



МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 120471

(13) U

(51) МПК

A61D 19/02 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2017 01753**

(22) Дата подання заявки: **23.02.2017**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.11.2017**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.11.2017, Бюл.№ 21**

(72) Винахідник(и):

**Мегель Юрій Євгенович (UA),
Рибалка Антоніна Іванівна (UA),
Чалий Ігор Вільович (UA),
Коваленко Світлана Миколаївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ СІЛЬСЬКОГО
ГОСПОДАРСТВА ІМЕНІ ПЕТРА
ВАСИЛЕНКА,
вул. Алчевських, 44, м. Харків, 61002 (UA)**

(54) СПОСІБ СЕГМЕНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ

(57) Реферат:

Спосіб сегментації ембріонів включає встановлення фокусної відстані, візуальне поєднання променя лазера з зародком, імпульсну дію на зародок із частотою, тривалість, візуальний контроль ділення. Встановлення фокусної відстані виконують на поверхні розчину, в якому на дні чашки знаходиться ембріон. Відстань між сфокусованим лазерним випромінюванням та ембріоном визначається мінімальним значенням нагріву на поверхні оболонки ембріона при одноразовій дії лазерного імпульсу і його тривалістю, та виникненням хвилі тиску в розчині, що приводить до розриву оболонки і міжклітинних зв'язків бластоцисти на окремі сегменти в процесі її розповсюдження.

UA 120471 U

Корисна модель належить до біотехнології відтворення та селекції сільськогосподарських тварин методом штучного отримання монозиготних тварин шляхом сегментації бластомерів зиготи за допомогою лазерного оптико-акустичного ефекту з подальшою трансплантацією частин бластомерів гормонально підготовленим тваринам-реципієнтам.

Відомий спосіб підвищення якості лазерної сегментації ембріона базується на наступних операціях: визначається стадія розвитку ембріона, кількість зародків та структура їх розташування, радіус кулі ембріона; задається допустима температура ембріона; розраховується траєкторія та місце ділення ембріона лазерним променем; знаходиться радіус кола, відповідного місцю перетинання ембріона; у відповідності зі значенням цього радіусу здійснюється корегування потужності лазера шляхом множення базової потужності лазера на відповідний коефіцієнт корегування; здійснюється встановлення параметрів лазера, далі лазер діє на ембріон. [Патент України № 62051. МПК А61D 19/02. 2011. Бюл. № 15 Спосіб підвищення якості лазерної сегментації ембріона. Путятін В.П. та ін.].

Недоліком цього способу є те, що спосіб має значну кількість додаткових операцій, які здійснюються перед початком сегментації ембріона, що потребує значної тривалості часу та використання ручної праці, а також сприйняття ембріона як одне ціле, без урахування внутрішньої структури зародка, що знижує точність корегування параметрів лазера.

Найбільш близьким до запропонованого, за сукупністю ознак, є спосіб одержання монозиготних тварин [Зубець М.В., Мегель Ю. Є. Получение монозиготных животных методом лазерного деления ранних эмбрионов. / Журнал "Вісник аграрної науки". - 1992. - № 11. - С. 33-36.]. Метод лазерного ділення ранніх ембріонів полягає в установці фокусної відстані, візуальному поєднанні променя лазера з зародком, імпульсній дії на зародок із заданою частотою і тривалістю, візуальному контролю ділення.

Недоліком вказаного способу є неточність фокусування лазерного випромінювання, внаслідок чого страждає зародкова клітина, отримуючи опіки на значній поверхні.

В основу корисної моделі поставлена задача підвищення кількості сегментів бластоцисти (зародка), з використанням лазерного оптико-акустичного ефекту, з метою зменшення травмованості за рахунок відсутності температурного нагріву окремих клітин сегментів при термічному діленні ембріона.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі сегментації ембріонів, який полягає в установці фокусної відстані, візуальному поєднанні променя лазера з зародком, імпульсній дії на зародок із частотою і тривалістю, візуальному контролю ділення, згідно з корисною моделлю, встановлення фокусної відстані виконують на поверхні розчину, в якому на дні чашки знаходиться ембріон, відстань між сфокусованим лазерним випромінюванням та ембріоном визначається мінімальним значенням нагріву на поверхні оболонки ембріона при одноразовій дії лазерного імпульсу і його тривалістю, та виникненням хвилі тиску в розчині, що приводить до розриву оболонки і міжклітинних зв'язків бластоцисти на окремі сегменти в процесі при її розповсюдженні.

