



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **109148**

(13) **U**

(51) МПК

**A61K 35/35** (2015.01)

**A61K 35/12** (2015.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 02329**

(22) Дата подання заявки: **11.03.2016**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.08.2016**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **10.08.2016, Бюл.№ 15**

(72) Винахідник(и):

**Кладницька Лариса Володимирівна (UA),  
Мазуркевич Анатолій Йосипович (UA),  
Величко Сергій Володимирович (UA)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ,  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ-41, 03041  
(UA)**

## (54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОVBУРОВИХ КЛІТИН ІЗ ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ СОБАКИ

(57) Реферат:

Спосіб отримання мезенхімальних стовбурових клітин із жирової тканини собаки, у який входить отримання жирової тканини, її дезагрегація, внесення у культуральний посуд, культивування у середовищі з додаванням антибіотика-антимікотика та ембріональної сироватки бичків, причому дезагрегація жирової тканини здійснюється механічно до фрагментів розміром 1-3 мм<sup>3</sup>, які вносяться у культуральний посуд, накриваються покривними скельцями, культивуються, після формування колоній клітин, вилучаються покривні скельця з чашок та фрагменти тканини, знімаються клітини з поверхні культурального посуду, фільтруються, промиваються у фосфатно-буферному розчині та культивуються 3-4-ри пасажі з метою зниження гетерогенності культури.

UA 109148 U



Корисна модель належить до галузей ветеринарної медицини та біотехнології.

Відомий аналог (Villatoro Antonio J. Use of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells in Keratoconjunctivitis Sicca in a Canine Model /Antonio J. Villatoro., Viviana Fernandez, Silvia Claros, Gustavo A. Rico-Llanos, Jose Becerra, Jose A. Andrades//<sup>1</sup> Biomed Res Int. 2015; 2015: 527926. Published online 2015 Feb 23. doi: 10.1155/2015/527926 PMID: PMC4352730), за яким з метою отримання мезенхімальних стовбурових клітин підшкірний ліпоаспірат собак піддавали впливу колагенази. Для цього фрагменти жирової тканини інкубували за температури 37 °C в 0,1 %-му розчині колагенази протягом 90 хв. Клітинну суспензію фільтрували та центрифугували 5 хв. при 400 об/хв., що призводило до розділення її на дві фракції. У верхньому світлому шарі розташовувалися адипоцити, а в осаді - клітини стромально-васкулярної фракції. Супернатант видаляли, а осад використовували як первинний посадковий матеріал для отримання мезенхімальних стовбурових клітин.

Недоліком даного способу є проведення ферментативної дезагрегації за температури 37 °C та використання як дезагрегуючого фактора колагенази, що призводить до небажаного впливу агресивного середовища на клітини стромально-васкулярної фракції жирової тканини. Як наслідок, відбувається ушкодження стовбурових клітин. Окрім цього, цей спосіб включає застосування реактиву (колагенази), який має високу вартість, що призводить до збільшення вартості процедури їх отримання.

Задачею корисної моделі є вдосконалення способу отримання мезенхімальних стовбурових клітин із жирової тканини собаки, який може бути використаний для напрацювання біологічного матеріалу з метою подальшого його застосування.

Поставлена корисною моделлю задача вирішується тим, що у спосіб отримання мезенхімальних стовбурових клітин із жирової тканини собаки входить отримання жирової тканини собаки, механічна дезагрегація на фрагменти розміром 1-3 мм<sup>3</sup>, внесення їх у культивальний посуд з середовищем для культивування, та самого процесу культивування.

Спосіб здійснюється наступним чином.

Стерильно відбирали абдомінальну жирову тканину собаки віком до 12-ти місяців. Здійснювали її механічну дезагрегацію до фрагментів розміром 1-3 мм<sup>3</sup>. Отримані фрагменти розміщували у культивальних чашках, накривали покривними скельцями і додавали середовище для культивування Ігла, модифіковане Дюльбекко (DMEM), 15-20 % фетальної сироватки бичків (FBS), 1 % антибіотика-антимікотика та культивували за стандартних умов у СО<sub>2</sub> інкубаторі за температури 37 °C із вмістом СО<sub>2</sub> 5 %. На 8-10-ту добу культивування покривне скельце знімали та шматочки експланта механічно вилучали з чашок Петрі. На 12-ту добу на дні культивальних чашок формувалася моношар адгезивних клітин жирової тканини. Моношар клітин знімали з дна культивального посуду, фільтрували, промивали фосфатнобуферним розчином та проводили субкультивування 3-4-ри пасажі з метою зниження гетерогенності культури.

Технічним рішенням способу отримання мезенхімальних стовбурових клітин із жирової тканини собаки вдається уникнути пошкоджуючого впливу дезагрегуючого фактора на клітини стромально-васкулярної фракції та здешевити процедуру їх отримання.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб отримання мезенхімальних стовбурових клітин із жирової тканини собаки, у який входить отримання жирової тканини, її дезагрегація, внесення у культивальний посуд, культивування у середовищі з додаванням антибіотика-антимікотика та ембріональної сироватки бичків, який **відрізняється** тим, що дезагрегація жирової тканини здійснюється механічно до фрагментів розміром 1-3 мм<sup>3</sup>, які вносяться у культивальний посуд, накриваються покривними скельцями, культивуються, після формування колоній клітин, вилучаються покривні скельця з чашок та фрагменти тканини, знімаються клітини з поверхні культивального посуду, фільтруються, промиваються у фосфатно-буферному розчині та культивуються 3-4-ри пасажі з метою зниження гетерогенності культури.

---

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

---

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