

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202290563 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.09.05

(51) Int. Cl. *A61K 35/20* (2006.01)
A61K 38/20 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.10.07

(54) КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

(31) 62/911,504; 62/911,581; 62/911,591;
62/911,612

(72) Изобретатель:
Орбах Ариэль, Ашкенази Майя,
Эпплбаум Юваль (IL)

(32) 2019.10.07

(33) US

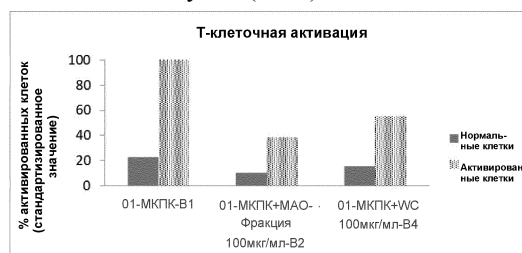
(86) PCT/IL2020/051084

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(87) WO 2021/070183 2021.04.15

(71) Заявитель:
МАОЛАК ЛТД. (IL)

(57) В изобретении предложена композиция для стимуляции иммунной системы, содержащая кератиновое соединение и бета-лактоглобулин (LGB).



A1

202290563

202290563

A1

КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к области иммунологии, в частности, к
5 способности веществ вызывать или усиливать ответ иммунной системы.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Иммунная система представляет собой совокупность клеток и молекул,
выполняющих специализированные функции в обеспечении защиты против
10 инфекции. Существует два фундаментально разных типа ответов на инвазию
патогенов. Врожденные (естественные) иммунные ответы развиваются с
одинаковой силой, независимо от того, сколько раз организм сталкивается с
инфекционным агентом, тогда как приобретенные (адаптивные) ответы более
эффективны при повторном воздействии конкретной инфекции.

15 Учитывая непрерывно растущий перечень инфекционных заболеваний и
патогенов, существует необходимость в решениях, которые могут усиливать
способности иммунной системы в борьбе с заболеваниями, с которыми
сталкивается популяция.

Конкретные популяции, более подверженные риску инфицирования или серьезных
20 последствий при воздействии вредных патогенов, представляют собой младенцев
(infant), пожилых людей, субъектов с нарушениями иммунной системы, животных
и спортсменов, например.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

25 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, в
настоящей заявке предложена композиция для стимуляции иммунной системы,
содержащая кератиновое соединение (соединение кератина) и бета-лактоглобулин
(beta-lactoglobulin, LGB).

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, кератиновое
30 соединение может быть выбрано из группы, включающей KRT33B, KRT13, KRT18,

KRT17, KRT42, KRT28, KRT36, KRT12, KRT10, KRT24, KRT14, KRT4, KRT75, KRT6A, KRT6C, KRT5, KRT77, KRT1, KRT3, KRT2 или их комбинацию.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, кератиновое соединение может присутствовать в концентрации, составляющей от 0,01% до 15,5%, предпочтительно, от 0,01% до 10,0%, и LGB может присутствовать в концентрации, составляющей от 0,02% до 23,4%.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция может дополнительно содержать комбинацию противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего компонента.

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, противовоспалительный компонент может быть выбран из группы, включающей лактоферрин, альфа-лактоальбумин, гликопротеин CD59, лактотрансферрин, лизозим С, интерлейкин-10 (IL-10), трансформирующий фактор роста бета (TGF-бета), интерлейкин-4 (IL-4) и циклооксигеназу-1 (Cox-1).

20 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, провоспалительный компонент может быть выбран из группы, включающей лактотрансферрин, лизозим С, интерлейкин-1В (IL-1В), интерлейкин-6 (IL-6), фактор некроза опухоли альфа (TNF-альфа).

25 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, противомикробный компонент может быть выбран из группы, включающей бета-дефенсин 1, лактопероксидазу, лактотрансферрин, альфа-лактальбумин, катепсин G, лизозим С, иммуноглобулин G (IgG) и иммуноглобулин А (IgA).

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, первый иммуностимулирующий компонент может быть выбран из группы, включающей эндоплазмин, нейтрофильную эластазу, IgA, IgG, иммуноглобулин М (IgM) и лактотрансферрин.

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, второй иммуностимулирующий компонент может быть выбран из группы, включающей лиганд 5 хемокинов (С-С мотив) (CCL5), эндоплазмин, нейтрофильную эластазу, IgA, IgG, IgM, пролактин-индуцируемый белок и ингибитор эластазы лейкоцитов.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция может дополнительно содержать молозиво.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложено применение композиции согласно настоящему изобретению для стимуляции иммунной системы младенца.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложено применение композиции согласно настоящему изобретению для стимуляции иммунной системы субъектов, страдающих нарушением иммунной системы.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложено применение композиции согласно настоящему изобретению для стимуляции иммунной системы животного.

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложено применение композиции согласно настоящему изобретению для снижения воспаления у спортсменов.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложен пищевой продукт, выбранный из группы, включающей: молочные продукты, коктейли, напитки, формулы для младенцев, корма для животных и т.д.

20 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, в настоящей заявке предложена композиция, содержащая комбинацию кератинового соединения, бета-лактоглобулина (LGB), противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего
25 компонента.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

30 Неограничивающие примеры вариантов реализации изобретения описаны ниже со ссылкой на фигуры, прилагаемые к настоящей заявке и перечисленные после данного абзаца.

Идентичные структуры, элементы или части, которые появляются более чем в

одной фигуре, в целом обозначены одним и тем же символом во всех фигурах, в которых они появляются.

На Фигуре 1 показана блок-схема, изображающая процесс получения улучшенной композиции в соответствии с одним аспектом изобретения.

5 На Фигуре 2 изображена блок-схема, демонстрирующая преимущества и недостатки применения и/или выделения молозива животного происхождения.

На Фигуре 3 показан график, демонстрирующий изменение концентрации белка в зависимости от возраста младенца, согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения.

10 На Фигуре 4 изображены результаты белкового анализа подготовленных проб с помощью гель-электрофореза, согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения.

На Фигурах 5-7 изображены графики G1-G6, которые демонстрируют гомологию между человеческим и коровьим молозивом.

15 На Фигуре 8 показаны результаты анализа белков с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН-ПААГ), согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения.

20 На Фигуре 9 показаны результаты анионообменной (АО) хроматографии обезжиренного молозива после кислотной преципитации, согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения.

На Фигуре 10 показаны результаты катионообменной (КО) хроматографии обезжиренного молозива после кислотной преципитации, согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения.

25 Фигура 11 представляет собой график, изображающий коэффициент обогащения, согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения.

Фигура 12 представляет собой график прямого и бокового светорассеяния из проточного цитометрического анализа моноклеарных клеток периферической крови (МКПК), согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения.

Фигура 13 представляет собой график, изображающий Т-клеточную активацию для различных образцов, согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения.

5 Фигура 14 представляет собой график, демонстрирующий секрецию IFN-гамма через 72 ч для различных образцов, согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения.

Фигура 15 представляет собой график, изображающий секрецию IL-1 β в различных исследуемых группах, согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения.

10

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, в настоящей заявке предложена композиция (также называемая в настоящей заявке «формулой») для стимуляции иммунной системы, содержащая по меньшей мере
15 одно кератиновое соединение и бета-лактоглобулин (LGB).

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, кератины представляют собой типичные белки промежуточных филаментов эпителия с широким разнообразием молекулярных структур, тогда как β -лактоглобулин (LGB) представляет собой основной сывороточный белок коровьего и овечьего молока (~3
20 г/л), а также присутствует у многих других видов млекопитающих, при этом человек является важным исключением. В отличие от других основных сывороточных белков, явная функция β -лактоглобулина до сих пор не было определена.

Однако согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения,
25 уникальная комбинация кератинового соединения и бета-лактоглобулина (LGB) может обеспечивать синергический эффект, например, с точки зрения стимуляции иммунной системы.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, кератиновое соединение может быть выбрано из группы, включающей KRT33B, KRT13, KRT18,
30 KRT17, KRT42, KRT28, KRT36, KRT12, KRT10, KRT24, KRT14, KRT4, KRT75, KRT6A, KRT6C, KRT5, KRT77, KRT1, KRT3, KRT2 или их комбинацию.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, кератиновое соединение может присутствовать в концентрации, составляющей от 0,01% до 15,5%, предпочтительно, от 0,01% до 10,0%, и LGB может присутствовать в концентрации, составляющей от 0,02% до 23,4%.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, интерлейкины (II) могут участвовать в большинстве иммунных ответов, таких как воспаление, Т-клеточная пролиферация и усиление антибактериального ответа. Кератины могут быть вовлечены в различные цитокиновые пути и, таким образом, могут применяться для модулирования указанных ответов (например, 10 провоспалительных цитокинов). Бета-лактоглобулин (LGB) представляет собой другой фактор, который может вызывать продукцию цитокинов и/или клеточную пролиферацию. Кроме того, бета-лактоглобулин можно применять в качестве природного анальгезирующего и противовоспалительного средства, и гидролизаты LGB (LGBH) могут проявлять антиоксидантную, противогипертоническую, 15 противомикробную и опиоидную активность.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, специфическая комбинация кератинов и бета-лактоглобулина может приводить к сильному провоспалительному ответу в моноцитах человека и/или животных. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего 20 изобретения, синергия между кератинами и LGB может вызывать сильный иммунный ответ.

Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации изобретения, в композиции согласно настоящему изобретению может присутствовать более одного кератинового соединения.

25 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция может дополнительно содержать комбинацию противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего компонента.

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, противовоспалительный компонент может быть выбран из группы, включающей лактоферрин, альфа-лактоальбумин, гликопротеин CD59, лактотрансферрин,

лизозим С, интерлейкин-10 (IL-10), трансформирующий фактор роста бета (TGF-бета), интерлейкин-4 (IL-4) и циклооксигеназу-1 (Cox-1).

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, провоспалительный компонент может быть выбран из группы, включающей лактотрансферрин, лизозим С, интерлейкин-1В (IL-1В), интерлейкин-6 (IL-6), фактор некроза опухоли альфа (TNF-альфа).

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, противомикробный компонент может быть выбран из группы, включающей бета-дефенсин 1, лактопероксидазу, лактотрансферрин, альфа-лактальбумин, катепсин G, лизозим С, иммуноглобулин G (IgG) и иммуноглобулин А (IgA).

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, первый иммуностимулирующий компонент может быть выбран из группы, включающей эндоплазмин, нейтрофильную эластазу, IgA, IgG, иммуноглобулин М (IgM) и лактотрансферрин.

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, второй иммуностимулирующий компонент может быть выбран из группы, включающей лиганд 5 хемокинов (С-С мотив) (CCL5), эндоплазмин, нейтрофильную эластазу, IgA, IgG, IgM, пролактин-индуцибельный белок и ингибитор эластазы лейкоцитов.

20 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может проявлять синергический эффект. Например, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, каждый компонент и/или молекула в композиции может обладать одним или более иммуностимулирующими свойствами, но при объединении противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и
25 второго иммуностимулирующего компонента указанные компоненты обеспечивают иммуностимулирующий эффект, который превышает сумму эффектов всех компонентов по отдельности.

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, термин «синергический эффект (эффекты)» может относиться к повышенной активации конкретной части и/или компонента иммунной системы и/или активации множества частей и/или компонентов иммунной системы, при этом, согласно

некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, синергический эффект может относиться к кооперативным взаимодействиям между компонентами композиции согласно настоящему изобретению, например, приводящим к усилению иммуностимулирующего эффекта, который превышает иммуностимулирующий эффект, наблюдаемый при применении каждого компонента по отдельности.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, иммуноглобулин для применения в композиции согласно настоящему изобретению предпочтительно представляет собой IgA. Согласно указанным предпочтительным вариантам реализации изобретения, младенцы более подвержены заражению инфекциями и заболеваниями, передающимися через слизистые оболочки. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предпочтительно применяется IgA.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, термин «активация иммунной системы» (также называемый в настоящей заявке «стимуляция иммунной системы», «иммуностимулирующий эффект», «иммуностимуляция» или «усиление стимуляции иммунной системы») может включать, но не ограничивается указанными, сокращение периода заболевания и/или периодов вспышки заболевания, снижение вероятности заболеть, снижение количества и/или тяжести симптомов, связанных с указанным заболеванием, и т.д. и/или активацию и/или пролиферацию клеток иммунной системы и/или дезактивацию и/или снижение активности клеток, вовлеченных в воспаление.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, специфическое применение провоспалительного компонента обеспечивает неожиданный благоприятный эффект. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, как правило, является предпочтительным избегать воспаления у человека, однако композиция согласно настоящему изобретению обеспечивает благоприятный иммуностимулирующий эффект благодаря применению провоспалительных иммунологических компонентов для борьбы с патогенами.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения,

композиция согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать один или более компонентов из молозива и/или цельное молозиво, полученное, например, из синтетического источника, источника человеческого и/или животного происхождения.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может содержать комбинацию 2 или более молозив.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция может содержать комбинацию двух или более молекул, происходящих по меньшей мере из двух различных молозив, выделенных из двух различных млекопитающих.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция может предпочтительно содержать комбинацию 2 коровьих молозив, например, компоненты LALBA и CATHL1, для достижения противовоспалительного ответа вместе с антибактериальной защитой.

15 LALBA представляет собой альфа-лактальбумин – противовоспалительный компонент, ингибирующий активность COX и фосфолипазы A(2).

20 CATHL1 представляет собой противомикробный пептид (направленный против грамм-отрицательных бактерий), который опосредует противомикробный гуморальный иммунный ответ. Он может связываться с липополисахаридом (ЛПС) и повышать проницаемость наружной мембраны грамм-отрицательных бактерий.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, соотношение между 2 коровьими молозивами, содержащими LALBA и CATHL1, может предпочтительно составлять 60:40.

25 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция может обладать противовоспалительными свойствами.

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, как показано ниже, мононуклеарные клетки периферической крови (МНПК) стимулировали антителами против CD3 и исследовали Т-клеточную активацию и пролиферацию при обработке различными веществами, включая обработку композицией согласно настоящему изобретению. Результаты явно продемонстрировали, что активация и пролиферация Т-клеток значительно снижается в присутствии композиции

согласно настоящему изобретению. Кроме того, секреция гамма-интерферона (INF γ) значительно снижалась при воздействии композиции согласно настоящему изобретению. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению обладает явным противовоспалительным эффектом.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложено применение композиции согласно настоящему изобретению для снижения воспаления.

Например, композицию согласно настоящему изобретению можно вводить спортсменам, например, для уменьшения вызванного стрессом воспаления в мышцах и/или суставах. Например, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композицию согласно настоящему изобретению можно добавлять к белковым коктейлям и/или энергетическим батончикам или можно принимать независимо в форме порошка, фильтр-пакетов и/или капсул.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложено применение композиции согласно настоящему изобретению пожилыми людьми, например, для укрепления иммунной системы.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, первый иммунный ответ на большинство недугов, свойственных популяции пожилых людей (часто определяемой как люди возрастом 65 лет и старше) является воспалительным.

По мере старения человека его иммунная система ослабевает и становится менее эффективной. Первый ответ иммунной системы у пожилых людей представляет собой воспалительный ответ, который, как правило, неэффективен и истощает энергетические запасы организма. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может смягчать указанную реакцию наряду со стимулирующими иммунную систему свойствами, которые могут помогать иммунной системе организма бороться с заболеваниями.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, в настоящей заявке предложено применение композиции для стимуляции иммунной

системы животного, например, домашних животных.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, воспаления суставов и мышц являются распространенными среди животных, в особенности активных домашних животных, гоночных животных и рабочего скота. Указанные
воспаления, как правило, лечат с помощью отдыха, мазей и, в крайних случаях,
физиотерапии. Такие способы лечения могут быть очень дорогостоящими.
10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может обладать противовоспалительными свойствами и, таким образом, способ ее применения может приводить к снижению частоты воспалений у животного и сокращать время восстановления.

15 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может также содержать провоспалительные компоненты, которые, например, вместе с противовоспалительным компонентом могут обеспечивать синергический иммуностимулирующий эффект.

20 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, иммунный ответ состоит из различных факторов, и воспалительный ответ является критичным для привлечения многих клеток иммунной системы. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в некоторых случаях может быть предпочтительно стимулировать иммунную систему посредством индукции контролируемого воспалительного ответа.

25 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может содержать комбинацию SERPINB4 и SERPIND1, например, которая может приводить к значительному снижению активности протеолитических ферментов в желудке и/или усиливать провоспалительный путь и стимулировать иммунную систему.

SERPINB4 представляет собой провоспалительный белок, обеспечивающий отрицательную регуляцию эндопептидазной активности.

30 SERPIND1 представляет собой белок, который может стимулировать иммунную систему и потенциально способствовать высвобождению хемотаксических факторов лейкоцитов.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, SERPIND1 может быть заменен на CXCL12. CXCL12 является сильным хемоаттрактантом для лимфоцитов и опосредуемый им сигнальный путь регулирует экспрессию CD20 на В-клетках.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, соотношение между SERPINB4 и SERPIND1 в композиции может составлять 60:40 соответственно.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, наблюдается пролиферация моноцитов, которые инкубировали в присутствии композиции
10 согласно настоящему изобретению. Кроме того, в присутствии композиции согласно настоящему изобретению снижается секреция IL-10. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может вызывать провоспалительный ответ таким образом, что может обеспечивать стимуляцию иммунной системы.

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, кратковременное воспаление представляет собой естественный ответ организма на многие заболевания. Например, борьба с инфекциями чаще всего происходит с помощью воспалительного ответа.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция
20 согласно настоящему изобретению может содержать более одного противовоспалительного компонента, например, композиция может содержать следующие компоненты: ANXA1, APOE, BTN1A1, C4BPA, CD59, FCGR2, HBB, LALBA, LTF, PGLYRP1, PRDX4, SERPINB1, TNFRSF6B, LGB, KRT18, KRT17, KRT42, KRT36, KRT10, KRT24, KRT14, KRT75, KRT6A, KRT5, KRT1, KRT3 и
25 KRT2.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может обладать контролируемой провоспалительной активностью, которая может быть полезной в указанных случаях.

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, концентрация провоспалительной композиции предпочтительно составляет 100

пг/кг – 100 нг/кг.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, бактерии являются распространенными патогенами, которые могут приводить к различным заболеваниям, прямо или косвенно. Как правило, иммунная система может противостоять указанным угрозам, однако существует много случаев, при которых иммунная система не в состоянии справиться с бактериями.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может обладать антибактериальной активностью.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может содержать комбинацию HSTN и C3, которая может, например, приводить к сильному антибактериальному эффекту, опосредованному иммунным ответом вместе с повышенным фагоцитозом.

15 HSTN представляет собой противомикробный белок (катионный пептид, вовлеченный в реакции врожденного иммунитета и обладающий противомикробной и противогрибковой активностью).

C3 представляет собой компонент комплемента 3, который играет ключевую роль в системе комплемента и стимулирует врожденный иммунитет.

20 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, соотношение между HSTN и C3 в композиции может составлять 80:20 соответственно.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, антибактериальная активность композиции согласно настоящему изобретению может быть особо благоприятной для пожилых субъектов и субъектов с ослабленным иммунитетом для помощь в борьбе с патогенами.

25 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может вводиться для нацеливания на кишечный иммунитет, укрепление кишечной микрофлоры и усиления иммунного ответа в отношении патогенов, а также может быть направлен на кровеносную систему, стимуляцию иммунной системы.

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композицию

согласно настоящему изобретению можно также вводить широкой популяции людей в низких дозах во время бактериальной и/или вирусной угроз, например, в зимнее время.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, иммунная система представляет собой важный компонент в защите против заболеваний и стресса. Таким образом, ее правильное функционирование является критичным. Однако во многих случаях иммунная система нуждается в некоторых стимуляторах и поддерживающих веществах, особенно у детей младшего возраста и популяции пожилых людей.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению содержит иммуностимулирующий компонент.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может содержать комбинацию PDIA3 и LBP, которая, например, может приводить к активации иммунной системы вместе с минимизированным воспалительным ответом.

15

PDIA3 является важным фактором в стимуляции иммунной системы. PDIA3 является частью комплекса загрузки пептидов класса I главного комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) – системы, которая отвечает за формирование и презентирование антигена в конечной конформации.

20 LBP представляет собой провоспалительный липополисахарид-связывающий белок (LBP). Хемотаксис лейкоцитов вовлечен в воспалительный ответ и активацию макрофагов посредством транспорта липополисахаридов, приводящего к иммунному ответу.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в клетках, которые инкубировали с композицией согласно настоящему изобретению, содержащей PDIA3 и LBP, наблюдалась стимуляция моноцитов.

25

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, соотношение между PDIA3 и LBP в композиции может составлять 70:30 соответственно.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, пожилые люди и субъекты с ослабленным иммунитетом склонны к слабому/отсроченному

30

ответу на большинство заболеваний. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, применение композиции согласно настоящему изобретению может сокращать время ответа и повышать его силу, снижая таким образом частоту возникновения заболеваний у потребителей.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, профессиональные спортсмены подвергают себя интенсивным тренировкам в любую погоду и с короткими периодами отдыха. Такой стресс для организма ослабляет иммунную систему и подвергает организм риску различных заболеваний. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения,
10 применение композиции согласно настоящему изобретению у спортсменов может способствовать нейтрализации отрицательных эффектов спортивных тренировок, снижая таким образом частоту возникновения заболеваний у потребителей.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, в настоящей заявке предложен алгоритм предсказания одной или более
15 благоприятных комбинаций молекул, входящих в состав композиции согласно настоящему изобретению, например, молекул для противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего компонента.

20 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, термин «алгоритм» при использовании в настоящей заявке может относиться к способу расчета вероятности иммуностимулирующего эффекта одного или более белков, входящих в состав композиции согласно настоящему изобретению. Например, алгоритм может включать оценку вероятности эффективного
25 иммуностимулирующего эффекта одного или более человеческих белков.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, алгоритм может включать оценку вероятности эффективного иммуностимулирующего эффекта комбинации двух или более белков.

В частности, алгоритм может рассчитывать степень совместимости между двумя
30 или более белками, где «совместимость», например, относится к усиленному и/или синергическому иммуностимулирующему эффекту при объединении двух или более белков.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, алгоритм может включать оценку вероятности эффективного иммуностимулирующего эффекта белка, например, на основе сравнения, например, степени гомологии с белками, обладающими иммуностимулирующими эффектами у животных.

5 В Таблице 1, ниже, показан пример сравнения конкретных белков, выраженного с помощью e-значения.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, чем ниже e-значение, тем лучше совместимость между сравниваемыми двумя белками.

	C3	LTF	XDH	ALB	FASN	A2M	TF	DSP
A1BG	0,11	0,25	0,13	3,5	1,1	0,04	0,39	0,24
A2M	3E-90	1,8	0,21	1,4	0,47	0	1,3	8,8
AACS	8,9	1,4	0,66	0,52	2,8	0,62	0,57	0,75
AARS	2,9	0,91	2	0,37	2	0,12	5,7	3
ABCD3	1,1	2	6,9	0,12	0,94	0,75	0,038	0,49
ABCE1	1,5	1,6	0,31	0,64	2,5	0,55	0,44	1
ABCG2	3,4	1,1	0,074	1,1	1,2	1	4,11	1,3
ABHD14B	1,5	0,071	0,82	5	0,8	2,4	0,11	3,1
ABHD5	1,1	4,9	0,81	0,33	0,2	0,87	5,5	4,6
ABRACL	2,5	4,11	0,54	1,5	7,8	4,11	0,22	5
ACACA	4,3	2,3	4,11	0,2	2,1	1	1,3	1,3
ACACB	4,9	0,92	0,2	0,41	1,6	0,22	0,98	0,14
ACAT2	2,9	0,075	2,6	0,36	0,054	0,13	4,11	0,96
ACE	0,66	3,6	1,2	0,85	0,67	3,6	2,3	0,15
ACE2	1,5	0,6	0,44	0,33	4,7	3,2	4,1	0,34
ACLY	6	6	0,57	0,34	0,47	7,6	1,7	2,5
ACO1	1	0,073	0,53	1,3	0,85	1,9	0,48	1,9

10

Таблица 1

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в композиции согласно настоящему изобретению, в частности, применяются выбранные части и/или участки IgG-компонента.

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, применение выбранных частей и/или участков IgG-компонента позволяет усиливать доступность молекул, например, при пероральном приеме младенцем или новорожденным.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, термин

«доступность молекул» может относиться к перевариванию специфических активных областей молекулы, которую можно вводить пероральным путем младенцу, для преодоления и/или во избежание необходимости разрушения указанной молекулы в пищеварительном тракте и повышения ее проникающей способности.

5

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, выбранные части и/или участки IgG-компонента могут поглощаться до входа в кишечник, что может повышать эффективность указанных молекул, способствуя активации иммунной системы (малые молекулы поглощаются быстрее и могут, таким образом, быстрее начинать действовать в организме).

10

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композицию можно применяться перорально и/или вводить внутривенно или подкожно.

Согласно некоторым другим вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может применяться в косметических целях и, таким образом, может вводиться местным путем, например, с помощью крема, мази и т.д.

15

Применение композиции для стимуляции иммунной системы младенца

Грудное молоко представляет собой молоко, продуцируемое грудными железами (или молочными железами) женщины для кормления ребенка. Примерно 40% младенцев находятся на исключительно грудном вскармливании, тогда как более 50% из них получают комбинацию грудного молока и заменителей молока.

20

Различные благоприятные для здоровья эффекты грудного вскармливания давно известны. Наиболее значимые из них относятся к питательному и иммунологическому аспекту. Молоко представляет собой первичный источник питания для новорожденных до появления у них способности употреблять и переваривать другие пищевые продукты; младенцы постарше и дети ясельного возраста могут продолжать находиться на грудном вскармливании, либо исключительно, либо в комбинации с другими пищевыми продуктами, начиная примерно с возраста шести месяцев, когда можно вводить твердые пищевые

25

30

продукты. Кроме того, грудное молоко представляет собой важнейший источник иммуноглобулинов (т.е. антител), которые представляют собой белки, обнаруживаемые в крови и функционирующие в качестве иммунной защиты против инфекционных агентов, таких как вирусы и бактерии. Некоторые типы указанных антител (главным образом sIgA, функция которого заключается в защите от инвазии патогена через ткани слизистых) переносятся из плазмы или материнской крови в грудное молоко или локально продуцируются мигрировавшими в область молочных желез клетками и формируют механизм первичной иммунной защиты грудного младенца.

10 Когда грудное вскармливание является невозможным или нежелательным, может обеспечиваться формула для младенцев. Формула для младенцев представляет собой изготовленный пищевой продукт, разработанный и продаваемый для кормления детей и младенцев, как правило, приготовленный для бутылочного кормления или кормления из чашки, в виде порошка (смешиваемого с водой) или жидкости (с добавлением или без добавления воды).

15 На сегодняшний день формулы разрабатывают на основе стадий развития ребенка, где младенцы продвигаются от одной стадии к другой в соответствии с их возрастом: 1-6, 6-12 месяцев и старше. Указанные стадии определены в соответствии со средними показателями без специальной оценки потребностей ребенка.

