



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **68013** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
C12N 5/00
A61M 1/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2011 10439	(72) Винахідник(и): Корчан Наталія Олександрівна (UA), Денисюк Павло Вікторович (UA)
(22) Дата подання заявки: 29.08.2011	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ СВИНАРСТВА ІМЕНІ О.В. КВАСНИЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК, Шведська Могила, 1, м. Полтава, 36013 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 12.03.2012	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.03.2012, Бюл.№ 5	

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ПРИМУСОВОЇ БІОРИТМІЧНОЇ ОСЦИЛЯЦІЇ pH СЕРЕДОВИЩА КУЛЬТИВУВАННЯ ПОЗА ОРГАНІЗМОМ ЯК СПОСОБУ, ПРИЗНАЧЕНОГО ДЛЯ ЗБІЛЬШЕННЯ МІРИ РОЗРОСТАННЯ ООЦИТ-КУМУЛЮСНИХ КОМПЛЕКСІВ

(57) Реферат:

Застосування примусової біоритмічної осциляції pH середовища культивування поза організмом протягом усього часу культивування як способу, призначеного для збільшення міри розростання ооцит-кумулясних комплексів (ОКК).

UA 68013 U

Корисна модель належить до сільського господарства, а саме - до тваринництва, та до галузі медицини, а саме - репродуктології.

Відомий спосіб культивування ооцит-кумулясних комплексів (ОКК) поза організмом, який включає постійний кислотно-лужний режим цього процесу [1]: рН рідкого поживного середовища культивування ОКК поза організмом підтримується незмінним, на рівні однієї величини, протягом усього часу їх дозрівання.

Аналогом об'єкта корисної моделі є примусова біоритмічна осциляторна зміна рН середовища культивування поза організмом доїмплантаційних ембріонів свині [2] та спосіб, яким змінюють рН середовища культивування поза організмом біологічних мікрооб'єктів [3].

Недоліком прототипу [1] є те, що рН рідкого поживного середовища культивування ОКК поза організмом підтримують протягом усього часу культивування на рівні, який характеризується однією й тією ж величиною. Недолік технічних властивостей прототипу полягає у тому, що: 1) рН середовища культивування ОКК поза організмом підтримується надмірно стабільним, - у якомога вужчому діапазоні його можливих і небажаних змін; 2) рН середовища культивування ОКК поза організмом не змінюється примусово (людиною) біоритмічно, - хоча б з одним з відомих біоритмів, як це має місце насправді *in vivo*.

Сукупністю корисних ознак, достатніх для досягнення технічного результату, який забезпечує дана корисна модель і яка є суттю пропонованої корисної моделі, є примусова біоритмічна осциляторна зміна рН середовища культивування поза організмом протягом усього часу культивування, - раніше відомий спосіб [2, 3].

Технічною задачею, на вирішення якої направлена корисна модель, є створення способу, який дав би можливість замінити постійний рН середовища культивування ОКК поза організмом на біоритмічно осцилюючий, протягом усього часу культивування, породжуваний не природою об'єкта культивування, не спонтанний, а створюваний і підтримуваний людиною.

Технічним результатом пропонованої корисної моделі є:

1) заміна пристрою, який забезпечує створення і підтримання стабільного рН середовища культивування ОКК поза організмом, на такий, відомий [3], який забезпечує примусове створення і підтримання людиною біоритмічно осцилюючого рН середовища культивування ОКК поза організмом протягом усього часу культивування;

2) заміна стабільного рН середовища культивування ОКК поза організмом на біоритмічно осцилюючий, а відтак - покращення його (середовища) властивостей;

3) розширення діапазону рН середовища культивування ОКК поза організмом, у якому можливий ріст-розвиток ОКК;

4) урізноманітнення величин рН цього середовища відповідно різноманітності кумулюсних клітин ОКК і різноманітності самих ооцитів;

5) упорядкування зміни величин рН середовища культивування ОКК поза організмом у часі (величини рН під примусом людини переходять одна в одну біоритмічно, за кривою, подібною до синусоїди (осциляторно));

6) збільшення міри розростання ОКК (діаметра, площі, об'єму).

В основу корисної моделі поставлено задачу збільшити міру розростання ОКК у культурі поза організмом. У цьому полягає нове призначення застосування відомого способу [2, 3] примусової біоритмічної осциляторної зміни величин рН середовища культивування поза організмом.

Поставлена задача вирішується шляхом створення такого рН середовища культивування ОКК поза організмом, який примусово змінюється за своєю величиною за кривою, подібною до синусоїди, тобто осциляторно, та, до того ж, ще й біоритмічно, - наприклад, з 24-годинним (добовим або циркадним, або циркадіанним) періодом протягом усього часу культивування.

