



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **83269** (13) **U**
(51) МПК
G01N 1/30 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

| | |
|--|---|
| (21) Номер заявки: u 2013 04756 | (72) Винахідник(и): Горальський Леонід Петрович (UA), Сокульський Ігор Миколайович (UA), Гуральська Світлана Василівна (UA), Колеснік Наталія Леонідівна (UA) |
| (22) Дата подання заявки: 15.04.2013 | |
| (24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 27.08.2013 | (73) Власник(и): ЖИТОМИРСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРОЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, бульвар Старий, 7, м. Житомир, 10008 (UA) |
| (46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.08.2013, Бюл.№ 16 | |

(54) СПОСІБ ВИГОТОВЛЕННЯ ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗРІЗІВ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

(57) Реферат:

Спосіб виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот включає витримання матеріалу, що досліджується, у фіксуючому розчині з наступним промиванням від останнього. Після цього піддають процедурі дегідратації в етилових спиртах зростаючої міцності. Потім здійснюють просочення матеріалу ущільнюючими речовинами з наступною заливкою його у парафін та виготовленням парафінового блока, нарізанням останнього на зрізи, розправленням і перенесенням їх на предметні стекла з наступними висушуванням. Потім здійснюють депарафінування та доведення до дистильованої води. При цьому фарбування зрізів здійснюють розчином галоціанін-хромових галунів шляхом нанесення на кожне скло зі зрізом розчину, нагрівають кожне скло з барвником і зрізом над полум'ям спиртівки до появи пухирців. Після цього промивають зафарбовані зрізи у проточній і дистильованій воді з наступними послідовним зневодненням в спиртах зростаючої міцності, просвітленням в ксилолі, заведенням їх у бальзам і покриттям покривним склом.

UA 83269 U

Корисна модель належить до ветеринарної та гуманної медицини, а саме гістохімічних методів досліджень, і може бути використана для виготовлення гістохімічних препаратів з метою сумарного виявлення нуклеїнових кислот.

Відомий спосіб виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот (метод Ейнарсона), при якому матеріал, що досліджується, витримують 2-3 тижні у фіксуєчому розчині з наступним промиванням від останнього, піддають процедурі дегідратації в етилових спиртах зростаючої міцності, проводять процедуру просочення матеріалу ущільнюючими речовинами з наступними заливкою його в парафін, виготовленням парафінового блока, нарізанням останнього на зрізи, розправленням і перенесенням їх на предметні стекла з наступними висушуванням і депарафінуванням, проводять фарбування зрізів галоціанін-хромовими галунами шляхом витримування їх в останньому впродовж 48 годин при кімнатній температурі, промивають зафарбовані зрізи у проточній і дистильованій воді з наступними послідовним зневодненням в спиртах зростаючої міцності, просвітленням в ксилолі, заведенням їх у бальзам і покриттям покривним склом (див. метод Ейнарсона. Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології. Навчальний посібник. - Житомир: "Полісся", 2005. - С. - 118-120).

Однак, згідно з методом Ейнарсона виявлення нуклеїнових кислот є тривалим, при якому зрізи у барвнику мають перебувати при кімнатній температурі 48 годин.

В основу корисної моделі поставлено задачу з удосконалення способу виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот шляхом зміни технології фарбування зрізів галоціанін-хромовими галунами, що прискорює термін отримання результатів дослідження.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот, при якому матеріал, що досліджується, витримують 2-3 тижні у фіксуєчому розчині з наступним промиванням від останнього, піддають процедурі дегідратації в етилових спиртах зростаючої міцності, проводять процедуру просочення матеріалу ущільнюючими речовинами з наступними заливкою його у парафін, виготовленням парафінового блока, нарізанням останнього на зрізи, розправленням і перенесенням їх на предметні стекла з наступними висушуванням, депарафінуванням та доведенням до дистильованої води, проводять фарбування зрізів розчином галоціанін-хромових галунів, промивають зафарбовані зрізи у проточній і дистильованій воді з наступними послідовним зневодненням в спиртах зростаючої міцності, просвітленням в ксилолі, заведенням їх у бальзам і покриттям покривним склом, згідно з корисною моделлю, фарбування зрізів галоціанін-хромовими галунами проводять шляхом нанесення на кожне скло зі зрізом 5-15 крапель даного розчину і нагрівання кожного скла з барвником і зрізом продовж 5-10 хвилин над полум'ям спиртівки до появи пухирців.

