



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

211166

(11)

(B1)

(22) Prihlášené 12. 05. 80
(21) (PV 3272-80)

(51) Int. Cl.³
C 12 M 3/04
C 07 C 39/06

(40) Zverejnené 30. 06. 81

(45) Vydané 15. 02. 84

(75)
Autor vynálezu

SEKERKA VLADIMÍR doc. RNDr. CSc., BRATISLAVA

(54) Uzatváracie médium pre cytologickú mikroskopickú techniku

Vynález spadá do odboru histologickej mikroskopickej techniky. Týka sa uzatváracieho média pre cytologickú mikroskopickú techniku, ktoré umožňuje zjednodušiť a najmä urýchliť čas na uzavretie preparátu. Na tento účel sa používajú alkylfenoly s počtom uhľíkových atómov v alkyle 8 až 12, s výhodou nonylfenol.

Vynález sa týka uzatváracieho média pre cytologickú mikroskopickú techniku, ktorá umožňuje zjednodušiť a najmä urýchliť čas na uzavretie preparátu.

Doteraz známe média miešateľné s vodou, ako sú želatinové médium, laktofenol, Farrantovo médium, Apathyho sirup, Jonesovo, Downsovo alebo Andeého uzatváracie médium a iné sa používajú k príprave preparátov, ktoré je potrebné vyhodnotiť za krátku dobu. Sú to zmesi chemických látok s niektorými toxickými zložkami, ako napríklad kysličník arzenitý, kyselina pikrová alebo fenol. Pri ich použití dochádza v priebehu mikroskopovania k ich rýchlemu odparovaniu a tým ku znehodnoteniu kvalitného mikroskopického obrazu už po niekoľkých hodinách. Ak sa použijú média nemiešateľné s vodou, ako sú kanadský balzám, damarový lak, eukalyptova silica alebo syntetické pryskyrice je nevyhnutné uzatváraný objekt do určitého stupňa odvodniť a potom presýtiť látkou, ktorá rozpúšťa uzatváracie médium. Pre túto operáciu, ktorá predlžuje čas prípravy preparátu sa používajú organické rozpúšťadlá ako sú napríklad xylén, benzén, n-butanol, chloroform, tetrachlórmetán, ktoré sa rýchlo odparujú a zhoršujú pracovné prostredie.

Vyššie uvedené nedostatky sú odstránené u vynálezu popisujúceho uzatváracie médium pre cytologickú mikroskopickú techniku, ktorého podstatou je monoalkylfenol s počtom uhlíkov v alkyle 8 až 12, s výhodou nonylfenol.

Uzatváracie médium tohoto typu sa dá použiť v mikroskopickej technike pri príprave trvalých preparátov rýchlou beztlakovou technikou, pričom sa vylúči operácia odvodnenia a použitie zdraviu škodlivých rozpúšťadiel. Podstatne sa skráti čas na uzavretie preparátu, a to z 24 až 30 hodín na niekoľko sekúnd. Ďalšou dôležitou vlastnosťou je to, že po zdokumentovaní preparátu je možné z neho oddeliť podložné a krycie skličko, bez použitia rozpúšťadla ako je napríklad xylén a po umytí ich opäť použiť. Preparát môžeme uschovať ako trvalý preparát na dlhú dobu /až 12 mesiacov/, a to bez použitia orámovacej techniky a ďalšieho konzervovania. Uzatváracie médium podľa vynálezu sa neodparuje, má žiadaný index lomu, nepôsobí nepriaznivo na optiku mikroskopu.

Predmet vynálezu je použitý v nasledujúcich príkladoch, bez toho aby sa iba na tieto vzťahoval.

P r í k l a d 1

Biologický preparát, ako sú bunečné kultúry alebo buňky in vivo sa fixoval, maceroval a roztlak sa uskutočnil bežným spôsobom. Farbenie sa uskutočnilo tkz. rýchlou metódou, a to acetokarminom, acetoorceinom, acetoniagroinom alebo iným farbivom, so stečením farby. Po stečení farbiva v šikmej polohe sa ihneď na zafarbené buňky v monovrstve roztlaku kvaplo uzatváracie médium - nonylfenol. Preparát sa prikryl krycím sklíčkom, ktoré sa pritlačilo preparačnou ihlou, za odstránenia prebytočného farbiva a prejasnenia obrazu. Preparát vyhodnotený okamžite mal objekt pozorovania prejasnený so žiadaným indexom lomu a vyhodnotený po uschovaní počas dlhej doby /12 mesiacov/ pri pozorovaní v pravidelných časových intervaloch, bol obraz preparátu nezmenený v porovnaní s okamžitým vyhodnotením. V priebehu času neprišlo k znehodnoteniu preparátu alebo k zníženiu kvality pozorovaného obrazu ani k odpareniu použitého uzatváracieho média.

P r í k l a d 2

Biologický preparát bol spracovaný až po farbenie spôsobom popísaným v príklade 1. Zafarbenie sa uskutočnilo farbivami zmesami používanými pri príprave tkz. trvalých preparátov, ako je napríklad Feulgenovo farbenie. Ďalej sa použilo uzatváracie médium - nonylfenol. Účinky uzatváracieho média sú také ako v príklade 1.

P r í k l a d 3

Postupovalo sa ako v príklade 1 s tým rozdielom, že ako uzatváracie médium sa použil dodecylfenol. Účinky použitého média sú obdobné ako v príklade 1, vyhodnotený získaný preparát mal prejasnený objekt pozorovania a dal sa dlhodobe skladovať.

Uzatváracie médium podľa vynálezu šetrí chemikálie, veľmi rýchlo sa s ním manipuluje. Orámované preparáty sa dajú používať aj niekoľko rokov, pričom nedochádza k porušeniu štruktúry objektu. Jeho použitie šetrí zdravie pracovníkov. Látky používané ako uzatváracie médium sú medziprodukty používané pri syntéze neionových povrchov aktívnych látok a sú bežne dostupné.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Použitie alkylfenolov s počtom uhlíkov v alkyle 8 až 12 s výhodou nonylfenolu, ako uzatváracieho média pre cytologickú mikroskopickú techniku.