



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **112948** (13) **C2**

(51) МПК (2016.01)

A01N 1/02 (2006.01)**A61D 19/00****A61J 1/00****F25D 3/10** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД****(21)** Номер заявки: **а 2015 12617****(22)** Дата подання заявки: **21.12.2015****(24)** Дата, з якої є чинними
права на винахід: **10.11.2016****(41)** Публікація відомостей
про заявку: **10.03.2016, Бюл.№ 5****(46)** Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.11.2016, Бюл.№ 21****(72)** Винахідник(и):**Сушко Олексій Борисович (UA)****(73)** Власник(и):**ІНСТИТУТ ТВАРИННИЦТВА
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ
НАУК УКРАЇНИ,**вул. 7 Гвардійської Армії, 3, смт Кулиничі,
Харківський р-н, Харківська обл., 62404 (UA)**(56)** Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:

SU 1147386 A, 30.03.1985

CN 202127748 U, 01.02.2012

UA 75789 C2, 15.05.2006

US 5711446 A, 27.01.1998

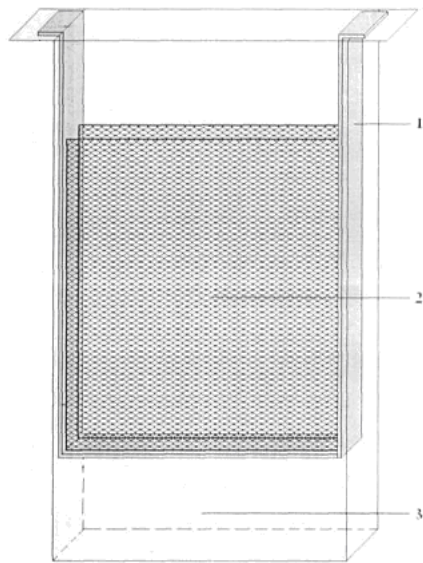
US 20080092581 A1, 24.04.2008

UA 51943 U, 10.08.2010

Руденко Є.В. Національна технологія
кріоконсервації та використання сперми
племінних плідників у системі
крупномасштабної селекції / Є.В. Руденко,
Ф.І. Осташко, О.Б. Сушко та ін. / за ред.
акад. Ф. І. Осташка. – Х.: ІТ НААН. 2011. - С.
54-55**(54) ПРИСТРІЙ ДЛЯ КРІОКОНСЕРВУВАННЯ СПЕРМИ БУГАЇВ МЕТОДОМ ЗАНУРЕННЯ У РІДКИЙ АЗОТ****(57)** Реферат:

Винахід належить до пристрою для кріоконсервування сперми плідників, що складається з металевих касет, виконаних у формі паралелепіпеда з можливістю розміщення в них спермодоз, та резервуара для холодоагенту, яким є рідкий азот, причому касети виконані двостінними, з суцільною зовнішньою стінкою та сітчастою внутрішньою, таким чином, що між суцільною і сітчастою стінками є зазор, в нижній частині касети утворена порожнина для накопичення зрідженого в умовах дії низьких температур повітря, при цьому величина порожнини така, що спермодози, які розташовані всередині контейнера, знаходяться вище максимально можливого рівня зрідженого повітря, а резервуар для холодоагенту, яким є рідкий азот, виконано багатосекційним.

UA 112948 C2



Винахід належить до галузі сільського господарства, зокрема до кріоконсервації сперми плідників сільськогосподарських тварин, переважно бугаїв.

Відомий пристрій для заморожування сперми бугаїв, що являє собою спеціальну термоізолюючу камеру, всередині якої розташований спеціальний зубчатий штатив, на якому розкладають спермодози. За допомогою автоматичного приладу у камеру подається холодоагент, в якості якого використовуються пари азоту (<http://anicamvetandlab.com/-content/uploads/2015/04/Bovine-catalogue-enl.pat> р. 13). Попередньо розбавлена захисним середовищем, розфасована у пайєти, охолоджена і витримана за субнульових температур сперма бугаїв, розміщується усередині камер, куди вприскується порція парів азоту. Недоліком такого технологічного підходу є необхідність постійного автоматичного контролю температури в камері для заморожування і періодичне порційне внесення носія холоду, необхідність примусової конвенції парів азоту для їх рівномірного розподілу між спермодозами.

