



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2006120240/15, 08.06.2006

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.06.2006

(45) Опубликовано: 20.02.2008 Бюл. № 5

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: SU 1296117 A1, 15.03.1987. ЛАБИНСКАЯ А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. - М.: Медицина, 1978, 394 с., с.103. CURRIE R.W. et al. "Induction of the heat shock response in rats modulates heart rate, creatine kinase and protein synthesis after a subsequent hyperthermic treatment": Cardiovasc. Res. 1990 Feb; - Vol.24, №2 - (см. прод.)

Адрес для переписки:

675000, Амурская обл., г.Благовещенск, ул.
Политехническая, 85, ФГОУ ВПО ДальГАУ

(72) Автор(ы):

Зарицкая Виктория Викторовна (RU),
Зарицкий Андрей Александрович (RU),
Мандро Николай Михайлович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (RU)

(54) СПОСОБ ВЗЯТИЯ КРОВИ У ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к физиологии, а именно к методам взятия крови при изучении влияния белковых препаратов на показатели естественной резистентности. Сущность способа заключается в том, что кровь у мышей собирают при помощи

декапитации головы животных, предварительно помещенных в термостат на 2-5 минут при температуре 40-42°C. Использование изобретения позволяет упростить взятие крови у белых мышей и увеличить количественные показатели собираемой крови и сыворотки. 4 табл.

(56) (продолжение):

pp.87-93. (реферат) [найдено 26.12.2006] Найдено из базы данных Entrez PabMed, PMID: 2328523. ЕФРЕМОВ А.В. и др. Изменение гормонально-метаболических показателей плазмы крови крыс в остром периоде после общей управляемой гипертермии. Бюллетень сибирской медицины, 2006, №2 (он-лайн) [найдено 26.12.2006].

RU 2 317 543 C1

RU 2 317 543 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.
G01N 33/48 (2006.01)
G01N 1/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2006120240/15, 08.06.2006**

(24) Effective date for property rights: **08.06.2006**

(45) Date of publication: **20.02.2008 Bull. 5**

Mail address:
**675000, Amurskaja obl., g.Blagoveshchensk,
ul. Politekhnikeskaja, 85, FGOU VPO Dal'GAU**

(72) Inventor(s):
**Zaritskaja Viktorija Viktorovna (RU),
Zaritskij Andrej Aleksandrovich (RU),
Mandro Nikolaj Mikhajlovich (RU)**

(73) Proprietor(s):
**FEDERAL'NOE GOSUDARSTVENNOE
OBRAZOVATEL'NOE UChREZhdENIE
VYSShEGO PROFESSIONAL'NOGO
OBRAZOVANIJa DAL'NEVOSTOChNYJ
GOSUDARSTVENNYJ AGRARNYJ UNIVERSITET
(RU)**

(54) **METHOD FOR BLOOD SAMPLING IN LABORATORY MICE**

(57) Abstract:

FIELD: physiology.

SUBSTANCE: the present innovation deals with blood sampling while studying the influence of protein preparations upon the values of natural resistance. Murine blood should be sampled with the help of decapitation of murine heads pre-

placed into a thermostat for about 2-5 min at 40-42°C. The innovation enables to simplify blood sampling in white mice and increase quantitative values of blood and serum under collection.

EFFECT: higher efficiency.
2 ex, 4 tbl

RU 2 3 1 7 5 4 3 C 1

RU 2 3 1 7 5 4 3 C 1

Изобретение относится к физиологии, а именно к взятию крови с последующим отделением сыворотки при изучении влияния белковых препаратов на показатели естественной резистентности.

Известен способ получения крови лабораторных животных с помощью декапитации, описанный в SU №1296117 А1 «Устройство для забора крови у мелких лабораторных животных», опубликованный 15.03.1987.

Недостатки данного способа заключаются в малых количествах собираемой крови, недостаточных для исследования физиологических показателей крови при влиянии белковых препаратов на организм животного.

Упрощение способа взятия крови у белых мышей и увеличение количественных и качественных показателей собираемой крови и сыворотки достигается тем, что кровь берут у белых мышей: контрольных и опытных (иммунизированных препаратом из костного мозга, белковой природы). Для этого отбирают здоровых животных, находящихся в одной весовой и возрастной категориях и в одном физиологическом состоянии. Формируют группы из контрольных и опытных животных. Животных помещают в одинаковые условия после иммунизации опытных и следят за их физиологическим состоянием до появления первого иммунного ответа на введенный антиген. Препарат для введения в заднюю подушечку мыши получают из костного мозга трубчатых костей диких и сельскохозяйственных животных путем осаждения белков из клеток костного мозга с помощью 10% раствора трихлоруксусной кислоты и последующего диализа белкового раствора.

Взятие крови у мышей обеих групп проводят декапитацией головы животного. Животных предварительно выдерживают в термостате в течение 2-5 минут при температуре 40-42°C (происходит повышение обмена веществ и разжижение крови мышей). Затем животное с помощью пинцета хватают за складку кожи на загривке, фиксируют и отсекают голову стерильными ножницами. Кровь собирают с помощью воронки в тонкие пробирки Уленгута до тех пор, пока происходят предсмертные судорожные конвульсии тела животных, и кровь порциями выбрасывается в воронку.

