



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **112379** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)

A61K 35/12 (2015.01)

A61K 35/28 (2015.01)

A61K 35/30 (2015.01)

A61P 25/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 07080**

(22) Дата подання заявки: **30.06.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **12.12.2016**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **12.12.2016, Бюл.№ 23**

(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 НЕЙРАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН КОТА

(57) Реферат:

Спосіб отримання стовбурових клітин із нервової тканини kota, у який входить отримання нервової тканини головного мозку, внесення у культуральний посуд, культивування у середовищі. Фрагменти нервової тканини вносяться у культуральний посуд, щільно накриваються покривними скельцями, а культивування відбувається без додавання фактору росту фібробластів, після формування колоній клітин, вилучаються покривні скельця з чашок, при конфлюентності моношару 70-80 % знімаються клітини з культурального посуду, фільтруються, промиваються у фосфатно-буферному розчині, субкультивуються 3-4-ри пасажі з метою зниження гетерогенності культури.

UA 112379 U

Корисна модель належить до галузей ветеринарної медицини та біотехнології.

Відомий аналог (Yan Ho Chan, Are newborn rat-derived neural stem cells more sensitive to lead neurotoxicity? Yan Ho Chan, ¹ Mingyong Gao, ^{1,2} and Wutian Wu // Neural Regen Res. 2013 Mar 5; 8(7): 581-592. doi: 10.3969/j.issn.1673-5374.2013.07.001 PMID: PMC4145982), за яким виділяли клітини з гіпокампа ембріона миші, пропускали через клітинний фільтр, центрифугували суспензію клітин з метою відмивання, нашаровували на перколл, знімали та відмивали клітини, вносили їх у культуральне середовище з фактором росту фібробластів для культивування.

Недоліком даного способу є достатньо активний механічний (пропускання через клітинний фільтр, неодноразове промивання первинного матеріалу), та агресивний хімічний (застосування перколлу) вплив на клітини. Як наслідок, відбувається ушкодження нервових клітин. Окрім того, ця методика передбачає застосування реактиву (фактора росту фібробластів), який має високу вартість, що призводить до збільшення вартості процедури їх отримання. Також процес виділення гіпокампа з головного мозку передбачає застосування додаткового устаткування, що в деяких випадках унеможлиблює використання вказаного способу.

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

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб отримання стовбурових клітин із нервової тканини kota, у який входить отримання нервової тканини головного мозку, внесення у культуральний посуд, культивування у середовищі, згідно пропонованого рішення фрагменти нервової тканини вносяться у культуральний посуд, щільно накриваються покривними скельцями, а культивування відбувається культуральному у середовищі без додавання фактору росту фібробластів, після формування колоній клітин, вилучаються покривні скельця з чашок, при конфлюентності моношару 70-80 % клітини знімаються з культурального посуду, фільтруються, промиваються у фосфатно-буферному розчині, субкультивуються 3-4-ри пасажі з метою зниження гетерогенності культури.

Спосіб здійснюється наступним чином.

Стерильно відбирали нервову тканину головного мозку у новонародженого kota. Отримані фрагменти нервової тканини розміщували у культуральних чашках щільно накривали покривними скельцями і додавали середовище для культивування Ігла, модифіковане Дюльбекко (DMEM), 15-20 % фетальної сироватки бичків (FBS), 1 % антибіотика-антимікотика. Чашки з фрагментами нервової тканини культивували за стандартних умов у CO₂ інкубаторі за температури 37 °C із вмістом CO₂ 5 %. При формуванні колоній нейтральних клітин покривне скельце вилучали. При досягненні конфлюентності моношару 70-80 % клітин нервової тканини знімали з дна культурального посуду, фільтрували, промивали фосфатнобуферним розчином та проводили субкультивування 3-4-ри пасажі з метою зниження гетерогенності культури.

Технічним рішенням способу отримання нейтральних стовбурових клітин із нервової тканини kota вдається уникнути ушкоджуючого механічного та хімічного впливу на клітини, зберегти тканинні цитокіни і фактори росту та забезпечити їх надходження з фрагментів нервової тканини у середовище і тим створити їх необхідну концентрацію, що має вирішальне значення для проліферації стовбурових клітин, особливо у первинній культурі, та здешевити процедуру їх отримання.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб отримання стовбурових клітин із нервової тканини kota, у який входить отримання нервової тканини головного мозку, внесення у культуральний посуд, культивування у середовищі, який **відрізняється** тим, що фрагменти нервової тканини вносяться у культуральний посуд, щільно накриваються покривними скельцями, а культивування відбувається без додавання фактору росту фібробластів, після формування колоній клітин, вилучаються покривні скельця з чашок, при конфлюентності моношару 70-80 % знімаються клітини з культурального посуду, фільтруються, промиваються у фосфатно-буферному розчині, субкультивуються 3-4-ри пасажі з метою зниження гетерогенності культури.

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

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