

Винахід належить до галузі біології, а саме кріобіології, і може бути використаний для збереження хоріальної тканини з метою подальшого застосування в клініці або в експерименті.

Відомий спосіб кріоконсервування хоріальної тканини, згідно з яким тканину подрібнюють на шматочки розміром 0,2-0,3 см і заморожують з 5%-ним розчином кріопротекторудимексиду до -196°C [1].

Однак цей спосіб не забезпечує високої життєздатності клітин тканини, тому що передбачає сильне механічне руйнування клітин в процесі подрібнення.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб кріоконсервування хоріальної тканини, в якому тканину подрібнюють на шматочки розміром 3х5 см, інкубують у середовищі консервування, яке містить 10% ДМСО та 10% ПЕО-400, і заморожують в три етапи: від кімнатної температури до 0°C зі швидкістю 1-2°C/хв., потім до -10°C зі швидкістю 5-6°C/хв., далі після 1,5-2,0 годин витримки занурюють у рідкий азот [2].

Недоліком цього способу є недостатньо високий відсоток збереження клітин, що пов'язано із застосуванням високих концентрацій кріопротекторів, які є токсичними для клітин, а також з механічним пошкодженням клітин в процесі подрібнення тканини.

Крім того, спосіб передбачає три етапи заморожування, що ускладнює його виконання.

В основу винаходу поставлено задачу створити такий спосіб кріоконсервування хоріальної тканини, який би дозволив підвищити збереженість клітин при одночасному спрощенні процесу заморожування.

Ця задача вирішується тим, що в способі кріоконсервування хоріальної тканини шляхом заморожування фрагментів тканини до -196°C в середовищі, що містить кріопротектори ДМСО і ПЕО-400, відповідно до винаходу для кріоконсервування використовують фрагменти тканини з 2-3 ворсинами першого порядку, заморожування проводять в два етапи: спочатку заморожують до -20°C, після чого занурюють у рідкий азот, а кріопротектори беруть в концентрації 5%.

Попереднє заморожування до -20°C створює умови для адаптації клітин до низьких температур (-196°C).

5%-на концентрація ДМСО і ПЕО-400 є достатньою для здійснення криозахисного ефекту, оскільки клітини хоріальної тканини не є високодиференційованими і тому не потребують великих концентрацій кріопротекторів.

Фрагменти хоріальної тканини одержують шляхом відсікання в місті відгалуження за допомогою анатомічного пінцету та офтальмологічних ножиць, що не руйнує клітини та не порушує міжклітинні взаємозв'язки.

Застосування способу, що заявляється, дозволяє підвищити кількість життєздатних клітин на 7-12% (див. таблицю).

Двоетапна програма заморожування спрощує спосіб.

Спосіб здійснюють таким чином.

Після штучного аборту хоріальну тканину відокремлюють від згустків крові, залишків ембріону, амніотичної оболонки та алантоїсу. Відділяють ворсини першого порядку та відокремлюють фрагменти довжиною 1,5-2,0 см так, щоб в основі кожного фрагмента було 2-3 ворсини першого порядку. Фрагменти вміщують в 0,9%-ний розчин NaCl, який містить 5% ДМСО та 5% ПЕО-400 і витримують 15-20 хв. при 25°C. Далі заморожують зі швидкістю 1-20°C/хв. до -20°C, після чого занурюють у рідкий азот (-196°C). Розморожування здійснюють на водяній бані при 40°C.

Таблиця

Збереженість хоріальної тканини, кріоконсервованої
заявленим способом та за прототипом

Характеристики	Прототип	Винахід
Об'єм одного фрагменту, мл	0,5-0,7	1-1,5
Відсоток життєздатних клітин, %	70-75	85-95
Кількість пікнотичних ядер, %	30-35	20-25

Джерела інформації.

1. Пат. №30808А (Україна), МПК 6 А01Н1/02, 2000.

2. Одержання, зберігання та застосування фрагментів, суспензій і кріоекстрактів хоріону: Метод. рекомендації / Субота Н.П., Грищенко В.І., Пітько В.А. та інші, Міністерство охорони здоров'я України, Координаційний центр трансплантації органів, тканин та клітин, НАН України, ІПКіК. - Х., 2000. - 10с.