



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **66254** (13) **U**
(51) МПК
A61K 35/14 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ЕКСТРАКТУ ЛЕЙКОЦИТІВ ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННЯ ІМУНОМОДУЛЯТОРІВ НА ОСНОВІ ТРАНСФЕРФАКТОРНИХ ПОЛІПЕПТИДІВ

1

2

(21) u201107763

(22) 20.06.2011

(24) 26.12.2011

(46) 26.12.2011, Бюл.№ 24, 2011 р.

(72) БУСОЛ ВОЛОДИМИР ОЛЕКСАНДРОВИЧ,
КОВАЛЕНКО ЛАРИСА ВОЛОДИМИРІВНА, ТОН-
СЬКА ТЕТЯНА ГЕННАДІЇВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

(57) Спосіб отримання екстракту лейкоцитів для виготовлення імуномодуляторів на основі трансферфакторних поліпептидів, який **відрізняється** тим, що за допомогою гіпотонічного шоку суспензію лейкоцитів звільняють від еритроцитів, отримані клітини дезагрегують ультразвуком, діаліз проводять без попередньої обробки солями магнію та ДНК-азою.

Корисна модель відноситься до галузі ветеринарної медицини, зокрема до імунології та біотехнології.

Одним із перспективних, але недостатньо розроблених в теперішній час напрямом сучасної науки та практики є створення імунокоректорів антигеннаправленої дії на основі трансферфакторних поліпептидів з метою профілактики захворювань різної етіології та лікування хворих тварин. Для виготовлення таких імуномодуляторів необхідне отримання екстракту лейкоцитів. З цієї метою використовують лейкоцити молозива, крові та імунокомпетентних органів тварин.

Найближчим аналогом корисної моделі може вважатися отримання екстракту лейкоцитів, який використовують у способі [Пат. № 16938, МПК А 61 К 35/28, опубл. 15.09.2006, бюл. № 9. Спосіб отримання пухлиноспецифічного фактора переносу. Фільчаков Ф.В., Бобро Л.І., Шуміліна К.С., Гріневич Ю.Я.], згідно якого екстракт лейкоцитів для виготовлення імуномодуляторів, що містять трансферфакторні поліпептиди отримують з клітин селезінки.

Недоліком найближчого аналогу є те, що для отримання екстракту лейкоцитів, застосовують п'ятикратне заморожування при температурі -20°C і відтаювання при температурі не вище +37°C. Що є економічно не вигідним і затратним у часі. При отриманні екстракту таким способом утворюються в'язка суспензія для розрідження якої необхідно додавати ДНК-азу та солі магнію, що робить ще більш економічно затратною технологію.

В основу корисної моделі поставлена задача - оприлюднити спосіб отримання екстракту лейкоцитів.

Поставлена задача вирішується тим, що гіпотонічним шоком суспензію лейкоцитів звільняють від еритроцитів, а отримані клітини дезагрегують за допомогою ультразвуку частотою 3 МА протягом 15 с.

Для цього селезінку тварин відбирають в стерильні поліетиленові пакети, охолоджують до температури від +4°C до +6°C, доставляють до місця переробки не пізніше як за 24 год. після відбору. Тканину селезінки дезагрегують у гомогенізаторі, а отриману суспензію фільтрують через стерильну капронову сітку та розводять 10 об'ємами стерильної дистильованої води, з попереднім додаванням антибіотиків: в дозі 100 ОД/см³ пеніциліну та 100 мкг/см³ стрептоміцину, ретельно перемішують та витримують 10-15 с. Ізотонію відновлюють додаванням 10 % натрію хлориду, із розрахунку 0,9мл розчину на 100 мл доданої дистильованої води. Завис клітин осаджують центрифугуванням - 1500 об/хв. протягом 10 хв. Лейкоцитарну масу декантують, двічі промивають розчином Хенкса у співвідношенні 1:2-1:5 при центрифугуванні 1000об/хв. Відбирають пробу 2-5 см³, підраховують концентрацію лейкоцитів в 1 см³ суспензії у камері Горяєва. Суспензію лейкоцитів переносять у стерильні пробірки. Для руйнування лейкоцитарної маси, суспензію дезінтегрують за допомогою ультразвуку (при частоті 3 МА протягом 15 с.). Після руйнування клітин масу розводять стерильною дистильованою водою, розведення проводять так, щоб розбавлена клітинна маса відповідала конче-

(19) **UA** (11) **66254** (13) **U**

нтрації 5×10 клітин в 1 см рідини. Отриманий екстракт лейкоцитів обережно переміщують у діалізний мішок із проникністю пор 10 кД. Діалізний мішок зав'язують та ополіскують 0,9 % розчином натрію хлориду, поміщають в ємність з стерильною дистильованою водою. Діаліз проводять протягом 24 год. при 4 °С при постійному перемішуванні діалізату на магнітній мішалці. Діалізат збирають у стерильний посуд, стерилізують через бактерійні фільтри діаметр пор 0,22 мкм в асептичних умовах.

Для отримання невеликої кількості екстракту лейкоцитів можна використовувати кров тварин, яку відбирають у стерильні пробірки, охолоджують

до температури від +4°С до +6°С, доставляють до місця переробки не пізніше як за 24 год. після відбору. Кров розводять 5 об'ємами стерильної дистильованої води. Далі дотримуються вищеописаного способу.

Спосіб дозволяє одержати скоротити час технологічних маніпуляцій, а також знизити економічні затрати та трудомісткість процесів - не потребує для виготовлення екстракту - п'ятиразового заморожування при температурі -20°С та відтаювання при температурі не вище +37 °С, а також використання ДНК-ази та солей магнію і, як наслідок, зменшити затрати на матеріали.