Найбільш близьким до матеріалу, що заявляється, є пристрій для заморожування сперми бугаїв безпосередньо у посудині Д'юара ("Харків-31", КС-40), попередньо заповненої рідким азотом. Пристрій використовується для заморожування сперми в формі облицьованих гранул (спермодози герметично закриті полімерною плівкою). В ньому використовуються тонкостінні контейнери, виготовлені у формі паралелепіпеда з нержавіючої сталі. Облицьовані гранули сперми розміщуються у такі контейнери, останні закріплюються на спеціальній барабанній обіймі та після попередньої підготовки (еквілібрації) за допомогою штанги вносяться у посудину Д'юара з рідким азотом (Руденко Є.В. Національна технологія кріоконсервації та використання сперми племінних плідників у системі крупномасштабної селекції / Є.В. Руденко, Ф.І. Осташко, О.Б. Сушко та ін. Харків. 2011. - С. 54-55).

Недоліком пристрою є певна різноякісність сперми, що пройшла кріоконсервацію, за фізіологічними характеристиками після деконсервації, та різке зниження біологічних показників в окремих спермодозах. Як було з'ясовано різна біологічна якість пояснюється тим, що в порожнині металевих касет, де розташовуються спермодози, знаходиться також повітря, яке при зануренні касети у рідкий азот зріджується в силу того, що температура переходу повітря з газоподібного стану у зріджений вища, ніж у азоту. Під дією сили тяжіння зріджене повітря по стінках стікає на дно касети, утворюючи в нижній частині шар, в який потрапляє частина спермодоз. Особливо це проявляється при кріоконсервуванні біоматеріалу методом прямого занурення в зріджений азот металевих касет за неповного завантаження спермодозами, що не рідко буває в практиці заготівлі спермопродукції. Висота шару зрідженого повітря залежить від ступеню наповненості касет спермодозами: чим менше спермодоз, тим більша висота шару зрідженого повітря.

Спермодози, які знаходяться на дні касети у шарі зрідженого повітря, піддаються впливу швидкостей охолодження набагато більшим за оптимальні. За окремою оцінкою швидкість охолодження для облицьованих гранул може досягати 222 °C/хв., значно перевищуючи рекомендовані параметри заморожування. Це призводить до зниження ряду біологічних характеристик певної частини спермодоз.

Крім того, ті спермодози, які контактують зі стінками металеві касети, охолоджуються з більшою швидкістю, ніж ті, які не мають щільного контакту зі стінкою касети. Це також може виступати в наступному як фактор індукції різноякісності деконсервованого біоматеріалу.

Ще одним недоліком базового обладнання є необхідність витрат значної кількості зрідженого азоту незалежно від кількості спермодоз, що заморожується. Для кріоконсервації спермодоз використовуються циліндричні посудини вищезазначених марок з місткістю від 30 до 40 літрів, в які заливається рідкий азот перед початком заморожуванням. В сучасних умовах бажано було б мати обладнання з можливістю диференціації кількості зрідженого азоту, який застосовується для одного циклу, проте для базового обладнання це не можливо.

В основу винаходу поставлено завдання підвищити ефективність застосування пристрою для реалізації методу кріоконсервування сперми бугаїв методом прямого занурення металевих касет з спермодозами в закритих упаковках у рідкий азот.

Поставлене завдання вирішується шляхом застосування пристрою для кріоконсервування сперми плідників, що складається з металевих касет, виконаних у формі паралелепіпеда з можливістю розміщення в них спермодоз, резервуара для холодоагенту (рідкого азоту) та відрізняється тим, що касети виконані двостінними: зовнішня стінка виконана суцільною, внутрішня стінка виконана сітчастою; при чому вони змонтовані таким чином, що між суцільною і сітчастою стінками мається зазор, при цьому в нижній частині касети утворена порожнина для накопичення зрідженого повітря в умовах дії низьких температур; величина порожнини така, що спермодози, які розташовуються в середині контейнера, знаходяться вище максимально можливого рівня зрідженого повітря; резервуар для холодоагенту - рідкого азоту, виконано

багатосекційним. Для нівелювання вищезгаданого фактору, що згубно впливає на біологічну якість статевих клітин, було проведено відповідну дослідно-конструкторську роботу в результаті якої створено заморожувач, що комплектується металевими контейнерами (фіг. 1), які мають зовнішню і внутрішню частини, при чому стінки останньої виконані сітчастими.

