

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 125982

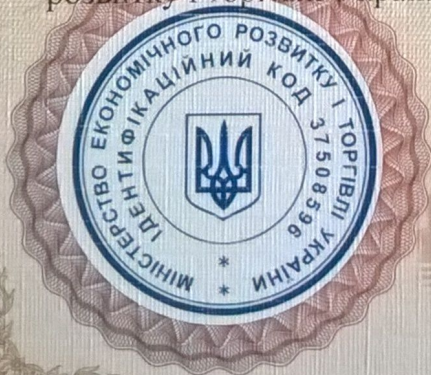
**СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ УТОПЛЕННЯ ЗА БІОЛОГІЧНИМ
МАТЕРІАЛОМ ТА ПРОБОЮ ВОДИ З ВОДОЙМИ У
ПОЛІМЕРАЗНІЙ ЛАНЦЮГОВІЙ РЕАКЦІЇ ЗА ГЕНЕТИЧНИМ
ПРОФІЛЕМ ЦІАНОБАКТЕРІЇ РОДУ MICROCYSTIS**

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **25.05.2018**.

Заступник міністра економічного розвитку і торгівлі України

М.І. Тігарчук





УКРАЇНА

(19) UA (11) 125982 (13) U

(51) МПК

C12Q 1/686 (2018.01)

G01N 33/18 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: u 2018 01091

(22) Дата подання заявки: 05.02.2018

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: 25.05.2018(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: 25.05.2018, Бюл.№ 10(72) Винахідник(и):
Волошиневич Володимир
Мирославович (UA),
Касала Роман Олегович (UA)(73) Власник(и):
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ
ЗАКЛАД "ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ",
вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, 76018
(UA)(74) Представник:
Чурпій Ігор Костянтинович**(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ УТОПЛЕННЯ ЗА БІОЛОГІЧНИМ МАТЕРІАЛОМ ТА ПРОБОЮ ВОДИ З ВОДОЙМИ У ПОЛІМЕРАЗНІЙ ЛАНЦЮГОВІЙ РЕАКЦІЇ ЗА ГЕНЕТИЧНИМ ПРОФІЛЕМ ЦІАНОБАКТЕРІЇ РОДУ MICROCYSTIS**

(57) Реферат:

Спосіб діагностики утоплення за біологічним матеріалом та пробєю води з водойми у полімеразній ланцюговій реакції за генетичним профілем ціанобактерії роду Microcystis включає діагностику утоплення, яка проводиться за допомогою пари специфічних олігонуклеотидних праймерів методом полімеразно-ланцюгової реакції для визначення наявності ДНК ціанобактерії роду Microcystis, а саме фрагмента гена 16S rRNA у тканинах мишей та пробах води, для того, щоб встановити факт та місце утоплення.

UA 125982 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до судової медицини, молекулярної біології, біотехнології та судово-медичної імунології, і може бути використана для судово-медичної діагностики утоплення та дослідницьких робіт.

5 За даними різних авторів щорічно у світі помирає від утоплення до 350 тис. людей, а в Україні ця цифра становить 5-6 тис. [1]. Тому правильний судово-медичний діагноз дуже важливий для встановлення причини смерті та місця утоплення при механічній асфіксії через утоплення. Іноді для приховування слідів злочину трупи можуть переміщати з однієї водойми до іншої, чи можлива також імітація утоплення. У таких ситуаціях гранично важливою задачею є встановлення факту утоплення та місця утоплення.

10 Найбільш подібний до корисної моделі аналог - виявлення діатомового планктону у тканинах ізольованих нирок методом світлооптичної мікроскопії [2]. Для визначення діатомових водоростей з трупів, які померли внаслідок утоплення, надсилають нерозрізану нирку. Наступним етапом є приготування мінералізату із тканини нирки з використанням концентрованої сірчаної та азотної кислот. Осад отриманого мінералізату поміщається на предметне скло та проводиться мікроскопія у прямому прохідному світлі. Про утоплення буде свідчити наявність 20-30 діатомових водоростей.

