



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

208 595

(11)

(B1)

[51] Int. Cl.³

C 12 M 3/00

(22) Přihlášeno 25 10 79

(21) PV 7252-79

(40) Zveřejněno 31 10 80

(45) Vydáno 31 10 83

(75)

Autor vynálezu

MANDYS Václav, MUDr., Praha

(54) Dvojitá kultivační komůrka pro histochemické vyšetřování buněčných linií

1

2

Vynález se týká dvojitě kultivační komůrky pro histochemické vyšetřování buněčných linií.

Histochemické vyšetřování tkání a orgánů se běžně provádí tak, že se tkáňový bloček zmrazí a nakrájí se pomocí kryostatu na tenké řezy. Histochemické reakce se mohou provádět buď na volných řezech nebo na řezech fixovaných na podložních sklíčkách. Další možností je provádění histochemických reakcí na semipermeabilních membránách s použitím gelového histochemického média. Touto metodou lze dobře detekovat i difuzibilní enzymy, které jsou u výšepospaných dvou metod prakticky neprokazatelné.

Histochemické vyšetřování buněčných linií se provádí tak, že buněčná suspenze se kultivuje na krycích sklíčkách v Petriho miskách a pak se provádějí histochemické reakce obdobně jako u kryostatových řezů fixovaných na podložních sklíčkách.

Uvedené nedostatky odstraňuje podle vynálezu dvojitá kultivační komůrka pro histochemické vyšetřování buněčných linií za použití semipermeabilní membrány. Její podstata spočívá v tom, že je tvořena horním válečkem a spodním válečkem, oddělenými navzájem semipermeabilní membránou, přičemž spodní váleček je umístěn v Petriho misce pro fyziologický roztok a horní váleček je přikryt víčkem Petriho misky.

Výhoda dvojitě kultivační komůrky spočívá v tom, že umožňuje kultivaci buněk na semipermeabilní membráně a zároveň pro-

vedení histochemické reakce přímo in situ na kultivovaných buňkách po odsátí média a jejich zaschnutí. Umožňuje vyšetřování buněčných enzymů, jejichž detekce je možná pouze na semipermeabilních membránách a která dříve byla v buněčných liniích prakticky nemožná. Další výhodou je, že buňky nejsou poškozovány ani zmrazením ani krájením a tím je možnost vzniku artefaktů na minimum. V neposlední řadě je výhodou dvojitě kultivační komůrky její cenová dostupnost. Pořizovací cena je nízká a navíc je možné skleněné válečky používat opakovaně.

Vynález je dále blíže popsán na příkladu provedení podle připojeného výkresu, na němž je v nárysu z řezu nakreslena dvojitá kultivační komůrka podle vynálezu.

Komůrka sestává ze dvou stejných skleněných válečků 1, 2. Na spodním válečku 2 je upevněna pomocí pryžového kroužku 3 semipermeabilní membrána 4. Horní váleček 1 je přitmělen pomocí silikonového tmeľu 5, který je pro tkáňové kultury netoxický, v místě semipermeabilní membrány 4. Tím vznikne válcovitý prostor rozdělený uprostřed semipermeabilní membránou 4. Oba válečky 1, 2 i semipermeabilní membrána 4 musí být před sestavením komůrky tkáňově umyty. Sestavená komůrka se sterilizuje autoklárováním.

Při kultivaci je komůrka ve vertikální poloze. Do prostoru horního válečku 1 se napipetuje buněčná suspenze 6. Tím je komůrka připravena pro kultivaci buněk. Umístí

se do sterilní Petriho misky 7 se sterilním fyziologickým roztokem a horní váleček 1 se přikryje víčkem 9 Petriho misky, aby nedocházelo k odpařování média. Buňky se kultivují v hermeticky uzavřeném prostoru nebo v inkubátoru s 5% kyslíčnicku uhličitého v atmosféře při teplotě 37 °C. Po 4 dnech dojde k optimální proliferaci buněk, které hned na počátku kultivace sedimentovaly na semipermeabilní membráně 4, a tím jsou dá-

ny podmínky pro jejich histochemické vyšetření.

Médium se odpipetuje a semipermeabilní membrána 4 se dvakrát opláchne fyziologickým roztokem, aby byly odstraněny zbytky média. Tak se horní váleček 1 i se silikonovým tmelem 5 oddělí od spodního válečku 2. Po zaschnutí buněk se provede histochemická reakce stejným způsobem jako u řezů na semipermeabilní membráně 4.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Dvojitá kultivační komůrka pro histochemické vyšetřování buněčných linií za použití semipermeabilní membrány význačná tím, že je tvořena horním válečkem (1) a spodním válečkem (2), oddělenými navzá-

jem semipermeabilní membránou (4), přičemž spodní váleček (2) je umístěn v Petriho misce (7) pro fyziologický roztok a horní váleček (1) je přikryt víčkem (9) Petriho misky.

1 výkres