20 За развитием ребенка следят в соответствии с кривыми роста и конкретными исследованиями (например, исследованиями крови), которые проводят в случае нарушений.

25 Младенцы относительно подвержены опасности заражения патогенами из-за того, что их иммунная система недостаточно развита. Несмотря на то, что некоторые иммуноглобулины ребенок получает через пуповину, их уровень, как правило, снижается в течение 6 месяцев.

30 Соответственно, именно грудное молоко обеспечивает иммунные компоненты, которые защищают ребенка от многих заболеваний. Однако неподходящее или недостаточное питание может приводить к нарушению состава грудного молока, которое может стать менее эффективным с точки зрения иммунологической защиты. Более того, современная жизнь и различные условия приводят к тому, что

полноценное грудное вскармливание становится роскошью, которую многие женщины не могут себе позволить. Таким образом, большинство младенцев получают формулу, которая не содержит иммунологических компонентов, и подвержены воздействию патогенов.

5 Однако разные младенцы имеют различные пищевые и/или иммунологические потребности, и предоставление общей формулы на основе усредненных потребностей часто не удовлетворяет специфическим нуждам интересующего младенца.

10 В частности, новорожденный ребенок подвержен высокому риску инфицирования различными микробными или вирусными инфекциями, и существующие формулы для младенцев не могут обеспечить решение, подходящее для уязвимой иммунной системы новорожденного.

15 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может быть адаптирована для перорального приема младенцем.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция может стимулировать иммунную систему младенца.

20 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, кератиновое соединение, бета-лактоглобулин (LGB), противовоспалительный компонент, провоспалительный компонент, противомикробный компонент, первый иммуностимулирующий компонент и второй иммуностимулирующий компонент представляют собой разные молекулы.

25 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может проявлять синергический эффект. Например, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, каждый компонент и/или молекула в композиции может обладать одним или более иммуностимулирующими свойствами, однако при объединении противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и
30 второго иммуностимулирующего компонента указанные компоненты обеспечивают иммуностимулирующий эффект, превышающий сумму эффектов всех компонентов в отдельности.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложена формула для младенцев, содержащая композицию, описанную в настоящей заявке.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, формула может быть представлена в виде порошка.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, формула может быть представлена в жидкой виде.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложен жидкий концентрат, содержащий композицию согласно настоящему изобретению, где указанный концентрат может быть адаптирован для смешивания с «готовой к употреблению» формулой для младенца в жидком состоянии.

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложен процесс изготовления композиции согласно настоящему изобретению, содержащей один или более из компонентов указанной композиции, которые могут происходить из нескольких молозив, где указанный процесс включает:

сбор молозив от нескольких субъектов, где уровень и/или активность компонента в нескольких молозивах существенно варьирует между разными молозивами; объединение и фильтрование указанных молозив или объединенных молозив.

20 Варианты реализации, описанные в настоящей заявке ниже, обеспечивают улучшенные композиции для кормления младенцев. Дополнительные варианты реализации изобретения представляют собой композиции, подходящие для употребления другими группами человеческой популяции.

Способы получения таких композиций также предложены в настоящей заявке.

25 В соответствии с одним аспектом вариантов реализации изобретения, композиция, содержащая по меньшей мере один компонент в своем составе, может происходить из одного или более молозив, где уровень и/или активность указанного компонента в одном или более молозивах существенно варьирует между разными молозивами.

30 В соответствии с другим аспектом вариантов реализации изобретения, предложен процесс изготовления композиции, содержащей по меньшей мере один компонент молозива, происходящий из нескольких молозив, где

указанный процесс включает:

сбор молозив от нескольких субъектов, таких как различные коровы, овцы или козы, или комбинации указанных источников, где уровень и/или активность компонента в нескольких молозивах существенно варьирует между разными молозивами;

5

объединение указанных молозив; фильтрование молозив или объединенных молозив.

Необязательно процесс также включает изменение уровня биологически активных компонентов в молозиве, например, путем применения методов разделения молозив или предварительно обработанных молозив.

10

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, методы могут быть выбраны из группы, состоящей из хроматографии и/или фильтрования. Препаративная хроматография может быть выбрана из одной или более из аффинной, эксклюзионной по размеру и ионной хроматографии. Фильтрование может быть выбрано из одного или более из группы, включающей перекрестное фильтрование, ультрафильтрование, обратный осмос и диализ. Другие методы могут применяться в соответствии с компонентами в конечной формуле и их соответствующим желаемым уровнем.

15

Следует понимать, что в описании, если иное не указано, такие наречия, как «по существу» и «примерно», определяющие состояние или характеристику отношения признака или признаков варианта реализации изобретения, означают, что указанное состояние или характеристика определяется в пределах допустимых значений, которые являются приемлемыми для осуществления указанного варианта реализации изобретения для применения, для которого он предназначен.

20

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, как описано в настоящей заявке, помимо кератина и LGB композиция согласно настоящему изобретению может содержать комбинацию пяти компонентов: противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего компонента.

25

30

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может содержать специфическую

комбинацию противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего компонента, например, для нацеливания, в частности, на заболевания, которые имеют тенденцию поражать
5 младенцев, такие как ушные инфекции, менингит и т.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в иммунной системе младенцев цитокины оказывают как местное, так и системное действие для инициирования, поддержания и разрешения воспалительного ответа.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения,
10 взаимодействие между провоспалительными цитокинами, противовоспалительными цитокинами и природными ингибиторами цитокинов может определять воспалительный ответ и его эффективность. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, из-за незрелости иммунной системы новорожденного цитокин является специфичным. Согласно
15 некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, фактор некроза опухоли (TNF) и интерлейкин-6 (IL-6) могут предпочтительно применяться для усиления иммунного ответа через активацию цитокинового каскада и продукцию других провоспалительных цитокинов и хемокинов.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения,
20 провоспалительные молекулы также могут привлекать тучные клетки и систему комплемента, например, дополнительно усиливая иммуностимулирующий эффект, например, путем усиления атаки на патогены.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция
25 согласно настоящему изобретению может содержать множество провоспалительных молекул.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, в
настоящей заявке предложен алгоритм для предсказания одной или более
благоприятных комбинаций молекул, входящих в состав композиции согласно
настоящему изобретению, например, молекул для противовоспалительного
30 компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего компонента.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, термин «алгоритм» при использовании в настоящей заявке может относиться к способу расчета вероятности иммуностимулирующего эффекта одного или более белков, входящих в состав композиции согласно настоящему изобретению. Например, алгоритм может включать оценку вероятности эффективного иммуностимулирующего эффекта одного или более человеческих белков.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, алгоритм может включать оценку вероятности эффективного иммуностимулирующего эффекта комбинации двух или более белков.

В частности, алгоритм может рассчитывать уровень совместимости между двумя или более белками, где указанная «совместимость», например, относится к усиленному и/или синергическому иммуностимулирующему эффекту при объединении двух или более белков.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, алгоритм может включать оценку вероятности эффективного иммуностимулирующего эффекта белка, например, на основе сравнения, например, степени гомологии, с белками, обладающими иммуностимулирующими эффектами у животных.

В Таблице 1, выше, показан пример сравнения конкретных белков, выраженного с помощью e -значения.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, чем ниже e -значение, тем лучше совместимость между двумя сравниваемыми белками.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в композиции согласно настоящему изобретению, в частности, применяются выбранные части и/или участки IgG-компонента.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, применение выбранных частей и/или участков IgG-компонента позволяет повышать доступность молекул, например, при приеме внутрь младенцем или новорожденным.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, термин «доступность молекул» может относиться к перевариванию специфических активных областей молекулы, которая может вводиться младенцу перорально, для

преодоления и/или во избежание необходимости разрушения указанных молекул в пищеварительном тракте и повышения их проникающей способности.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, выбранные части и/или участки IgG-компонента могут поглощаться до входа в кишечник, что может повышать эффективность указанных молекул, помогая активировать иммунную систему (малые молекулы поглощаются быстрее, таким образом, могут начинать действовать быстрее внутри организма).

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению содержит один или более иммунологических компонентов, которые могут помогать новорожденному младенцу в борьбе против патогенов и улучшать развитие иммунной системы.

Имуноглобулины являются важными факторами иммунной системы, которые могут работать либо непосредственно против патогенов, либо путем привлечения иммунной системы для противодействия указанным патогенам. Однако большинство иммуноглобулинов для перорального приема разрушается в пищеварительной системе. Пищеварительная система младенцев не так хорошо развита, и многие иммуноглобулины могут оставаться интактными. Более того, некоторые иммуноглобулины могут поглощаться уже во рту.

Кроме того, существует много фракций иммуноглобулинов, в частности из переменных участков IgG, которые являются высокоактивными. Молекулы указанных фракций являются небольшими и, таким образом, «инертны» по отношению протеолитической активности ферментов. Таким образом, они могут иметь значительное преимущество при применении в качестве иммунологических компонентов в композиции согласно настоящему изобретению.

В биохимии уравнение Михаэлиса-Ментен является одной из самых известных моделей кинетики ферментов. Лучшее производное уравнения Михаэлиса-Ментен, предложенное в 1925 г. Бриггсом и Холдейном (George Briggs and J.B.S. Haldane), следует далее:



S представляет собой субстрат, тогда как E представляет собой фермент, ES представляет собой комплекс фермент-субстрат, P представляет собой продукт, k_{on}

представляет собой константу скорости ассоциации биомолекул для связывания фермент-субстрат; k_{off} представляет собой константу скорости диссоциации одной молекулы комплекса ES с восстановлением свободного фермента и субстрата; и k_{cat} представляет собой константу скорости диссоциации одной молекулы комплекса ES с получением свободного фермента и продукта P.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, как только фермент пепсин в пищеварительной системе младенца взаимодействует с его субстратом (антителом, например), формируется комплекс ES, и реакция развивается в сторону образования продукта, например, активных фрагментов антитела.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению содержит части расщепленных ферментами антител, например, антител IgG, что, соответственно, сдвигает равновесие в сторону образования продукта, например, активных фрагментов антитела.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, активные фрагменты антитела, достигающие кровеносного русла и достигающие области-мишени (например, инфицированную область в организме младенца), обеспечивают быструю стимуляцию и активацию иммунной системы, включая, например, синергические эффекты, являющиеся результатом комбинации указанных фрагментов с другими иммуностимулирующими компонентами.

Например, иммунная система состоит из различных компонентов, таких как антиген-презентирующие клетки (например, дендритные клетки), рекрутируемые клетки (например, CD4) и активные клетки (например, NK-клетки). Указанные различные компоненты могут обеспечивать эффективную иммунную атаку при совместной работе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, активация различных компонентов иммунной системы, например, путем использования композиции согласно настоящему изобретению, может иметь особую ценность в борьбе против патогенов и стимуляции иммунной системы.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может содержать множество молекул для нацеливания на различные компоненты иммунной системы и/или их активации, например, для достижения желаемого эффекта усиленной иммуностимуляции.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, некоторые компоненты иммунной системы могут активироваться по отдельности, но оказывают более выраженный эффект при совместной работе (в синергии), например, лизозим может вызывать захватывание патогенов, однако при добавлении провоспалительных цитокинов лизозим также привлекает другие клетки, такие как дендритные клетки, которые могут, в свою очередь, усиливать захват, а также привлекать НК-клетки и нейтрофилы в интересующую область для дополнительного разрушения патогенов.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, в Таблице 1, ниже, приведены возможные концентрации компонентов композиции согласно настоящему изобретению.

Компонент	Диапазон	Предпочтительная концентрация	единицы
Альфа-лактальбумин	1-4	2,8	г/л
Бета-дефенсин 1	20,000-60,000	43,374	(мкг/мл)
Катепсин G	1-3	2	(мкг/мл)
CCL5	76-84	н/п	пг/мл
Сох-1	40-200	100	нг/мл
IL-10	19-50	н/п	пг/мл
IL-4	5-12	8,24	пг/мл
IL-6	198-349	н/п	пг/мл
Лактопероксидаза	10-30	н/п	(мкг/мл)
Лактотрансферрин	9,18 ± 10,02	н/п	мг/мл
Ингибитор эласты лейкоцитов	50-250	н/п	нг/мл
Лизозим С	100-500	250	(мкг/мл)
Нейтрофильная эластаза	25-200	н/п	(мкг/мл)
Пролактин-индуцируемый белок	25-250	н/п	нг/мл
TGF-бета	0,04-0,2	н/п	нг/мл
TNF-альфа	25-100	н/п	пг/мл
IgG	0,2-100	н/п	мг/мл

Таблица 2

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может применяться для укрепления иммунной системы новорожденного, например, путем обеспечения иммуностимулирующего эффекта.

Согласно другим вариантам реализации изобретения, композицию согласно настоящему изобретению можно смешивать с пищевым продуктом и/или напитком, включая, например, жидкую формулу для младенцев, порошкообразную формулу для младенцев, молочные продукты и/или коктейли для спортсменов, пищевые продукты для субъектов, страдающих различными иммунодефицитными состояниями, и т.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложена формула для младенцев с повышенной иммуногенностью, содержащая композицию, описанную в настоящей заявке.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, указанная формула может стимулировать иммунную систему ребенка, обеспечивая при этом превосходную защиту, например, против заболеваний, усиление иммунных механизмов, стимуляцию иммунной системы и т.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, формула может также содержать важнейшие аминокислоты и жирные кислоты, а также регуляторы роста и аппетита, например, обеспечивающие младенцу полезное для здоровья питание, которое поддерживает когнитивный рост и развитие, например, путем обеспечения оптимального захвата аминокислот и жирных кислот, поддержания развития органов и мозга и т.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, формула может защищать детей и/или младенцев от заболеваний, поддерживать естественную микрофлору желудочно-кишечного тракта младенца и обеспечивать полноценное питание, делая младенцев более здоровыми и счастливыми, например, путем снижения метеоризма, поддержания естественной микрофлоры, улучшения сна и повышения комфорта указанного младенца.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может быть представлена в любом подходящем состоянии и/или форме для необязательного смешивания с формулой для младенцев, включая, например, жидкую форму, форму порошка, гранул и т.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может содержать две или более молекул, происходящих по меньшей мере из двух различных молозив, например, первую молекулу, происходящую из первого молозива, и вторую молекулу, происходящую из второго молозива.

В соответствии с указанными вариантами реализации изобретения, в настоящей заявке также предложен способ изготовления композиции согласно настоящему изобретению.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, способ может включать сбор компонентов из смеси молозив и необязательно добавление компонентов, собранных из источников, не представляющих собой молозиво.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, способ может включать:

1. Определение исходного состава молока. Указанное определение включает определение усредненного состава материнского молока в зависимости от стадии развития новорожденного, поскольку состав материнского молока меняется по мере развития младенца и также варьирует между разными матерями в связи с генетическими различиями, а также различиями, обусловленными окружающей средой и питанием. Таким образом, определение, как правило, включает сбор и анализ состава молока от нескольких групп матерей в различное время после родов. Определение может осуществляться с помощью ряда аналитических методов.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, для определения состава компонентов может применяться масс-спектрометрия (МС). Необязательно, может применяться один или более комбинированных или более специализированных МС-методов, таких как ВЭЖХ-МС (высокоэффективная жидкостная хроматография-МС), ионизация электрораспылением (ИЭР), времяпролетная МС, лазерная десорбция-ионизация в присутствии матрицы (MALDI).

2. Обеспечение одного или более компонентов, характерных для коммерчески доступных формул, например, различных минералов и витаминов А, D, Е и К, витамина С, рибофлавина, ниацина и/или пентановой кислоты и т.д.

3. Обеспечение одного или более компонентов, менее характерных для коммерчески доступных формул и подобных компонентам, которые присутствуют в материнском молоке, включая, например:

- 5 а. Стимуляторы иммунной системы. Имуногенные компоненты, такие как IgA и различные цитокины. Имуногенные компоненты в естественных условиях находятся в слизистых оболочках (дыхательной и пищеварительной системы) младенца и выполняют функцию первого иммунного барьера между организмом ребенка и патогенами окружающей среды. В соответствии с аспектами вариантов реализации изобретения, указанные компоненты, как правило, получают из
- 10 молозив.
- b. Факторы, участвующие в общем развитии и росте младенцев, балансе сахара в крови и регуляции температуры, например, гормоны и факторы роста: тиреоидный гормон, инсулин и гормоны роста. В
- 15 соответствии с аспектами вариантов реализации изобретения, указанные компоненты, как правило, также получают из молозив.
- c. Гормоны, которые участвуют в развитии мозга и/или регулируют аппетит, такие как омега-3-ненасыщенные жирные кислоты, каннабиноиды, грелин и/или лептин. В соответствии с аспектами
- 20 вариантов реализации изобретения, указанные компоненты получены из природных источников или являются синтетическими, такими как регулятор аппетита гексарелин.
- d. Факторы, снижающие уровень внутриклеточного жира, и противовоспалительные агенты, например, адипонектин. В
- 25 соответствии с аспектами вариантов реализации изобретения, указанные компоненты также, как правило, получают из собранных молозив и/или молока.
- e. Активаторы или усилители правильной работы пищеварительной системы с точки зрения переваривания жиров, белков и углеводов,
- 30 присутствующих в природном молоке, а также предотвращения диспепсии. Такие активаторы могут представлять собой различные ферменты. В соответствии с аспектами вариантов реализации изобретения, указанные компоненты получают из природных

источников.

f. Ингибиторы роста вирусов и бактерий, например, белок лактоферрин, который связывается с железом и повышает его поглощение клетками, останавливая таким образом рост бактерий путем предотвращения захвата бактериями жизненно важного железа. В соответствии с аспектами вариантов реализации изобретения, указанные компоненты получают из природных источников, которые могут представлять собой собранные молозива.

g. Лактоза для усиления поглощения кальция и ускорения роста благоприятных бактерий. Лактозу применяют для защиты против патогенов и снижения зубного налета. В соответствии с аспектами вариантов реализации изобретения, лактозу получают из природных источников или синтезируют.

h. Факторы, предотвращающие генетические мутации. Например, белок Hamlet, который участвует в борьбе с развитием раковых клеток. В соответствии с аспектами вариантов реализации изобретения, указанные компоненты, как правило, получают из собранных молозив.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, компоненты пунктов a), b), d), f) и/или h) необязательно объединяют с одним или более компонентами, характерными для коммерчески доступных формул, для включения указанных ингредиентов в улучшенные формулы для младенцев согласно настоящему изобретению. Необязательно также добавляют компоненты пунктов c), e) и/или g) наряду с ингредиентами в улучшенных формулах.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, распылительная сушка может применяться для приготовления порошка формулы из смеси ингредиентов, описанных выше.

4. Исследование улучшенных формул для детей. Эффективность формул, полученных из объединенных молозив, сначала исследуют с помощью белкового принтинга (на микрочипах). Затем указанные формулы можно исследовать на человеческих клеточных линиях и/или на животных.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, с помощью белкового принтинга можно проверять наличие активности у молекул матриц человекоподобных белков в отношении нечеловеческих белков или, альтернативно, активности в отношении человеческих антигенов.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, каждый продукт принтинга может содержать чип, который состоит из поверхности подложки, такой как предметное стекло, нитроцеллюлозная мембрана, гранула или титрационный микропланшет, к которой присоединен ряд захватывающих белков. К чипу добавляют молекулярные зонды, как правило, меченные
10 флуоресцентным красителем. Любая реакция между зондом и иммобилизованным белком вызывает испускание флуоресцентного сигнала, который считывается лазерным сканнером.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, дополнительные исследования можно проводить для подтверждения
15 правильной активации комплекса антитело-антиген.

Приведена ссылка на Фигуру 1, которая описывает более подробно процесс получения порошков в соответствии с одним аспектом вариантов реализации изобретения. Указанный процесс включает:

20 Введение молочной сыворотки и молозив в биореактор с гомогенизатором;

Гомогенизирование молочной сыворотки и молозив в указанном гомогенизаторе до по существу гомогенной смеси;

ФильТРование в перекрестном потоке (или фильТрация в тангенциальном потоке, TFF): например, пропускание смеси через сертифицированную совместимую с
25 пищевыми продуктами трубопроводную систему из нержавеющей стали, содержащую керамические фильТры, при низкой температуре, т.е. температуре, не превышающей температуру тела человека.

ФильТРование служит для удаления избытка жиров из смеси. Концентрат, полученный после этапа фильТРования, представляет собой отфильТРованную
30 жидкую массу, обогащенную белками и имеющую более высокую пищевую ценность.

Концентрат пропускают через распылительную сушилку с внешним паровым нагревом и затем лиофилизируют.

5 Лиофилизированный порошок и питательные ингредиенты, как правило, присутствующие в коммерчески доступной формуле, такие как витамины, минералы, крахмалы и лактоза, можно добавлять через Y-образную воронку и смешивать. Полученную смесь можно гранулировать.

Можно исследовать эффективность гранулированного порошка и дополнительные образцы можно собирать для исследования стабильности и роста микроорганизмов.

10 Некоторые варианты реализации настоящего изобретения представлены в виде суспензий. Например, варианты реализации изобретения могут быть предложены пользователям в виде готовых к употреблению коктейлей или в виде порошка, который легко суспендируется в различных жидкостях, таких как вода, фруктовый сок или коммерчески доступное молоко или йогурт. Предпочтительные варианты реализации не подвергают воздействию температур, превышающих температуру тела, т.е. максимальная температура воздействия составляет 40°C, более предпочтительно, не выше 37°C. Получение вариантов реализации изобретения также предпочтительно осуществляют при таких температурах.

15 В соответствии с другими аспектами вариантов реализации изобретения, формулы представлены в формах дозирования, представляющих собой капсулы или сиропы.

25 При соответствующей корректировке состава и процесса изготовления формулы также могут применяться для лечения или в качестве пищевой добавки для детей, субъектов, страдающих хроническими заболеваниями, пожилых людей, беременных женщин и спортсменов. Формулы также могут применяться для лечения состояний, таких как инфекции. Молозива изначально применялись для этой цели, в частности, до открытия антибиотиков, однако в настоящее время для этой цели можно выбирать конкретные молозива, более конкретно, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, комбинацию молозив, которая усиливает уровень или активность агентов, нацеленных на участие в лечении состояния.

30 Формулы могут быть предложены в совместимом с пищевыми продуктами виде

или в виде нутрицевтиков. В зависимости от их содержания и предполагаемого применения, а также требований пользователя, формулы могут служить в качестве добавки к другим источникам пищи для лечения нехватки питательных веществ или другой недостаточности, или в качестве основного или единственного источника одного или более компонентов формулы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, формулы содержат пролекарственные средства, например, способствующие поглощению других компонентов формулы или других источников питания, которые предоставляются одновременно. Альтернативно или дополнительно, некоторые из компонентов могут иметь кишечнорастворимое покрытие для защиты от переваривания в желудке.

Может наблюдаться перекрестная реактивность между иммуногенными компонентами человеческого и нечеловеческого происхождения. Соответственно, другой аспект вариантов реализации изобретения относится к обеспечению условий, которые являются оптимальными или по меньшей мере благоприятными для высокой перекрестной реактивности между иммунологическими компонентами человеческого и нечеловеческого молозива или молока, например, путем выбора наиболее подходящих для этого компонентов для их включения в формулу и исключения менее подходящих компонентов.

Такой выбор может включать сравнение реакций человеческих антител от различных производителей (как правило, 2-4) с потенциальными компонентами либо в соответствии с литературными данными (при наличии), либо с помощью собственных экспериментов, для сужения круга потенциальных веществ. Другой предварительный показатель представляет собой степень гомологии между компонентами человеческого происхождения и потенциальными компонентами нечеловеческого происхождения.

Поиск и/или эксперименты можно осуществлять на основе изначального приблизительного, но обоснованного предположения о том, что высокая способность реагировать с человеческим антителом является показателем высокой перекрестной реактивности потенциального компонента. Затем можно проводить реальные эксперименты для подтверждения предположений, например, на человеческих клеточных линиях.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в

настоящей заявке предложен способ выделения молозива от животных.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, способ может включать:

Физические способы

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, физические способы могут включать способы очистки, которые могут применяться для концентрирования и удаления примесей путем разделения молозива на фракции и удаления фракций, содержащих нежелательные компоненты.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, физические способы не включают воздействие на молозиво чужеродных компонентов, и его состав остается в основном неизменным.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, для очистки молозива от всех нежелательных молекул необходимо знать молекулярный размер, массу и свойства указанных компонентов и, соответственно, выбрать подходящий способ очистки.

15

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, могут возникать проблемы с удалением примесей, если два компонента имеют сходный размер и физические свойства, при этом один из них является желательным, а другой – нежелательным.

20

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в физическом способе может использоваться электрофорез, который, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, может применяться для разделения молекул из раствора по размеру. При условии, что молекулярная масса каждого желательного или нежелательного компонента в молозиве известна, этот способ можно использовать для очистки от примесей с сохранением только желательных фракций молозива.

25

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в физическом способе может использоваться диализ, который, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, может применяться

30

для разделения молекул из раствора по скорости их диффузии через полупроницаемую мембрану, который является наиболее распространенным для применения в удалении малых молекул.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в физическом способе может использоваться центрифугирование, которое, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, может применяться для разделения раствора на его фракции в соответствии с молекулярным размером, массой и плотностью.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в физических способах может использоваться ионная хроматография, которая, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, может применяться для разделения заряженных молекул на основе их аффинности к ионообменнику.

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, физические способы могут включать, но не ограничиваются указанными, электрофорез, диализ, центрифугирование и ионную хроматографию.

Химические способы:

20 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, химические способы могут включать конкретные способы очистки, нацеленные на желаемые молекулы и отделяющие указанные молекулы от остального молозива. Указанные способы являются более «инвазивными», что означает, что чужеродные компоненты вводят в молозиво для облегчения отделения желаемых молекул от цельного молозива. По этой причине указанные способы могут приводить к более сложному процессу регуляции, где указанные
25 очищенные молекулы больше не рассматриваются как собственно молозиво.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, для применения указанных способов необходимо знать химический состав или по меньшей мере одно химическое взаимодействие, характерное для каждой специфичной молекулы, для дальнейшего применения подходящего способа.

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, указанные способы требуют дополнительных этапов для гарантии того, что любые

дополнительные компоненты, введенные в молозиво для отделения молекул-мишеней, тщательно удалены из конечного продукта.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, преимуществом указанных способов является то, что нацеливание происходит только на «желаемые» молекулы, приводя к получению конечного продукта, который содержит только выбранные необходимые компоненты из молозива.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в химических способах может использоваться иммунопреципитация, которая, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, может применяться для выделения антигена из раствора с использованием соответствующего антитела для его связывания.

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в химических способах может использоваться разделение на основе ферментативных реакций, которое, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, может применяться для использования преимущества специфичных взаимодействий субстрат-фермент для отделения молекул-мишеней, например, путем связывания их с поверхностью.

20 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в химических способах может использоваться хроматография, которая, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, может применяться для выделения молекул из раствора на основе взаимодействия указанного раствора с поверхностью, содержащей некоторую форму связывающего агента, что использует преимущество специфичных свойств молекулы-мишени.

25 Приведена ссылка на Фигуру 2, на которой показана диаграмма, демонстрирующая преимущества и недостатки физических и химических способов.