15 Недоліком даного методу є способи обробки матеріалу, що направляється на дослідження, в результаті застосування концентрованих кислот для руйнування органів, що значно ускладнює, а іноді і виключає можливість виявлення діатомового планктону. При цьому виявлення інших видів фітопланктону у мінералізатах нирки трактується як псевдопланктон, та не має діагностичного значення.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб діагностики утоплення за біологічним матеріалом та пробами води з водойм у полімеразній ланцюговій реакції за генетичним профілем ціанобактерій роду *Microcystis*, що суттєво відрізняє його від способу з використанням світлооптичної мікроскопії.

25 Поставлена задача вирішується тим, що для визначення ціанобактерії роду *Microcystis* за методом полімеразної ланцюгової реакції необхідно виконати 3 етапи:

1) денатурація нуклеїнової кислоти, що досліджується;

2) ренатурація нуклеїнової кислоти з олігонуклеотидними праймерами, що обмежують ампліфіковану ділянку, при цьому використовуються синтезовані специфічні олігонуклеотидні праймери: прямий 27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' та зворотний 809R 5'-GCTTCGGCACGGCTCGGGTCGATA-3', що фланкують фрагмент гена 16S rRNA з утворенням фрагментів довжиною 782 bp [3]. Аналітична специфічність праймерів підтверджена результатами, отриманими за допомогою комп'ютерної програми "BLAST" [4];

3) синтез обмеженої праймерами ділянки ДНК до рівня виявлення.

Зазвичай, кожен етап триває 3-5 хвилин, а число циклів при проведенні ПЛР становить 30.

Електрофоретичне розділення продуктів ПЛР у поліакриламідному або агарозному гелі дозволяє чітко визначати наявність ДНК роду *Microcystis* за відповідним розміром ампліфікованого фрагмента у біологічних тканинах мишей, які були утоплені в експерименті.

40 Порівняння смужок на електрофореограмах, отриманих при ПЛР дослідженні біологічних тканин із трупів мишей, які померли при експериментальному утопленні, та електрофореограх, отриманих при відборі проб води з місця утоплення, дозволяє встановити факт та місце утоплення за генетичним профілем ціанобактерій роду *Microcystis*.

45 Запропонований спосіб діагностики утоплення за біологічним матеріалом та пробами води з водойм має наступну перевагу: дозволяє встановити факт та місце утоплення. Метод ПЛР дослідження є високочутливим методом при виявленні фітопланктону. Корисна модель дозволяє визначати утоплення з використанням мінімальної кількості матеріалу для дослідження та мінімальної кількості фітопланктону в порівнянні з мікроскопією у прямому прохідному світлі. Успішне застосування методу полімеразно-ланцюгової реакції дозволяє визначити утоплення з використанням доказових методів діагностики, що особливо важливо у

50 світлі науково-доказової медицини.

Джерела інформації:

1. Шевчук М.М. Механічна асфіксія внаслідок утоплення як причина смерті по Львівській області за 2010-2014 роки за результатами роботи Львівського обласного бюро судово-медичної експертизи / М.М. Шевчук, В.І. Григорійчук, О.Ф. Іванов // Судово-медична експертиза. - 2015. - № 1. - С. 72-74.

2. Методы исследования на диатомовый планктон при судебно-медицинской диагностике смерти от утопления (методические рекомендации) [Галицкий Ф.А., Алтаева А.Ж., Калининцева Т.П., Иодес Ю.В.]. - Алматы, 2007. - 25 с.

3. Detection of Microcystin-Producing Cyanobacteria in a Reservoir by Whole Cell Quantitative PCR / Li Li, Ruibao Jia, Yumei Liu, Huixin Zhang // Procedia Environmental Sciences. - 2011. - № 10. - P. 2272-2279.

4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>

5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

10 Спосіб діагностики утоплення за біологічним матеріалом та пробою води з водойми у полімеразній ланцюговій реакції за генетичним профілем ціанобактерії роду *Microcystis*, який відрізняється тим, що діагностика утоплення проводиться за допомогою пари специфічних олігонуклеотидних праймерів методом полімеразно-ланцюгової реакції для визначення наявності ДНК ціанобактерії роду *Microcystis*, а саме фрагмента гена 16S rRNA у тканинах мишей та пробах води, для того, щоб встановити факт та місце утоплення.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

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