



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1293656** **A1**

(51) 4 G 01 N 33/48

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 3708575/28-14

(22) 04.01.84

(46) 28.02.87. Бюл. № 8

(71) Киевский научно-исследователь-
ский рентгено-радиологический и он-
кологический институт

(72) Ю.А. Гриневич, И.С. Никольский,
Л.А. Титоренко, Т.Н. Селезнева,
Г.П. Вендюг и И.Ф. Пабунец

(53) 615.375 (088.8)

(56) Гюллинг Э.В., Самбур М.В.,
Кравчук Г.П. Способ количественного
определения активности тимозина.

Авторское свидетельство СССР
№ 824051, кл. G 01 N 33/48, 1982.

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ
ТИМОЗИНА

(57) Изобретение повышает точность
определения активности тимозина. Лим-
фоциты выделяют из гепаринизирован-
ной крови в градиенте фиколла и веро-
графина, отмывают средой 199, взвесь
лимфоцитов доводят до концентрации
 10^6 в 1 мл среды 199. Клеточную
взвесь инкубируют 1 ч при 37°C с
различными концентрациями тимозина,
добавляют эритроциты мыши ($2 \cdot 10^6$ кле-
ток), центрифугируют и инкубируют
30 мин при 37°C . К осадку добавляют
0,6% раствор глутаральдегида, гото-
вят капли на предметном стекле,
фиксируют метанолом и окрашивают по
Романовскому-Гимза. Активность тимо-
зина определяют по числу розеткооб-
разующих клеток при минимальной кон-
центрации тимозина.

(19) **SU** (11) **1293656** **A1**

РПС

Изобретение относится к биологии, медицине, медицинской промышленности и может быть использовано для определения активности тимозина - гормона, выделяемого из вилочковой железы, широко применяемого в экспериментальных исследованиях и клинике для лечения больных с иммунодефицитами различной этиологии.

Цель изобретения - повышение точности определения активности тимозина.

Пример 1. Лимфоциты выделяют из гепаринизированной крови в градиенте фикола и верографина. Полученную взвесь лимфоцитов дважды отмывают средой 199 по 10 мин при 1500 об/мин. Надосадочную жидкость отбирают, осадок помещают в 1 мл среды 199 и считают количество выделенных лимфоцитов. Взвесь лимфоцитов доводят до конечной концентрации 10^6 в 1 мл средой 199. Для одного определения берут 0,1 мл указанной клеточной взвеси. Клетки инкубируют 1 ч при 37°C с различными концентрациями тимозина, добавляемого в пробирки в объеме 0,1 мл. Контролем служат лимфоциты, инкубируемые при 37°C в течение 1 ч с тем же объемом питательной среды. После инкубации с тимозином клетки дважды отмывают центрифугированием при 1000 об/мин в течение 5 мин. К 0,1 мл взвеси проинкубированных с тимозином лимфоцитов (10^5 клеток) добавляют 0,1 мл суспензии трижды отмывших физиологическим раствором эритроцитов мыши ($2 \cdot 10^6$ клеток). Смесь клеток центрифугируют в течение 5 мин при 1000 об/мин и инкубируют 30 мин при 37°C . Затем к осадку до-

бавляют по 0,1 мл 0,6%-ного раствора глутаральдегида, осторожно ресуспендируют осадок и центрифугируют 5 мин при 1000 об/мин. Надосадочную жид-

кость сливают, к осадку добавляют 0,1 мл дистиллированной воды, ресуспендируют смесь, готовят капли на предметном стекле. Высохшие капли фиксируют метанолом и окрашивают по Романовскому-Гимза. Подсчет производится при увеличении 7×90 . Розеткой считают образование из лимфоцита, инкубированного с минимальной дозой, тимозина и трех и более присоединившихся к нему эритроцитов. Подсчет розеток производится на 200 лимфоцитов и выражается в процентах. Например, после инкубации лимфоцитов в среде было зарегистрировано 4% ЕМ-РОК, а после инкубации лимфоцитов с тимозином в концентрациях 60 и 30 мкг/мл соответственно 8 и 4%, активность тимозина равна 60 мкг/мл, что более чем на 30% повышает точность способа по сравнению с прото-
тилом, возможность определения которого равна 125 мкг/мл.

30 Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ определения активности тимозина, включающий выделение лимфоцитов человека, инкубацию лимфоцитов с тимозином в различных концентрациях и добавление эритроцитов с последующим определением активности тимозина по числу розеткообразующих клеток при минимальной концентрации тимозина, отличающийся тем, что, с целью повышения точности способа, выделение лимфоцитов осуществляют из периферической крови и после инкубации их с тимозином добавляют эритроциты мыши.

Редатор В. Ковтун
Составитель И. Башкаев
Техред А.Кравчук

Корректор Л. Пилипенко

Заказ 381/50

Тираж 777

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-полиграфическое предприятие, г. Ужгород, ул. Проектная, 4