



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

196 040

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavná priorita
(22) Prihlášené 12 11 77
(21) PV 7440-77

(51) Int. Cl.³ G 01 N 33/16

(40) Zverejnené 29 06 79
(45) Vydané 01 3 82

(75)

Autor vynálezu ZÁVADA JAN prom. biol. CSc., BRATISLAVA

(54) Preparát pro diagnostiku leukémie na jiných nádorových onemocnění s virovou etiologií

1

Vynález se týká preparátu pro diagnostiku leukémie a jiných nádorových onemocnění s virovou etiologií.

Zhoubné nádory představují jeden z nejzákladnějších problémů medicíny veterinární i lidské. Virová etiologie mnoha zhoubných nádorů zvířat je dnes prokázána: jejich původci patří většinou do skupiny onkovirů a herpesvirů. Etiologie lidských nádorů dnes ještě není prokázána.

Viry, které vyvolávají nádorová onemocnění lze diagnostikovat podstatně obrázněji, než viry ostatních chorob. Je to proto, že 1) většina z nich se množí v tkáňových kulturách bez viditelných příznaků, 2) množí se pomalu a dosahují obvykle nízkých koncentrací, 3) některé z nich dnes nedovedeme přenést v tkáňových kulturách vůbec, 4) některé netvoří kompletní virové částice, ale jen jejich komponenty. Z těchto důvodů se pro ně nehodí řada klasických virologických testů, zvláště založených na použití tkáňových kultur.

Diagnostika těchto virů se opírá hlavně o tyto metody:

- imunodifúze (Ferrer a Bhatt, 1973, Miller a Olson, 1972),
- imunofluorescence (Ferrer a Bhatt, 1973),
- reakce vazby komplementu (Sarma a sp., 1964, Levy a spo., 1977),
- značení viru radioaktivním uridinem a jeho izopyknická centrifugace v sacharózovém gradientu (Robinson 1967),

198 040

e) určení enzymatické aktivity "reverzní transkriptasy" (Temin a Mizutani, 1970, Baltimore, 1970),

f) molekulární hybridizace radioaktivní virové nukleové kyseliny (Callahan a spo., 1976),

g) radioimunologické reakce (Gilden a sp., 1975, McDonald a Ferrer, 1976).

(Uvedené reference slouží jen jako příklady; o těchto metodách jsou dnes stovky publikací.) První tři metody, a, b, c, se běžně používají k rutinní diagnostice, jsou rychlé a levné, ale jejich citlivost je velice nízká: vyžadují vysokou koncentraci jak diagnostického antigenu, tak i specifických protilátek. Radioimunologické testy (g) jsou přibližně 1000x citlivější, vyžadují však speciálně zařízené laboratoře, nákladné přístroje a vysoce kvalifikovaný personál. Metody d, e, f, se dnes používají pouze k výzkumným cílům, nikoliv k rutinní diagnostice, a jsou nesmírně náročné a nákladné.

Vynález tkví v tom, že lze připravit virové částice, které mají genetické vlastnosti viru s experimentálně výhodnými vlastnostmi, který patří do jiné skupiny (např. rhabdovirů) a na jejich povrchu jsou antigeny virů onkogenních. Tyto částice se nazývají pseudotypy rhabdo (onkorna), případně rhabdo (herpes) apod. Genom rhabdoviru jim dodává schopnost rychle tvořit plaky a povrchový antigen onkogenního viru určuje jejich schopnost neutralizace specifickými protilátkami proti onkoviru.

Předmětem vynálezu je preparát pro diagnostiku leukémie a jiných nádorových onemocnění s virovou etiologií, vyznačující se tím, že se skládá z genomu viru cytopatogenního a jiné skupiny, výhodně rhabdovirů a neutralizačního antigenu onkogenního viru.

Vynález se opírá o poznatok, že existuje míšení fenotypu mezi skupinou rhabdovirů a skupinou onkovirů, ale ten byl použit výhradně k řešení teoretických problémů, nikoliv jako metody diagnostické.

Vynález má oproti dosavadním metodám, výše uvedeným, tyto výhody:

ve srovnání s metodami sub a, b, c, má mnohonásobně vyšší citlivost (100 až 1000-krát vyšší), ve srovnání s metodou sub g (radioimunologie) má citlivost přibližně stejnou, ale je mnohem jednodušší a levnější - lze ji používat v laboratořích bez izotopických zařízení a přístrojů. Je použitelná v každé standardně vybavené virologické laboratoři, ve srovnání s metodami sub d, e, f, je taktéž mnohem levnější, a na rozdíl od nich je použitelná v masovém rutinním měřítku.

Hlavní přednosti vynálezu jsou citlivost, přesnost, rychlost a nízká cena.

Virus vesikulární stomatitidy nebo virus Chandipura se pomnoží v kulturách buněk, předem infikovaných virem bovinní leukémie. V potomstvu této smíšené infekce se virové partikule s genomem i obalem vesikulární stomatitidy nebo viru Chandipura zneutralizují antisérem proti dotyčnému viru. Zbývající infekční virus, schopný tvořit plaky, je pseudotyp, s antigeny viru leukémie. Jiná možnost přípravy pseudotypu využívá vhodných mutant rhabdoviru s defektem lokalizovaným v genu pro virový povrchový glykoprotein.

Týmto preparátem se dají vyšetřovat séra hovězího dobytka, kde neutralizující protilátky se zjišťují již krátce po infekci. Inkubace choroby totiž trvá 2 až 3 roky, bez he-

atologických příznaků, a infikovaná zvířata zatím šíří virus dále. Na základě tohoto vyšetření se infikovaná zvířata izolují a vyřadí, čímž se očistí chov a chorobu lze tak eradikovat. Ve srovnání s imunoprecipitační metodou se tímto způsobem dá zachytit o 50 % více infikovaných zvířat.

Další aplikace vynálezu jsou jiné choroby hospodářských zvířat, které vyvolávají viry, jejichž diagnostika je jinak obtížná a zdlouhavá.

V budoucnu je naděje, že takovýmto způsobem bude lze zjišťovat virové antigeny i v lidských nádorech: Hlavní předností vynálezu je to, že jeho pomocí lze zjišťovat přítomnost komponent i virů zatím zcela neznámých.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Preparát pro diagnostiku leukémie a jiných nádorových onemocnění s virovou etiologií, vyznačující se tím, že se skládá z genomu viru cytopatogenního a jiné skupiny, výhodně habdovirů a neutralizačního antigenu onkogenního viru.