



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **81429** (13) **U**  
(51) МПК (2013.01)  
**C12N 5/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2013 01542</b>	(72) Винахідник(и): <b>Борисенко Ірина Геннадіївна (UA), Белочкіна Ірина Владіславівна (UA), Гальченко Сергій Євгенович (UA), Сандомирський Борис Петрович (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>11.02.2013</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.06.2013</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.06.2013, Бюл.№ 12</b>	(73) Власник(и): <b>ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015 (UA)</b>

## (54) СПОСІБ КУЛЬТИВУВАННЯ ФІБРОБЛАСТІВ ШКІРИ ЩУРІВ

### (57) Реферат:

Спосіб культивування фібробластів шкіри щурів включає інкубування клітин в живильному середовищі DMEM, що містить ембріональну телячу сироватку, та додаткове введення екстракту кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят.

UA 81429 U



Корисна модель належить до галузі клітинної біології і може бути використана для вирощування фібробластів шкіри щурів для розробки нових препаратів.

Відомий спосіб культивування фібробластів, в якому фібробласти культивують в живильному середовищі DMEM з додаванням 10 % ембріональної телячої сироватки (ЕТС) [1].

Недоліком цього способу є використання високої концентрації ЕТС, що робить можливим контамінацію клітин вірусами від тварин та забруднення їх високомолекулярними білками сироватки крові (ВБСК), які можуть викликати імунну відповідь при введенні в організм.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити відомий спосіб культивування фібробластів шкіри щурів таким чином, щоб він забезпечив можливість знизити вміст ЕТС в середовищі інкубування, і за рахунок цього зменшити ризик контамінації та забруднення клітин ВБСК.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі культивування фібробластів шкіри щурів, який передбачає інкубування клітин в середовищі DMEM, що містить ЕТС, згідно з корисною моделлю, в середовище додатково вводять екстракт кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят (ЕКФШП) до кінцевої концентрації 1-1,5 мкг/мл, а ЕТС беруть в концентрації 2 %.

Введення ЕКФШП дозволяє знизити концентрацію ЕТС до 2 %, що значно зменшує ризик контамінації та забруднення клітин ВБСК.

Приклад здійснення способу.

Екстракт одержували з кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят шляхом їх інкубації в фізіологічному розчині протягом 60 хв. Для видалення високомолекулярних термолабільних білків екстракт прогрівали на киплячій водяній бані та фільтрували. Одержані екстракти стерилізувалися автоклавуванням [2].

Первинну культуру фібробластів шкіри новонароджених щурів отримували шляхом вільного виселення клітин з фрагментів шкіри і послідовного пересівання фібробластів.

Одержані фібробласти інкубували в живильному середовищі DMEM з додавання 10 % ЕТС згідно з прототипом, а в дослідні зразки додавали 2 % ЕТС та вносили ЕКФШП до кінцевої концентрації пептидів 0,1, 0,5, 1,0 і 1,5 мкг/мл. Метаболічну активність клітин оцінювали по відновленню нетоксичного редокс-індикатора AlamarBlue. Дані наведені в таблиці.

Таблиця

Метаболічна активність фібробластів в процентах від метаболічної активності при культивуванні з 10 % ЕТС

Середовище культивування	Строк культивування, доба		
	2	4	7
DMEM з 2 % ЕТС	86,5	64,1	51,2
DMEM з 2 % ЕТС + ЕКФШП 0,1 мкг/мл	104,8	84,7	79,3
DMEM з 2 % ЕТС + ЕКФШП 0,5 мкг/мл	89,1	82,5	80,3
DMEM з 2 % ЕТС + ЕКФШП 1 мкг/мл	98,8	97,8	95,9
DMEM з 2 % ЕТС + ЕКФШП 1,5 мкг/мл	99,3	101,3	94,3

З таблиці видно, що при зменшенні концентрації ЕТС в середовищі культивування до 2 % та додаванні ЕКФШП в кінцевій концентрації пептидів 1 і 1,5 мкг/мл зберігається метаболічна активність фібробластів нарівні, який спостерігається в контрольних пробах з 10 % ЕТС.

Таким чином при додаванні ЕКФШП забезпечується можливість знизити концентрацію ЕТС без втрати метаболічної активності фібробластів.

Джерела інформації:

1. Пат. РФ № 2382077, МПК С12N 5/071. Оpubл. 20.02.2010. Способ выделения и культивирования аутологических дермальных фибробластов для стимуляции регенеративных процессов и заместительной терапии.

2. Пат. України № 64381 А, МПК А61К 35/12. Оpubл. 16.02.2004. Спосіб отримання екстрактів ксеногенних органів.

## ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб культивування фібробластів шкіри щурів, який включає інкубування клітин в живильному середовищі DMEM, що містить ембріональну телячу сироватку, який **відрізняється** тим, що в живильне середовище додатково вводять екстракт кріоконсервованих фрагментів шкіри поросят до кінцевої концентрації пептидів 1-1,5 мкг/мл, а ембріональну телячу сироватку беруть в концентрації 2 %.

---

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601