Суть запропонованого способу пояснюється на кресленні (фіг. 1) і полягає в наступному. На поверхні розчину або в самому розчині створюють локальне поглинання лазерного випромінювання, що приводить до його нагріву і випаровування або виникнення пробою та, як результат, появи звукової хвилі. З області фокусування, при заданій тривалості імпульсу лазерного випромінювання, розповсюджується сферична хвиля стискання, яка діє в напрямку перпендикулярно поверхні розчину. З метою випаровування рідини необхідно створити перевищення енергії поглинання випромінювання лазера в одиницю рідини $\frac{\partial \theta}{\partial V}$ над прихованою питомою теплотою випарювання. В разі випаровування необхідно дотримуватись відношення

$$\tau = \rho T / \mu P,$$

де τ - тривалість лазерного імпульсу, ρ - густина рідини, T - питома теплота випарювання, μ - показник поглинання, P - потужність лазера.

Звідси видно, що в разі підвищення потужності лазера процес випаровування зменшується. Таким чином, регулюючи довжину лазерного імпульсу, досягається необхідна інтенсивність випромінювання, тобто амплітуда звукової хвилі, яка розриває оболонку ембріона (зону пеллюцида) і далі, в процесі розповсюдження, розриває міжклітинні зв'язки бластоцисти та створює сегменти ембріона, які в подальшому використовуються для трансплантації.

Позитивним рішенням способу є те, що використання оптико-акустичного лазерного ефекту не травмує клітини ембріону за рахунок значного термонагріву, що виникає в разі прямої дії на поверхню ембріона (який в точці розрізання оболонки та бластоцисти має величину понад 100 °C).

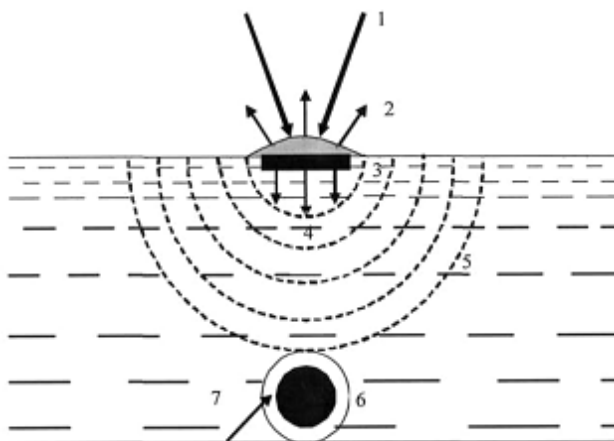
При пошуку в патентній та науково-технічній літературі не знайдено об'єктів з ознаками, подібними до ознак технічного рішення, що заявляється, на підставі чого можливо зробити висновок про відповідність його критерію - суттєві відмінності.

На Фіг. 1 наведено схему отримання сегментів ембріона, де 1 - лазерне випромінювання, 2 - випарювання, 3 - випарювальний об'єкт, 4 - хвиля стискання в розчині, 5 - сферична хвиля, 6 - ембріон, 7 - бластоциста.

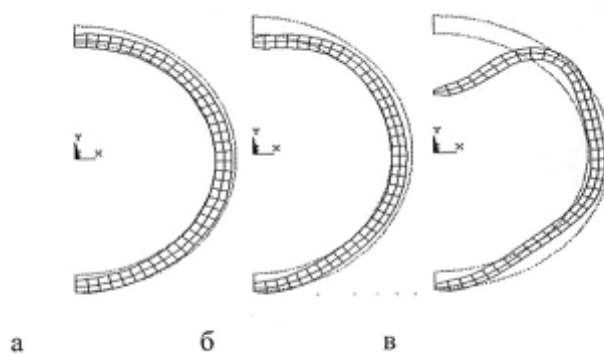
На Фіг. 2 показано процес математичного моделювання розриву оболонки (зона пеллюцида) ембріона в різні інтервали часу під дією хвилі стискання а) $t=0,25 \cdot 10^{-4}$ сек.; б) $t=0,5 \cdot 10^{-4}$ сек.; в) $t=1,0 \cdot 10^{-4}$ сек.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб сегментації ембріонів, що включає установлення фокусної відстані, візуальне поєднання променя лазера з зародком, імпульсну дію на зародок із частотою та її тривалістю, візуальний контроль ділення, який **відрізняється** тим, що встановлення фокусної відстані виконують на поверхні розчину, в якому на дні чашки знаходиться ембріон, відстань між сфокусованим лазерним випромінюванням та ембріоном визначається мінімальним значенням нагріву на поверхні оболонки ембріона при одноразовій дії лазерного імпульсу і його тривалістю, та виникненням хвилі тиску в розчині, що приводить до розриву оболонки і міжклітинних зв'язків бластоцисти на окремі сегменти в процесі її розповсюдження.



Фіг. 1



а) $t=0,25 \cdot 10^{-4}$ сек; б) $t=0,5 \cdot 10^{-4}$ сек; в) $t=1,0 \cdot 10^{-4}$ сек.

Фіг. 2

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601