Кровь после взятия 25-30 мин выдерживают в термостате (35...37°C), затем сгусток ее обводят тонкой металлической палочкой (отделение сгустка от стенок сосуда) и ставят на 16-18 часов в холодильник. Сыворотку отсасывают пипеткой с помощью груши, переносят в стерильный сосуд, закрывают крышкой и хранят в холодильнике. Таким образом, можно получить до 1,5...2 мл крови и ≈0,5 мл сыворотки.

Пример 1.

Беспородных белых мышей, самцов в одной возрастной категории (4-6 месяцев) массой $18,8 \pm 0,3$ г иммунизируют препаратом из костного мозга лисиц, содержащим 50,3 г/л общего белка в своем составе (таблица 1), в подушечку задней левой лапки в дозе 0,025 мл на мыш. Через 7-8 дней от животных опытных и контрольных групп собирают кровь для исследования сыворотки на общий белок и его фракции. Проводят декапитацию головы животных, не помещая их предварительно в термостат. Собирают кровь и отделяют сыворотку как описано выше. Таким образом, получают до $0,5 \pm 0,04$ мл крови.

Проба	Общий белок (г/л)	Альбумины (г/л)	Глобулины (г/л)					$\gamma_1 + \gamma_2$	$\% \sum \gamma_1 + \gamma_2$
			α_1	α_2	β	γ_1	γ_2		
1	50,3	6,18	7,06	10,59	11,47	11,47	3,53	15,00	29,82
2	50,3	6,29	7,19	10,78	10,78	10,78	4,48	15,26	30,33
3	50,3	7,06	8,83	11,47	8,83	10,59	3,52	14,11	28,05
4	50,3	6,40	9,15	10,97	9,15	11,89	2,74	14,63	29,09
Средние данные	50,3	$6,48 \pm 0,2$	$8,06 \pm 0,7$	$10,95 \pm 0,4$	$10,23 \pm 0,7$	$11,18 \pm 0,4$	$3,57 \pm 0,3$	$14,75 \pm 0,3$	$28,32 \pm 0,5$

Пример 2.

Иммунизируют лабораторных мышей белковым препаратом из костного мозга лисиц по примеру 1, но перед забором крови методом декапитации животных помещают в термостат

на 2-5 минут при температуре 40-42°C. Таким образом, получают 1,7±0,07 мл крови и 0,48±0,01 мл сыворотки. В таблицах 2 и 3 показаны данные исследования крови мышей, полученной заявленным способом, разделенных на две группы: с нормальной температурой тела (контроль) и нагреваемые в термостате, а в таблице 4 - разность средних показателей электрофореза, отобранной сыворотки крови мышей.

5

Группы		Палочкоядерные нейтроф.	Сегментоядерные нейтроф.	Моноциты	Эозинофилы	Лимфоциты
Контроль	M±m	8,3±0,51	47,9±1,0	2,1±0,04	3,2±0,30	38,2±0,38
	%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Нагреваемые животные	M±m	8,3±0,11	48,1±0,16	2,1±0,17	3,3±0,18	38,2±0,20
	%	100,0	100,4	100,0	103,1	100,0

10

При увеличении температуры тела животных количество и видовой состав лейкоцитов изменились незначительно в сравнении с контрольной группой животных.

15

Показатели	Температура тела мышей, °C	
	37,5	38,3
1	2	3

20

Лейкоциты	6,09±0,070	6,15±0,07
Общий белок	83,7±0,45	85,4±1,32
Фагоцитарная активность	25,8±1,57	29,6±1,11

25

По данным таблицы 3 видно, что показатели клеточной и гуморальной защиты животных с температурой тела 38,3°C изменились незначительно в сторону увеличения. Показатели ФА - на 14,7%, общего белка - на 2,03% в сравнении с контролем.

30

Показатели электрофореза г/л	Лабораторные мыши		Разница показателей	P	
	контроль	опыт			
Общий белок	49,5±0,91	85,4±1,32	+25,90	<0,001	
Альбумины	12,0±0,64	25,0±1,41	+12,93	<0,001	
Глобулины	α ₁	7,0±0,40	11,4±0,43	+4,42	<0,001
	α ₂	7,3±0,28	11,7±0,85	+4,44	<0,001
	β	9,1±0,33	10,3±0,72	+1,21	>0,05
	γ ₁	10,3±0,26	20,3±0,73	+10,05	<0,001
	γ ₂	3,2±0,13	6,4±0,42	+3,28	<0,001
γ ₁ +γ ₂	13,6±0,18	26,8±0,41	+13,2	<0,001	
%Σ γ ₁ +γ ₂	27,6±0,43	31,4±0,59	+4,4	<0,001	

35

40

Отличительным преимуществом предлагаемого способа взятия крови у мышей является доступность предложенного способа, что позволяет повысить выход собираемой крови и сыворотки, не изменяя при этом ее качественные показатели, и изучить влияние иммуностимулирующих препаратов на организм животного. Так, например, у опытных животных, иммунизированных костномозговым препаратом, в 1,7 раз увеличилось содержание общего белка и в 1,9 раз γ₁+γ₂ глобулинов в сыворотке крови по сравнению с контролем.

45

Формула изобретения

50

Способ взятия крови у лабораторных мышей для определения концентрации общего белка, включающий забор крови при помощи декапитации животных, пробы которой помещают в микропробирки, пригодные для центрифугирования, отличающийся тем, что кровь собирают от животных, предварительно помещенных в термостат на 2-5 мин при температуре 40-42°C.