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, химические способы могут включать, но не ограничиваются указанными, иммунопреципитацию, разделение с помощью ферментативных реакций, хроматографию (ВЭЖХ) и т.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения,

предложена формула для младенцев, содержащая композицию согласно настоящему изобретению.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, формула для младенцев может содержать любой подходящий пищевой продукт, разработанный и продаваемый для кормления детей и младенцев, как правило, приготовленный для бутылочного кормления или кормления из чашки на основе порошка (смешиваемого с водой) или жидкости (с добавлением или без добавления воды).

10 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, в настоящей заявке предложен жидкий концентрат, содержащий композицию согласно настоящему изобретению, где указанный концентрат адаптируют для перемешивания с «готовой к употреблению» формулой для младенцев в жидком состоянии.

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, жидкий концентрат может применяться в различных концентрациях в зависимости от количества жидкого пищевого продукта, предоставляемого младенцу. Например, 20 мл концентрата может требоваться для перемешивания со 100 мл приготовленной формулы пищевого продукта для младенца с получением в целом 120 мл готового к употреблению пищевого продукта для детей.

20 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, например, 50 мл концентрата может требоваться для перемешивания со 100 мл приготовленной формулы пищевого продукта для младенцев с получением в целом 150 мл готового к употреблению пищевого продукта для детей. Альтернативно, жидкий концентрат можно давать в различных концентрациях в зависимости от возраста младенца, например:

25

(а) для младенца возрастом 4 недели может требоваться 40 мл концентрата для перемешивания с 80 мл приготовленной формулы пищевого продукта для младенцев с получением в целом 120 мл готового к употреблению пищевого продукта для детей; тогда как

30 (b) для младенца возрастом 25 недель может требоваться 20 мл концентрата для перемешивания со 100 мл приготовленной формулы пищевого продукта для

младенцев с получением в целом 120 мл готового к употреблению пищевого продукта для детей.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, например:

5 (a) для младенцев возрастом от 2 до 8 недель может требоваться 50 мл концентрата для перемешивания с 90 мл приготовленной формулы пищевого продукта для младенцев с получением в целом 140 мл готового к употреблению пищевого продукта для детей; тогда как

10 (b) для младенцев возрастом от 9 до 25 недель может требоваться 20 мл концентрата для перемешивания со 100 мл приготовленной формулы пищевого продукта для младенцев с получением в целом 120 мл готового к употреблению пищевого продукта для детей.

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может содержать разные молозива, происходящие от разных животных, например, коров и овец, для получения улучшенных формул для младенцев, например.

20 В соответствии с одним аспектом вариантов реализации изобретения, подробно описанным ниже, предложены композиции, которые содержат компоненты, происходящие из нескольких молозив. В указанных нескольких молозивах уровень и/или активность компонентов может сильно варьировать.

25 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, термин «субъект» и/или «субъекты» может относиться к любому подходящему млекопитающему, от которого может быть собрано молозиво, включая, например, человека, крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, например, коров, коз, овец; лошадей, верблюдов, кабанов, буйволов, яков, свиней, оленей, лам, собак, альпак и т.д.

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, молозива можно собирать из нескольких источников нечеловеческого происхождения и объединять. Объединенные молозива затем можно обрабатывать для получения формул для младенцев, подходящих для употребления младенцами.

В соответствии с альтернативными вариантами реализации изобретения, молозиво от первого субъекта или молозива от первой группы нескольких субъектов, которые обладают сходным уровнем и/или активностью компонентов, например, от нескольких выбранных коров с одной фермы, обрабатывают и затем

5 обработанный продукт смешивают с другим обработанным молозивом/молозивами от второго субъекта или второй группы других субъектов, молозива которых также сходны по уровню и/или активности компонентов, но при этом отличаются от молозив первой группы.

10 Обработка может включать удаление выбранных компонентов, например, путем пропуска молозива/молозив, предварительно обработанных или необработанных, через колонку для препаративной аффинной хроматографии или проведения реакций с выбранными компонентами для изменения их активности, в зависимости от уровня компонентов относительно их ожидаемого или

15 соответствующего желаемого уровня или активности в материнском молоке.

В соответствии с одним аспектом вариантов реализации изобретения, предложены продукты, которые представляют собой формулы для детей, полученные из объединенных различных молозив, и содержат питательные ингредиенты с иммуногенными молекулами. Некоторые варианты реализации настоящего

20 изобретения содержат дополнительные ингредиенты, например, для обеспечения роста и развития ребенка, для предотвращения заболеваний и улучшения здоровья и самочувствия ребенка. Некоторые варианты реализации настоящего изобретения могут содержать заменители молока для детей, имеющие состав, сходный с человеческим грудным молоком.

25 В частности, некоторые варианты реализации настоящего изобретения содержат по меньшей мере один цитокин и по меньшей мере одно антитело, например, IgA (иммуноглобулин А), для обеспечения иммунной защиты новорожденного и защиты ребенка от развития заболеваний.

Согласно альтернативным вариантам реализации изобретения, формулы также

30 происходят из молозив, единственным или дополнительным источником которых не является корова, коза и овца, например, источником молозив может быть собака. Исследования, проведенные на собаках, показали более высокую гомологию и перекрестную реактивность большинства интерлейкинов с

человеческими молозивами по сравнению с любыми из представителей крупного рогатого скота, перечисленных выше.

5 Как вкратце перечислено выше, некоторые из компонентов могут быть очищены и/или модифицированы для повышения или снижения их иммунологической активности. Такие компоненты могут, в частности, представлять собой toll-подобные рецепторы, которые распознают чужеродные вещества и передают подходящие сигналы клеткам-киллерам иммунной системы, например, лиганды TLR-2 и TLR-4, которые присутствуют в молозивах, или аполипопротеин E (АроЕ), главный переносчик холестерина, который поддерживает липидный транспорт и подавляет фактор некроза опухоли-альфа (TNF-а), для повышения 10 иммунологической и общей активности.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, молекулы, происходящие из коровьего молозива, могут вызывать аллергенный и/или нежелательный иммуногенный эффект при введении человеку. Согласно 15 некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, аллергенный и/или нежелательный иммуногенный эффект может быть снижен с помощью метилирования, инкапсулирования, связывания с молекулами солей и т.д.

В соответствии с другим аспектом вариантов реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать 20 один или более компонентов, выбранных из любого из следующих далее групп, например, для дополнительного обеспечения младенцу соответствующих питательных веществ:

Псевдовитамины: инозитол.

25 Витаминны: ниацин (В3), пантотеновая кислота (В5), пиридоксал, пиридоксамин, пиридоксин (В6), ретинол (А1), рибофлавин (В2), биотин, холин, кобаламин (В12), фтор, фолиевая кислота, тиамин, токоферол, витамин А, витамин В1 (тиамин), витамин В12, витамин В2 (рибофлавин), витамин В3 (ниацин), витамин В5 (пантотеновая кислота), витамин В6, витамин В7 (биотин), витамин С, витамин D, метаболиты витамина Dd, связывающий витамин D белок, витамин Е, витамин Е 30 (альфа-токоферол), витамин К.

Пептидные гормоны: инсулин, пролактин.

Белковые субъединицы: интегрин-альфа m.

Пептиды: полипептид-проактиватор.

Белки: интегрин бета-2, интерферон α , интерферон β , интерферон γ , лактадгерин, лактальбумин, лактоферрин, лактотрансферрин, трансмембранный белок 1, содержащий мотивы лейциновой застежки-молнии и EF-hand, богатый лейцином альфа-2-гликопротеин 1, белок 1, содержащий домены Lim и sh3, липополисахарид-связывающий белок, литостатин, низкоаффинный Fc-рецептор иммуноглобулина гамма II типа, цитозольный белок 1 лимфоцитов (I-пластин), лимфоцит-специфичный белок 1, хемоаттрактантный белок макрофагов 1, воспалительный белок макрофагов 1 α , кэпирующий белок макрофагов, белок Matr3, белок Mgc165862, Mir-1 β , также известный как воспалительный белок макрофагов 1 β , миезин, хемотаксический белок моноцитов 1, муцины, легкий полипептид миозина 6, регуляторный легкий полипептид миозина 9, миристоилированный богатый аланином субстрат C-киназы, нейтрофильный цитозольный фактор 2, фактор нуклеотидного обмена sil1, одорант-связывающий белок, белок Olfm4, остеокласт-стимулирующий фактор 1, остеопонтин, белок Rсуох1, белок Pdia6, белок распознавания пептидогликана, пептидил-пролил-цис-транс-изомеразы a/b, пероксиредоксин-1, пероксиредоксин-4, митохондриальный пероксиредоксин-5, митохондриальный белок-переносчик фосфата, фактор, происходящий из пигментного эпителия, полимерный рецептор иммуноглобулина, белок 1, связывающийся с полипиримидиновым трактом, белок Pp1201, профилин-1, прохибитин, прохибитин-2, субъединица протеасомы бета 2 типа, белок os-9, белок s100-a12, белок s100-a4, белок s100-a9, протеолипидный белок 2, P-селектин, потенциальный неохарактеризованный белок mgc137211, белок Qsox1, белок Rab14, Ras-родственный белок gab-1b, Ras-родственный белок gab-21, Ras-родственный белок gab-5c, Ras-родственный белок gab-7a, Ras-родственный белок gar-1b, белок 5, усиливающий экспрессию рецепторов, резистин, ретинол-связывающий белок 4, белок РНКаза 2, белок Rpn1, белок 1, содержащий домены Sam и hd, белок Scamp2, белок Scgb2a2, секретоглобин, 2 член семейства 1d, серотрансферрин, серпин a3-1, серпин a3-3 (эндопин 1b), серпин a3-5, серпин a3-6, серпин a3-8, белок серпин b4, белок серпин d1, сывороточный альбумин, связывающий Sh3-домен белок 3, подобный богатому глутаминовой кислотой белку, белок a11, подобный кальций-

связывающему белку s100 (белок s100a11, фрагмент), белок Slc3a2, семейство переносчиков Solute 3, Sparc/остеонектин, swscv и kazal-подобные домены протеогликана (тестикан) 1, субъединица 1 фактора сплайсинга 3, белок Sqrd1, белок Stat1, стефин-с, цистатин-в (стефин-в), белок cstb, белок Stom, стоматиноподобный белок 2, белок 14-3-3 бета/альфа, белок 14-3-3 эpsilon, белок 14-3-3 гамма, белок 14-3-3 тета, белок 14-3-3 дзета/дельта, селенопротеин массой 15 кДа, белок A2m, цитоплазматический актин 1, 2, актин-родственный белок 2, субъединица 1b комплекса актин-родственных белков 2/3, субъединица 2 комплекса актин-родственных белков 2/3, субъединица 5 комплекса актин-родственных белков 2/3, актин-родственный белок 3, альфа-актин сердечной мышцы 1, ADAM10, аденилатциклаза-ассоциированный белок 1, адипонектин, адипофилин, адсеверин, альфа-1-кислый гликопротеин, альфа-1-антихимотрипсин, альфа-1-антитрипсин, альфа-1b-гликопротеин, альфа-2 макроглобулин, альфа-2-антиплазмин, альфа-2-hs-гликопротеин, альфа - актинин-1, альфа-актинин-4, альфа-лактальбумин, альфа-лактоглобулин, амилоидный белок а, ангиогенин-1, ангиопоэтин-родственный белок 4, ангиотензиноген (ингибитор серпиновой пептидазы, клада а, член 8), аннексин а1, аннексин а2, аннексин а3, аннексин а5, аннексин а6, аннексин а7, антитромбин III, аполипопротеин а-I, аполипопротеин а-IV, аполипопротеин с-III, аполипопротеин d, аполипопротеин е, В12-связывающий белок, интегрин В4а6, интегрин В5а, интегрин В6а, интегрин В7а4/lram-1, интегрин В8а, ассоциированный с В-клеточным рецептором белок 31, бета-2-микроглобулин, бета-целлюлин (btc), бета-лактоглобулин, мозговой кислоторастворимый белок 1, белок Vtd, бутирофилин, член подсемейства 1 а1, рецептор анафилатоксина С5а, кальретикулин, белок Canx, казеин, катион-зависимый маннозо-6-фосфатный рецептор, белок Cd177, белок Cd51, белок Cd82, антиген Cd9, гомолог белка контроля клеточного деления 42, шаперонин, содержащий tcr1, субъединица 5 (эpsilon), хитиназа-3-подобный белок 1, тяжелая цепь клатрина 1, кластерин, кофилин-1, коллектин-43, конглютинин, коронин-1а, белок Ср (фрагмент), богатый цистеином секреторный белок 2, цитоадгезины, митохондриальная субъединица 2 комплекса цитохрома b-с, цитохром с, фосфопротеин, стимулируемый вазодилататорами, митохондриальная изоформа 1 субъединицы 4 цитохром с-оксидазы, цитохром с1, митохондриальный белок

гем, субъединица 2 долихил-дифосфолигосахарид-протеингликозилтрансферазы, дистрогликан, белок d2, содержащий домен Ef-hand, субъединица бета электропереносящего флавопротеина, фактор элонгации 1-альфа 1, фактор элонгации 1-альфа 2, фактор элонгации 1-гамма, фактор элонгации 2, эндоплазмин, эпидидимальный секреторный белок e1, E-селектин/элам-1, эукариотический фактор инициации 4a-I, эукариотический фактор инициации трансляции 5a-1, эзрин/радиксин/моэзин-связывающий фосфопротеин 50, субъединица F-актин-кэпирующего белка альфа-1, бета-субъединица F-актин-кэпирующего белка, ингибитор фактора XIIIa, адипоцитарный белок, связывающий жирные кислоты, эпидермальный белок, связывающий жирные кислоты, Fc-рецептор, ингибитор лактации с обратной связью (fil), фетуин, гамма-цепь фибриногена, альфа-цепь фибриногена, бета-цепь фибриногена, фибронектин, филамин a, Fk506-связывающий белок 11, рецептор фолиевой кислоты альфа, G белок-связанный рецептор, семейство c, группа 5, член b, галактоза-специфичный лектин, связывающий IgE, белок Ganab, гельзолин, гликопротеин 2 (мембрана зимогенных гранул), молекула клеточной адгезии 1, зависящая от гликозилирования, глипикан 1, белок Gnai2, гранулоцит-колониестимулирующий фактор, белок Hamlet, гаптокоррин, гаптоглобин, белок теплового шока 70 кДа 1a, 1b, белок теплового шока 71 кДа, когнатный, белок теплового шока бета-1, белок теплового шока hsp 90-альфа, белок теплового шока hsp 90-бета, митохондриальный белок теплового шока 1, lun-субстрат 1, специфичный в отношении гемопоэтических клеток, гем-связывающий белок 1, гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин a/b, гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин a1, гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин d, гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин h2, гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин, гетерогенные ядерные рибонуклеопротеины 10 a2/b1, белок, подобный белку гибернации 20, белок группы высококомобильных белков b2, богатый гистидином гликопротеин, гистон h1,1 (фрагмент), гистон h2a, гистон h2a типа 1, гистон h3,3, гистон h4, эндопин 2, 2b, эндопин 2c, дельта-субъединица белка T-комплекса 1, тетранектин, белок Tgoln2, тиоредоксин, белок Tmed7, трансформирующий белок RhoA, трансмембранный белок 10, содержащий домен emp24, транстиретин, цепь тубулина альфа-1b, цепь тропомиозина альфа-3, цепь тубулина бета-2c, цепь тубулина бета-5, виментин, убиквитин,

трансмембранный белок Upf0527, митохондриальная ацил-КоА-дегидрогеназа с очень длинной цепью, Vla, Vla-1, Vla-2, Vla-3, Vla-4, Vla-5, Vla-6, потенциалзависимый белок 1 анионселективного канала, четырехдисульфидный коровый домен War 2, белок 1, содержащий повторы Wd, член 3 семейства доменов Yip1, зиксин, альфа-лактальбумин, α -s1-казеин, β -казеин.

Комплексы: компонент комплемента C1, субкомпонент комплемента C1, компонент комплемента C2, компонент комплемента C3, компонент комплемента C4, компонент комплемента C4 (фрагменты), компонент комплемента C5, компонент комплемента C6, компонент комплемента C7, компонент комплемента C8, компонент комплемента C9, фактор комплемента B, фактор комплемента H, фактор комплемента I.

Интерлейкины: И1, И10, И12, И13, И16, И1 β , И2, И20, И3, И4, И5, И6, И7, И8.

Гликопротеины: тромбоцитарный гликопротеин 4, тапазин, моноцитарный колониестимулирующий фактор, тромбопоэтин, витронектин, цинк-альфа-2-гликопротеин.

Факторы некроза опухоли: Tnf- α , Tnf- β .

Сахариды: лактоза, мальтоза, моносахариды, олигогалактоза, олиголактоза, олигосахариды, полисахарид крахмал, сахароза, трансгалактоолигосахарид.

Иммуноглобулины: молекула межклеточной адгезии 1, молекула межклеточной адгезии 2, молекула межклеточной адгезии 3, белок Siga (1 и 2), иммуноглобулин A, иммуноглобулин A2, иммуноглобулин D, иммуноглобулин E, иммуноглобулин G, иммуноглобулин G1, иммуноглобулин G2, иммуноглобулин M.

Минералы и металлы: йод, железо, магний, марганец, молибден, никель, фосфор, калий, селен, натрий, сера, кальций, хлорид, медь, кобальт, хром, цинк.

Ферменты: цитоплазматическая изоцитратдегидрогеназа [НАДФ], митохондриальная изоцитратдегидрогеназа [НАДФ], лактопероксидаза, L-аспарагиназа, липаза, L-сериндегидратаза, лизоцим, цитоплазматическая малатдегидрогеназа, митохондриальная малатдегидрогеназа, микросомальная глутатион-S-трансфераза 1, миелопероксидаза, нейтрофильная НАДФ-цитохром b5 редуктаза 3, эластаза, нуклеазочувствительный элемент-связывающий белок 1, нуклеозиддифосфаткиназа a2, пафацетилгидролаза, фосфатаза,

фосфоглицераткиназа 1, фосфоглицератмутаза 1, простагландин-h2 d-изомераза, протеиндисульфид-изомераза, протеиндисульфид-изомераза а3, протеиндисульфид-изомераза а4, протромбин, пируваткиназа, рибонуклеаза, рибонуклеаза поджелудочной железы, рибонуклеаза uk114, рибозофосфатпирофосфокиназа 1, серинпротеаза, субъединица альфа-1 натрий/калий-транспортирующей атпазы, супероксиддисмутаза, первичная аминоксидаза, изофермент печени, аденозилгомоцистеиназа, митохондриальный изофермент аденилаткиназа 2, б-фосфоглюконатдегидрогеназа, 3-гидроксиацил-коадегидрогеназа типа 2, митохондриальная аконитатгидратаза, АДФ/АТФ-транслоказа 2, АДФ/АТФ-транслоказа 3, митохондриальная альдегиддегидрогеназа, альфа-1-антипротеиназа, амилаза, альфа-энолаза, антипротеазы, митохондриальная аспартатаминотрансфераза, белок АТФ-синтаза 8, альфа-субъединица митохондриальной АТФ-синтазы (сердечная изоформа), бета-субъединица митохондриальной АТФ-синтазы, дельта-субъединица митохондриальной АТФ-синтазы, эпсилон-субъединица митохондриальной АТФ-синтазы, гамма-субъединица митохондриальной АТФ-синтазы, о-субъединица митохондриальной АТФ-синтазы, дипептидилпептидаза 1, арисульфатаза, бета-1,4-галактозилтрансфераза 1, малая субъединица 1 кальпаина, каталаза, катепсин b, катепсин d, катепсин h, катепсин s, катепсин z, митохондриальная цитратсинтаза, креатининкиназа b-типа, цитозольная аминопептидаза, цитозольная неспецифическая дипептидаза, митохондриальная еноил-КоА-гидратаза, синтаза жирных кислот, флавинредуктаза, фруктозобисфосфатальдолаза 1 и 2, фумаратгидратаза, глюкозо-б-фосфатизомераза, бета-субъединица глюкозидазы 2, митохондриальная глутаматдегидрогеназа 1, глутатионпероксидаза 1, глутатион-S-трансфераза p, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, гликогенфосфорилаза (печеночная форма), гепарансульфат(глюкозамин)-3-О-сульфотрансфераза 1, гистаминаза, митохондриальная тиоредоксин-зависимая пероксидредуктаза, трансальдолаза, атпаза переходного эндоплазматического ретикулума, транскетолаза, триозофосфатизомераза, цитоплазматическая триптофанил-tРНК-синтетаза, убиквитин-подобный модификатор-активирующий фермент 1, каталитическая субъединица а протонной АТФазы V-типа, ксантиндегидрогеназа/оксидаза, Utp-глюкозо-1-фосфатуридилтрансфераза.

Аминокислоты: лейцин, фенилаланин, изолейцин, лизин, метионин. пролин,

серин, аденозинмонофосфат (5'-АМФ), аланин, аргинин, аспарагин, карнитин, цистеин, глутаминовая кислота, глицин, гистидин, гидроксипролин, таурин, треонин, триптофан, тирозин, валин.

5 Ингибирующие молекулы: компонент II ингибиторного комплекса интер-альфа-трипсина, тяжелая цепь ингибитора интер-альфа-трипсина h1, тяжелая цепь ингибитора интер-альфа-трипсина h4, кининоген-1, 2, ингибитор эластазы лейкоцитов, фактор подавления миграции макрофагов, ингибитор диссоциации Rho-ГДФ 1 и 2, серотрансферрин-подобный белок, ингибитор трипсина селезенки I.

10 Бактерии: *L. Rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri* (лактобациллы).

Кислоты: молочная кислота, лауриновая кислота, румениковая кислота (CLA), альфа-гидроксикислота.

15 Липиды: лактозилцерамид, метостерол, фосфатидилинозитол, полиненасыщенные жиры, простациклины, простагландины, сфинголипиды, сфингомиелин, тромбоксаны, бета-латостерол.

Фосфолипиды: фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, плазмалогены.

Клетки: лейкоциты, лимфоциты, макрофаги, естественные киллеры (NK-клетки), нейтрофилы, фагоциты, базофилы, В-лимфоциты, или В-клетки, дендритные клетки, эозинофилы, продуценты лейкотриенов, Т-лимфоциты, или Т-клетки.

20 Молекулы клеточной адгезии: L-селектин, Madcam-1, Pecam-1, Vcam.

Части клеток: предшественник ламина-B1, лизофосфатидилэтаноламин, субъединица 8 субкомплекса НАДН-дегидрогеназы [убихинона] альфа 1.

25 Стерины – латостерол, стигма- и кампестерол, 7-дегидрохолестерин, 7-кетохолестерин, холестерин.

Гормоны и стероиды: лептин, окситоцин, кортикостерон, кортизол, диметилстерол, эйкозаноиды, грелин, гонадотропин-рилизинг-гормон (ГТРГ), тиреотропный рилизинг-гормон, тиреотропный гормон, тироксин, трийодтиронин.

30 Факторы роста: эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста фибробластов 1 (FGF1), фактор роста фибробластов 2 (FGF2), связывающий фактор роста фибробластов белок 1, гранулоцитарно-макрофагальный

колониестимулирующий фактор, фактор роста/дифференциации 8, инсулиноподобный фактор роста 1 и 2, связывающий инсулиноподобный фактор роста белок 7, бета-трансформирующий фактор роста (TGF-β).

5 Рибосомные белки: 40s рибосомный белок s3, 40s рибосомный белок sa, 60s кислый рибосомный белок p0, 60s кислый рибосомный белок p2, 60s рибосомный белок 112, 60s рибосомный белок 14, 60s рибосомный белок 15, 60s рибосомный белок 18.

Аллергены: аллерген bos d 2.

10 Антигены: антигены Льюиса а и b, ассоциированный с функцией лимфоцитов антиген 1, тяжелая цепь антигена МНС (фрагмент), антиген МНС II класса, последовательности 1 и 2, МНС II класса DR-альфа (фрагмент), антиген дифференцировки моноцитов CD14, неклассический антиген МНС I класса (фрагмент), субъединица 1 и 2 комплекса активатора протеасомы, Scd14, антиген клеточной поверхности Thy-1, аллерген bos d 2.

15 Пигменты (каротиноиды) – бета-криптоксантин, зеаксантин, бета-каротин.

Жиры: насыщенные жиры.

Жирные кислоты: линолевая кислота (1a), мононенасыщенные жиры, миристиновая кислота, октадекадиеновая кислота, олеиновая кислота, пальмитиновая кислота, пальмитолеиновая кислота, паринаровая кислота, стеариновая кислота, 20 стеаридоновая кислота (SDA), клупанодоновая кислота, декановая кислота (каприновая кислота), дигомо-гамма-линоленовая кислота (DGLA), докозадиеновая кислота, докозагексаеновая кислота (DHA), эйкозадиеновая кислота, эйкозопентаеновая кислота, эйкозатетраеновая кислота, эйкозатетраеновая кислота, эйкозатриеновая кислота, эруковая кислота, 25 гадолеиновая кислота, гамма-линоленовая кислота, глобозид (GB4), гнейкозопентаеновая кислота, гептадеценовая кислота, гексадекатриеновая кислота, гексановая кислота (капроновая кислота), адренокислота, арахидиновая кислота, арахидоновая кислота, аскорбиновая кислота, аспарагиновая кислота, масляная кислота, календиновая кислота, каприловая кислота, 30 тетракозагексаеновая кислота (низиновая кислота), тетракозопентаеновая кислота, тетрадеценовая кислота, триацилглицерин, альфа-линоленовая кислота (ALA).
Антитела и противомикробные препараты: бета-2-гликопротеин 1, бета-дефенсин

11, 12, 13, кателицидин-1, кателицидин-2, кателицидин-4, кателицидин-5, кателицидин-6, кателицидин-7, Cr6261, Fi6, ингибиторы гемагглютинаина.

Гены: липопропротеинлипаза, миотрофин, нуклеобиндин 1 и 2, белок Pafah1b1, семейство гомологов Ras, член g (Rho g), цитоплазматическая серил-трнасинтетаза.

5 Белок-кодирующие агенты: белок Loc511106, белок Loc788112.

Каротиноиды: лютеин, ликопин.

Рецепторы: рецептор ренина, рецептор витронектина.

Хемокины: происходящий из стромальных клеток фактор 4, Ccl11 (эотаксин-1), Cxcl10, Ccl2, также известный как mcr-1, Ccl24 (эотаксин-2), Ccl26 (эотаксин-3),
10 Ccl5 (RANTES).

Углеводы: целлюлоза, десмостерол, дисахариды, фруктоза, галактоолигосахарид, галактоза, глюкозамин, глюкоза, глюкозилцерамид, гликоген, гуанозиндифосфатманноза, олигосахариды грудного молока, альфа-каротин, бета-каротин, дифосфат уридина, уридинадифосфатгексоза,
15 уридиндифосфат-N-ацетилгексозамин, уридиндифосфоглюкуроновая кислота, уридинмонофосфат (3'-УМФ), уридинмонофосфат (5'-УМФ).

Усилители роста бактерий: бифидофактор.

Азотистые органические кислоты: креатин, креатинин.

Сигнальные молекулы: циклический аденозинмонофосфат (3',5'-циклический АМФ).
20

Нуклеотиды: цитидинмонофосфат (5'-ЦМФ), гуанозиндифосфат.

