



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2007106750/13, 22.02.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
22.02.2007

(45) Опубликовано: 10.11.2008 Бюл. № 31

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2034457 C1, 10.05.1995. RU 2031121
C1, 20.03.1995. US 4,975,282 C1, 04.12.1990.

Адрес для переписки:

129090, Москва, а/я 11, патентная фирма
ПРОПАТЕНТ

(72) Автор(ы):

Юдин Сергей Михайлович (RU),
Магатаев Вали-Магомед Кадиевич (RU),
Остроумов Юрий Игоревич (RU),
Слободян Владимир Григорьевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Юдин Сергей Михайлович (RU),
Магатаев Вали-Магомед Кадиевич (RU)(54) СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ МЯСНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ БРОЙЛЕРОВ И ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЕГО
ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к ветеринарии, конкретно к мясному птицеводству, и может быть использовано для повышения мясной продуктивности бройлеров. Способ повышения мясной продуктивности бройлеров предусматривает однократную инъекцию в суточном возрасте птицы липосомальной формы препарата, содержащего химерный белок с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-

терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8 и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKTFTSC, с медианным размером липосом 250±50 нм. Причем введение препарата осуществляют совместно с вакциной против возбудителя болезни Марека. Изобретение позволяет эффективно повысить мясную продуктивность бройлеров путем однократной инъекции препарата в течение всего периода откорма птицы. 2 н. п. ф-лы, 1 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 337 708** ⁽¹³⁾ **C1**

(51) Int. Cl.

A61K 39/385 (2006.01)

A01K 45/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2007106750/13, 22.02.2007**

(24) Effective date for property rights: **22.02.2007**

(45) Date of publication: **10.11.2008 Bull. 31**

Mail address:

**129090, Moskva, a/ja 11, patentnaja firma
PROPATENT**

(72) Inventor(s):

**Judin Sergej Mikhajlovich (RU),
Magataev Vali-Magomed Kadievich (RU),
Ostroumov Jurij Igorevich (RU),
Slobodjan Vladimir Grigor'evich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Judin Sergej Mikhajlovich (RU),
Magataev Vali-Magomed Kadievich (RU)**

(54) **METHOD OF HIGHER MEAT PRODUCTION OF BROILERS AND RELATED PREPARATION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine; veterinary science.

SUBSTANCE: method of higher meat production of broilers provides single injection for day birds of liposomal forms of preparation containing chimeric protein with water insoluble enzyme-inactive chloramphenicol acetyltransferase without 10 S-terminal aminoacids, aminoacid spacer (Sp)_n, where n=1, 2, 4, 8 and somatostatin-

14 with aminoacid sequence AGCFWKFTFTSC, with median size of liposomes 250±50 nm. And preparation is introduced in combination with Marek's disease factor vaccine.

EFFECT: invention allows for higher effective meat production of broilers using single injection of preparation during the whole fattening period.

2 cl, 1 tbl

RU 2 337 708 C1

RU 2 337 708 C1

Изобретение относится к мясному птицеводству, а конкретно к способу повышения мясной продуктивности бройлеров и препарату для его осуществления.

Современное птицеводство несколькими путями решает проблему максимального использования генетического потенциала птицы и сохранения при этом ее продуктивного здоровья. Ускорение динамики роста и повышение суточных приростов живой массы бройлеров при снижении экономических затрат на 1 кг прироста живой массы тела является одной из основных задач в мясном птицеводстве. На протяжении многих лет для этой цели использовали ростостимулирующие антибактериальные препараты, получаемые птицей с кормами в определенных концентрациях. Однако появление и широкое распространение в конце 80-х годов XX века антибиотикоустойчивых штаммов микроорганизмов, обладающих перекрестной резистентностью к антибактериальным соединениям, используемым в медицине, обусловило резкое снижение частоты и объемов применения антибиотиков в птицеводстве. На современном этапе во многих странах мира, в частности в государствах ЕЭС, запрещено использование антибактериальных препаратов в качестве ростостимулирующих добавок в корма птице.

Существуют и другие, не прямые, методы повышения мясной продуктивности бройлеров. К ним относятся введение микроэлементов (в частности селена), витаминов в корма птице, применение гуминовых препаратов. Все указанные методы предусматривают многократное применение кормовых добавок и направлены, прежде всего, на оптимизацию состава кормовых смесей по ряду контролируемых показателей.

Прямой метод повышения мясной продуктивности бройлеров направлен на повышение концентрации гормона роста (соматотропина) в организме птицы. Это может быть достигнуто путем применения химически синтезированного соматотропина. Однако высокая стоимость препарата делает такой способ повышения продуктивности не всегда рентабельным, а использование гормональных препаратов вызывает отрицательное отношение в обществе.

Существует иной метод повышения концентрации эндогенного соматотропина - путем снижения концентрации в организме его антагониста - соматостатина.