Внутрішня сітчаста частина складається з направляючого каркасу 1, до якого приварено стінки з нержавіючої сітки 2 з двох сторін. При цьому розмір перфорації менший за діаметр спермодоз і не дозволяє проникати їм за межі сітчастої стінки. Зовнішня частина 3 виконана з листової нержавіючої сталі, герметично закрита з усіх боків, крім верхнього краю. Внутрішня частина виконана значно меншою по висоті, ніж зовнішня, та вставлена таким чином, що між дном кожної з цих частин був зазор для утворення порожнини, де накопичується зріджене повітря при заморожуванні. Даний контейнер отримав назву двостінно-сітчаста касета. Геометричні характеристики запропонованої касети такі, що в ній можливо закладати, як спермодози у формі облицьованих гранул об'ємом 0,25, так і у формі пайет об'ємом 0,25 або 0,5 мл.

Резервуар для утримання зрідженого азоту на час проведення процедури замороження спермодоз виконаний багатосекційним (фіг. 2). Він являє собою двостінну металеву теплоізолюючу посудину 4, що виготовляється з вакуумізацією міжстінного простору (як посудина Д'юара), або з закладкою між металевими стінками матеріалу низької теплопровідності (пінний полістерол тощо).

Запропоновано і виготовлено металевий шести секційний резервуар. У кожній секції 5 (кріовідсіку) паралельно встановлюється шість двостінно-сітчастих касет.

Робота з обладнанням складається з наступних операцій.

Проводиться зборка двостінно-сітчастих касет, для чого використовуючи ручки каркасу 1, сітчасті стінки 2 внутрішньої частини розташовуються паралельно з суцільними стінками 3 зовнішньої частини.

Підготовлена спермопродукція бугаїв, тобто сперма розбавлена і розфасована у герметично закриті упаковки - облицьовані гранули або пайети, завантажується у порожнину двостінно-сітчастих касет. Для технологічності цієї процедури на верхньому краї касети встановлюється спеціальний направляючий пристрій ("пласка лійка"), через яку спермодози потрапляють і рівномірно розміщуються між сітчастими стінками 2 в порожнині касети.

Після еквілібрації і витримки при субньюлових температурах протягом 2-4 годин, двостінно-сітчасті касети з охолодженими спермодозами переносяться до резервуара для кріоконсервування. Секції 5 попередньо заповнюються рідким азотом. Після розміщення касет у секціях 5 їх закривають термоізолюючими кришками 6.

В один кріовідсік 5 заливається 3,25-4,0 л зрідженого азоту. Кількість одночасно задіяних в роботі секцій може варіювати від однієї до шести пропорційно кількості спермодоз, що кріоконсервуються. В одну касету завантажується одна серія спермодоз (серія - спермодози, виготовлені з одного еякуляту бугая). Максимальна кількість серій, які одночасно кріоконсервуються складає тридцять шість штук. Встановлені в резервуар двостінно-сітчасті касети з спермодозами витримуються протягом 15-20 хвилин. За цей час температура сперми, яка кріоконсервується, досягає рівня нижче - 130 °C (що за необхідності можна встановити за допомогою термopари). Після цього спермодози швидко вивантажуються в середовище рідкого азоту, запаковуються в спеціальну тару (мішечки, стакани) і переносяться для подальшого карантинування і кріозберігання в окремій посудині Д'юара.

Таким чином, особливістю процесу кріоконсервування з використанням запропонованого пристрою, є те, що після завантаження в двостінно-сітчасті касети спермодози при заморожуванні будуть знаходитись над шаром зрідженого повітря, яке утворюється при різкому зниженні температури, не контактуючи з ним. Зріджене повітря при цьому стікає вниз у порожнину між зовнішньою і внутрішньою частинами касети. Конструкція також унеможливілює прямий контакт спермодоз із зовнішніми стінками касети, які безпосередньо контактують з кріоагентом. Все це дозволяє створити оптимальні умови заморожування і уникнути біологічної різноякісності спермодоз однієї серії за кріоконсервування методом прямого занурення касет з біоматеріалом у рідкий азот.

Крім того, використані геометричні характеристики запропонованих касет такі, що їх можливо застосовувати для різних технологічних форм спермодоз (облицьовані гранули, пайети).