Гликоликолипиды/гликосфинголипиды: галактозилцерамид, ганглиозиды, глоботриаозилцерамид (GB3), гликосфинголипиды, Gm1, Gm2, Gm3.

Нейротрансмиттеры: эндорфин 2, 2b, эндорфин 2c.

25 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может содержать множество молекул, происходящих из молозив различных видов, например, овечьего, козьего и коровьего. Известно, что молозива от животных, содержащихся в одном местоположении, могут обладать по меньшей мере частичным сходством в
30 результате воздействия по существу идентичных окружающих условий. Таким

образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, молозива от субъектов одного вида могут намеренно собирать в удаленных друг от друга местоположениях для получения различающихся молозив.

5 Применение композиции для стимуляции иммунной системы у пожилых людей и людей с нарушениями иммунной системы

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, популяция пожилых людей и людей с нарушениями иммунной системы подвержена частым заболеваниям при воздействии вредных микроорганизмов.

10 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, в настоящей заявке предложена композиция, содержащая кератиновое соединение и бета-лактоглобулин (LGB), например, для нацеливания, в частности, на заболевания, имеющие тенденцию поражать пожилых людей и/или субъектов с нарушениями иммунной системы, такие как обычная простуда и т.д.

15 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция может дополнительно содержать комбинацию противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего компонента.

20 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, термин «пожилые люди», «пожилая популяция» может относиться к людям старшего возраста, которые часто более подвержены заболеваниям, синдромам, повреждениям и недомоганиям по сравнению с более молодыми взрослыми.

25 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, термин «субъект (субъекты) с нарушениями иммунной системы» или «субъект (субъекты) с ослабленной иммунной системой» может относиться к людям, у которых иммунная системы не работает должным образом и не может эффективно защищать человека против инфекции. Некоторые состояния и лекарственные препараты ослабляют или нарушают иммунную систему.

30 Указанные состояния и лекарственные препараты могут включать: злоупотребление алкоголем или лекарственным средством или их отмена;

конкретные заболевания или состояния, такие как диабет, рак, ВИЧ/СПИД или состояния, при которых организм ошибочно воспринимает собственные ткани как вредоносные (аутоиммунные расстройства), и т.д.; химиотерапия или лучевая терапия; применение некоторых лекарственных средств, таких как кортикостероиды или лекарственные средства, принимаемые для подавления иммунной системы после трансплантации органов; хирургическая операция для удаления селезенки (спленэктомия) и т.д.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, специфическое применение провоспалительного компонента обеспечивает неожиданный благоприятный эффект. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, как правило, является предпочтительным избегать воспалений у пожилых людей и/или у субъектов с нарушениями иммунной системы, однако композиция согласно настоящему изобретению обеспечивает благоприятный иммуностимулирующий эффект благодаря применению провоспалительных иммунологических компонентов для борьбы с патогенами.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, при ослаблении иммунной системы могут возникать проблемы с местным и/или системным действием цитокинов, направленным на инициацию, поддержание и разрешение воспалительного ответа.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, взаимодействие между провоспалительными цитокинами, противовоспалительными цитокинами и природными ингибиторами цитокинов может определять воспалительный ответ и его эффективность. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в связи с ослабленным или нарушенным состоянием иммунной системы применение цитокина может быть особо благоприятным.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, фактор некроза опухоли (TNF) и интерлейкин-6 (IL-6) могут предпочтительно применяться для усиления иммунного ответа путем активации цитокинового каскада и продукции других провоспалительных цитокинов и хемокинов.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, провоспалительные молекулы могут также привлекать тучные клетки и систему

комплемента, например, дополнительно усиливая иммуностимулирующий эффект, например, путем усиления атаки на патогены.

5 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может содержать множество провоспалительных молекул.

10 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может применяться для укрепления иммунной системы у пожилого субъекта и/или у субъектов с нарушениями иммунной системы, например, путем обеспечения иммуностимулирующего эффекта.

Согласно другим вариантам реализации изобретения, композицию согласно настоящему изобретению можно смешивать с пищевым продуктом и/или напитком.

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложен пищевой продукт с повышенной иммуногенностью, содержащий композицию, описанную в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, формула может стимулировать иммунную систему у пожилого субъекта и/или у субъектов с нарушениями иммунной системы путем обеспечения у указанных

20 субъектов превосходной защиты, например, защиты против заболеваний, усиления механизма иммунной защиты, стимуляции иммунной системы и т.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложено применение композиции, содержащей противовоспалительный компонент, провоспалительный компонент,

25 противомикробный компонент, первый иммуностимулирующий компонент и второй иммуностимулирующий компонент, для стимуляции иммунной системы у пожилого субъекта и/или у субъекта с нарушениями иммунной системы.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, применение может включать введение дозы композиции указанному пожилому

30 субъекту и/или субъекту с нарушенной иммунной системой.

Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации изобретения,

5 применение может включать введение композиции в конкретные периоды времени, например, в периоды, когда указанный пожилой субъект и/или субъект с нарушениями иммунной системы может быть более подвержен заражению инфекционным заболеванием, например, в зимнее время, перед госпитализацией и/или другими медицинскими процедурами, до или во время воздействия вредоносного патогена и т.д.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, применение может включать обеспечение указанному пожилому субъекту и/или субъекту с нарушениями иммунной системы первоначальной насыщающей дозы и дополнительной поддерживающей дозы.

15 Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения, применение может включать введение пожилому субъекту и/или субъекту с нарушениями иммунной системы по меньшей мере одной суточной дозы композиции согласно настоящему изобретению, например, с достижением длительной защиты и/или стимуляции активности иммунной системы в отношении вредных патогенов.

20 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может быть микроинкапсулирована, например, для защиты указанной композиции от вредных условий в желудочно-кишечном тракте и/или для обеспечения контролируемого или замедленного высвобождения компонентов композиции.

25 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может быть представлена в любом подходящем состоянии и/или форме для возможности оптимального смешивания с пищевым продуктом, включая, например, жидкую форму, форму порошка, гранул и т.д.

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать две или более молекул, происходящих по меньшей мере из двух различных молозив, например, первую молекулу, происходящую из первого молозива, и вторую молекулу, происходящую из второго молозива.

Способы получения композиции, выделения молозива и их комбинации

подробно описаны на протяжении заявки.

Применение композиции для стимуляции иммунной системы и/или снижения воспаления у спортсменов

5 Спортсмены, занимающиеся видами спорта на выносливость, например, спортсмены, участвующие в индивидуальных соревнованиях по бегу, езде на велосипеде, плаванию и триатлону, еженедельно проводят многочасовые тренировки с аэробными упражнениями. Тренировки на выносливость зависят от потребления кислорода скелетной мускулатурой с получением энергии для
10 указанной активности. Окислительная природа такой тренировки может приводить к повышенной продукции высокореактивных свободных радикалов, и для защиты клеток от повреждения указанными свободными радикалами необходима антиоксидантная защита. Такая способность повреждать клетки описывается как окислительный стресс и может приводить к воспалительному иммунному ответу
15 для защиты тканей организма-хозяина.

Термин «спортсмен» при использовании в настоящей заявке может относиться к любому человеку, занимающемуся физической активностью, спортом, фитнесом и т.д.

20 Значительный объем данных свидетельствует о том, что высокоинтенсивные или длительные тренировочные нагрузки на выносливость стимулируют повышенную продукцию свободных радикалов и окислительный стресс.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению, содержащая комбинацию одного или более компонентов, снижающих воспаление, может быть адаптирована для
25 перорального приема спортсменом.

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, в настоящей заявке предложена композиция, содержащая кератиновое соединение и бета-лактоглобулин (LGB), например, для снижения, в частности, воспаления у спортсменов.

30 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция может дополнительно содержать комбинацию противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента,

противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего компонента.

5 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать один или более компонентов из молозива и/или цельное молозиво, полученное, например, из синтетического источника, источника человеческого и/или животного происхождения, например, для снижения воспаления и боли в суставах, связках и мышцах спортсменов.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать две или более молекул, происходящих по меньшей мере из двух различных молозив, например, первую молекулу, происходящую из первого молозива, и вторую молекулу, происходящую из второго молозива.

15 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может содержать специфическую комбинацию кератинового соединения и бета-лактоглобулина (LGB) и противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего компонента, например, для снижения, в частности, воспаления, например, являющегося результатом физической активности или тренировок.

20 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, термин «снижать воспаление» (также называемый в настоящей заявке «снижение воспаления») может включать, но не ограничивается указанными, сокращение продолжительности воспаления, снижение маркеров воспаления и т.д.

30 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, специфическое применение провоспалительного компонента обеспечивает неожиданный благоприятный эффект. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, как правило, является предпочтительным избегать воспаления у спортсменов, однако композиция согласно настоящему изобретению обеспечивает благоприятный иммуностимулирующий эффект благодаря применению провоспалительных иммунологических компонентов для борьбы с

патогенами.

5 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может применяться для укрепления иммунной системы спортсмена, например, путем обеспечения иммуностимулирующего эффекта.

Согласно другим вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может быть смешана с пищевым продуктом и/или напитком, включая, например, молочные продукты и/или коктейли для спортсменов, пищевые продукты и т.д.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в настоящей заявке предложена формула для спортсменов с повышенной иммуногенностью, содержащая композицию, описанную в настоящей заявке.

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, формула также может содержать важнейшие аминокислоты и жирные кислоты, а также регуляторы роста мышц и аппетита.

20 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать две или более молекул, происходящих по меньшей мере из двух различных молозив, например, первую молекулу, происходящую из первого молозива, и вторую молекулу, происходящую из второго молозива.

Применение композиции для стимуляции иммунной системы животных

Животные, во многом как люди, подвержены инфицированию заболеваниями.

25 Зоонозы (также известных как зоонозные инфекции и зоонозные заболевания) представляют собой инфекционные заболевания, вызванные бактериями, вирусами и паразитами, которые распространяются среди животных (как правило, позвоночных).

30 Зоонозы имеют различные способы передачи. При прямом зоонозе заболевание непосредственно передается от животных к людям через среду, такую как воздух (грипп), или через укусы или слюну (бешенство). В то же время передача может

также осуществляться через промежуточные виды организмов (называемые переносчиками), которые являются носителями патогена, вызывающего заболевание, без инфицирования. Передача инфекции от людей к животным называется обратным зоонозом или антропонозом.

5 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению, содержащая комбинацию одного или более компонентов, стимулирующих иммунную систему животного, может быть адаптирована для перорального введения указанным животным.

10 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, в настоящей заявке предложена композиция, содержащая, например, кератиновое соединение и бета-лактоглобулин (LGB), в частности, для стимуляции иммунной системы животного.

15 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция может дополнительно содержать комбинацию противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего компонента.

20 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать один или более компонентов из молозива и/или цельное молозиво, полученное, например, из синтетического источника, источника человеческого и/или животного происхождения, например, для синергической стимуляции иммунной системы животного.

25 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать две или более молекул, происходящих по меньшей мере из двух различных молозив, например, первую молекулу, происходящую из первого молозива, и вторую молекулу, происходящую из второго молозива.

30 Термин «животное» при использовании в настоящей заявке может относиться к любому организму, входящему в биологическое царство Животные. Предпочтительно, термин «животное» при использовании в настоящей заявке относится к домашнему скоту, например, телятам, ягнятам, жеребятam;

зоопарковым животным и домашним животным, таким как щенки, котята, собаки и кошки.

5 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, специфическое применение провоспалительного компонента обеспечивает неожиданно благоприятный эффект. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, как правило, является предпочтительным избегать воспаления у животных, однако композиция согласно настоящему изобретению обеспечивает благоприятный иммуностимулирующий эффект благодаря применению провоспалительных иммунологических компонентов для борьбы с патогенами.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, алгоритм, описанный в настоящей заявке выше, может включать оценку вероятности эффективного иммуностимулирующего эффекта комбинации двух или более белков.

15 В частности, алгоритм может обеспечивать расчет степени совместимости между двумя или более белками, где указанная «совместимость», например, относится к усиленному и/или синергическому иммуностимулирующему эффекту при объединении двух или более белков.

20 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, алгоритм может включать оценку вероятности эффективного иммуностимулирующего эффекта белка, например, на основе сравнения, например, степени гомологии, с белками, обладающими иммуностимулирующими эффектами у животных.

25 Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может применяться для укрепления иммунной системы животного, например, путем обеспечения иммуностимулирующего эффекта.

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, композиция согласно настоящему изобретению может быть смешана с пищевым продуктом и/или напитком, включая, например, влажные корма и/или сухие корма для животных, питьевую воду и т.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, в

настоящей заявке предложена формула для животных с повышенной иммуногенностью, содержащая композицию согласно настоящему изобретению, описанную в настоящей заявке.

5 ПРИМЕРЫ

Пример 1

Часть А – Количественная оценка белка

Способы

10 Образцы размораживали при 4°C. Поскольку образцы содержали жиры, центрифугирование не осуществляли до манипуляций с указанными образцами. Отбор проб из образцов производили после перемешивания на вортексе, т.е. пробы молока содержали частицы и жиры.

Приготовление проб:

15 А. Пробы молока: Из каждого образца по два раза отбирали пробу и растворяли в двух различных растворах:

1. 10 мкл растворяли в 40 мкл буфера для проб, содержавшего: Трис-НСl, глицин, додецилсульфат натрия (ДСН), 2-меркаптоэтанол и следы ВРВ, с конечными концентрациями, составляющими 63 мМ Трис-НСl (рН 6,8), 10% глицина, 2% ДСН и 1% 2-меркаптоэтанола. Пробы перемешивали на вортексе, кипятили 10 мин при 95°C и замораживали при -80°C.

2. 50 мкл из каждого образца молока смешивали с мочевиной, бикарбонатом аммония (БКА) и дитиотреитолом (ДТТ) с получением конечной концентрации, составляющей 8 М мочевины, 100 мМ БКА и 10 мМ ДТТ. Пробы перемешивали на вортексе и центрифугировали (10 мин, 10000 об./мин, при комнатной температуре) для максимально возможного отделения жиров от белков (обозначены как U-пробы в Таблицах 3-4, ниже). 20 мкл «очищенной от жиров» пробы разводили в отношении 1:1 с мочевиным буфером, содержащим 8М мочевины, 100 мМ БКА и 10 мМ ДТТ (обозначены как UD-пробы в Таблицах 3-4, ниже)

30

В. Коммерческие продукты:

Из каждого продукта отбирали пробу ~1,5-3 мг порошка и растворяли в концентрации 2 мкг/мкл в буфере для проб, содержавшем: 63 мМ Трис-НСl (рН

6,8), 10% глицин, 2% ДСН, 1% 2-меркаптоэтанол и следы ВРВ. Образцы перемешивали на вортексе, кипятили 10 мин при 95°C, обрабатывали ультразвуком до полного растворения и замораживали при -80°C.

- 5 Количественная оценка белка (Таблицы № 3-4): 1 мкл из каждого из «очищенных от жиров» разведенных мочевиной образцов отбирали для количественной оценки белка с использованием метода Брэдфорд. Замечания: А. Белковые концентрации выше 10 мкг/мкл не имеют линейной зависимости и поэтому являются неточными. В. Жиры могут вызывать отклонения в считываниях.

10

Результаты

Количественную оценку белка, проведенную с использованием разведенных мочевиной образцов, можно видеть в Таблицах, ниже:

Таблица 3: Образцы молока – G1

Название	Дата рождения	Дата сбора	Возрастная группа	Возраст (дни)	Возраст (месяцы и дни)	Последовательность	Концентрация белка (мкг/мкл) Образцы UD	Оценная концентрация белка (мкг/мкл) Образцы U
MB1103	22.10.2017	09/11/2017	1	18	0M 18D	54759	3.04	6.08
MB1011	15.10.2017	26/10/2017	1	11	0M 11D	54760	2.99	5.99
SB1213	10.10.2017	01/11/2017	1	21	0M 21D	54761	2.86	5.72
DE1222	13.10.2017	05/11/2017	1	23	0M 23D	54762	4.83	9.66
MA1301			1			54763	3.45	6.89
TA1120	06.10.17	31/10/2017	1	25	0M 25D	54764	2.95	5.90
121TS1	26.10.2017	09/11/2017	1	14	0M 14D	54765	3.22	6.44
225SA1	28.10.2017	13/11/2017	1	16	0M 16D	54766	4.29	8.57
227AS1	16.11.17	23/11/2017	1	7	0M 7D	54767	5.08	10.16
LI1226	12.11.17	23/11/2017	1	11	0M 11D	54768	4.34	8.68
SS1252	01.11.2017	30/11/2017	1	29	0M 29D	54769	3.61	7.21
TA1135	29.10.2017	26/11/2017	1	28	0M 28D	54770	3.31	6.62
RS1253	11.11.2017	06/12/2017	1	25	0M 25D	54771	3.81	7.62
KR1246	28.11.2017	11/12/2017	1	13	0M 13D	54772	2.99	5.99
AB1256	25.11.2017	11/12/2017	1	16	0M 16D	54773	3.72	7.44

15

Таблица 4: Образцы молока – G2

Название	Дата рождения	Дата сбора	Возрастная группа	Возраст (дни)	Возраст (месяцы и дни)	Последовательность	Концентрация белка (мкг/мл) Образцы UD	Оцененная концентрация белка (мкг/мл) Образцы U
TS2214	02.10.2017	09/11/2017	2	39	1M 7D	54774	3.18	6.35
DG2006	09.08.2017	30/10/2017	2	83	2M 21D	54775	2.72	5.44
AJ2009	16.08.2017	30/10/2017	2	76	2M 14D	54776	2.59	5.17
AB2012	01.08.2017	26/10/2017	2	87	2M 25D	54777	2.70	5.40
DR2013	19.09.2017	26/10/2017	2	37	1M 7D	54778	2.59	5.17
YK20S8	10.09.2017	02/11/2017	2	53	1M 22D	54779	2.13	4.27
RS2204	21.08.2017	20/11/2017	2	91	2M 30D	54780	2.04	4.08
NP2208	15.09.2017	20/11/2017	2	66	2M 5D	54781	2.84	5.67
IZ2021	27.08.2017	24/10/2017	2	58	1M 27D	54782	2.70	5.40
NM2008	12.09.2017	30/10/2017	2	48	1M 18D	54783	3.20	6.40
MS2102	04.09.17	16/11/2017	2	73	2M 12D	54784	2.47	4.95
SP2085	12.09.17	31/10/2017	2	49	1M 19D	54785	2.79	5.58
O22RN2	02.09.2017	05/11/2017	2	64	2M 3D	54786	2.95	5.90
128SK2	26.08.2017	16/11/2017	2	82	2M 20D	54787	2.74	5.49
KV2224	08.10.2017	23/11/2017	2	46	1M 15D	54788	2.13	4.27
GL2225	11.09.17	23/11/2017	2	73	2M 12D	54789	2.74	5.49
231YF2	21.10.2017	30/11/2017	2	40	1M 9D	54790	3.44	6.87
YL2107	30.08.2017	26/11/2017	2	88	2M 26D	54791	3.52	7.03
MK2244	23.10.2017	06/12/2017	2	44	1M 14D	54792	2.54	5.08
NM2240	26.09.2017	11/12/2017	2	76	2M 15D	54793	2.81	5.63

Таблица 5: Образцы молока – G3

Название	Дата рождения	Дата сбора	Возрастная группа	Возраст (дни)	Возраст (месяцы и дни)	Последовательность	Концентрация белка (мкг/мл) Образцы UD	Оцененная концентрация белка (мкг/мл) Образцы U
NS3207	06.08.2017	13/11/2017	3	99	3M 4D	54794	6.55	13.10
DB3230	24.07.2017	22/11/2017	3	121	3M 28D	54795	2.27	4.54
YB3003	4.6.2017	01/11/2017	3	150	4M 28D	54796	1.81	3.63
MGH3108	19.06.17	09/11/2017	3	143	4M 21D	54797	2.18	4.36
YF3052	27.05.2017	02/11/2017	3	159	5M 25D	54798	2.13	4.27
DR3054	14.07.2017	22/11/2017	3	130	4M 8D	54799	2.61	5.23
MB3061	23.07.2017	23/10/2017	3	92	3M	54800	1.90	3.81
LM3065	01.07.2017	13/11/2017	3	135	4M 12D	54801	2.16	4.31
YK3079	27.05.2017	09/11/2017	3	166	5M 13D	54802	2.13	4.27
LB3081	14.06.2017	20/11/2017	3	159	5M 6D	54803	2.73	5.46
RM3096	13.05.2017	02/11/2017	3	173	5M 20D	54804	2.27	4.54
NB3200	02.06.2017	23/11/2017	3	174	5M 21D	54805	1.77	3.53
EG3019	6.6.17	25/10/2017	3	141	4M 19D	54806	2.29	4.59
OS3124	07.06.17	24/10/2017	3	139	4M 17D	54807	1.54	3.08
HS3001	11.7.2017	02/11/2017	3	114	3M 22D	54808	2.22	4.45
SK3007	25.4.17	24/10/2017	3	182	5M 29D	54809	3.25	6.51
129VL3	30.06.2017	09/11/2017	3	132	4M 10D	54810	1.72	3.44
AS3131	24.07.2017	16/11/2017	3	115	3M 23D	54811	2.13	4.27
133RC3	28.06.2017	16/11/2017	3	141	4M 19D	54812	1.97	3.95
BH3137	27.07.2017	26/11/2017	3	122	3M 30D	54813	1.97	3.95

5

10

Таблица 6: Образцы молока – G4

Название	Дата рождения	Дата сбора	Возрастная группа	Возраст (дни)	Возраст (месяцы и дни)	Последовательность	Концентрация белка (мкг/мл) Образцы UD	Оцененная концентрация белка (мкг/мл) Образцы U
AE4067	10.03.2017	25/10/2017	4	229	7M 15D	54814	1.81	3.63
BG4070	04.04.2017	20/11/2017	4	230	7M 16D	54815	1.84	3.67
SM4086	23.04.2017	20/11/2017	4	211	6M 27D	54816	1.97	3.95
257IK4	27.04.2017	06/12/2017	4	223	7M 9D	54817B	2.82	5.64
AD4217	02.04.2017	26/10/2017	4	207	6M 24D	54818	2.04	4.08
MK4218	07.03.2017	09/11/2017	4	247	8M 2D	54819	1.84	3.67
SG4018	19.4.17	05/11/2017	4	207	6M 17D	54820	2.16	4.31
LG4082	01.03.2017	23/10/2017	4	236	7M 22D	54821	2.41	4.82
SR4126	03.02.17	24/10/2017	4	263	8M 21D	54822	2.27	4.54
RS4225	08.04.17	31/10/2017	4	206	6M 23D	54823	2.45	4.91
130LR4	11.04.2017	16/11/2017	4	219	7M 5D	54824	4.24	8.48
LR4216	08.04.2017	30/11/2017	4	236	7M 22D	54825	2.50	5.00
ED4090	26.04.2017	27/11/2017	4	215	7M 1D	54826	2.68	5.36
AM4068	21.05.2017	27/11/2017	4	190	6M 6D	54827	2.57	5.14
AH4245	08.06.2017	11/12/2017	4	186	6M 3D	54828	2.73	5.46
NT4247	30.05.2017	14/12/2017	4	198	6M 7D	54829	2.32	4.63
AB4241	03.05.2017	06/12/2017	4	217	7M 3D	54830	2.41	4.82
DP4242	10.05.2017	14/12/2017	4	218	7M 4D	54831	2.38	4.77
4SL105	02.04.2017	26/11/2017	4	238	7M 22D	54842	3.14	6.28

Замечание: Образец 125HZ4 (последовательность 54817) был исключен. Вместо него использовался образец 257IK4, обозначенный как 54817B

Таблица 7: Образцы молока – G5

Название	Дата рождения	Дата сбора	Возрастная группа	Возраст (дни)	Возраст (месяцы и дни)	Последовательность	Концентрация белка (мкг/мл) Образцы UD	Оцененная концентрация белка (мкг/мл) Образцы U
069SM5	21.01.2017	43033	5	277	9M 4D	54832	1.61	3.22
071AA5	31.01.2017	43044	5	278	9M 6D	54833	2.55	5.09
073LP5	16.01.2017	43031	5	280	9M 7D	54834	1.92	3.83
087EL5	07.01.2017	43033	5	291	9M 18D	54835	2.52	5.05
055TS5	09.12.2016	43032	5	319	10M 15D	54836	2.09	4.18
083KZ5	06.12.2016	43031	5	321	10M 16D	54837	3.13	6.26
211VM5	04.01.2017	43038	5	300	9M 26D	54838	2.26	4.53
206SE5	28.11.2016	43038	5	336	11M 2D	54839	2.72	5.44
219MD5	14.02.2017	43069	5	259	9M 16D	54840	2.33	4.66
072OC5	12.02.2017	43066	5	288	9M 15D	54841	1.63	3.27
302RW5			5			54843	1.61	3.22
229YK5	26.01.2017	43075	5	314	10M 10D	54844	2.44	4.87
255SE5	16.12.2016	43083	5	363	11M 28D	54845	2.57	5.14
303YK5			5			54846	2.81	5.61
305DR5			5			54855	2.29	4.57

Таблица 8: Образцы молока – G6

Название	Дата рождения	Дата сбора	Возрастная группа	Возраст (дни)	Возраст (месяцы и дни)	Последовательность	Концентрация белка (мкг/мкл) Образцы UD	Оцененная концентрация белка (мкг/мкл) Образцы U
020ED6	3.11.16	43059	6	382	12M 17D	54847	2.29	4.57
004SO6	23.10.2016	43040	6	374	12M 9D	54848	2.87	5.74
002JS6	4.6.2016	43040	6	507	16M 27D	54849	3.94	7.88
005YG6	1.8.2015	43061	6	843	27M 21D	54850	6.5	13.0
014MG6	6.12.15	43040	6	695	24M 25D	54851	3.11	6.22
016ML6	22.9.16	43044	6	408	13M 17D	54852	2.07	4.14
017DD6	9.8.16	43041	6	449	13M 23D	54853	4.15	8.31
051SA6	24.05.2016	43041	6	526	17M 8D	54854	1.94	3.88
057AR6	23.08.2016	43052	6	446	14M 20D	54856	2.72	5.44
088RK6	17.06.2016	43034	6	495	16M 9D	54857	2.39	4.79
118OG6	23.10.16	43031	6	365	12M	54858	2.33	4.66
106IH6	24.06.16	43039	6	493	16M 7D	54859	4.26	8.52
134S6	12.09.2016	43055	6	429	14M 4D	54860	2.81	5.61
228LC6	23.06.2016	43061	6	516	16M 29D	54861	3.5	7.0
094AD6	08.11.2016	43066	6	384	12M 19D	54862	2.35	4.70
063SB6	20.11.2016	43066	6	372	12M 7D	54863	2.13	4.27
116VH6	09.09.2016	43065	6	442	14M 17D	54864	3.46	6.92
210AS6	31.07.2016	43075	6	492	16M 6D	54865	3.98	7.96

Замечание: Образцы в данной группе содержали высокое количество жиров и в связи с этим требовали повторных считываний. Для образцов 54849-50 наблюдались высокие колебания.

