაქცინის მ. 11-ის მიხედვით გამოყენება სამკურნალო და/ან პროფილაქტიკურ საშუალებად ვეტერინარიაში და/ან კვების მრეწველობაში, კერძოდ, შინაური და გარეული ცხოველების და თევზების სამკურნალოდ და/ან გამრავლება-წარმოება-დაცვის უზრუნველსაყოფად.

21. იმუნოგენური სტრესულ პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსი და/ან ნარევი მუხლი 11-ის მიხედვით, ხასიათდება იმით, რომ შეიცავს in-vitro

ადამიანის შარდისაგან მიღებულ პერსონიფიცირებულ იმუნოგენურ ცილებს, პოლიპეპტიდებს და პეპტიდებს და მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინს ან პროტეინების ნარევს.

22. იმუნოგენური სტრესულ პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსის და/ან ნარევის მუხლი 21-ის მიხედვით, მიღების ხერხი მდგომარეობს იმაში, რომ ითვალისწინებს in-vitro ადამიანის შარდისაგან მიღებული პერსონიფიცირებულ იმუნოგენური ცილების, პოლიპეპტიდების და პეპტიდების შერევას მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინთან ან პროტეინების ნარევთან.

23. ხერხი მ. 22-ის მიხედვით ითვალისწინებს ერთნაირი ან ნებისმიერი მოლარული რაოდენობის in-vitro ადამიანის შარდისაგან მიღებული პერსონიფიცირებულ იმუნოგენური ცილების, პოლიპეპტიდების და პეპტიდების შერევას მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინთან ან პროტეინების ნარევთან.

24. ხერხი მ. 22-ის მიხედვით მდგომარეობს იმაში, რომ შერევას ახორციელებენ 10-75°C ტემპერატურის პირობებში.

25. ხერხი მ. 22-ის მიხედვით მდგომარეობს იმაში, რომ ითვალისწინებს კომპლექსის და/ან ნარევის მიღებას სითხის ან მშრალი ფხვნილის ან უელეს სახით.

26. იმუნოგენური სტრესულ პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსის და/ან ნარევის მიღებული მ. 22-ის მიხედვით გამოყენება ორალური ვაქცინის და/ან ფუნქციური საკვებდანამატის სახით.

27. ხერხი მ. 22, 23-ის მიხედვით მდგომარეობს იმაში, რომ დამატებით ითვალისწინებს ნარევის ინკუბირებას.

28. ხერხი მ. 27-ის მიხედვით მდგომარეობს იმაში, რომ ნარევის ინკუბირებას ახორციელებენ 0,05-24 საათის განმავლობაში ოთახის ან 0°C ან 25-95°C ტემპერატურაზე რბილი ნჯღრევის პირობებში ან ნჯღრევის გარეშე.

29. ხერხი მ. 27-ის მიხედვით მდგომარეობს იმაში, რომ ინკუბირებას ახორციელებენ ენერგიული და/ან სუსტი ნჯღრევის პირობებში თბური ან ლაზერული ენერგიის მიწოდებით.

30. in-vitro ადამიანის შარდისაგან მიღებული პერსონიფიცირებულ იმუნოგენური ცილების, პოლიპეპტიდების და პეპტიდების მუხლი 22-ის მიხედვით მიღების ხერხი მდგომარეობს იმაში, რომ ითვალისწინებს შარდის მოგროვებას კონტეინერში, შარდის კონცენტრირებას ვაკუუმ-აორთქლების გზით შარდიდან პერსონიფიცირებული იმუნოგენური ცილების, პოლიპეპტიდების და პეპტიდების გამოყოფას ქრომატოგრაფიული გელ-ფილტრაციით.

31. ხერხი მ. 30-ის მიხედვით ითვალისწინებს შარდის კონცენტრირებას მემბრანული ფილტრაციით და ვაკუუმ-აორთქლებას ან დაბალ ტემპერატურაზე (ლიოფილიზაცია) ან 25-95°C ტემპერატურაზე.

32. ხერხი მ. 30-ის მიხედვით ითვალისწინებს შარდიდან ქრომატოგრაფიული გელ-ფილტრაციით 25-45°C ტემპერატურაზე და/ან კათიონ და ანიონ სელექტიური ფისებით პერსონიფიცირებული იმუნოგენური ცილების, პოლიპეპტიდების, პეპტიდების ან პოლისაქარიდის გამოყოფას და მათ იდენტიფიცირებას.

33. ხერხი მ. 30-ის მიხედვით ითვალისწინებს შარდიდან პერსონიფიცირებული იმუნოგენური ცილების, პოლიპეპტიდების, პეპტიდების და პოლისაქარიდის გამოყოფას და იდენტიფიცირებას ქრომატოგრაფიული გელ-ფილტრაციით 20 წუთის განმავლობაში 45-75°C ტემპერატურაზე.

34. ვაქცინის მიღების ხერხი, რომელიც ითვალისწინებს იმუნოგენური სტრესულ პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსის შექმნას და მის შეთავსებას ფარმაცევტულად მისაღებ მატარებელთან, განსხვავდება იმით, რომ შექმნა ხორციელდება იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსისა და/ან ნარევისაგან, რომელიც შემდგარია პეპტიდისა და მასთან კომპლექსში და/ან ნარევში მყოფი მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინისაგან ან პროტეინების ნარევისაგან.

35. ვაქცინის მიღების ხერხი, რომელიც ითვალისწინებს იმუნოგენური სტრესულ პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსის შექმნას და მის შეთავსებას ფარმაცევტულად მისაღებ მატარებელთან განსხვავდება იმით, რომ შექმნა ხორციელდება იმუნოგენურ სტრესულ პროტეინ-პეპტიდური კომპლექსისა და/ან ნარევისაგან, რომელიც შემდგარია in-vitro ადამიანის შარდისაგან მიღებული პერსონიფიცირებული იმუნოგენური ცილების, პოლიპეპტიდების და პეპტიდებისაგან, და მასთან კომპლექსში და/ან ნარევში მყოფი

მცენარეულუჯრედული წარმოშობის სითბური სტრესის პროტეინისაგან ან პროტეინების ნარევისაგან.

36 ვაქცინის მ. 1-ის მიხედვით მიღება ხერხით მუხლი 34 მიხედვით.

37. ვაქცინის მ. 11-ის მიხედვით მიღება ხერხით მუხლი 35 მიხედვით.