Соматостатин - биологически активный тетрадекапептид. Вырабатывается в гипоталамусе и желудочно-кишечном тракте животных и птицы. Последовательность соматостатина-14 выражено-консервативна среди позвоночных. Соматостатин оказывает сильное ингибирующее действие на широкий круг гормонов и связанных с ними функций организма. Широкий спектр действия соматостатина на факторы, необходимые для утилизации пищи, открывает большие перспективы для использования его в качестве регулятора роста птицы. В связи с этим большой интерес представляет аутоиммунная реакция организма птицы на введение соматостатинсодержащего белка, приводящая к снижению концентрации пептида в крови и, как следствие, к индукции анаболических факторов и ускорению роста птицы.

Исследования показали, что у иммунизированных препаратами соматостатина животных отмечается увеличение суточных привесов массы тела на 10-20%, возрастание эффективности переваривания и утилизации пищи на 11%. При этом наблюдается улучшенная абсорбция компонентов пищи и более медленное ее прохождение по желудочно-кишечному тракту. Иммунизированные соматостатином животные и их потомство имеют правильные пропорции и распределение массы тела. Однако практического распространения в животноводстве антисоматостатиновая иммунокоррекция не получила ввиду высокой стоимости химически синтезированного соматостатина. Поскольку небольшие размеры соматостатина-14 не позволяют его прямой микробный синтез с помощью технологии рекомбинантной ДНК, описано несколько способов осуществить его синтез в форме химерных белков с последующим специфическим выделением целевого продукта, не давших, однако, удовлетворительных результатов. Основным недостатком упомянутых методов является крайне низкая иммуногенность полученных препаратов в отношении соматостатина, обусловленная его маскированием в молекуле химерного белка, вследствие чего данные методы получения химерных белков

не нашли широкого практического использования (Itakura R. et al., 1977 Expression in E. Coli of a chemically synthesised gene of hormone somatostatin, Science, 1986, 1056-1063; Шишкина А.А. и др. Синтез фрагмента генов соматостатина. Химия природных соединений, 1988, №6, с.614-615).

5 Известен способ конструирования химерных соматостатинсодержащих белков с применением аминокислотного спейсера, содержащего аргинин и пролин и обуславливающего локализацию соматостатина на поверхности белка-носителя и, тем самым, высокую иммуногенность препарата (RU C1 №2031121, МПК 6 C12N 15/12, 1995).

10 Конструкция состоит из водонерастворимого белка-носителя (фрагмента бактериальной хлорамфениколацетилтрансферазы без 10 С-концевых аминокислот), тетрамерного спейсера и С-концевого соматостатина-14. Молекулярный вес химерного бежа составляет 28 кДа. Данный химерный белок экспрессируется штаммом E.coli B-6519, трансформированным плазмидой pC(Sp)₄S. Штамм депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ). Химерный белок с экспонированным
15 соматостатином представляет собой водонерастворимую ферментативно неактивную хлорамфениколацетилтрансферазу без 10 концевых аминокислотных остатков, к которой через спейсерную последовательность присоединена последовательность соматостатина-14.

20 Метод антисоматостатиновой иммунизации животных с использованием указанного химерного соматостатинсодержащего белка используется в промышленном животноводстве (RU C1 №2034457, МПК 6 A01K 67/02, 1995).

Результат изобретения заключается в разработке метода повышения мясной продуктивности бройлеров путем применения липосомальной формы препарата с химерным соматостатинсодержащим белком.

25 Этот результат достигается тем, что способ повышения мясной продуктивности бройлеров предусматривает однократную инъекцию в суточном возрасте птицы липосомальной формы препарата, содержащего химерный белок с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8 и соматостатином-14 с
30 последовательностью аминокислот AGCFWKFTFTSC в липосомальной форме с медианным размером липосом 250±50 нм. Введение препарата осуществляют совместно с вакциной против возбудителя болезни Марека.

Соответственно, препарат для повышения мясной продуктивности бройлеров содержит в липосомальной форме эффективное количество химерного белка с водонерастворимой
35 ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8 и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKFTFTSC, где медианный размер липосом составляет 250±50 нм.

40 Механизм действия препарата основан на временном блокировании активности эндогенного соматостатина птицы и повышении концентрации эндогенного гормона роста. При этом наблюдается улучшенная абсорбция компонентов пищи и более медленное ее прохождение по желудочно-кишечному тракту птицы. Однократное (в течение всего периода откорма птицы) введение препарата позволяет в значительной мере свести к минимуму дополнительные технологические операции персонала.

45 Отличительной особенностью химерного соматостатинсодержащего белка является его крайне низкая растворимость в водных средах, а также его агрегация и последующая флокуляция при попытке получения однородной дисперсии в случае введения в водные растворы истинного раствора белка в иных растворителях, легко смешиваемых с водой. Вследствие этого представляется достаточно сложным получение однородной дисперсии с
50 низкой концентрацией белка ($1 \cdot 10^{-3}$ г/мл) в водной среде для введения живым организмам с массой тела, равной 40-50 г.

