



УКРАЇНА

(19) UA (11) 15680 (13) U
(51) МПК (2006)
C12N 5/08
A61K 35/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРИГОТУВАННЯ ПОЖИВНОГО РОСТОВОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ IN VITRO СТРОМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ ЛЮДИНИ

1

(21) u200600047

(22) 03.01.2006

(24) 17.07.2006

(46) 17.07.2006, Бюл. № 7, 2006 р.

(72) Казаков Валерій Миколайович, Климовицький Володимир Гарійович, Гринь Владислав Костянтинівич, Пастернак Віктор Миколайович, Лобанов Григорій Вікторович, Оксимець Володимир Михайлович, Попандопуло Андрій Геннадійович, Зубов Дмитро Олександрович, Климовицький Федір Володимирович

(73) ДОНЕЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М. ГОРЬКОГО, ІНСТИТУТ НЕВІД-

2

КЛАДНОЇ І ВІДНОВНОЇ ХІРУРГІЇ ІМ. В.К. ГУСАКА
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

(57) Спосіб приготування поживного ростового середовища для культивування in vitro стромальних стовбурових клітин кісткового мозку людини, що включає виділення, встановлення первинної культури та пасирування стромальних стовбурових клітин на поживному ростовому середовищі, який **відрізняється** тим, що до складу поживного ростового середовища додатково додають основний фактор росту фібробластів (bFGF) та L-аскорбінову кислоту або її солі.

Спосіб відноситься до біотехнології та медицини, зокрема до клітинної інженерії та клітинної терапії, травматології та хірургії, і може бути використаний при лікуванні пошкоджень та захворювань опорно-рухового апарату людини.

Як найближчий аналог був покладений спосіб культивування стромальних стовбурових клітин (ССК) Arnold Caplan, вперше здійснений у 1991 р. [1]. Сутність його полягає у тому, що після виділення та встановлення первинної культури ССК культивують в стерильних умовах у пластикових одноразових культуральних флаконах, що містяться у CO₂-інкубаторі з 5% вмістом CO₂ у атмосфері на поживному культуральному середовищі Ігла (суміш поживних культуральних середовищ DMEM/F12) з 10% ембріональною телячою сироваткою.

Недоліком цього способу є травмуючий вплив ферментативної дезагрегації клітин з культурального флакону для подальшої трансплантації.

В основу корисної моделі покладено задачу створення способу приготування поживного ростового середовища для культивування in vitro стромальних стовбурових клітин кісткового мозку людини, що дозволяє масштабувати малодиференційовані клітини у великій кількості задля цілей клітинної терапії з якомога довшим зберіганням

ними свого проліферативного та недиференційованого статусу клітин в умовах in vitro,

Поставлену задачу вирішують тим, що в спосіб приготування поживного ростового середовища для культивування in vitro стромальних стовбурових клітин кісткового мозку людини, що включає виділення, встановлення первинної культури та пасидзування ССК на поживному ростовому середовищі, згідно корисній моделі до складу поживного ростового середовища додатково додають основний фактор росту фібробластів (bFGF) та L-аскорбінову-кислоту або її солі.

Спосіб здійснюють таким чином.

Кістково-мозговий аспірат механічно дезагрегулюють, центрифугують та первинну суспензію ССК висівають по колагенним культуральним флаконам на поживне ростове середовище наступного складу: суміш поживних культуральних середовищ DMEM/F12, 10% ембріональної телячої сироватки, 1 нг/мл основного фактору росту фібробластів та 50 мкг/мл L-аскорбінової кислоти або її солі.

Первинну конфлуентну культуру малодиференційованих ССК отримують на 28-30 добу культивування. Далі культуру ССК пасирують, або криопрезервують, або використовивають для трансплантації.

Перевага наведеного способу полягає в тому, що він значно стимулює проліферацію ССК та

UA (19) 15680 (13) U

зберігає недиференційований статут клітин, що дозволяє отримати у 8-12 разів більшу кількість ССК придатних для подальшої трансплантації.

Джерела інформації

1. Caplan A.I. Mesenchymal stem cells // J. Orthop.. Res. - 1991. - Vol. 9. - P. 641-650.