Приведена ссылка на Фигуру 3, на которой показан график, демонстрирующий изменение концентрации белка в зависимости от возраста младенца.

Часть В – Идентификация белков

Способы

Образцы молока и коммерческих продуктов, содержащие буфер для проб, размораживали при комнатной температуре.

А. По 2 мкл из каждого образца молока смешивали в объединенных объемах в соответствии с таблицей, ниже:

Таблица 9:

Группа 1	N	Возраст (дни)	Концентрация белка (мкг/мл) Образцы UD	Возраст (месяцы и дни)	Последовательность
A	AS1227	7	5.079	0M 7D	54767
	MB1011	11	2.990	0M 11D	54760
	MA1301	11	3.447	0M 11D	54763
	LI1226	11	4.340	0M 11D	54768
	KR1246	13	2.994	0M 13D	54772
B	I21TS1	14	3.221	0M 14D	54765
	AB1256	16	3.719	0M 16D	54773
	SA1225	16	4.286	0M 16D	54766
	MB1103	18	3.039	0M 18D	54759
	SB1213	21	2.858	0M 21D	54761
C	DE1222	23	4.829	0M 23D	54762
	TA1120	25	2.949	0M 25D	54764
	RS1253	25	3.810	0M 25D	54771
	TA1135	28	3.311	0M 28D	54770
	SS1252	29	3.606	0M 29D	54769
Группа 2	N	Возраст (дни)	Концентрация белка (мкг/мл) Образцы UD	Возраст (месяцы и дни)	Последовательность
A	DR2013	37	2.586	1M 7D	54778
	TS2214	39	3.175	1M 7D	54774
	MK2244	44	2.541	1M 14D	54792
	KV2224	46	2.133	1M 15D	54788
	SP2085	49	2.790	1M 19D	54785
B	IZ2021	58	2.699	1M 27D	54782
	RN2022	64	2.949	2M 3D	54786
	NP2208	66	2.835	2M 5D	54781
	102MS2	73	2.473	2M 12D	54784
	GL2225	73	2.745	2M 12D	54789
C	009AJ2	76	2.586	2M 14D	54776
	240NM2	76	2.813	2M 15D	54793
	128SK2	82	2.745	2M 20D	54787
	006DG2	83	2.722	2M 21D	54775
	012AB2	87	2.699	2M 25D	54777

Группа 3	N	Возраст (дни)	Концентрация белка (мкг/мл) Образцы UD	Возраст (месяцы и дни)	Последовательность
A	MB3061	92	1.90438	3M	54800
	HS3001	114	2.225	3M 22D	54808
	AS3131	115	2.133	3M 23D	54811
	DB3230	121	2.271	3M 28D	54795
	BH3137	122	1.97305	3M 30D	54813
B	DR3054	130	2.614	4M 8D	54799
	LM3065	135	2.156	4M 12D	54801
	RC3133	141	1.97305	4M 19D	54812
	EG3019	141	2.294	4M 19D	54806
	MGH3108	143	2.179	4M 21D	54797
C	YF3052	159	2.133	5M 25D	54798
	LB3081	159	2.728	5M 6D	54803
	YK3079	166	2.133	5M 13D	54802
	RM3096	173	2.271	5M 20D	54804
Группа 4	N	Возраст (дни)	Концентрация белка (мкг/мл) Образцы UD	Возраст (месяцы и дни)	Последовательность
A	AM4068	190	2.568	6M 6D	54827
	NT4247	198	2.316	6M 7D	54829
	RS4225	206	2.454	6M 23D	54823
	AD4217	207	2.042	6M 24D	54818
	SG4018	207	2.156	6M 17D	54820
B	SM4086	211	1.973	6M 27D	54816
	ED4090	215	2.683	7M 1D	54826
	AB4241	217	2.408	7M 3D	54830
	DP4242	218	2.385	7M 4D	54831
C	IK4257	223	2.820	7M 9D	54817B
	AE4067	229	1.813	7M 15D	54814
	BG4070	230	1.836	7M 16D	54815
	LG4082	236	2.408	7M 22D	54821
	LR4216	236	2.500	7M 22D	54825
	MK4218	247	1.836	8M 2D	54819

Группа 5	N	Возраст (дни)	Концентрация белка (мкг/мкл) Образцы UD	Возраст (месяцы и дни)	Последовательность
A	MD5219	259	2.330	9M 16D	54840
	SM5069	277	1.610	9M 4D	54832
	AA5071	278	2.550	9M 6D	54833
	LP5073	280	1.920	9M 7D	54834
	DR5305	286	2.290	9M 13D	54855
B	OC5072	288	1.630	9M 15D	54841
	EL5087	291	2.520	9M 18D	54835
	RW5302	292	1.610	9M 19D	54843
	VM5211	300	2.260	9M 26D	54838
	YK5229	314	2.440	10M 10D	54844
C	TS5055	319	2.090	10M 15D	54836
	KZ5083	321	3.130	10M 16D	54837
	YK5303	327	2.810	10M 22D	54846
	5SE206	336	2.720	11M 2D	54839
	5E5255	363	2.570	11M 28D	54845
Группа 6	N	Возраст (дни)	Концентрация белка (мкг/мкл) Образцы UD	Возраст (месяцы и дни)	Последовательность
A	SB6063	372	2.130	12M 7D	54863
	SO6004	374	2.870	12M 9D	54848
	ED6020	382	2.290	12M 17D	54847
	AD6094	384	2.350	12M 19D	54862
	ML6016	408	2.070	13M 17D	54852
B	SG134	429	2.810	14M 4D	54860
	VH6116	442	3.460	14M 17D	54864
	O57AR6	446	2.720	14M 20D	54856
	DD6017	449	4.150	13M 23D	54853
	AS6210	492	3.980	16M 6D	54865
C	IN6106	493	4.260	16M 7D	54859
	O88RK6	495	2.390	16M 9D	54857
	JS6002	507	3.940	16M 27D	54849
	LC6228	516	3.500	16M 29D	54861
	SA6051	526	1.940	17M 8D	54854

В каждый объединенный объем добавляли 2-меркаптоэтанол до конечной концентрации, составляющей 1%, и полученную смесь перемешивали на вортексе, кипятили 10 мин при 95°C и наносили на готовый 4-15% гель mini-PROTEAN® TGX (Bio-Rad, Cat#456-1084).

В. Каждую пробу коммерческих продуктов кипятили 10 мин при 95°C и по 15 мкл наносили на гели, указанные выше.

Электрофорез останавливали после того, как фронт красителя достигал ~ 95% длины дорожки геля. Гели окрашивали раствором Imperial для окрашивания белков (PIERCE).

Приведена ссылка на Фигуру 4, которая показывает результаты приготовления проб: электрофорез белков в геле.

После электрофореза каждая дорожка была поделена на 3 части: >80 кДа, 80-25 кДа.

Белки в геле восстанавливали с помощью 3 мМ ДТТ в растворе 100 мМ бикарбоната

аммония [БКА] (60°C в течение 30 мин), модифицировали 10 мМ йодацетамидом в 100 мМ БКА (в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин) и переваривали в растворе 10% ацетонитрила, 10 мМ БКА и 10 мМ CaCl₂ с модифицированным трипсином (Promega) в течение ночи при 37°C с соотношением фермент:субстрат 1:10. Дополнительное второе переваривание осуществляли в течение 4 часов. Полученные пептиды обессаливали с использованием наконечников C18 (самодельные наконечники для настольного применения) и подвергали анализу с помощью ЖХ-МС-МС. Пептиды разделяли с помощью обратной фазовой хроматографии на слитых кварцевых капиллярах (0,075x300 мм, J&W), упакованных обратнофазовым материалом Reprosil (Dr Maisch GmbH, Германия). Капилляры элюировали линейным градиентом (5 - 28% ацетонитрил, 120 мин; 28 - 95% ацетонитрил, 15 мин, 95% ацетонитрил, 15 мин) с 0,1% муравьиной кислотой в воде при скорости потока 0,15 мкл/мин. Масс-спектрометрию осуществляли с помощью масс-спектрометра Q Exactive plus (Thermo) в режиме детекции положительно заряженных ионов путем осуществления цикла полных МС-сканирований и последующей диссоциации, активированной высокоэнергетическим соударением (high collision dissociation, HCD), десяти наиболее преобладающих ионов, выбранных по результатам первого МС-сканирования. Данные масс-спектрометрии анализировали с использованием программы MaxQuant V 1.5.2.8 (Mathias Mann's group) относительно части базы данных Uniprot для белков человека и коровы и части базы данных NCBI-Nr для белков козы при частоте ложноположительных результатов (false discovery rate, FDR), составляющей 1 %. Статистический анализ результатов идентификации и количественной оценки проводили с использованием программы Perseus V 1.5.2.4 (Mathias Mann's group). Все значения интенсивности (интенсивность; абсолютная количественная оценка на основе интенсивности (Intensity-based absolute quantification, IBAQ) и количественная оценка без метки (Label-free quantification, LFQ)) представлены в виде log₂. Нормирование человеческих образцов осуществляли относительно равного объема молока. Нормирование образцов коммерческих продуктов осуществляли на основе равного отношения массы к объему.

Результаты идентификации, часть А

Статистический анализ состава человеческого грудного молока, соответствующего различным возрастным группам:

5 Все белки, которые были идентифицированы с помощью по крайней мере одного отсекающего пептида (Razor peptide) и одного уникального пептида (Unique peptide) и 3 циклов МС/МС, подвергали статистическому анализу. Результаты показали четкое различие белкового паттерна между различными возрастными группами. Дисперсионный анализ (ANOVA), проведенный между всеми возрастными группами, привел к получению 337 белков, которые значительно различались при р-значении 0,05. Было показано, что группы G1-G2, G3-G4 и G5-G6 обладают высоким сходством, но все еще различаются.

10 t-критерий Стьюдента рассчитывали для сравнения значений интенсивности Группы 1 (G1) и значений интенсивности Групп 2-6 (G2-G6). Белки, значения для которых различались при р-значении 0,05 и различия составляли +/- 1, были выделены цветным шрифтом. Повышенная экспрессия белка в Группе G1 (положительное отличие) выделена жирным цветным шрифтом. Сниженная экспрессия белка в Группе G1 (отрицательное отличие) выделена нежирным цветным шрифтом. Белки, для которых наблюдалось значительное повышение/снижение, во всех группах были выделены коричневым и зеленым цветом соответственно в колонке «Fasta Headers». Белки, для которых наблюдалось значительное повышение/снижение по меньшей мере в одной группе были выделены коричневым и зеленым цветом соответственно в колонке «Название гена» (также красным выделены исключительные значения). Указанные белки подвергали биоинформатическому анализу с использованием программы «STRING-DB». Результаты представлены в файле «STRING-Go annotations-human».

Результаты идентификации, часть В - Статистический анализ человеческого грудного молока, соответствующего различным возрастным группам, по сравнению с коммерческими коровьими и козьими продуктами

30 Все белки, которые были идентифицированы из разных организмов, объединяли в одну таблицу под названием «55711-85-человеческие-коровьи-козы-В». Была создана дополнительная таблица «55711-85-человеческие-коровьи-козы-IG»,

содержащая только иммуноглобулины. Представлено значение ИВАQ, которое обеспечивает нормирование на основе состава внутреннего образца.

Приведена ссылка на **Фигуры 5-7**, на которых показана гомология между человеческими белками и коровьими белками, находящимися в молозиве, соответственно.

5

На **Фигуре 5** показаны человеческие белки, присутствующие в человеческом молозиве, как представлено в таблице G1, по сравнению с коровьими белками, присутствующими в коровьем молозиве, как представлено в таблице G2.

Далее следуют аббревиатуры белков:

10

XDH = ксантиндегидрогеназа

PIGR = полимерный иммуноглобулиновый рецептор

LTF = лактотрансферрин

ALB, LALBA = альбумин

KRT... = кератин

15

FASN = синтаза жирных кислот

CSN... = каппа-казеин

CEL = карбоксиэфирлипаза

IG... = антитело

LYZ = лизосома

20

На **Фигуре 6** показаны человеческие белки, присутствующие в человеческом молозиве, как представлено в Таблице G3, по сравнению с коровьими белками, присутствующими в коровьем молозиве, как представлено в Таблице G4.

Далее следуют аббревиатуры белков:

25

XDH = ксантиндегидрогеназа

PIGR = полимерный иммуноглобулиновый рецептор

LTF = Лактотрансферрин

ALB, LALBA = альбумин

KRT... = кератин

FASN = синтаза жирных кислот

CSN... = каппа-казеин

CEL = карбоксиэфирлипаза

IG... = антитело

5 LYZ = лизосома

На Фигуре 7 показаны человеческие белки, присутствующие в человеческом молозиве, как представлено в Таблице G5, по сравнению с коровьими белками, присутствующими в коровьем молозиве, как представлено в Таблице G6.

10 Далее приведены аббревиатуры белков:

XDH = ксантиндегидрогеназа

PIGR = полимерный иммуноглобулиновый рецептор

LTF = лактотрансферрин

ALB, LALBA = альбумин

15 KRT... = кератин

FASN = синтаза жирных кислот

CSN... = каппа-казеин

CEL = липаза эфира карбоновой кислоты

IG... = антитело

20 LYZ = лизосома

Наночастицы молозива:

Цель: Приготовление наночастиц на основе белков молозива.

Способы:

- 25 1. Характеристика порошков молозива: 4 типа коммерческих молозив обозначали как А - D и записывали спецификацию производителя по ингредиентам. А – «Survival» (28% жиров, 45% белков, сахара). В – «Immune tree» (без липидов, 60% белков). С – «Symbiotics» (лецитин и триглицериды, 60% белков, 30% сахаров). D – «California gold nutrition» (без липидов, 35% белков). Взвешивали

1 г каждого молозива и растворяли в очищенной воде (20 мл) и перемешивали в течение ночи. Затем жидкости центрифугировали в течение 30 мин при 4000 об./мин и супернатант переносили в новую пробирку для второго центрифугирования в течение 15 мин при 7500 об./мин при 4°C. Супернатанты
5 фильтровали через целлюлозно-ацетатный фильтр (с размером пор 0,45 мкм) и затем замораживали и лиофилизировали. Продукты анализировали по УФ-поглощению при 280 нм, полному УФ-спектру, массовому выходу и элементарному анализу.

Таковую же процедуру проводили с бычьим сывороточным альбумином (БСА) для использования в качестве
10 сравнительного препарата на основе чистого белка.

2. Получение наночастиц

60 мг каждой выделенной формулы молозива растворяли в 1,5 мл очищенной
15 воды. рН каждого образца составлял примерно 7, затем рН доводили до значения 5,5. Для использования в качестве сравнительного препарата общего белка человеческий сывороточный альбумин (ЧСА 60 мг) растворяли в 1,5 мл очищенной воды.

Дополнительные 1,5 мг каждого материала добавляли в его раствор в качестве
20 агента для зародышевого роста и перемешивали в течение 15 мин при комнатной температуре с последующим добавлением 8 мл этанола (96%) при скорости 1 мл/мин для образования частиц при перемешивании со скоростью 500 об./мин при комнатной температуре. Наконец, проводили стабилизацию при 110°C или 105°C в течение 15 и 10 мин соответственно. Растворы частиц перемешивали
25 при комнатной температуре для охлаждения и затем очищали посредством центрифугирования в течение 15 мин при скорости 4000 об./мин. Осадки сушили с использованием испарителя.

3. Характеристики частиц:

3.1 Массовый выход: взвешивали пустые центрифужные пробирки и пробирки
30 с высушенным осадком. Общее количество каждого осадка рассчитывали на основе различия.

3.2 Диспергирование и размер частиц: 2 мг каждого осадка диспергировали в 2 мл очищенной воды и перемешивали в течение 24 ч на вортексе. Затем к каждому осадку добавляли по 2 мл очищенной воды и переносили в ультразвуковой аппарат на 30 мин. 6 мл воды добавляли для достижения соотношения 1:5 (образец:вода, мг) и снова диспергировали с помощью обработки ультразвуком в течение 15 мин. Размер частиц в дисперсионных растворах измеряли с использованием анализатора DLS ZetaSizer (Malvern).

Результаты:

1. Характеристика молозива

- Количественная оценка белковой фракции: процентное количество белка, который был растворен, отфильтрован и лиофилизирован, было рассчитано по отношению к исходному количеству и представлено в Таблице 10. Максимальный выход наблюдался для продукта типа D.

Тип продукта	Конечная выделенная масса (г)	% по массе
A	0,738	74
B	0,652	65
C	0,715	71
D	0,752	75
BCA	0,932	93

Таблица 10: массовый выход выделенной фракции для каждого типа продукта по отношению к исходному количеству (1 г).

- УФ-поглощение: для каждого фильтрованного раствора с помощью спектрофотометра анализировали поглощение при 280 нм, которое позволяет идентифицировать белковое содержание (Таблица 11). Концентрации рассчитывали после построения калибровочной кривой для БСА в диапазоне концентраций 0,25-1,5 мг/мл в очищенной воде и при значении R^2 0,99. После этого значения преобразовывали в % по массе по отношению к количеству, которое было взвешено для данного анализа. Для всех растворов молозива было показано более чем 100% содержание по массе на основе УФ-поглощения. Это

означает, что существует другой фактор, обеспечивающий поглощение при той же длине волны и отсутствующий в растворе альбумина, или же состав препарата альбумина сильно отличается от белков молозива.

Тип продукта	A (280 нм)	% по массе
A	0,705	233
B	0,591	198
C	0,81	272
D	0,542	174
БСА	0,292	97

5

Таблица 11: Поглощение при $\lambda=280$ нм и массовая доля выделенных растворов молозива.

- Элементарный анализ: процент С, Н, N и О анализировали в каждом образце выделенных продуктов и отношение азота к углероду рассчитывали для нормирования (Таблица 12). Теоретическое отношение N:C в белках составляет 0,3.

10

Тип частиц	% по массе	Редиспергирование
A (100С)	34,89	Средне
B (100С)	36,64	Плохо
C (100С)	41,5	Средне
D (100С)	43,57	Хорошо
БСА (100С)	*14,3	Средне
A (105С)	39,53	Хорошо
B (105С)	42,99	-----
C (105С)	-----	-----
D (105С)	51,21	Хорошо
БСА (105С)	30,2*	Средне

Таблица 12: Элементарный состав С, Н, N и О выделенных образцов и рассчитанное отношение N к С.

15

Как ожидалось, для БСА наблюдалось максимальное сходство

процентного содержания с теоретическим значением и совпадение соотношения N:C, поскольку БСА представляет собой чистый белок. Для молозив В и С наблюдалось более сходное с теоретическим белком соотношение, тогда как для А и D – менее сходное.

5

2. Характеристика частиц:

- Массовый выход: количество полученных частиц рассматривали по отношению к исходному количеству, отобранному для приготовления частиц (60 мг – не было возможности взять более 60 мг из-за высокого количества этанола и медленной скорости на этапах получения). Результаты представлены в Таблице 4.
- Способность к диспергированию: сухие частицы редицергировали в очищенной воде с последующим перемешиванием на вортексе и обработкой ультразвуком. Лучшее диспергирование наблюдалось для D (105C), см. Таблицу 13, ниже. Лучший процент и способность к диспергированию был показан для молозива D, которое было стабилизировано при 105°C. Некоторое количество частиц БСА налипало на стенки пробирки, так что массовая доля была низкой после процесса получения.

10

15

20

Тип частиц	% по массе	Редицергирование
A (100C)	34,89	Средне
B (100C)	36,64	Плохо
C (100C)	41,5	Средне
D (100C)	43,57	Хорошо
БСА (100C)	*14,3	Средне
A (105C)	39,53	Хорошо
B (105C)	42,99	-----
C (105C)	-----	-----
D (105C)	51,21	Хорошо
БСА (105C)	30,2*	Средне

Таблица 13: Образцы стабилизировали при 100°C и 105°C для поддержания массовой доли частиц и способности к диспергированию (образцы В и С в

пробирках 105С разрушились в ходе процесса. *В случае БСА значительное количество белка налипало на стенки пробирки).

- Размер частиц: средний размер частиц каждого образца суммирован в Таблице 14. Лучшие результаты с точки зрения среднего размера частиц (526 нм) и значения PDI (0,566) соответствуют молозиву D (105С).

		Средний размер (нм)	PdI
A(100С)	1	755.5	0.695
	2	563.5	0.751
	3	837.7	0.926
B(100С)	1	587.1	0.763
	2	501.7	0.980
	3	545.2	0.605
C(100С)	1	2284	0.323
	2	2376	0.127
	3	3552	0.083
D(100С)	1	780.7	0.687
	2	1134	0.866
	3	968.0	0.889
A(105С)	1	982.3	0.942
	2	972.6	0.798
	3	589.2	0.731
D(105С)	1	526.4	0.566
	2	718.1	0.723
	3	460.1	0.730

Таблица 14: Размер частиц образцов после диспергирования, выявленный с помощью анализатора ZetaSizer.

Частицы были получены с помощью метода денатурации и стабилизированы при 100°C или 105°C.

Выводы:

Четыре типа молозива исследовали для получения наночастиц. Выделение белковой фракции из смеси представляло собой первый этап, который осуществляли путем отбора растворенной части из смеси. Для молозива типа D был показан более высокий массовый выход, составляющий 75%. Указанное

производителем содержание белка в продукте D составляет 35%. Таким образом, растворенная фракция должна содержать другой ингредиент помимо белков, который может представлять собой сахара. В целом, для всех типов молозив был показан более высокий массовый выход в растворенной фракции, чем заявленный производителем, тогда как жировая составляющая (тип А и С) не должна была растворяться в воде. Для всех типов молозива было показано поглощение при длине волны 280 нм, что указывает на белковое содержание, однако поглощение было намного более высоким по сравнению с БСА, что указывает на различное содержание и состав присоединенных аминокислот.

Кроме того, БСА не подходит для количественной оценки белкового содержания в молозиве. Принимая во внимание элементарное отношение азота к углероду и заявленное производителем белковое содержание в В и С, составляющее 60%, мы получили более высокое сходство с теоретическим значением по сравнению с А и D, для которых сообщалось более низкое содержание белка и которые показали более низкое соотношение N:C. Как результат нашего открытия, для молозива D наблюдался самый высокий массовый выход, однако указанное молозиво, вероятно, содержит намного более высокий процент других ингредиентов помимо белков в выделенной фракции по сравнению с В и С.

Относительно получения частиц с помощью метода денатурации и стабилизации нагревом, мы не получили малых наночастиц, однако лучшие результаты наблюдались для молозива D, которое стабилизировали с использованием нагрева при 105°C в течение 10 мин. Для указанного молозива наблюдался более высокий массовый выход при получении частиц, составляющий 51%, хорошее диспергирование в воде и средний размер частиц, составляющий 526 нм. В целом, образцы, которые нагревали до 105°C, лучше поддавались редиспергированию в воде по сравнению с образцами, которые нагревали до 100°C.

pH раствора, температура нагревания, период нагревания и скорость перемешивания являются переменными, которые можно оценивать для получения подходящих результатов, таких как меньший размер частиц и сниженная полидисперсность. Следовательно, существует хорошая перспектива для продолжения исследований и получения наночастиц молозива.

Процедура получения частиц молозива:

Выделение белка:

1 г каждого коммерчески доступного молозива взвешивали и растворяли в очищенной воде (20 мл) и перемешивали в течение ночи. Затем жидкости центрифугировали в течение 15 мин при скорости 4000 об./мин и супернатант переносили в новую пробирку для второго центрифугирования в течение 15 мин при скорости 7500 об./мин и температуре 4°C. Супернатанты фильтровали через целлюлозно-ацетатный фильтр (с размером пор 0,45 мкм) и затем замораживали и лиофилизировали.

10 Приготовление частиц:

60 мг каждой выделенной формулы молозива растворяли в 1,5 мл очищенной воды. рН каждого образца составлял примерно 7. Затем рН доводили до значения 5,5. Дополнительные 1,5 мг каждого материала добавляли к его раствору в качестве агента для зародышевого роста и перемешивали в течение 15 мин при комнатной температуре с последующим добавлением 8 мл этанола (96%) с использованием автоматического шприца со скоростью 1 мл/мин для образования частиц при перемешивании со скоростью 500 об./мин при комнатной температуре. Наконец, стабилизацию осуществляли при 100°C или 105°C в течение 15 и 10 мин соответственно. Растворы частиц перемешивали при комнатной температуре для охлаждения и затем очищали посредством центрифугирования в течение 15 мин при скорости 4000 об./мин. Осадки сушили с помощью вакуума.

Как ранее подробно описано в настоящей заявке, согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, в настоящей заявке предложена композиция, содержащий кератиновое соединение, бета-лактоглобулин (LGB).

Согласно некоторым иллюстративным вариантам реализации изобретения, композиция может дополнительно содержать комбинацию противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего компонента.

Согласно некоторым дополнительным вариантам реализации изобретения, композиция может дополнительно содержать молозиво.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, молозиво представлено в виде наночастиц молозива.

Пример 2

5 Были идентифицированы ключевые белки, выполняющие противовоспалительную функцию в иммунной системе. Среди указанных белков, которые были идентифицированы: лактоферрин, альфа-лактоальбумин и CD59. Указанные белки (лактоферрин, альфа-лактоальбумин и CD59) были добавлены к объединенным бета-лактоглобулину и KRT1 с получением
10 Композиции 1 для данного эксперимента.

Целью следующего эксперимента являлось:

- a. Обогащение ключевых белков из образца молозива с использованием ионообменной хроматографии.
- b. Подтверждение пригодности системы доставки.
- 15 c. Демонстрация эффектов Композиции 1 на человеческих МКПК, при этом Композиция 1 представляет собой пример образца композиции согласно настоящему изобретению (также называемый в настоящей заявке «MAO-фракцией»).

20 В ходе указанных экспериментов было возможно получить вплоть до 2 грамм исследуемого белка. Указанные два грамма делили на составные части, которые можно использовать для получения нескольких смесей в соответствии с различными требованиями.

Фракционирование с использованием ионообменной хроматографии

25 Для того чтобы повысить конечный выход желаемых белков молозива, проводили предварительную обработку с помощью кислотной преципитации для удаления казеинов из молозива.

Кислотная преципитация:

1. 100 мг порошка обезжиренного молозива растворяли в 500 мл DDW
30 (перемешивание в течение 5 мин с помощью магнитной мешалки).
2. Кислотная преципитация казеина: медленное титрование раствора с помощью 1 М HCl для достижения значения pH 4,2. Осадки удаляли посредством фильтрования (Millipore Express PLUS, PES, 0,22 мкм).

3. pH доводили в соответствии с используемой колонкой (pH 8 для АО колонки, pH 5 для КО колонки).

4. Образцы отбирали для анализа на каждом этапе.

5 Приведена ссылка на Фигуру 8, на которой показан анализ белков с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН-ПААГ).

10 Как видно на Фигуре 8, казеины были успешно удалены (отсутствие бэнда в образце 2 в области, соответствующей маркеру массой 30 кДа). Удаление казеинов из молозива также приводило к удалению липидов, фосфолипидов и гликолипидов и повышению концентрации ключевых белков в молозиве (см. более интенсивные бэнды в образце 4). Конечный раствор обеспечивал более эффективный процесс фракционирования. Казеины составляют большую часть
15 белков коровьего молозива и имеют тенденцию формировать агрегаты (мицеллы), что приводит к снижению общей точности ионной хроматографии. Конечный раствор был более растворимым и визуально был прозрачнее.

