



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **105982** (13) **C2**
(51) МПК
G01N 1/30 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2013 03111</p> <p>(22) Дата подання заявки: 14.03.2013</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.07.2014</p> <p>(41) Публікація відомостей про заяву: 10.07.2013, Бюл.№ 13</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2014, Бюл.№ 13</p>	<p>(72) Винахідник(и): Горальський Леонід Петрович (UA), Сокульський Ігор Миколайович (UA), Гуральська Світлана Василівна (UA), Колеснік Наталія Леонідівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ЖИТОМИРСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРОЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, бульвар Старий, 7, м. Житомир, 10008 (UA)</p> <p>(74) Представник: Стукало Олександр Павлович, реєстр. №218</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: EP 2469263 A1, 27.06.2012 WO 2009078386 A1, 25.06.2009 US 2010267571 A1, 21.10.2010 Горальський Л.П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології: навчальний посібник/ Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. - Житомир: Полісся, 2005.- С. 118-120</p>
--	--

(54) СПОСІБ ВИГОТОВЛЕННЯ ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗРІЗІВ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

(57) Реферат:

Винахід належить до ветеринарної та гуманної медицини і може бути використаний для виготовлення гістохімічних препаратів. Під час виготовлення гістохімічних препаратів фарбування зрізів галоціанін-хромовими галунами проводять шляхом нанесення на кожне скло зі зрізом 5-15 крапель розчину галоціанін-хромових галунів і нагрівання скла разом з барвником і зрізом продовж 5-10 хвилин над полум'ям спиртівки до появи бульбашок. Запропонований спосіб дозволяє скоротити термін виготовлення препаратів завдяки технології фарбування та диференційного підходу до матеріалу досліджень з урахуванням його структурних і фізико-хімічних властивостей.

UA 105982 C2

Винахід належить до ветеринарної та гуманної медицини, а саме до гістохімічних методів досліджень і може бути використаний 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, порізкою 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 стеклом (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 винаходу 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 за рахунок того, що в способі виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот, при якому матеріал, що досліджується, витримують 2-3 тижня 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, порізкою 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, відповідно до винаходу 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 бульбашок.

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 бульбашок 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 (використовуємо 50°, 70°, 96° і абсолютний спирт). Проводять процедуру просочення даного матеріалу ущільнюючими речовинами з наступними заливкою його у парафін, виготовленням парафінового блока, порізкою 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 стекла разом з барвником і зрізом продовж 5-10 хвилин над полум'ям спиртівки до появи бульбашок. При цьому зрізи набувають інтенсивний темно-синій або фіолетовий колір. 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 (використовуємо 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.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 15 Спосіб виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот, при якому матеріал, що досліджується, витримують 2-3 тижні у фіксуючому розчині з наступним промиванням від останнього, піддають процедурі дегідратації в етиловому спирті зростаючої міцності, проводять процедуру просочення матеріалу ущільнюючими речовинами з наступними заливанням його у парафін, виготовленням парафінового блока, порізкою останнього на зрізи, розправленням і перенесенням їх на предметні стекла з наступними висушуванням, депарафінуванням та розбавленням дистильованою водою, здійснюють 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 зрізів у бальзам і покриттям покривним склом, який **відрізняється** тим, що фарбування зрізів
- 20 галоціанін-хромовими галунами здійснюють 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 бульбашок.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

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