Витрати рідкого азоту можна регулювати, використовуючи від 3,25-24 л кріоагенту при заморожуванні відповідно від шести до тридцяти шести серій спермодоз одночасно і задіявши відповідно від одного до шести кріовідсіків.

- Запропоновану конструкцію реалізовано ДП "Харківський завод транспортного устаткування" (м. Харків), де проведено дослідно-конструкторську роботу та створено дослідно-промисловий зразок заморожувача за технічним завданням Інституту тваринництва НААН. Пристрій отримав назву "ЗКС-36/6" - заморожувач касетний секційний. Його випробування з позитивним результатом проведено на базі експериментально-методичного племпідприємства (підприємства з племінної справи у тваринництві) Інституту тваринництва НААН.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 10 Пристрій для кріоконсервування сперми плідників, що складається з металевих касет, виконаних у формі паралелепіпеда з можливістю розміщення в них спермодоз, та резервуара для холодоагенту, яким є рідкий азот, який **відрізняється** тим, що касети виконані двостінними, з суцільною зовнішньою стінкою та сітчастою внутрішньою, таким чином, що між суцільною і сітчастою стінками є зазор, в нижній частині касети утворена порожнина для накопичення зрідженого в умовах дії низьких температур повітря, при цьому величина порожнини така, що спермодози, які розташовані всередині контейнера, знаходяться вище максимально можливого рівня зрідженого повітря, а резервуар для холодоагенту, яким є рідкий азот, виконано багатосекційним.

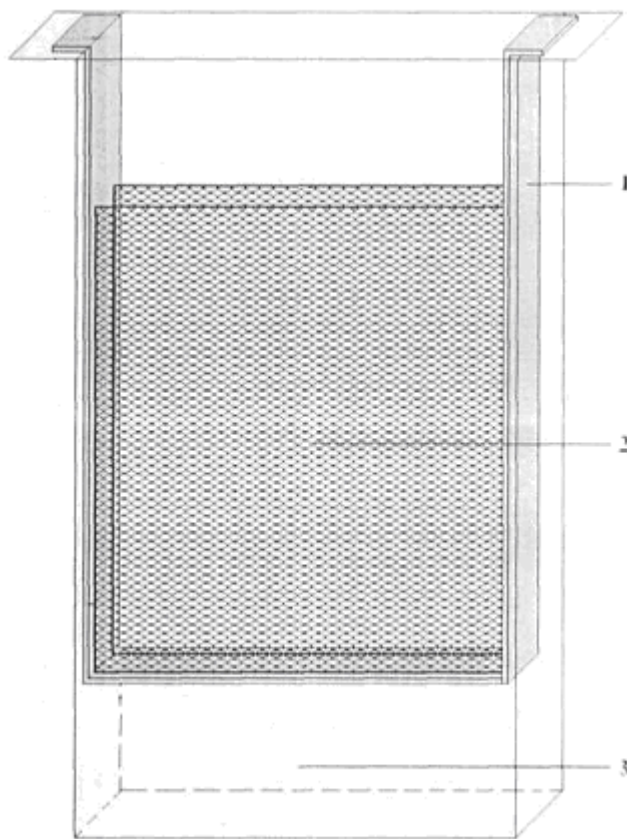


Fig. 1

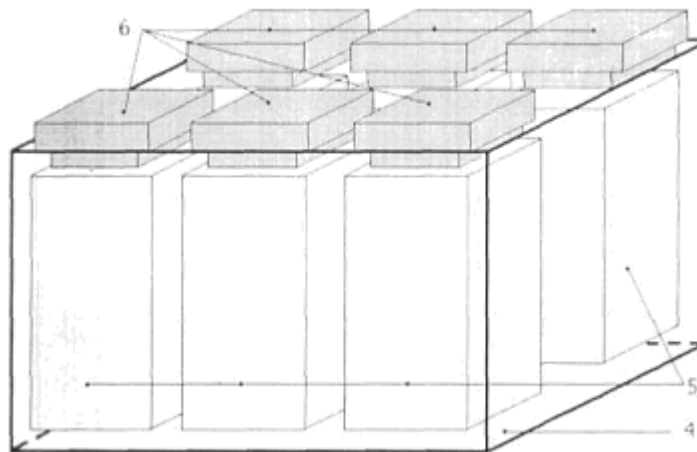


Fig.2

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601