УКРАЇНА

(19) UA (11) 52701 (13) U

(51) МПК (2009)
G01N 33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДЕСТРУКЦІЇ ЕРИТРОЦИТІВ

(21) u201000983
(22) 01.02.2010
(24) 10.09.2010
(46) 10.09.2010, Бюл.№ 17, 2010 р.
(72) ШПАКОВА НАТАЛІЯ МИХАЙЛІВНА, ОРЛОВА НАТАЛІЯ ВІКТОРІВНА, АЛЕКСАНДРОВА ДАР'Я ІВАНІВНА

(73) ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ

(57) Спосіб деструкції еритроцитів, що передбачає механічне пошкодження клітин, який **відрізняється** тим, що механічне пошкодження клітин здійснюють шляхом перемішування суспензії еритроцитів з пластиковими кульками за допомогою магнітної мішалки.

1

Корисна модель належить до галузі біології і може бути використана для вивчення в'язкоеластичних властивостей еритроцитарних мембран і для моделювання механічного пошкодження клітин при низькотемпературному консервуванні біологічних об'єктів.

Відомий спосіб деструкції еритроцитів людини шляхом механічного пошкодження, який полягає в тому, що суспензію еритроцитів утягують при певній різниці гідростатичного тиску в скляні капіляри конічної форми з вхідним отвором діаметром 3мкм [1].

Основним недоліком даного способу є його трудомісткість і необхідність використання дорогого обладнання.

Відомий спосіб деструкції еритроцитів людини, який полягає в тому, що клітини піддають механічному стресу в віскозиметрі з використанням полівінілпіролідону для підвищення в'язкості середовища [2].

Основним недоліком даного способу є необхідність використання дорогого спеціалізованого обладнання.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб деструкції еритроцитів шляхом механічного пошкодження з використанням медичної голки [3]. Згідно зі способом суспензію еритроцитів продавлюють через медичну голку діаметром 0,3мм 6 разів.

Основним недоліком даного способу є невисокий рівень гемолізу еритроцитів (лише 10-15%), висока трудомісткість, що обумовлена шестиразовим продавлюванням еритроцитарної суспензії через голку, і низьке відтворювання результатів із-

2

за неоднакової інтенсивності дії на еритроцити.

Крім того, спосіб може бути використаний тільки для роботи з маленьким об'ємом суспензії, що не дозволяє проводити біохімічні дослідження, які передбачають застосування великих об'ємів суспензії.

Задачею корисної моделі є створення такого способу деструкції еритроцитів, в якому би, шляхом заміни методу механічного пошкодження клітин, забезпечувалася можливість підвищити рівень гемолізу еритроцитів, знизити трудомісткість процесу і забезпечити підвищення відтворюваності результатів.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі деструкції еритроцитів, який передбачає механічне пошкодження клітин, згідно з корисною моделлю, механічне пошкодження клітин здійснюють шляхом перемішування суспензії еритроцитів з пластиковими кульками за допомогою магнітної мішалки.

Проведення деструкції з використанням пластикових кульок і магнітної мішалки дозволяє підвищити рівень гемолізу еритроцитів до 30%, знизити трудомісткість процесу за рахунок механізації процесу та підвищити відтворюваність результатів завдяки дії однакової інтенсивності на клітини. Спосіб може бути використаний для роботи з різними об'ємами суспензії, що дозволяє проводити будь-які біохімічні дослідження.

Приклад здійснення способу.

Еритроцити людини тричі відмивали фізіологічним розчином (150мМ NaCl, 5мМ фосфатний буфер, pH 7,4) від плазми і формених елементів шляхом центрифугування при 1500g протягом 3хв.

(19) UA (11) 52701 (13) U

і зберігали у вигляді осаду при 0°С протягом 2 годин. До 5мл середовища, яке містить фізіологічний розчин, додавали 100мкл осаду еритроцитів, після чого помішували пластикові кульки (діаметр 50мм) у кількості 50 штук. Суспензію еритроцитів з пластиковими кульками перемішували за допомогою магнітної мішалки (ММ-5) зі швидкістю обертання 1200об/хв. протягом 60хв. Далі центрифугували і методом спектрофотометрії при довжині хвилі 543нм визначали гемоліз за кількістю гемоглобіну в надосадку, який виражали у відсотках по відношенню до 100% гемолізу еритроцитів у присутності детергенту тритону Х-100 (кінцева концентрація 0,1%).

Аналогічно здійснювали спосіб для еритроцитів щура, бика, коня і кролика.

Одержані результати наведені в таблиці. З даних таблиці видно, що при деструкції еритроцитів заявленим способом досягається підвищення рівня гемолізу еритроцитів людини, щура, бика, коня і кролика. Відхилення від середнього значення не перевищує 10%, що свідчить про високу відтворюваність результатів.

Таблиця

Рівень гемолізу (%) еритроцитів ссавців після механічного пошкодження (n=10)

	Заявлений спосіб	За прототипом
Еритроцити людини	29,0±2,7	14±5
Еритроцити щура	31,5±3,1	10±4
Еритроцити бика	22,7±2,5	–
Еритроцити коня	21,9±2,1	–
Еритроцити кролика	22,0±2,2	–

Джерела інформації:

1. Панталер Е.Р., Дегтярев А.В., Жутченко И.А. Динамическая деформация одиночных эритроцитов в гипертонических средах // Теоретические и практические аспекты современной криобиологии / Сб.науч.тр.- Киев: Наук, думка, 1989. - С.6-9.

2. Johnson RM, Gannon SA. Erythrocyte cation permeability induced by mechanical stress: a model for sickle cell cation loss // Am. J. Physiol. - 1990 - Vol.259, N5, Pt1. - С.746-751.

3. Федосова С.Н., Кудокоцева Е.В. Модифицирующее влияние курантила на осмотическую чувствительность эритроцитов // Пробл. криобиологии. - 1995. - №1. - С.27-31.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська Підписне Тираж 26 прим.

Міністерство освіти і науки України

Державний департамент інтелектуальної власності, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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