Причинно-наслідковий зв'язок між ознаками пропонованої корисної моделі й очікуваним технічним результатом може бути таким.

In vivo (в організмі), на відміну від *in vitro* (поза організмом, у пробірці), має місце певна різноманітність величин рН, оформлена у часі (у вигляді біоритмічної осциляції). Можна припустити, що вона є корисною для задоволення неоднакових потреб біологічно різноманітних кумулюсних клітин, що оточують ооцит, та біологічно різноманітних самих ооцитів. Створення керованої людиною біоритмічної осциляції рН середовища культивування поза організмом повинно б, на нашу думку, посприяти кращому росту та розвитку кумулюсних клітин, - збільшенню міри їх розростання. А відтак, воно повинно б посприяти й кращому дозріванню ооцита, яке відбувається поза організмом звичайно менш ефективно, ніж в організмі.

Корисну модель реалізують таким чином.

ОКК свині у кількості 10-15 штук укладають у скляну камеру культивування об'ємом 1,5 мл з 0,7 мл рідкого поживного середовища з рН 8,1 одиниці, на яке нашаровують 2 мм вазелінової

олії. Цю камеру з ОКК укладають у газову камеру, - описаний у літературі [3] пристрій для створення осциляції рН з 24-годинним періодом.

Газова камера для створення біоритмічної осциляції рН - алюмінієвий бокс, ємкістю 70 мл. У його кришці пророблено два отвори, на відстані 1 см один від одного, через які щільно пропущено по трубці із силіконової гуми. Довжина трубки - 8 мм, зовнішній діаметр - 7 мм, внутрішній - 4 мм. Після укладання скляної камери у газову, кришку з'єднують з боксом гумовим бандажем, насуваючи останній з бокса і на кришку. Гумовий бандаж разом з трубками із силіконової гуми надає газовій камері властивість напівпроникності для складових газової суміші, якою продувають газову камеру.

Газову камеру продувають протягом 2 хв. сумішшю вуглекислого газу і повітря у такому їх співвідношенні, яке забезпечує газовій суміші здатність формувати рН рідкого поживного середовища у 7,2 одиниці.

У кінці продувки газової камери одночасно перетискають затискачем обидві трубки. Напівгерметично закрити у такий спосіб газову камеру, зі скляною у ній та з ОКК в останній, укладають у термостат.

Необхідного рН середовища досягають шляхом регуляції інтенсивності потоків повітря та вуглекислого газу через середовище, подібне до середовища культивування (лише не містить білка), у яке уведено електроди рН-метра.

рН-метр показує, потрібно зменшувати чи збільшувати величину рН, - підвищувати інтенсивність потоку вуглекислого газу (або зменшувати інтенсивність потоку повітря) чи знижувати її. Лише пройшовши це середовище, газ надходить у газові камери зі скляними в них та з ОКК в останніх. Температура повітря у термостаті підтримується стабільною - 39 °С.

Ефективність реалізації пропонованої корисної моделі ілюструється таким прикладом. У контролі, - за стабільного рН, було прокультивовано 15 ОКК. Приріст діаметра ОКК склав за цих умов у середньому 80,32 %. Паралельно, у досліді, за рН, що біоритмічно осцилював, приріст діаметра 16 ОКК склав у середньому 88,29 %, що на 7,97 % більше ніж за стабільного рН.

Викладений опис пропонованої корисної моделі підтверджує можливість її реалізації в масштабі як наукової, так і виробничої лабораторії.

Джерела інформації:

1. Martecikova S. et al. Effect of acrosome reaction progress in frozen-thawed boar spermatozoa on the efficiency of in vitro oocyte fertilization // Veterinarni Medicina. - 2010. - V. 55. - N. 9. - P. 429-437.

2. Денисюк П.В. Спосіб культивування доімплантаційних ембріонів ссавців поза організмом. Патент України №10067 А, МПК С12N 5/00 з пріоритетом - від 23.04.1993 // Бюл. № 3, 30.09.1996.

3. Денисюк П.В. Спосіб примусової осциляції рН середовища культивування біологічних мікрооб'єктів. - Деклараційний патент України на винахід, №46186 А, МПК А61М 1/14, С12N 5/06 з пріоритетом від 17.09.1998 // Бюл. № 5. - 15.05.2002.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Застосування примусової біоритмічної осциляції рН середовища культивування поза організмом протягом усього часу культивування як способу, призначеного для збільшення міри розростання ооцит-кумулясних комплексів (ОКК).