



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

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2017 01753</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>23.02.2017</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.11.2017</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.11.2017, Бюл.№ 21</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Мегель Юрій Євгенович (UA), Рибалка Антоніна Іванівна (UA), Чалий Ігор Вільович (UA), Коваленко Світлана Миколаївна (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА ІМЕНІ ПЕТРА ВАСИЛЕНКА, вул. Алчевських, 44, м. Харків, 61002 (UA)</b></p>
--	--

## (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, тривалістю, 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.

5 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 10 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.]

15 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.

20 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.

25 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.

30 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 35 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.

40 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 45 перевищення енергії поглинання випромінювання лазера в одиницю рідини  $\partial\theta/\partial V$  над прихованою питомою теплотою випарювання. В разі випаровування необхідно дотримуватись відношення

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

50 де  $\tau$  - тривалість лазерного імпульсу,  $\rho$  - густина рідини,  $T$  - питома теплота випарювання,  $\mu$  - 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 55 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 °С).

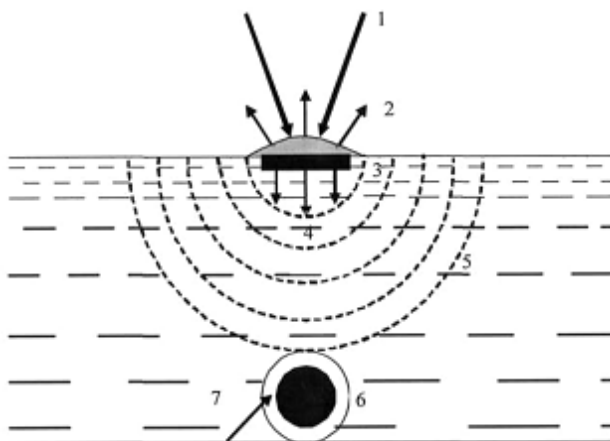
При пошуку в патентній та науково-технічній літературі не знайдено об'єктів з ознаками, подібними до ознак технічного рішення, що заявляється, на підставі чого можливо зробити висновок про відповідність його критерію - суттєві відмінності.

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.

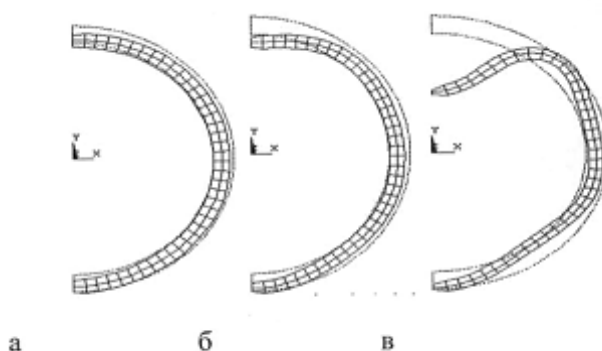
На Фіг. 2 показано процес математичного моделювання розриву оболонки (зона пеллюцида) ембріона в різні інтервали часу під дією хвилі стискання а)  $t=0,25 \cdot 10^{-4}$  сек.; б)  $t=0,5 \cdot 10^{-4}$  сек.; в)  $t=1,0 \cdot 10^{-4}$  сек.

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 тривалість, 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