С этой целью была разработана липосомальная форма препарата, в которой химерный соматостатинсодержащий белок находится внутри высокодисперсных фосфолипидных

везикул. При этом белок, находящийся внутри каждой везикулы, не взаимодействует с молекулами белка, заключенными в другие фосфолипидные образования. Этот фактор препятствует образованию агрегатов белка. Также важно, что высокая устойчивость получаемой высокодисперсной липосомальной системы (медианный размер липосом 200 нм, стабильность более 1 года) позволяет получать однородную концентрацию белка во всем объеме системы.

Целесообразность введения препарата совместно с вакциной против возбудителя болезни Марека обусловлена только стремлением уменьшить степень травмирования птицы проведением нескольких курсов вакцинации. Препарат может использоваться отдельно, без вакцины против возбудителя болезни Марека, которая на эффективность препарата влияния не оказывает.

Возможность осуществления изобретения поясняется примером получения препарата для повышения мясной продуктивности цыплят-бройлеров.

Полученный и очищенный от примесей препарат белка растворяют в буфере 0,2 М трис-HCl pH 8,0, содержащем 6М гуанидингидрохлорид и 2М МЭДТА. Добавляют 50-кратный молярный избыток β-меркаптоэтанола в расчете на количество S-S групп химерного белка и раствор быстро разбавляют 10-кратным объемом буфера без гуанидинхлорида. Образовавшийся преципитат гибридного белка отделяют центрифугированием в течение 15 минут при 12000g и температуре 4°C и лиофильно высушивают для последующего хранения.

Затем лиофильно высушенный препарат белка растворяют в апротонном растворителе в требуемой концентрации ($1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ М). Полученный раствор переводят в липосомальную форму с помощью обработки в аппарате ЛШИВ (линейный шаговый индукционный вращатель) в течение 10-20 минут совместно с расчетными количествами фосфолипидов (20% спиртовой раствор) и дистиллированной воды. Полученный липосомальный препарат характеризуется следующими показателями: диаметр липосом 250 ± 50 нм; содержание фосфолипидов $2,5 \pm 1,0\%$; сухой остаток 5-20%. Концентрация соматостатинсодержащего белка в конечной прописи препарата составляет 1,35-2,70 мг/мл раствора. Липосомальный препарат фасуют в потребительскую тару согласно нормативно-технической документации.

Эффективность применения препарата для повышения мясной продуктивности цыплят - бройлеров иллюстрируется следующим.

Было сформировано три аналоговых группы цыплят-бройлеров суточного возраста по 1000 голов в каждой.

Липосомальную форму соматостатинсодержащего (ССБ) препарата в объеме 1,5 мл с концентрацией по белку 1,35-2,70 мг/мл с соблюдением правил асептики непосредственно перед вакцинацией птицы добавляют во флакон (200 мл) с вакцинным препаратом против болезни Марека. Осторожно (методом покачивания) перемешивают содержимое флакона до получения однородной концентрации суспензии во всем объеме флакона. Вводят по 0,2 мл/голову в соответствии с наставлением по вакцинации.

Данные о влиянии липосомальной формы соматостатинсодержащего химерного белка на мясную продуктивность цыплят-бройлеров (сроки выращивания - 41 сутки) представлены в таблице.

Как следует из приведенных в таблице данных, однократное применение в суточном возрасте бройлеров липосомальной формы соматостатинсодержащего белка в концентрации от 2 до 4 мкг/голову совместно с вакцинным препаратом против болезни Марека обуславливает повышение суточных приростов живой массы тела птицы в диапазоне от 3,1% до 7,3% при одновременном увеличении показателей сохранности поголовья птицы на 1,2-1,6%.

Варианты	Сохранность		Среднесуточный прирост живой массы одной головы	
	голов	% к контролю	г	% к контролю
Контроль	956	100	38,3	100
ССБ, 2 мкг/1 голову	968	101,2	39,5	103,1

ССБ,	971	101,6	41,1	107,3
4 мкг/1 голову				

Формула изобретения

5

1. Способ повышения мясной продуктивности бройлеров, предусматривающий однократную инъекцию в суточном возрасте птицы липосомальной формы препарата, содержащего химерный белок с водонерастворимой ферментативно неактивной

10

хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8 и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKFTFTSC в липосомальной форме с медианным размером липосом 250±50 нм, причем введение препарата осуществляют совместно с вакциной против возбудителя болезни Марека.

15

2. Препарат для повышения мясной продуктивности бройлеров, содержащий в липосомальной форме эффективное количество химерного белка с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8 и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKFTFTSC, где медианный размер липосом составляет 250±50 нм.

20

25

30

35

40

45

50