Виконання фарбування зрізів галоціанін-хромовими галунами шляхом нанесення на кожне скло зі зрізом 5-15 крапель даного розчину і нагрівання кожного скла з барвником і зрізом продовж 5-10 хвилин над полум'ям спиртівки до появи пухирців дозволяє провести специфічні хімічні реакції в даній тканині, внаслідок чого забезпечується утворення нерозчинних продуктів синтезу, у даному випадку ДНК і РНК, що локалізуються в певних місцях клітини чи міжклітинної речовини і які чітко видимі під мікроскопом та відрізняються від інших клітинних компонентів, що дозволить прискорити термін отримання результатів дослідження.

Застосування пропонованого способу виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот дозволяє забезпечити наступний технічний результат:

- прискорюється швидкість забарвлення;
- прискорюється інтенсивність абсорбування барвників;
- прискорюється взаємодія реактивів з продуктами гідролізу.

Крім того:

- прискорюється термін виготовлення гістопрепаратів;
- прискорюється термін отримання результатів дослідження.

Спосіб виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот здійснюють наступним чином.

Матеріал, що досліджується, витримують 2-3 тижні у фіксуєчому розчині з наступним промиванням від останнього водопровідною водою протягом 24-48 годин (в залежності від товщини відібраних шматочків матеріалу). Як фіксуєчий розчин використовують рідину Карнуа, 96° етиловий спирт, 10-12 %-ий розчин нейтрального формаліну. Далі матеріал піддають процедурі дегідратації в етилових спиртах зростаючої міцності (використовується 50°, 70°, 96° і абсолютний спирт). Проводять процедуру просочення даного матеріалу ущільнюючими речовинами з наступними заливкою його у парафін, виготовленням парафінового блока,

нарізанням останнього на зрізи, розправленням і перенесенням їх на предметні стекла для висушування і депарафінування та доводять до дистильованої води. Проводять фарбування зрізів розчином галоціанін-хромових галунів шляхом нанесення його (5-15 крапель) на кожне скло зі зрізом, після чого нагрівають скла разом з барвником і зрізом продовж 5-10 хвилин над полум'ям спиртівки до появи пухирців. При цьому зрізи набувають інтенсивного темно-синього або фіолетового кольору. При недостатньому їх зафарбовуванні (враховують товщину зрізів, структурні, фізико-хімічні властивості матеріалу) повторюють підігрівання. Для отримання хороших результатів зрізи після нагрівання іноді залишають у розчині барвника ще на деякий час (0,5-1 год.) при кімнатній температурі. Промивають зафарбовані зрізи у проточній і дистильованій воді по 2-3 хв. з наступним послідовним зневодненням в спиртах зростаючої міцності (використовується 50°, 70°, 96° і абсолютний спирт). Зневоднені зрізи просвітлюють у ксилолі і заводять їх у бальзам. Покривають покривним склом.

Результати реакції: Нуклеїнові кислоти забарвлюються у сіро-блакитний колір.

15 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот, у якому матеріал, що досліджується, витримують 2-3 тижні у фіксуючому розчині з наступним промиванням від останнього, піддають процедурі дегідратації в етилових спиртах зростаючої міцності, проводять процедуру просочення матеріалу ущільнюючими речовинами з наступними заливкою його у парафін, виготовленням парафінового блока, нарізанням останнього на зрізи, розправленням і перенесенням їх на предметні стекла з наступними висушуванням, депарафінуванням та доведенням до дистильованої води, проводять фарбування зрізів розчином галоціанін-хромових галунів, промивають зафарбовані зрізи у проточній і дистильованій воді з наступними послідовним зневодненням в спиртах зростаючої міцності, просвітленням в ксилолі, заведенням їх у бальзам і покриттям покривним склом, який **відрізняється** тим, що фарбування зрізів галоціанін-хромовими галунами проводять шляхом нанесення на кожне скло зі зрізом 5-15 крапель даного розчину і нагрівання кожного скла з барвником і зрізом продовж 5-10 хвилин над полум'ям спиртівки до появи пухирців.

30

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