

Warszawa, 20 czerwca 1936 r.

URZĄD PATENTOWY



C 12 k 9 00 2

RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 23039.

Kl. 30 h, 7.

I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft
(Frankfurt n. M., Niemcy).

Sposób otrzymywania nieaglutynujących się zawiesin komórek tkanek zwierzęcych.

Zgłoszono 8 lutego 1935 r.

Udzielono 28 marca 1936 r.

Pierwszeństwo: 27 marca 1934 r. (Niemcy).

W celu badania reakcyj biologicznych w wyosobnionych komórkach tkanek żywych, podobnie, jak to ma miejsce w przypadku badania martwego materiału komórkowego, należy w zawiesinach komórek, wyosobnionych z narządów lub tkanek, zapobiec aglutynacji lub spowodować jej cofnięcie się w razie, gdyby już wystąpiła.

Obecnie wykryto, że można w bardzo korzystny sposób otrzymywać nieaglutynujące się zawiesiny komórek tkanek przez wytwarzanie tych zawiesin ze świeżego materiału komórkowego w obecności substancji, zmniejszających napięcie powierzchniowe lub powstrzymujących

krzepnięcie krwi, które wcale nie wpływają na zmiany komórkowe lub tylko nieznacznie zmieniają same komórki, albo też przez dodawanie wymienionych substancji do wytworzonych już zawiesin komórek tkanek zwierzęcych.

Jako odpowiednie substancje, zmniejszające napięcie powierzchniowe, należy wymienić np. wyższe alkohole, jak alkohol oktylowy, benzyłowy lub podobne. Jako substancje, powstrzymujące krzepnięcie krwi, stosuje się np. sole kwasów wieloanetolo-sulfonowych, karbamid kwasu *m*-amino-benzoylo-*m*-amino-*p*-metylo - benzoylo - 1 - naftylo-amino-4,6,8-trójsulfonowego, jak również wyciągi z narządów,

znane pod nazwą heparyny, hirudyny i nowirudyny.

Naogół korzystne jest dodawanie do zawiesin środków antyseptycznych. Jako tego rodzaju środki można stosować np. kamforan sześciometylenoczteroaminy, trójboran sześciometylenoczteroaminy, anhydrometylenocytrynian sześciometylenoczteroaminy i substancje podobne, jak salicylan fenylowy, heksylorazorcyne, oksybenzoesan metylowy lub etylowy i wiele innych.

W celu uzyskania żadanego skutku można dodawać wymienionych substancji nie tylko do komórek wyosobnionych, lecz również w celu zapobieżenia dążności komórek do aglutynacji substancje powyższe wstrzykuje się zwierzęciu doświadczalnemu lub podaje się mu je doustnie („per os”) na pewien czas przed pobraniem materiału komórkowego. Zawiesina komórkowa, uzyskana z tkanek takiego zwierzęcia, nie wykazuje już dążności do aglutynacji. Do zawiesin tych należy dodawać odpowiednich środków antyseptycznych wyżej wymienionego rodzaju w stężeniach, jakie nie szkodzą jeszcze komórkom, ale już powstrzymują wzrost bakterij. Powyżej wymienionych substancji o działaniu antyseptycznym dodaje się np. takie ilości, aby gotowa zawiesina zawierała od 0,1 do 0,2% tych substancji.

Na tego rodzaju utrwalone zawiesiny, uzyskane np. z komórek embrjonalnych, komórek narządów normalnych lub chorych, komórek rakowatych lub tym podobnych, można w celach doświadczalnych lub podobnych działać odpowiednią surowicą, innymi komórkami, następnie substancjami chemicznymi, fermentami lub hormonami. Przez obliczenie liczby komórek przed doświadczeniem i po doświadczeniu, przez dokonanie pomiaru zmętnienia lub zapomocą podobnych sposobów można mierzyć przyrost lub zanikanie komórek w tych zawiesinach, a więc stwier-

dzić działanie, powodujące rozmnażanie się lub zanikanie komórek, względnie przez określenie ciał chemicznych, powstających w zawiesinach, można stwierdzić rozpad komórek lub powstawanie produktów przemiany materji, działanie fermentów i t. d.

Przykład I. Zaglutynowaną zawiesinę komórkową, otrzymaną z nowotworu guzowatego (tumoru) myszy, zadaje się mieszaniną, składającą się z 0,25 cm³ drugorzędowego alkoholu oktylowego, 0,75 cm³ absolutnego alkoholu etylowego i 0,60 cm³ wody, w ilości, odpowiadającej 1 kropli mieszaniny na 1 cm³ zawiesiny. Po dobrem zmieszaniu wziętej próbki wytworzone gruzelki rozpływają się, tak iż poszczególne komórki zostają znów rozdzielone równomiernie i pozostają już w tym stanie.

Przykład II. Do zawiesiny komórkowej, otrzymanej z guza rakowatego, ulegającej aglutynacji, dodaje się 1%-owego roztworu hirudyny w ilości, odpowiadającej 1 kropli hirudyny na 1 cm³ zawiesiny, i dokładnie miesza. W zawiesinie pływają wówczas oddzielnie poszczególne, równomiernie rozdzielone komórki.

Przykład III. Do zawiesiny komórkowej, ulegającej aglutynacji, dodaje się 0,1%-owego roztworu wodnego karbaminianu kwasu *m*-amino-benzoylo-*m*-amino-*p*-metylo - benzoylo-1-naftyloamino-4,6,8-trójsulfonowego w ilości, odpowiadającej 1 kropli wymienionego roztworu na 1 cm³ zawiesiny. Pomimo pozostawienia zawiesiny w spokoju w ciągu wielu dni w temperaturze 37°C aglutynacja komórek nie następuje.

Przykład IV. Królikowi, choremu na nowotwór (tumor), wstrzykuje się dożyl- nie wieloanetolosulfonian sodowy w ilości 15 mg na każdy kilogram żywej wagi. Po 1½ godz zwierzę zostaje zabite, o ile samo nie padło, poczem wyosobnia się masę tumorową i przerabia ją na zawiesinę komórkową. Zawiesina, otrzymana w ten sposób,

zupełnie nie wykazuje dążności do aglutynacji lub wykazuje ją tylko w stopniu nieznacznym.

Zastrzeżenia patentowe.

1. Sposób otrzymywania nieaglutynujących się zawiesin komórek tkanek zwierzęcych, znamieny tem, że zawiesinę wytwarza się ze świeżego materiału komórkowego w obecności substancyj, zmniejszających napięcie powierzchniowe lub powstrzymujących krzepnięcie krwi, które nie zmieniają znacznie komórek, najlepiej w obecności środków o działaniu antyseptycznem, albo też do otrzymanych zawiesin komórek tkanek zwierzęcych dodaje się wymienionych substancyj.

2. Sposób według zastrz. 1, znamieny tem, że wodne zawiesiny komórkowe, w których komórki są zaglutynowane, zadaje się substancjami wymienionego rodzaju.

3. Sposób według zastrz. 1, znamieny tem, że żywemu zwierzęciu, z którego ma być pobrany określony materiał komórkowy do wytworzenia zawiesin, podaje się substancje rodzaju, wymienionego w zastrz. 1, na pewien czas przed pobraniem materiału komórkowego.

I. G. Farbenindustrie
Aktiengesellschaft.
Zastępca Inż. J. Wyganowski,
rzecznik patentowy.