Процедура фракционирования

20 Фракционирование с помощью анионообменной колонки

Колонка: HiTrap Q FF 5x2 мл, GE Healthcare

Буферы: равновесный буфер, содержащий 20 mM Трис-HCl, pH 8

Буфер для элюирования - 20 mM Трис-HCl, pH 8, 1 M NaCl

25 • 200 мл фильтровали с использованием фильтра с размером пор 0,45 мкм (Millipore Express PLUS, PES, 0,45 мкм).

• Фильтрованный раствор наносили на уравновешенную колонку HiTrap Q FF 5 x2 мл при скорости 3 мл/мин. После нанесения образцов колонку промывали 3 колоночными объемами буфера, содержащего 20 mM Трис-HCl, pH 8 (5 мл/мин).

30 • Для элюирования использовали ступенчатый градиент – 100, 400 и 1000 mM NaCl. Собирали по 5 мл фракций.

• Проводили количественную оценку всех фракций с помощью метода Брэдфорд и проводили анализ с помощью ДСН-ПААГ.

Фракционирование с помощью катионообменной колонки

Колонка: HiTrap SP FF 5 мл, GE Healthcare

Буферы: равновесный буфер, содержащий 20 мМ Na-ацетат, pH 5

Элюирующий буфер: 20 мМ Na-ацетат, pH 5, 1 М NaCl

- 5
- 200 мл наносили на уравновешенную колонку HiTrap SP FF со скоростью 3 мл/мин. После нанесения образцов колонку промывали 3 колоночными объемами буфера, содержащего 20 мМ Na-ацетат, pH 5 (5 мл/мин).
 - Для элюирования использовали ступенчатый градиент – 100, 400 и 1000 мМ NaCl. Собирали по 3 мл фракций.
- 10
- Проводили количественную оценку всех фракций с помощью метода Брэдфорд и проводили анализ помощью ДСН-ПААГ.

Анионообменная очистка, Таблица:

Этап очистки	Концентрация белка (мг/мл)	Объем (мл)	Общий белок (мг)	Процент F1	Процент F2	Раствор/буфер
F1 (исходный раствор 0,2 мг/мл)	0,143	500	71,5	100%		DDW
F2 (после кислотной преципитации казеина)	0,05	509,5	25,5	35,6%	100%	20 мМ Tris-HCl, pH 8
FГ (хроматография на АО колонке в режиме проскока)	0,01	500	5	7%	19,6%	20 мМ Tris-HCl, pH 8
F100 (этап элюирования, 100 мМ NaCl)	0,02	24	0,5	1%	2%	20 мМ Tris-HCl, pH 8, 100 мМ NaCl
F400 (этап элюирования, 400 мМ NaCl)	0,72	24	17,3	24%	67,8%	20 мМ Tris-HCl, pH 8, 400 мМ NaCl

15

Таблица 15

Приведена ссылка на Фигуру 9, на которой показаны результаты АО хроматографии обезжиренного молозива после кислотной преципитации.

- 20
- Большая часть белка при анионообменной (АО) очистке выявлялась во втором элюате при использовании 400 мМ NaCl. Как проточная фракция, так и первый элюат были практически полностью свободны от белков.

Катионообменная (КО) очистка, Таблица:

Этап очистки	Концентрация белка (мг/мл)	Объем (мл)	Общий белок (мг)	Процент F1	Процент F2	Раствор/буфер
F1 (исходный раствор 0,2 мг/мл)	0,13	500	65,06	100%		DDW
F2 (после кислотной преципитации казеина)	0,04	509,5	21,22	33%	100%	20 mM Na-ацетат, pH 5
FТ (хроматография на КО колонке в режиме проскока)	0,01	500	5,00	8%	24%	20 mM Na-ацетат, pH 5
F100 (этап элюирования 100 mM NaCl)	0,18	20	3,53	5%	17%	20 mM Na-ацетат, pH 5, 100 mM NaCl
F400 (этап элюирования 400 mM NaCl)	0,18	20	3,63	6%	17%	20 mM Na-ацетат, pH 5, 400 mM NaCl

Таблица 16

5 Приведена ссылка на Фигуру 10, на которой показаны результаты КО хроматографии обезжиренного молозива после кислотной преципитации.

Равное количество белка может быть обнаружено как в первой первом (100 mM NaCl), так и во втором (400 mM NaCl) элюатах при катионообменной хроматографии.

Коэффициент обогащения

10 Все образцы, полученные в результате ионообменной хроматографии, анализировали с использованием масс-спектрометрии и их состав сравнивали с цельным молозивом.

15 Коэффициент обогащения более 1 представляет собой положительный коэффициент обогащения. Этот означает, что концентрация интересующего белка выше в конечной фракции по сравнению с цельным молозивом.

Название гена	Окисление	F100 АО	F400 АО	F100 КО	F400 КО
CD59	1,280	32,742	0,000	4,958	0,000
LALBA	2,208	0,165	2,963	6,875	0,348
LTF	0,355	12,799	0,294	0,005	0,195
LGB	1,496	0,021	1,290	1,383	1,612
KRT1	1,386	0,846	1,031	0,235	0,063
KRT10	1,488	1,618	0,957	0,162	0,068
KRT14	1,483	1,806	1,309	0,169	0,047

Таблица 17

20 Приведена ссылка на Фигуру 11, которая представляет собой график, показывающий коэффициент обогащения.

Этот график показывает коэффициент умножения, соответствующий

повышению содержания каждого белка по сравнению с необработанным молозивом. Например, в используемом необработанном молозиве содержалось примерно 14,72% LGB, а после окисления – примерно 22%, таким образом, коэффициент обогащения составил 1,5.

5

Клеточная культура:

Применение мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) для исследования наличия противовоспалительной активности у композиции согласно настоящему изобретению

10

Цели:

1. Исследовать иммунологический эффект (например активацию, пролиферацию, апоптоз и т.д.) фракций молозива на МКПК человека.
2. В частности, изучить способность композиции ослаблять воспалительный Т-клеточный (CD3) ответ на активацию антителом против CD3 (ОКТ3, 50 нг/мл).

15

План метода:

1. МКПК выделяли из крови здоровых добровольцев с использованием фиколла.
2. Получали 120×10^6 клеток и для данного эксперимента сажали по 12×10^6 клеток (по 12×10^6 на каждую лунку). Клетки инкубировали в 1 мл полной питательной среды RPMI (R-10) и обрабатывали различными веществами.
3. Клетки инкубировали при 37°C в присутствии 5% CO_2 в течение 72 часов.

20

	Обработка	мкг/мл
1	Среда (отсутствие обработки)	
2	Композиция 1	100
3	Цельное молозиво	100
4	Активация: среда (отсутствие обработки)	
5	Активация: Композиция 1	100
	Активация: цельное молозиво	100

25

Таблица 18

Результаты:

1. Для МКПК наблюдалось снижение количества пролиферирующих клеток в

5 присутствии молозива или Композиции 1. Фигура 12 представляет собой график прямого и бокового светорассеяния по результатам проточного цитометрического анализа МКПК, показывающий активацию/пролиферацию Т-клеток, вызванную антителами против CD3, в присутствии

5 противовоспалительной композиции или коровьего молозива (WC). Когда клетки активируются/пролиферируют, их сигнал сдвигается вправо и вверх. Границы полигональной фигуры пропускают Т-клетки, отличая их от других клеток (например, моноцитов) в популяции МКПК.

10 2. Стимуляция антителами против CD3 приводила к значительной активации/пролиферации Т-клеток.

3. Как показано на Фигуре 13, активация и пролиферация Т-клеток были ниже в присутствии молозива.

4. Указанное снижение активации/пролиферации было еще более значительным в присутствии Композиции 1.

15 **Объяснение:**

Одним из важнейших ответов иммунной системы является воспалительный ответ, который выражается в значительной активации/пролиферации Т-клеток. Т-клетки в популяции МКПК активируются антителами против CD3, что

20 приводит к значительной пролиферации/активации. Противовоспалительные вещества, такие как молозиво и Композиция 1, снижают указанную пролиферацию/активацию.

Пример 3

25 Для определения потенциально эффективных концентраций различных компонентов композиции согласно настоящему изобретению было проведено множество экспериментов с возможными комбинациями. В Таблице 19 показаны предпочтительные диапазоны концентрации для каждого исследуемого компонента:

30

	Название	Описание	MW [кДа]	Рассч. ИЭТ	#аминокислот	Диапазон процентного содержания	
						минимум	максимум
1	LGB	Бета-лактоглобулин OS=Bos taurus GN=LGB PE=1 SV=3 - [LACB BOVIN]	19,9	5,02	178	0,02%	23,44%
2	CSN1S1	Альфа-S1-казеин OS=Bos taurus GN=CSN1S1 PE=1 SV=2 - [CASA1 BOVIN]	24,5	5,02	214	0,06%	14,90%
3	CSN2	Бета-казеин OS=Bos taurus OX=9913 GN=CSN2 PE=1 SV=1 - [A0A452DHW7 BOVIN]	29,2	6,64	259	0,07%	27,00%
4	KRT33B	IF стержневой домен-содержащий пептид OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT33B PE=3 SV=1 - [A0A3Q1M139 BOVIN]	46,3	4,82	409	0,01%	6,58%
5	KRT13	IF стержневой домен-содержащий пептид OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT13 PE=3 SV=1 - [A0A3Q1LJB2 BOVIN]	47,4	4,92	439	0,01%	6,44%
6	KRT18	Неохарактеризованный белок OS=Bos taurus GN=KRT18 PE=1 SV=1 - [F6S1Q0 BOVIN]	47,9	5,38	429	0,01%	7,92%
7	KRT17	Кератин I типа цитоскелетный 17 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT17 PE=3 SV=1 - [A0A140T867 BOVIN]	48,7	5,15	441	0,01%	6,56%
8	KRT42	Кератин 42 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT42 PE=1 SV=1 - [A0A3Q1LSG0 BOVIN]	50,3	5,21	453	0,01%	6,67%
9	KRT28	Кератин I типа цитоскелетный 28 OS=Bos taurus GN=KRT28 PE=2 SV=1 - [K1C28 BOVIN]	50,7	5,30	464	0,01%	7,10%
10	KRT36	Кератин 36 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT36 PE=3 SV=3 - [F1MI98 BOVIN]	51,1	5,02	456	0,01%	6,58%
11	KRT12	Кератин 12 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT12 PE=3 SV=1 - [A0A3Q1M4F4 BOVIN]	52,8	4,72	494	0,01%	6,56%
12	KRT10	Кератин 10 (Эпидермолитический гиперкератоз; ладонный подошвенный кератоз) OS=Bos taurus GN=KRT10 PE=1 SV=1 - [A6QNZ7 BOVIN]	54,8	5,07	526	0,01%	7,57%
13	KRT24	Кератин 24 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT24 PE=3 SV=3 - [F1MFW9 BOVIN]	55,1	5,00	525	0,01%	7,46%
14	KRT14	Кератин I типа цитоскелетный 14 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT14 PE=1 SV=3 - [F1MC11 BOVIN]	55,9	5,27	515	0,01%	7,95%
15	KRT4	Белок KRT4 OS=Bos taurus GN=KRT4 PE=2 SV=1 - [A4IFP2 BOVIN]	58,0	7,55	549	0,00%	1,76%
16	KRT75	Кератин I типа цитоскелетный 75 OS=Bos taurus GN=KRT75 PE=2 SV=1 - [K2C75 BOVIN]	59,0	7,65	543	0,00%	1,80%
17	KRT6A	Неохарактеризованный белок OS=Bos taurus GN=KRT6A PE=3 SV=1 - [M0QVY0 BOVIN]	60,8	8,09	571	0,00%	3,80%
18	KRT6C	IF стержневой домен-содержащий пептид OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT6C PE=3 SV=3 - [F1MKE7 BOVIN]	60,8	8,47	571	0,00%	3,80%
19	KRT5	Белок KRT5 OS=Bos taurus GN=KRT5 PE=1 SV=1 - [A5D7M6 BOVIN]	62,6	7,81	597	0,00%	4,87%
20	KRT77	Кератин 77 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT77 PE=1 SV=1 - [A0A3Q1MDN1 BOVIN]	62,9	6,68	593	0,02%	5,88%
21	KRT1	Кератин 1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT1 PE=1 SV=2 - [G3N0V2 BOVIN]	63,1	8,46	606	0,02%	15,41%
22	KRT3	Кератин 3 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT3 PE=1 SV=1 - [A0A3Q1MYR8 BOVIN]	64,1	8,38	628	0,00%	4,56%
23	KRT2	Кератин 2 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT2 PE=1 SV=2 - [G3MZ71 BOVIN]	64,4	8,56	619	0,01%	7,64%
24	ALB	Сывороточный альбумин OS=Bos taurus OX=9913 GN=ALB PE=3 SV=1 - [A0A140T897 BOVIN]	69,3	6,18	607	0,00%	3,31%

Таблица 19

Пример 4

Противовоспалительная активность в клетках.

- 5 Композиция согласно настоящему изобретению может содержать различные комбинации компонентов. В данном примере проводили 6 различных экспериментов, в которых исследовали комбинацию кератинового соединения с LGB, CSN1S1, CSN2 и ALB (называемую в настоящей заявке Композицией 2) на мононуклеарных клетках периферической крови (МКПК) *in vitro*. МКПК
- 10 выделяли из крови здоровых добровольцев с использованием фикола и клетки помещали в 24-луночные планшеты (по 12×10^6 клеток в каждую лунку). Клетки инкубировали в 1 мл полной питательной среды RPMI и обрабатывали различными веществами при 37°C в присутствии 5% CO_2 в течение 72 часов. Исследовали активацию и пролиферацию клеток в присутствии и в отсутствие
- 15 антител против CD3 и обрабатывали клетки молозивом или противовоспалительным компонентом композиции.

Концентрация каждого компонента показана в Таблице 20, ниже:

Название гена	Описание	Эксперимент 1	Эксперимент 2	Эксперимент 3	Эксперимент 4	Эксперимент 5	Эксперимент 6
1LGB	Бета-лактоглобулин OS=Bos taurus GN=LGB PE=1 SV=3 - [LACB BOVIN]	0,299%	18,213%	22,890%	0,303%	21,451%	0,769%
2CSN1S1	Альфа-S1-казеин OS=Bos taurus GN=CSN1S1 PE=1 SV=2 - [CASA1 BOVIN]	0,427%	1,855%	6,024%	0,280%	0,813%	0,382%
3CSN2	Бета-казеин OS=Bos taurus OX=9913 GN=CSN2 PE=1 SV=1 - [A0A452DHW7 BOVIN]	14,863%	14,376%	3,876%	0,201%	12,882%	0,069%
4KRT33B	IF стержневой домен-содержащий пептид OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT33B PE=3 SV=1 - [A0A3Q1M139 BOVIN]	0,283%	0,248%	0,511%	4,751%	0,357%	6,547%
5KRT13	IF стержневой домен-содержащий пептид OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT13 PE=3 SV=1 - [A0A3Q1LJB2 BOVIN]	0,164%	0,235%	0,210%	6,123%	0,196%	3,547%
6KRT18	Неохарактеризованный белок OS=Bos taurus GN=KRT18 PE=1 SV=1 - [F6S1Q0 BOVIN]	0,163%	0,189%	0,286%	7,079%	0,228%	6,547%
7KRT17	Кератин I типа цитоскелетный 17 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT17 PE=3 SV=1 - [A0A140T867 BOVIN]	0,274%	0,145%	0,258%	6,050%	0,225%	4,171%
8KRT42	Кератин 42 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT42 PE=1 SV=1 - [A0A3Q1LSG0 BOVIN]	0,245%	0,145%	0,258%	6,055%	0,225%	4,171%
9KRT28	Кератин I типа цитоскелетный 28 OS=Bos taurus GN=KRT28 PE=2 SV=1 - [K1C28 BOVIN]	0,173%	0,199%	0,272%	6,047%	0,148%	3,343%
10KRT36	Кератин 36 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT36 PE=3 SV=3 - [F1M198 BOVIN]	0,283%	0,248%	0,511%	4,751%	0,357%	6,547%
11KRT12	Кератин 12 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT12 PE=3 SV=1 - [A0A3Q1M4F4 BOVIN]	0,245%	0,145%	0,258%	6,050%	0,225%	4,171%
12KRT10	Кератин 10 (Эпидермолитический гиперкератоз; ладонный подошвенный кератоз) OS=Bos taurus GN=KRT10 PE=1 SV=1 - [A6QNZ7 BOVIN]	0,172%	0,235%	0,250%	6,794%	0,256%	4,165%
13KRT24	Кератин 24 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT24 PE=3 SV=3 - [F1MFV9 BOVIN]	0,144%	0,114%	0,511%	7,284%	0,131%	2,459%
14KRT14	Кератин I типа цитоскелетный 14 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT14 PE=1 SV=3 - [F1MC11 BOVIN]	0,274%	0,199%	0,258%	6,981%	0,225%	4,171%
15KRT4	KRT4 белок OS=Bos taurus GN=KRT4 PE=2 SV=1 - [A4IFP2 BOVIN]	0,039%	0,045%	0,021%	1,201%	0,039%	0,751%
16KRT75	Кератин I типаI цитоскелетный 75 OS=Bos taurus GN=KRT75 PE=2 SV=1 - [K2C75 BOVIN]	0,009%	0,035%	0,013%	0,779%	0,025%	0,255%
17KRT6A	Белок кератин VI типа OS=Bos taurus GN=KRT6A PE=3 SV=1 - [M0QVY0 BOVIN]	0,039%	0,086%	0,034%	1,396%	0,038%	1,903%
18KRT6C	IF стержневой домен-содержащий пептид OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT6C PE=3 SV=3 - [F1MKE7 BOVIN]	0,039%	0,086%	0,034%	1,396%	0,038%	1,903%
19KRT5	Белок KRT5 OS=Bos taurus GN=KRT5 PE=1 SV=1 - [A5D7M6 BOVIN]	0,006%	0,078%	0,016%	0,974%	0,028%	1,772%
20KRT77	Кератин 77 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT77 PE=1 SV=1 - [A0A3Q1MDN1 BOVIN]	0,224%	0,170%	0,149%	1,248%	0,178%	2,766%
21KRT1	Кератин 1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT1 PE=1 SV=2 - [G3N0V2 BOVIN]	0,213%	0,259%	0,238%	4,687%	0,348%	6,591%
22KRT3	Кератин 3 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT3 PE=1 SV=1 - [A0A3Q1MYR8 BOVIN]	0,017%	0,053%	0,032%	1,511%	0,046%	0,841%
23KRT2	Кератин 2 OS=Bos taurus OX=9913 GN=KRT2 PE=1 SV=2 - [G3MZ71 BOVIN]	0,089%	0,189%	0,075%	2,200%	0,145%	3,579%
24ALB	Сывороточный альбумин OS=Bos taurus OX=9913 GN=ALB PE=3 SV=1 - [A0A140T897 BOVIN]	0,033%	2,155%	0,598%	0,047%	1,160%	1,120%
Общий кератин (кератиновое соединение)		0,155%	0,155%	0,210%	4,168%	0,173%	3,510%

Таблица 20

Результаты

- 5
1. Клетки активировались и пролиферировали в присутствии антител против CD3 (активировалось 100% всех исследуемых клеток).
 2. 55% клеток активировалось и пролиферировало в присутствии антител против CD3 и молозива.
 3. Менее 55% клеток активировалось и пролиферировало в присутствии антител против CD3 и одного из 6 вариантов Композиции 2, в среднем – только 40%.
- 10

Объяснение:

Одним из важнейших ответов иммунной системы является воспалительный

ответ, который выражается в значительной активации/пролиферации Т-клеток. В популяции МКПК Т-клетки активируются антителами против CD3, что приводит к значительной пролиферации/активации. Исследуемые варианты Композиции 2 приводили к значительному снижению указанной пролиферации/активации.

Помимо активации проводили анализ сред на наличие противовоспалительных/провоспалительных цитокинов. Как показано на Фигуре 14, по результатам проверки уровень наиболее важного воспалительного фактора гамма-интерферона (INF γ) в Т-клетках повышался после активации антителами против CD3 и значительно снижался в присутствии молозива и также в присутствии Композиции 2 (средний результат всех 6 экспериментов).

Пример 5

Иммунная система имеет различные механизмы активации. Для привлечения и стимуляции иммунной системы для борьбы с бактериями необходимо воспаление.

Воспаление является необходимым, но должно быть контролируемым и оказывать благоприятный эффект.

Готовили композицию, содержащую KRT1 в концентрации 7,7%, LGB в концентрации 11,7% и провоспалительные компоненты SERPINB4 и SERPIND1 в концентрации, составляющей 5,75% и 3,83% соответственно (которые вместе называются в настоящей заявке Композицией 3). Композицию 3 исследовали на моноцитах, которые были получены из МКПК здорового добровольца.

Для того чтобы имитировать воспаление, клетки подвергали воздействию липополисахарида (ЛПС). IL-1 β представляет собой провоспалительный цитокин, который вовлечен в болевой ответ, воспаление и аутоиммунные состояния. Он секретируется моноцитами в присутствии ЛПС.

Как показано на Фигуре 15, в присутствии ЛПС происходит секреция IL-1 β во всех группах, однако в присутствии композиции 3 наблюдается значительная секреция IL-1 β без активации ЛПС.

WC – Молозиво

Pro – Композиция 3

Описание вариантов реализации изобретения в настоящей заявке приведено в качестве примера и не ограничивает объем настоящего изобретения. Описанные варианты реализации изобретения включают различные признаки, не все из которых являются необходимыми для всех указанных вариантов реализации настоящего изобретения. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения используются только некоторые из указанных признаков или возможных комбинаций признаков. Различные описанные варианты реализации изобретения и варианты реализации, включающие различные комбинации признаков, приведенных в указанных описанных вариантах реализации изобретения, очевидны для специалистов в данной области техники. Объем настоящего изобретения ограничивается исключительно формулой изобретения.

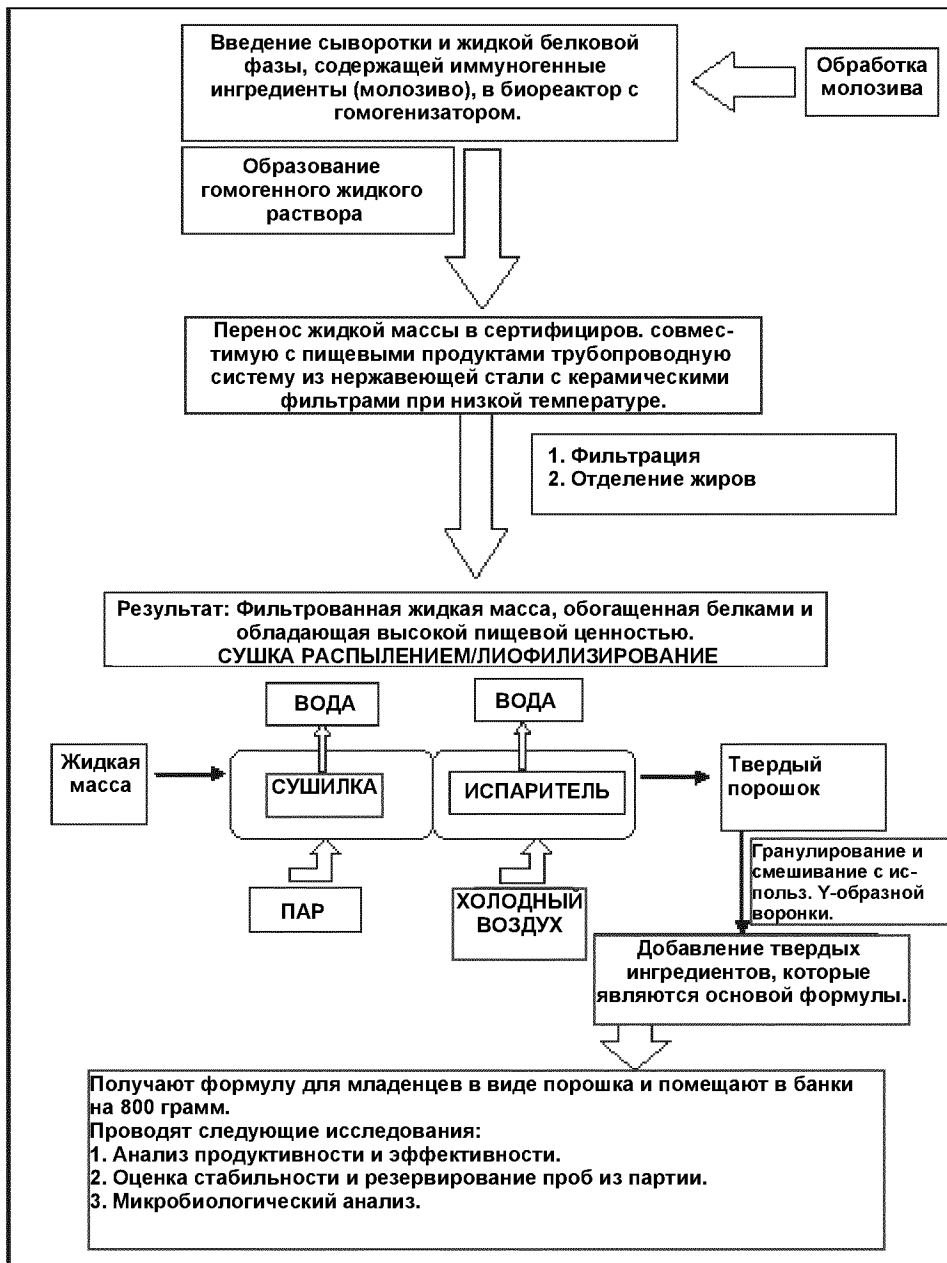
15

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

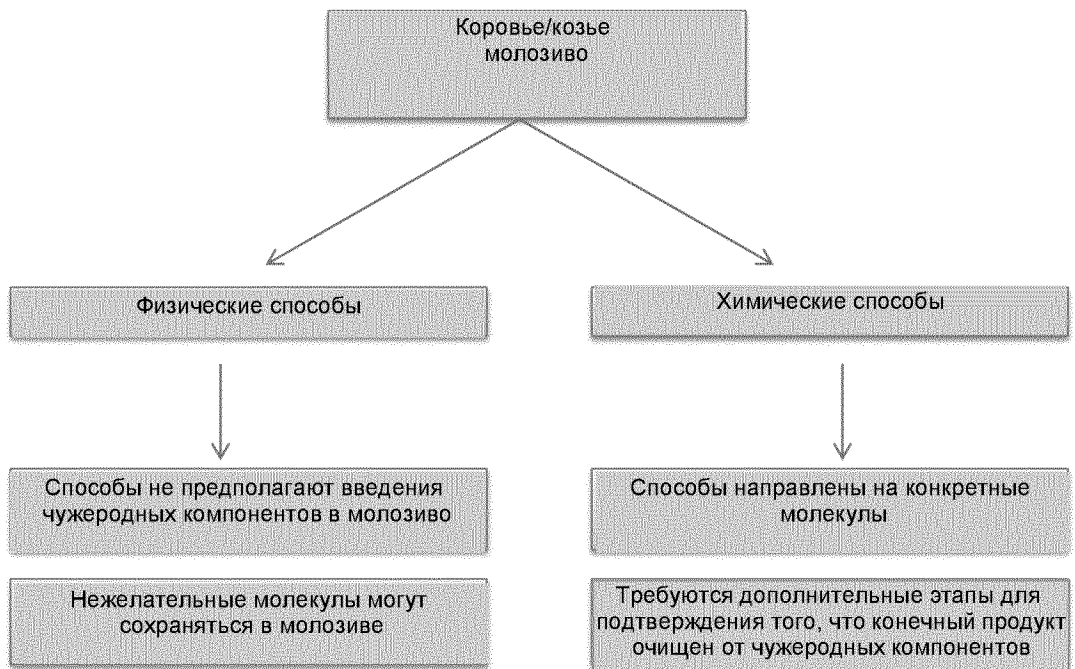
1. Композиция для стимуляции иммунной системы, содержащая кератиновое соединение и бета-лактоглобулин (LGB).
- 5 2. Композиция по п. 1, где указанное кератиновое соединение выбрано из группы, включающей KRT33B, KRT13, KRT18, KRT17, KRT42, KRT28, KRT36, KRT12, KRT10, KRT24, KRT14, KRT4, KRT75, KRT6A, KRT6C, KRT5, KRT77, KRT1, KRT3, KRT2 или их комбинацию.
- 10 3. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанное кератиновое соединение присутствует в концентрации, составляющей от 0,01% до 15,5%, и указанный LGB присутствует в концентрации, составляющей от 0,02% до 23,4%.
- 15 4. Композиция по п. 1, дополнительно содержащая комбинацию противовоспалительного компонента, провоспалительного компонента, противомикробного компонента, первого иммуностимулирующего компонента и второго иммуностимулирующего компонента.
5. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что указанный противовоспалительный компонент выбран из группы, включающей лактоферрин, лизоцим С, интерлейкин-10 (IL-10), трансформирующий фактор роста бета (TGF-бета), интерлейкин-4 (IL-4) и циклооксигеназу-1 (Cox-1).
- 20 6. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что указанный провоспалительный компонент выбран из группы, включающей лактоферрин, лизоцим С, интерлейкин-1B (IL-1B), интерлейкин-6 (IL-6), фактор некроза опухоли альфа (TNF-альфа).
- 25 7. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что указанный противомикробный компонент выбран из группы, включающей бета-дефенсин 1, лактопероксидазу, лактоферрин, альфа-лактальбумин, катепсин G, лизоцим С, иммуноглобулин G (IgG) и иммуноглобулин A (IgA).
- 30 8. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что указанный первый иммуностимулирующий компонент выбран из группы, включающей эндоплазмин, нейтрофильную эластазу, IgA, IgG, иммуноглобулин M (IgM) и лактоферрин.

9. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что указанный второй иммуностимулирующий компонент выбран из группы, включающей лиганд 5 хемокинов (С-С мотив) (CCL5), эндоплазмин, нейтрофильную эластазу, IgA, IgG, IgM, пролактин-индуцируемый белок и ингибитор эластазы лейкоцитов.
- 5 10. Композиция по п. 4, дополнительно содержащая молозиво.
11. Применение композиции по п. 1 для стимуляции иммунной системы младенца.
12. Применение композиции по п. 1 для стимуляции иммунной системы у субъектов, страдающих нарушениями иммунной системы.
- 10 13. Применение композиции по п. 1 для стимуляции иммунной системы животного.
14. Применение композиции по п. 1 для снижения воспаления у спортсменов.
15. Пищевой продукт, содержащий композицию по п. 1, где указанный пищевой продукт выбран из группы, включающей: молочные продукты, коктейли, напитки, формулы для младенцев, корма для животных и т.д.

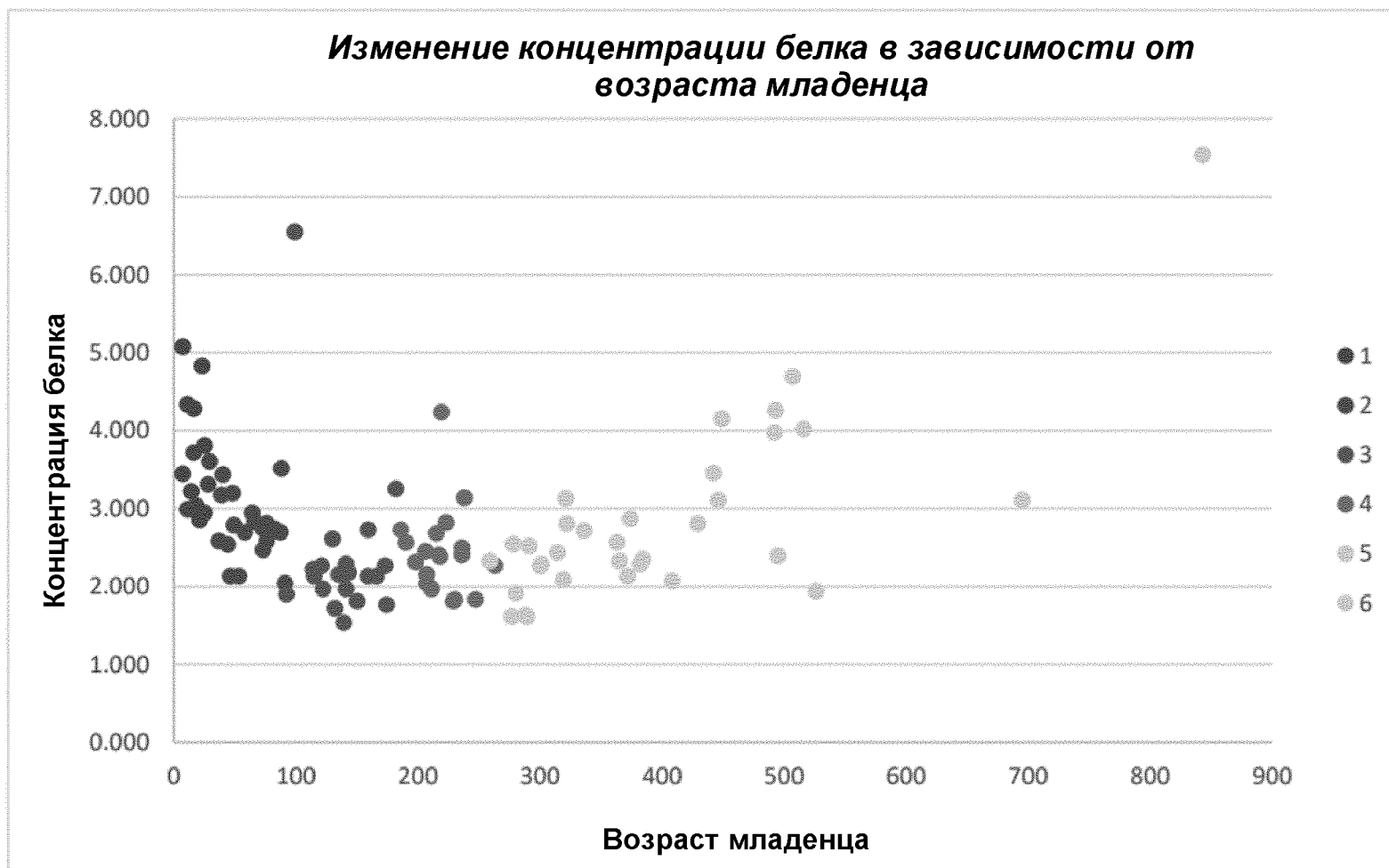
15



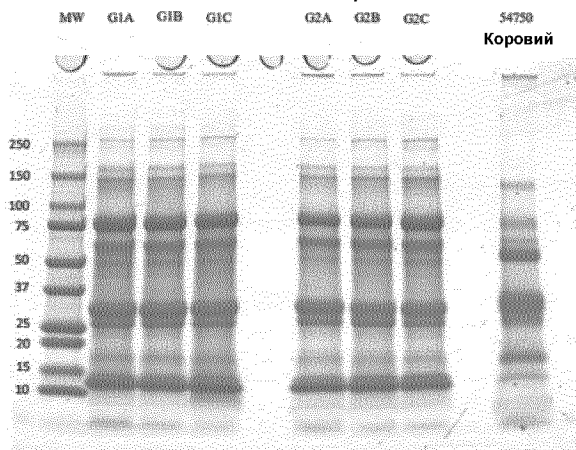
Фиг. 1



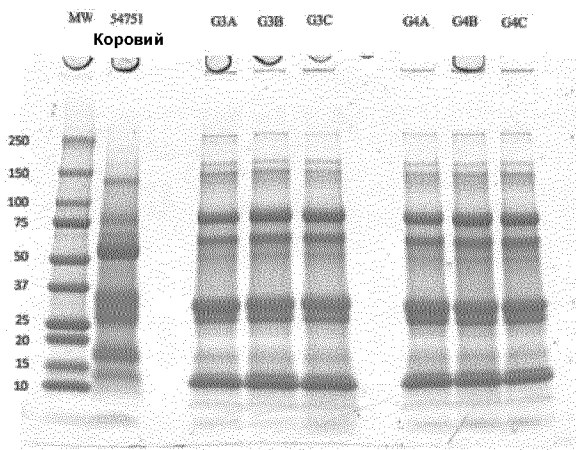
Фиг. 2



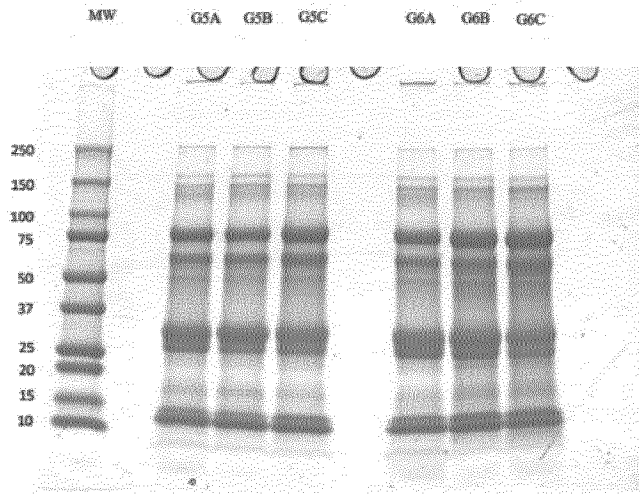
Фиг. 3



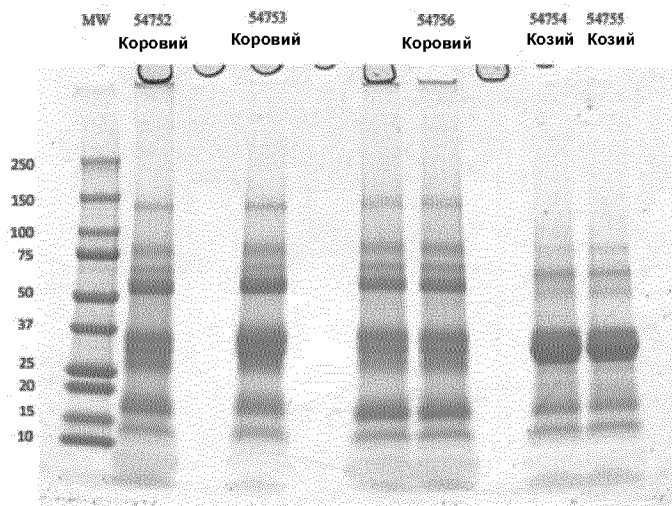
Гель #1



Гель #2



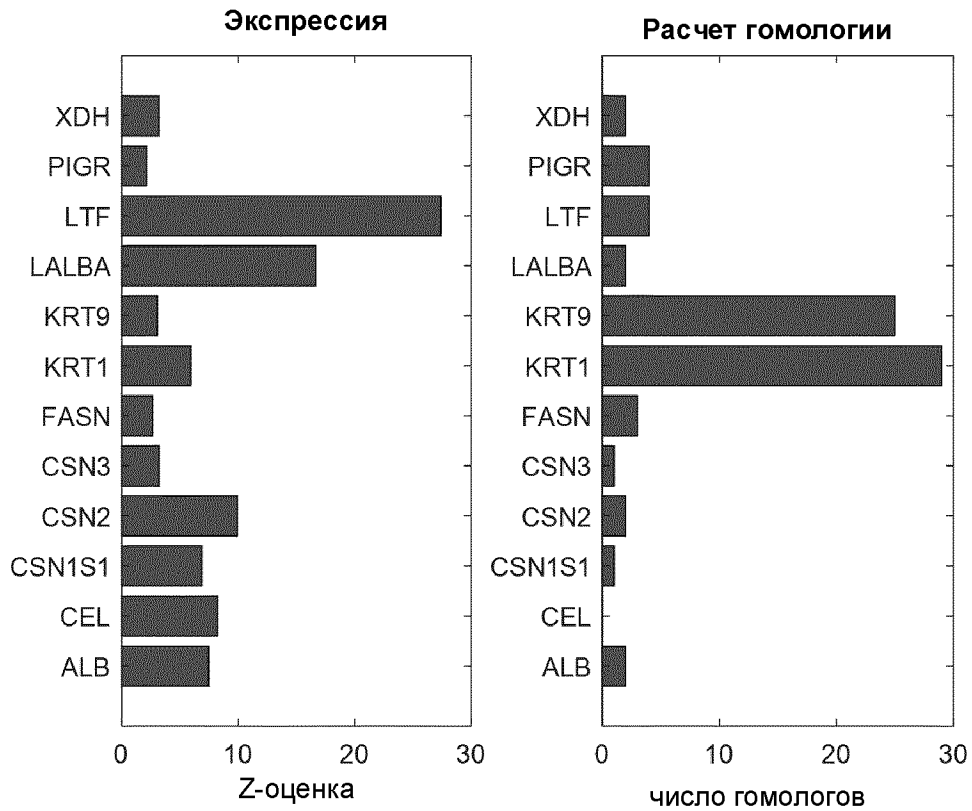
Гель #3



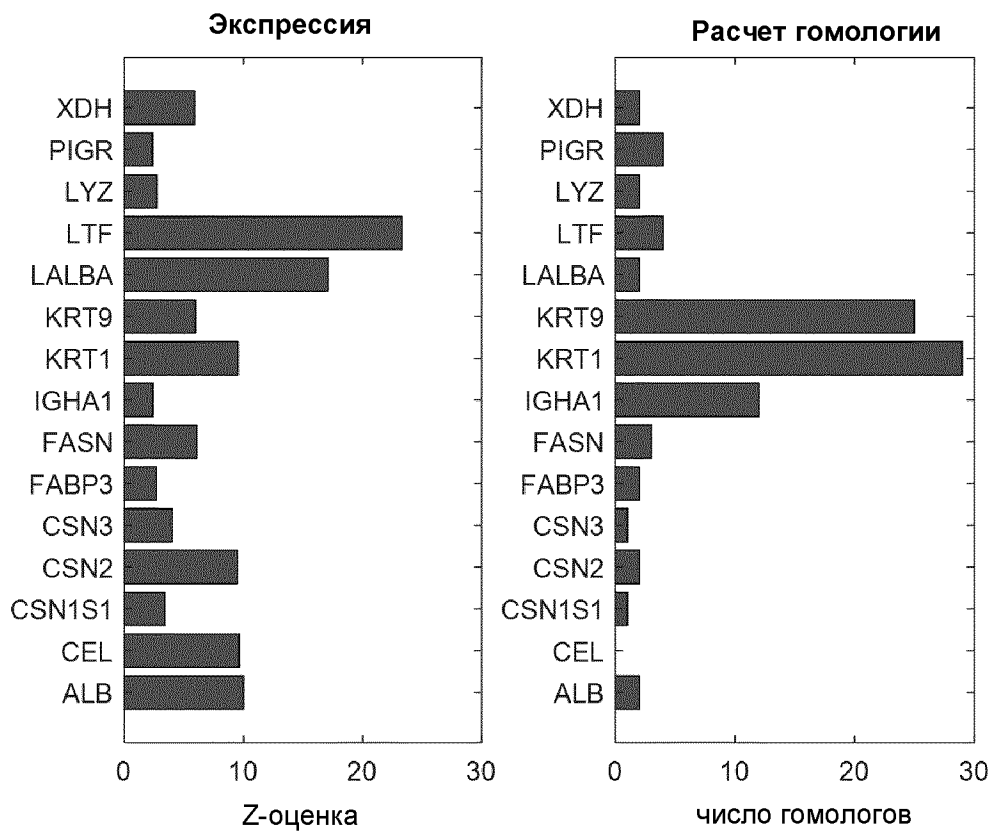
Гель #4

Фиг. 4

G1

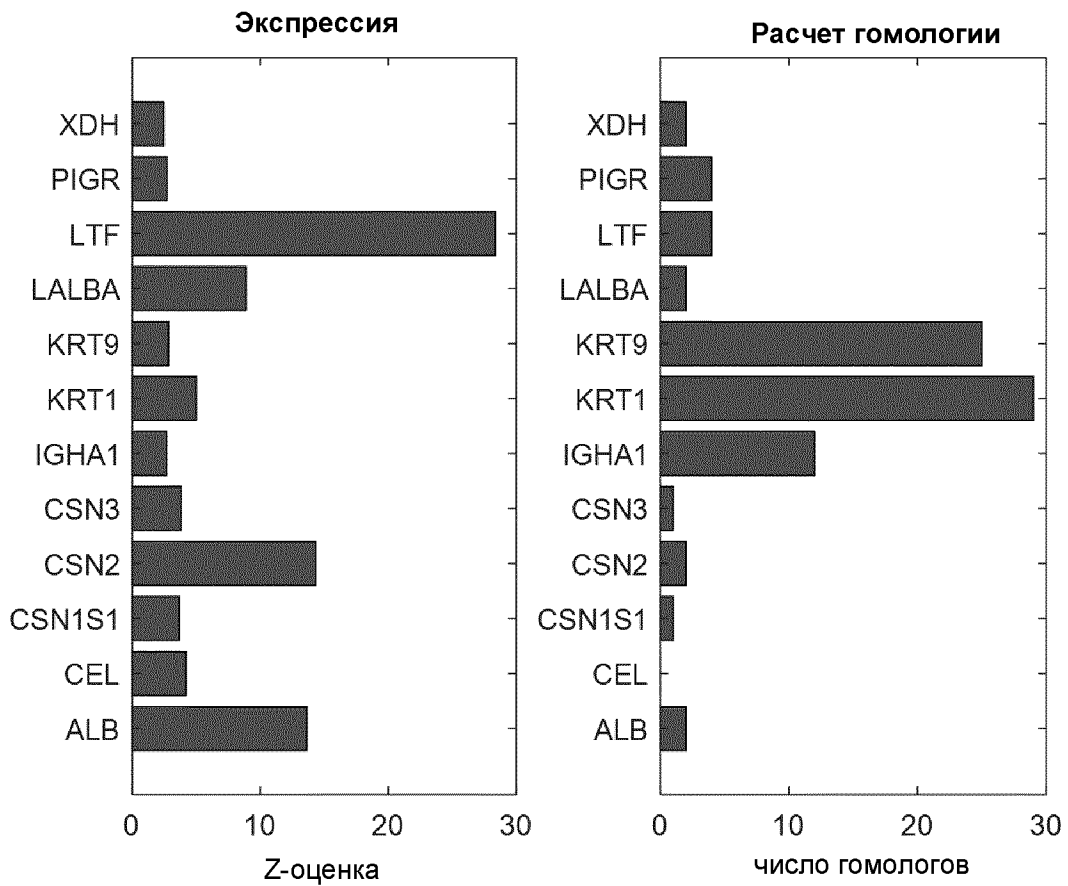


