



УКРАЇНА

(19) UA (11) 35626 (13) U
(51) МПК (2006)
A61K 38/24

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ СТИМУЛЯЦІЇ СУПЕРОВУЛЯЦІЇ У ЛАБОРАТОРНИХ МИШЕЙ ЛІНІЇ СВА ДЛЯ ВИДІЛЕННЯ ЕМБРІОНІВ НА РАННІХ СТАДІЯХ ЕМБРІОГЕНЕЗУ

1

2

(21) u200805979

(22) 07.05.2008

(24) 25.09.2008

(46) 25.09.2008, Бюл.№ 18, 2008 р.

(72) КИРИК ВІТАЛІЙ МИХАЙЛОВИЧ, UA, НЕМТІНОВ ПЕТРО ІГОРЕВИЧ, UA, ЛАБУНЕЦЬ ІРИНА ФЕДОРІВНА, UA, БУТЕНКО ГЕНАДІЙ МИХАЙЛОВИЧ, UA

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ГЕНЕТИЧНОЇ ТА РЕГЕНЕРАТИВНОЇ МЕДИЦИНИ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ", UA

(57) Спосіб стимуляції суперовуляції у лабораторних мишей лінії СВА для виділення ембріонів на ранніх стадіях ембріогенезу, що включає стимуляцію суперовуляції гормональними препаратами, який **відрізняється** тим, що як препарат для стимуляції росту і дозрівання фолікулів вводять препарат з активністю фолікулостимулюючого та лютеїнізуючого гормонів "Фоллігон", а через 48 годин для стимуляції розриву дозрілих фолікулів та виходу яйцеклітин в маткову трубу - препарат хоріонічного гонадотропіну людини - "Хорулон" в дозах по 5 МО на мишу інтраперитонеально.

Корисна модель відноситься до експериментальної медицини, зокрема, до галузі трансгенних технологій, і може використовуватись для виділення у лабораторних мишей лінії СВА ембріонів на ранніх стадіях ембріогенезу з метою створення трансгенних та нокаутних тварин.

Технології трансгенезу передбачають виділення значної кількості ембріонів мишей на ранніх стадіях ембріогенезу для подальших мікрomanipуляцій з ними. Для цього використовують гормональні препарати та схеми стимуляції суперовуляції у самок мишей.

Відомий спосіб стимуляції суперовуляції, який полягає у введенні препаратів фолікулостимулюючого гормону та лютеїнізуючого гормону [Manipulating the mouse embryo: a laboratory manual. 3 ed. / A. Nagy et al. - Cold Spring Harbor Laboratory. - NY. - 2003. - p. 148]. Також відомо і застосування комбінації аналога фолікулостимулюючого гормону "Intergonan" та препарату хоріонічного людського гонадотропіну "Ovogest" [Transgenic mouse methods and protocols / ed. by Marten H. Hofker, Jan van Deursen. -Methods in molecular biology.- Vol. 209. - 2003. - p. 38].

Проте ці препарати відсутні на ринку України та мають високу вартість.

Найбільш близьким до даного рішення є спосіб, який полягає в стимуляції суперовуляції у лабораторних мишей шляхом введення препаратів сироваткового гонадотропіну вагітної кобили та

хоріонічного гонадотропіну людини [Transgenesis techniques: principles and protocols. 2 ed. / ed. by A. R. Clarke. - Methods in molecular biology. - Vol. 180. - 2002. - p. 41].

Недоліком даного способу є необхідність використання гібридних тварин, потреба в тривалому підборі доз для різних ліній мишей та висока вартість препаратів.

В основу даної корисної моделі поставлено завдання розробити спосіб стимуляції суперовуляції у лабораторних мишей лінії СВА для виділення ембріонів на ранніх стадіях ембріогенезу шляхом застосування комбінації доступних гормональних препаратів, що дозволить застосовувати даний спосіб на лінійних тваринах, встановити адекватні дози та значно зменшити вартість способу, збільшити кількість виділених ембріонів.

Поставлене завдання вирішується тим, що в способі, що включає стимуляцію суперовуляції гормональними препаратами, згідно з даною корисною моделлю, в якості препарату для стимуляції росту і дозрівання фолікулів вводять препарат з активністю фолікулостимулюючого та лютеїнізуючого гормонів "Фоллігон", а через 48 годин для стимуляції розриву дозрілих фолікулів та виходу яйцеклітин в маткову трубу - препарат хоріонічного гонадотропіну людини - "Хорулон" в дозах по 5 МО на мишу інтраперитонеально.

До даного рішення автори прийшли, досліджуючи як дію різних доз препаратів "Фоллігон" та

(13) U

(11) 35626

(19) UA

"Хорулон" так і схему введення на кількісні та якісні показники овуляції у лабораторних мишей лінії СВА. Доведено, що дані препарати в дозі по 5 МО на мишу та порядок введення є оптимальним.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Для стимуляції суперовуляції у лабораторних мишей лінії СВА використовують самок віком 6-8 тижнів. Для відтворення фізіологічного естрального циклу та нормалізації продукції ендогенного лютеїнізуючого гормону шляхом регулювання тривалості світлового дня, використовується система автоматичного контролю освітлення кімнати для утримання мишей з тривалістю світлового дня з 6.00 до 18.00 години та рівнем освітленості всередині клітки до 50 лк. Тварини адаптуються до тривалості штучного світлового дня протягом 7-10 діб. Об 11.30 самкам мишей інтраперитонеально вводять препарат "Фоллігон" (виробник Intervet Int., Голландія) в дозі 5 МО на мишу на 0,9% розчині хлористого натрію. Через 48 годин цим же тваринам інтраперитонеально вводять препарат - "Хорулон" (виробник Intervet Int., Голландія) в дозі 5 МО на мишу на 0,9% розчині хлористого натрію. Для отримання ембріонів самки через 2 години після введення другого препарату відсаджують з самцями попарно для моногамного спарювання. Факт запліднення самки визначають за наявністю

копулятивної пробки через 18-20 годин. Для отримання ембріонів на стадії двох пронуклеусів, виділення їх з ампули маткової труби проводиться через 24 годин після введення препарату "Хорулон".

Приклад.

Самкам лінії СВА віком 8 тижнів вводився препарат "Фоллігон" в дозі 5 МО на мишу інтраперитонеально на 0,9% розчині NaCl за 72 годин до виділення зародків. Препарат "Хорулон" вводився в дозі 5 МО на мишу інтраперитонеально на 0,9% розчині NaCl через 48 годин після введення першого препарату і за 24 години до виділення зародків. Через 2 години після введення другого препарату самки відсаджувались з самцями для запліднення. Факт запліднення визначався за наявністю копулятивної пробки в самки через 18 годин. На фоні стимуляції за даною схемою у 41 самок отримано від 18 до 27 доімплантаційних зародків на стадії 2 пронуклеусів та злиття пронуклеусів.

В контрольній групі без застосування препаратів отримано від 6 до 12 ембріонів.

Таким чином, даний спосіб забезпечує необхідну стимуляцію суперовуляції у лабораторних мишей лінії СВА, є недорогим і може використовуватись в експериментальній медицині.