

часть генома вируса гепатита В (M.L. Michel et al., 1984). Наиболее ранняя биологическая система, используемая для производства генноинженерной вакцины гепатита В, - это дрожжевые клетки, продуцирующие липопротеиновые частицы, содержащие S белок, в то время как СНО система продуцирует частицы, содержащие S и М белки в соотношении примерно 2:1. Очищенные HBs (S) или HBs (S, М) липо-протеиновые частицы адсорбируют на гидроксид алюминия в процессе приготовления вакцины.

В настоящее время в России зарегистрированы следующие вакцины для профилактики гепатита В: Рекомбивакс HB, Merck Sharp & Dohme; Энджерикс В, Smithkline Beecham Biologicals; Хебербиовак, АО Эвер Биотек, Куба; Элвакс производства Южной Кореи и отечественная вакцина Комбиотек.

Кроме того, фирма Pasteur Merieux Serum et Vaccins выпускает вакцину Геневак. Генноинженерные вакцины гепатита В начали применяться в широкой медицинской практике с 1984-1985 гг. Вначале были лицензированы дрожжевые вакцины (J. Maynard et al., 1988), далее с применением клеточных субстратов животных (P. Tiollais and M. Michel, 1986; T. Lee et al., 1989, A. Caputo et al., 1988 and H. Samanta and B. Youn, 1989). Рекомбинантные вакцины являются безопасными препаратами, обладают высокой иммунологической активностью (J. Fonseca et al., 1990; P. Dentico et al., 1990; V. Perez et al., 1990) и эффективностью (C. Goilav et al., 1990, N. Scheiermann et al, 1990). Кроме того, показано, что генноинженерные вакцины могут вводиться одновременно с другими вакцинами, такими как БЦЖ, АКДС и полно (R. Ellis, 1993) или в другом сочетании (Н. Медуницын, 1999).

В.П. Грачев, Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.Л. Чумакова РАМН.

ПРАКТИКА ПРИМЕНЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОЙ РНК ВИРУСА ГЕПАТИТА С В КАЧЕСТВЕ СТАНДАРТА В ЦЕПНОЙ ПОЛИМЕРАЗНОЙ РЕАКЦИИ.

Вирус гепатита С (ВГС), как и все РНК-содержащие вирусы, существует в форме квазивида. Гетерогенность популяций вируса, по-видимому, обуславливает персистенцию вируса в организме и ускользание от иммунитета. Более того, есть данные о том, что комплексность гипервариабельного района 1 у квазивида может быть фактором, предсказывающим неэффективность терапии интерфероном альфа у пациентов с хроническим гепатитом С (Moribe T. et al, 1995). Наличие в геноме ВГС консервативных районов является основой для развития тест-систем, использующих полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Эти консервативные районы располагаются в 5'-нетранслируемом районе и в гене, кодирующем белок капсида ВГС.

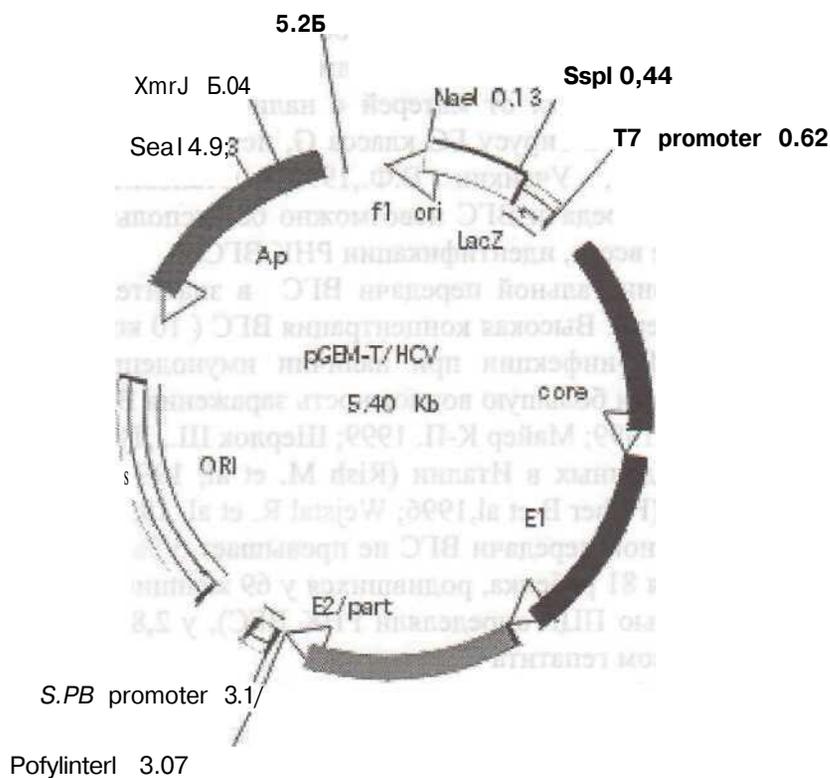
Поэтому была сконструирована плазида, содержащая 5'-концевой не транслируемый район и последовательность, кодирующую капсидный белок. С этой плазмиды с помощью ДНК-зависимой РНК-полимеразы нарабатывалась рекомбинантная РНК ВГС длиной около 800 нуклеотидов, которая изучалась в качестве стандарта в ПЦР (Мошков Е.А., Асади Мобархан А.Х. и др., 1999). Полученные результаты свидетельствуют о полной идентичности рекомбинантной РНК вирионной РНК при постановке ПЦР с использованием набора фирмы «Авиценна».

Но если при использовании сыворотки крови инфицированных людей содержание вирионов редко превышает 10^3 - 10^5 вирионов в миллилитре, то содержание рекомбинантной РНК обычно превышает 10^{10} копий в трех микролитрах.

На базе созданной рекомбинантной РНК разрабатывается количественная ПЦР.

Рекомбинантная РНК вируса гепатита С сохраняется при минус 20°C в течение более шести месяцев (срок наблюдения) без потери специфичности и без видимого снижения концентрации. Более того, при содержании в морозильнике бытового холодильника препарат контрольной РНК, используемый в качестве положительного контроля (K^+) (10^{-6} разведение рекомбинантной РНК, полученной в результате транскрипции с рекомбинантной плазмиды), выдерживал более 200 циклов оттаивания-замораживания, тогда как РНК вируса гепатита С в сыворотке инфицированных не определялась после пяти-шести циклов замораживания-оттаивания.

В результате проведенных исследований создана рекомбинантная РНК вируса гепатита С, пригодная для использования в качестве контрольной при изучении препаратов, содержащих вирус гепатита С, с помощью ПЦР. РНК неинфекционна, безопасна, устойчива при хранении и может быть рекомендована для составления панелей с различным содержанием копий. В Минздраве РФ провели испытание панелей с фиксированным количеством копий с целью последующего контроля чувствительности методов, применяемых при ПЦР-диагностике.



5	C	E1	E2
---	---	----	----

В

E1	E2
----	----

Фрагменты кДНК вируса гепатита С, клонированные в плазмиде рGTM-T, А - фрагмент длиной около 2600 нуклеотидов, Б - фрагмент длиной около 800 нуклеотидов. В - фрагмент, содержащий гены, кодирующие структурные гликопротеины.

Е.Л. Мошков, А.Х. Асади Мобархан, С.М. Беглова, А.Е. Мешков, ООО «Медицинский Центр «Авиценна».