G2

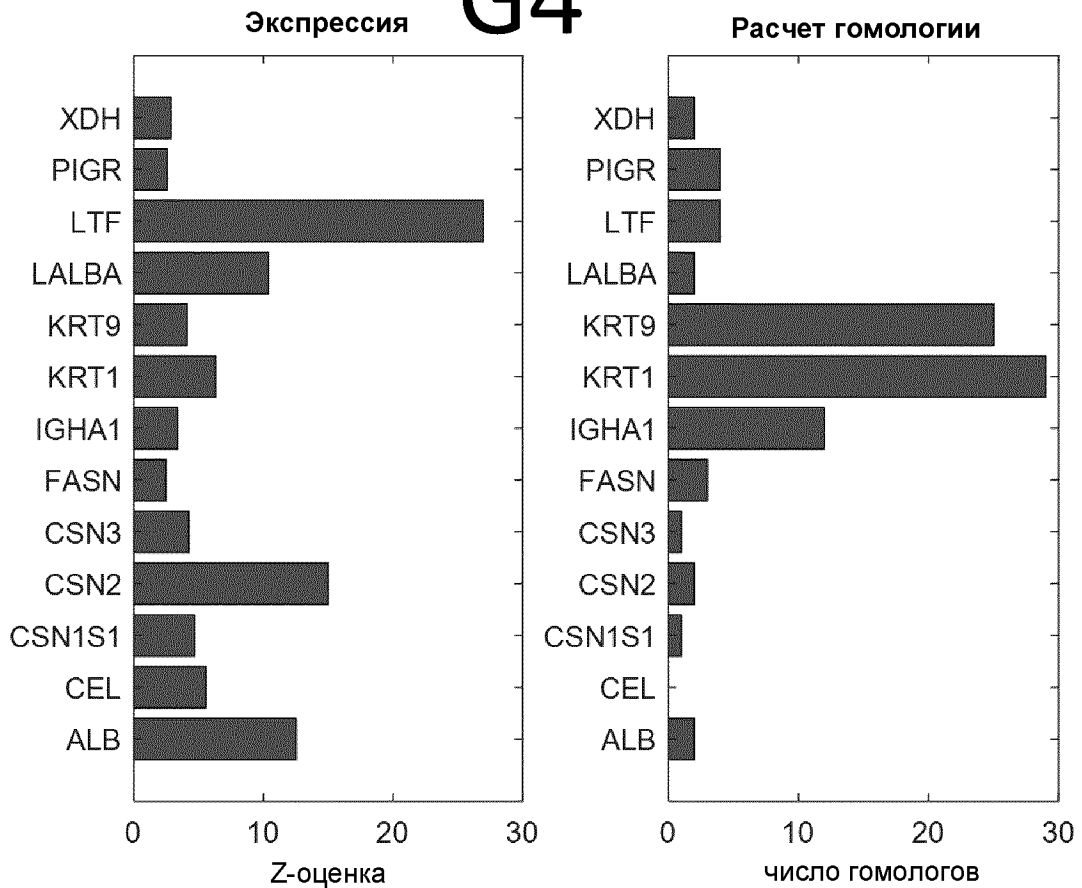


Фиг. 5

G3

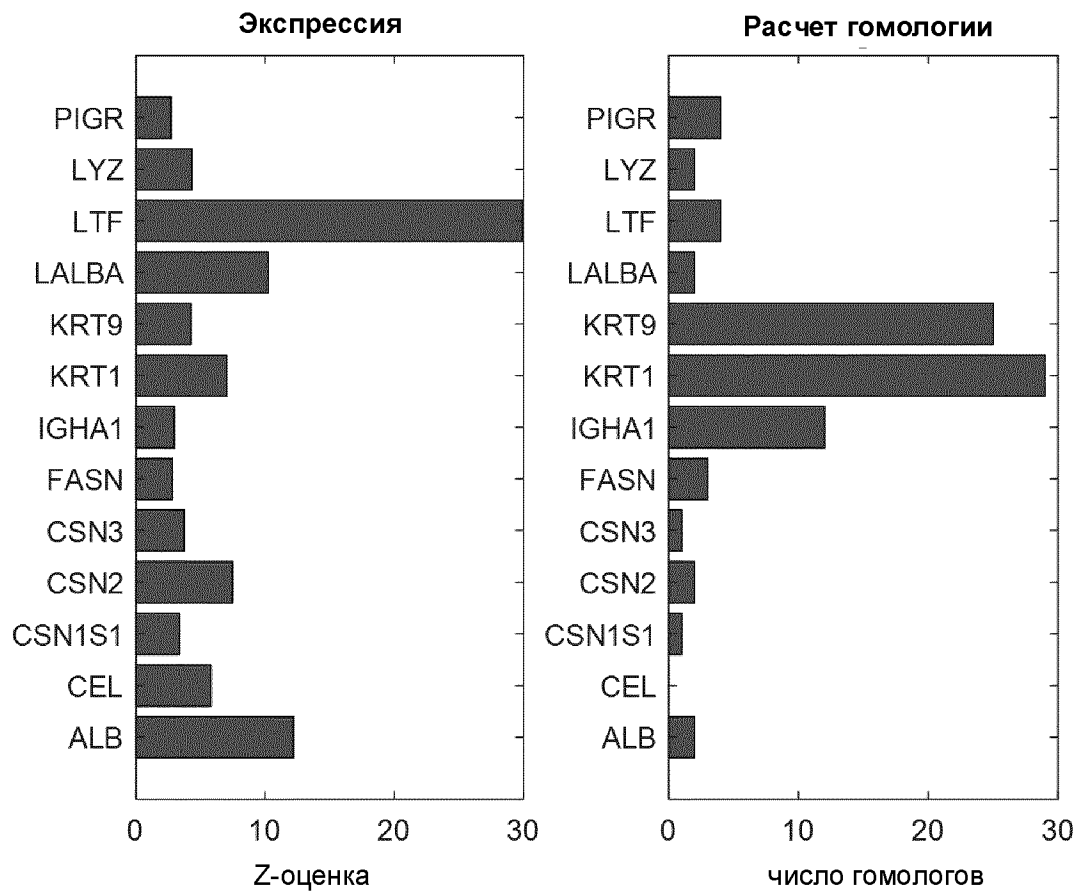


G4

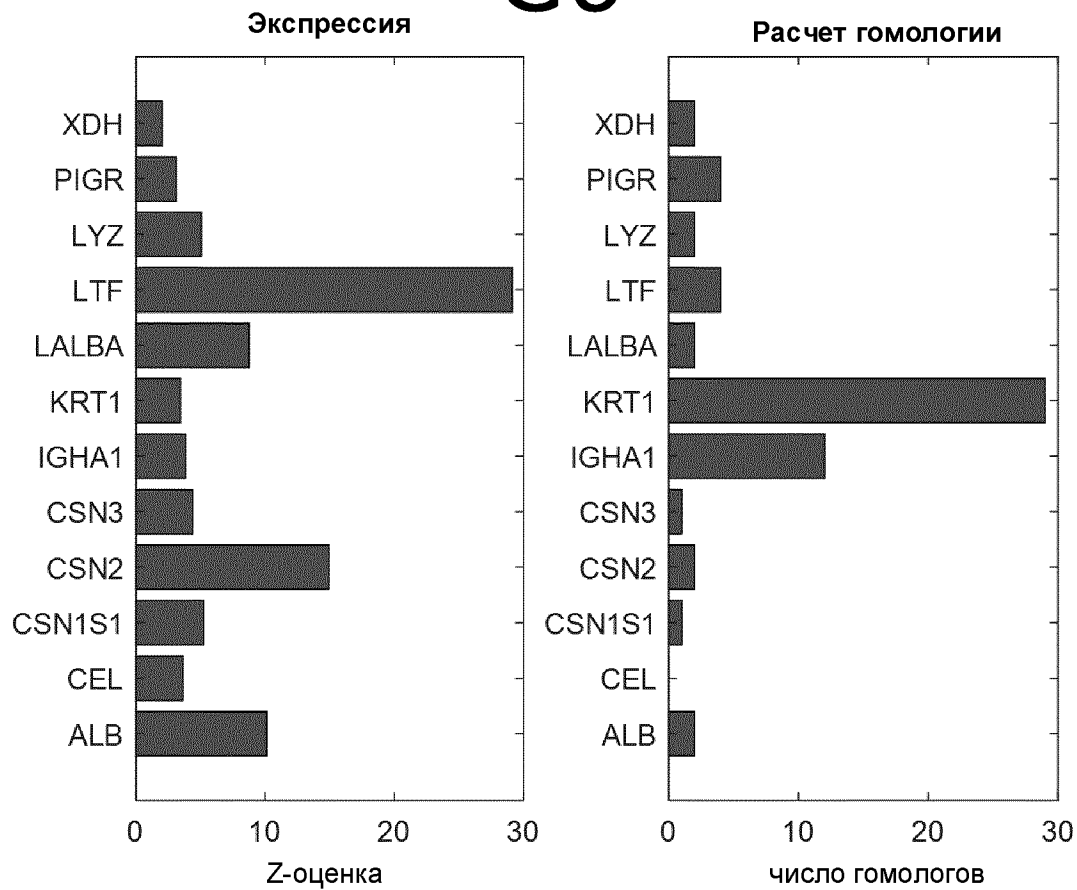


Фиг. 6

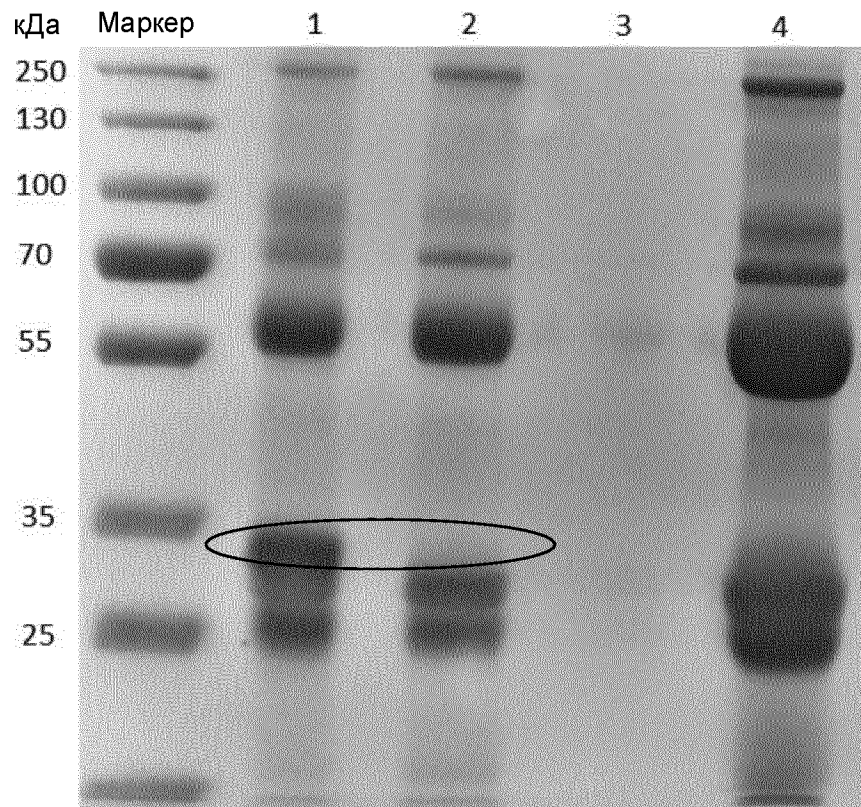
G5



G6



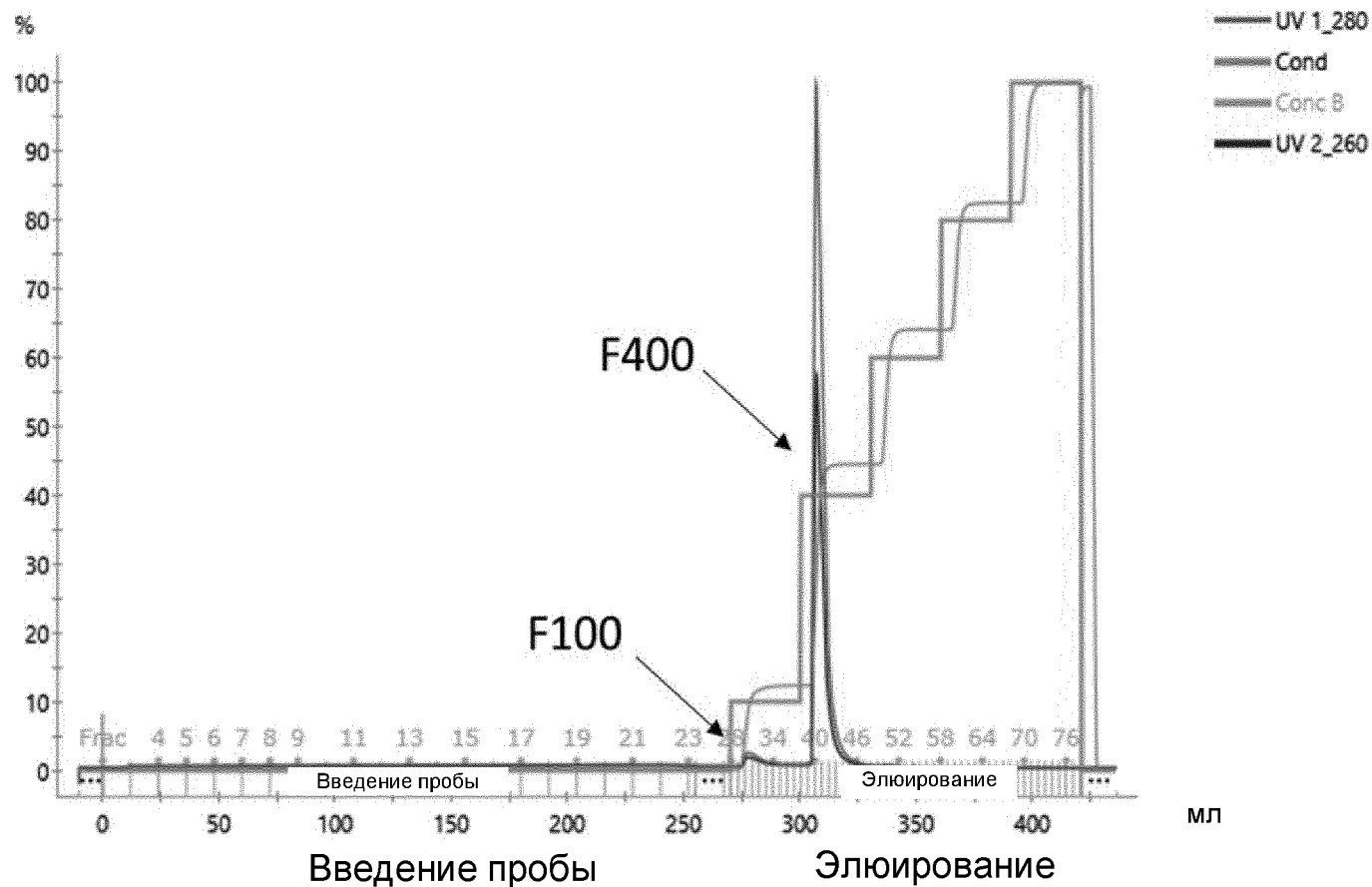
Фиг. 7



1. F1 – порошок обезжиренного молочива в концентрации 1 мг/мл (10 мкг)
2. F3 – после кислотной преципитации казеина (5,7 мкг)
3. F4 – фильтрат после ультрафильтрации с помощью ячейки с перемешиванием (0,3 мкг)
4. F5 – концентрированный белковый раствор после ультрафильтрации с помощью ячейки с перемешиванием (21,5 мкг)

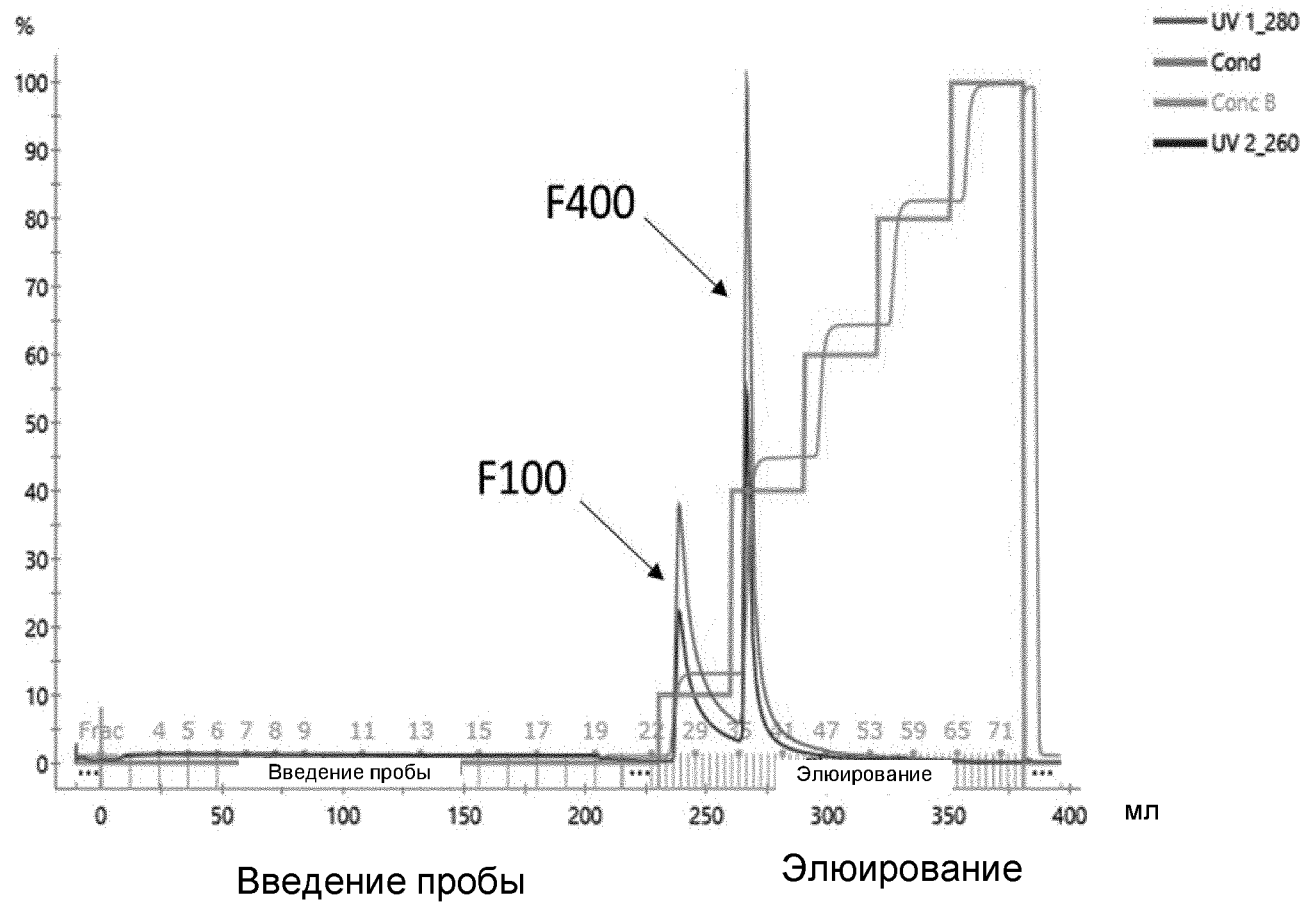
Фиг. 8

20200628 MAOLAC AE 10-40-60-80-100 %B Run 1 001

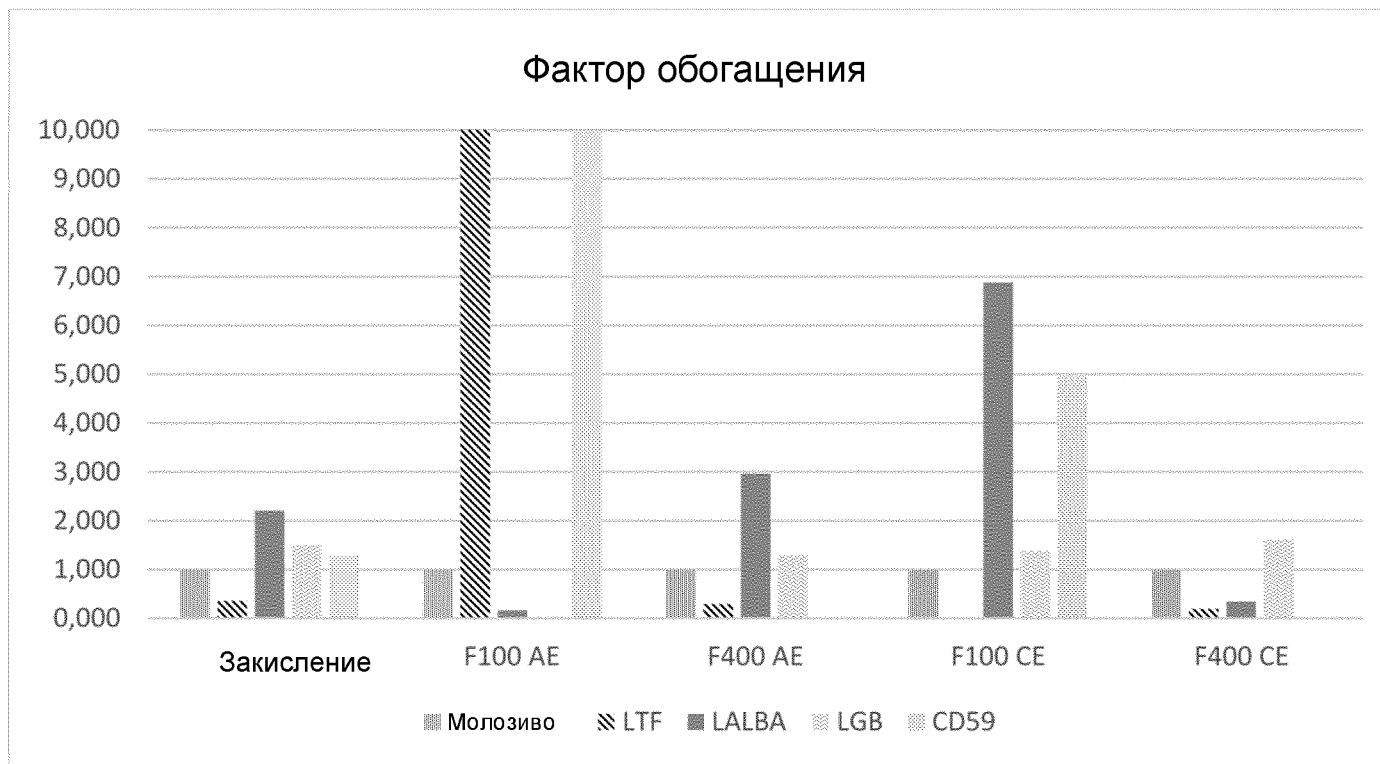


Фиг. 9

20200629 MAOLAC CE 10-40-60-80-100 %B Run 1 001



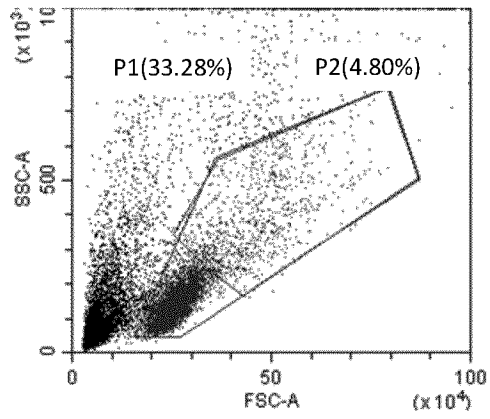
Фиг. 10



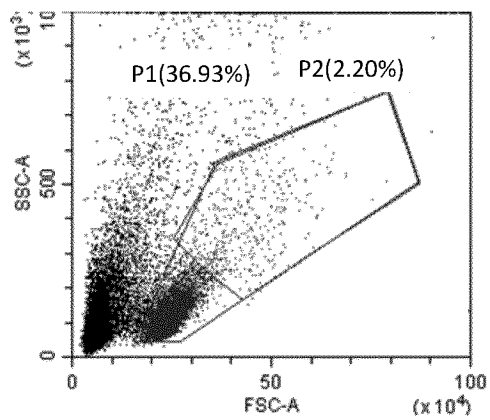
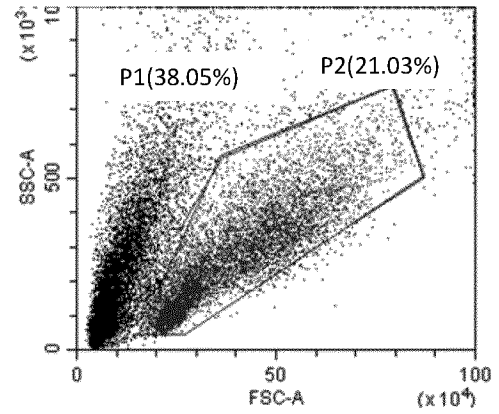
Фиг. 11

Наивные клетки

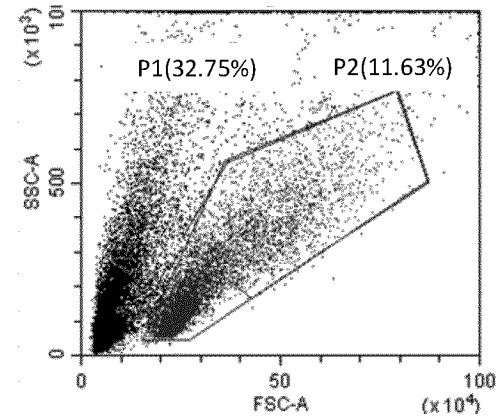
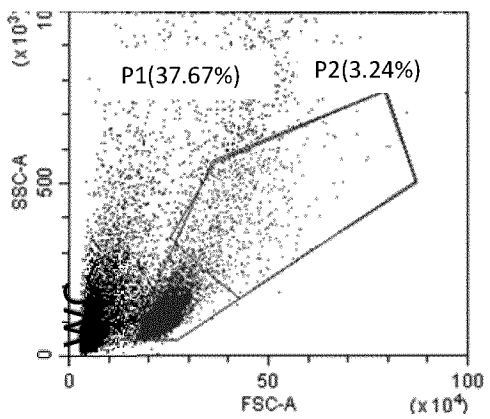
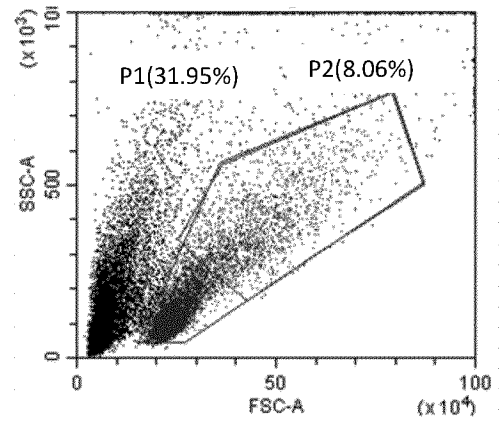
Активированные клетки



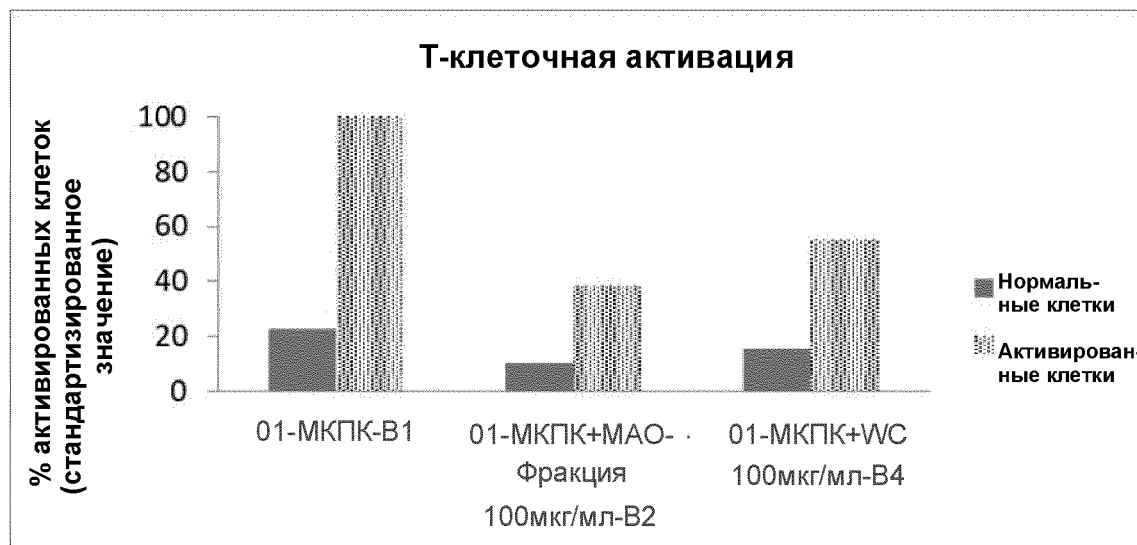
Без обработки



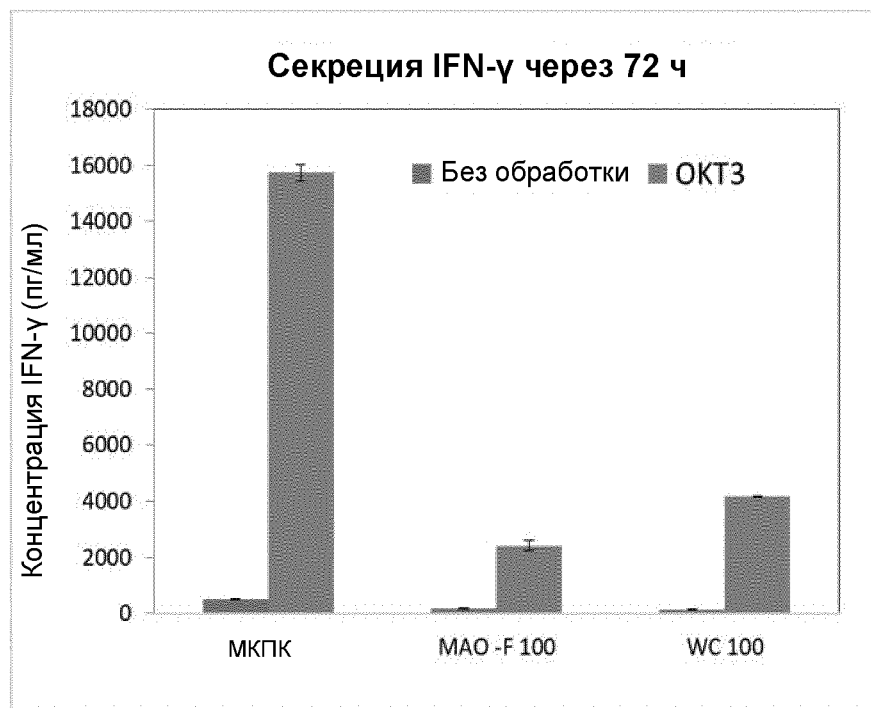
Композиция 1



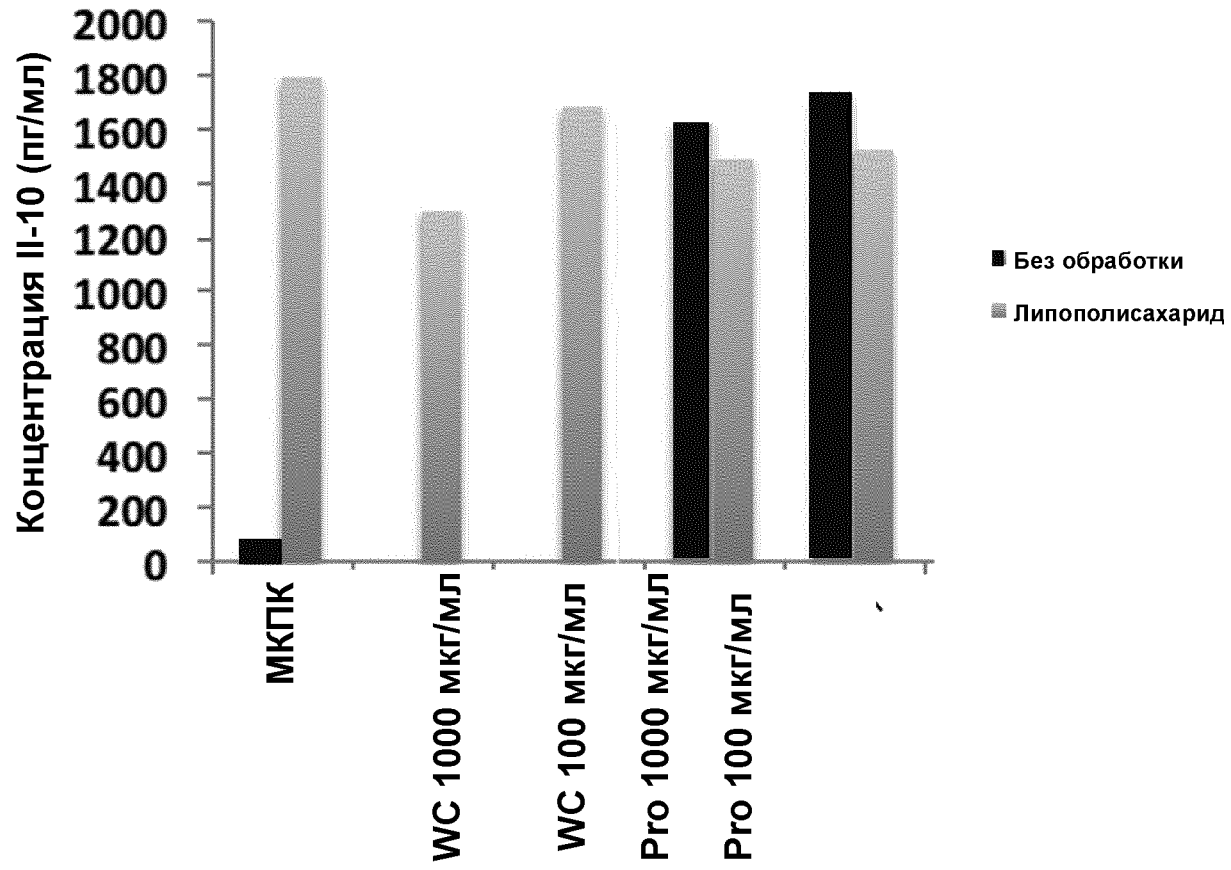
Фиг. 12



Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15