

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042254**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.01.27

(51) Int. Cl. **H01J 37/20** (2006.01)

(21) Номер заявки
202192721

(22) Дата подачи заявки
2021.11.02

(54) **ВАКУУМНЫЙ АППАРАТ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ ФИКСАЦИИ ОБЪЕКТОВ В ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ**

(43) **2023.01.26**

(56) **БУДАНЦЕВ А.Ю.** Устройство для вакуумной обработки гистологического материала// Цитология, 2015, т. 57, № 10, с. 742-744
RU-C2-2564250
RU-C1-2710049
US-A1-20090181448

(96) **2021/031 (AZ) 2021.11.02**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ГАСЫМОВ ЭЛЬДАР КОЧЕРИ ОГЛЫ;
АЛИЕВ РАШИД АЛИ ОГЛЫ (AZ)**

(72) Изобретатель:
**Гасымов Эльдар Кочери оглы,
Алиев Рашид Али оглы, Рзаев Фуад
Гусейнали оглы (AZ)**

(74) Представитель:
Гасымов Э.К. (AZ)

(57) Изобретение относится к устройствам, предназначенным для вакуумной подготовки биологических образцов для электронной микроскопии, и может быть использовано в различных областях науки, в частности в гистологии. Вакуумный аппарат, используемый для фиксации объектов в электронной микроскопии, состоит из электрической части, включающей контроллер, который поддерживает установленную температуру с точностью до $\pm 1,5^{\circ}\text{C}$, датчик NTC-10 кОм, нагревателя на 500 Вт внутри ванны, сигнальной лампы, предохранителя на 5 А, включателя сетевого питания и механической части, состоящей из корпуса со следующими частями - водяная баня, верхняя панель, боковые плоскости, камера для образцов, верхняя крышка камеры, прокладка камеры, в вакуумную камеру размещают держатель с образцами, откачку воздуха проводят безмасляным диафрагменным насосом. Устройство имеет следующие технические характеристики: 1) напряжение питания - 220 В, 50 Гц; 2) потребляемая мощность - 600 В; 3) диапазон температурной регулировки 20-90°; 4) точность поддержания температуры $\pm 1,5^{\circ}\text{C}$; 5) вес без воды - 3 кг; 6) габариты - 330×200×170 мм.

B1**042254****042254****B1**

Изобретение относится к устройствам, предназначенным для вакуумной подготовки биологических образцов для электронной микроскопии, и может быть использовано в различных областях науки, в частности в гистологии.

Как известно, целью вакуумной инфльтрации образцов ткани является удаление воздуха из ткани при процессе фиксации материала, ускорение проникновения фиксаторов в ткань и инфльтрация фиксированного материала парафином в вакуумной среде.

В качестве прототипа данного изобретения авторы выбрали устройство для вакуумной обработки гистологического материала [1], главными элементами которого являются терморегулятор и манометр, позволяющие регулировать температуру инфльтрации тканевого материала и контролировать уровень разряжения воздуха в кювете. Несмотря на хорошую сохранность структуры клеток и тканей при микроскопическом анализе препаратов, данное устройство имеет ряд недостатков:

1) данное устройство предназначено для получения срезов с целью фиксации в парафине только при световой микроскопии. Известно, что толщина таких срезов должна быть не менее 5 мкм;

2) после фиксации образцов на данном устройстве не происходит полного обезвоживания материала, в связи с чем невозможно сделать ультратонкий срез на микротоме для проведения электронной микроскопии.

Задачей изобретения является создание устройства, которое бы устранило вышеперечисленные недостатки.

Задача решена тем, что в разработанном вакуумном устройстве нагреватель для равномерного распределения тепла размещен под камерой на дне водяной бани.

Сущность изобретения состоит в следующем. Прибор состоит из электрической и механической части. Электрическая часть состоит из контроллера (термостата Enda ET 2411), который поддерживает установленную температуру с точностью до $\pm 1,5^{\circ}\text{C}$ (фиг. 1D). Температура в объекте измеряется с помощью датчика NTC-10 кОм и подается на контроллер для дальнейшей обработки (фиг. 1B и 3A). Внутри ванны размещен нагреватель на 500 Вт (фиг. 4.10), который нагревает водяную баню до установленной температуры на контроллере (фиг. 4.8). Сигнальная лампа L_1 служит для визуального контроля состояния прибора (фиг. 1C). С целью безопасности установлен предохранитель F_1 на 5 А, предохраняющий устройство от коротких замыканий в приборе и нагревателе (фиг. 4.11). K_1 - включатель сетевого питания (фиг. 4.12).

Механическая часть прибора состоит из корпуса, изготовленного из следующих материалов:

- А) водяная баня - нержавеющая сталь (фиг. 4.13);
- Б) верхняя панель - нержавеющая сталь (фиг. 1);
- В) боковые плоскости из пластмассы (фиг. 1);
- Г) камера для образцов - алюминий (фиг. 2);
- Д) верхняя крышка камеры из пластмассы (фиг. 3.2);
- Е) прокладка камеры из силикона (фиг. 3.4).

В вакуумную камеру размещается держатель N с образцами в количестве 6 штук (фиг. 2). Откачка воздуха происходит с помощью безмасляного диафрагменного насоса марки KNF 079112. Нагреватель с целью равномерного распределения тепла размещен под камерой на дне водяной бани. Контроллер и другие электрические элементы размещаются в пластмассовой коробке над водяной баней с целью исключения попадания воды на электрическую часть.

Технические характеристики аппарата.

1. Напряжение питания - 220 В, 50 Гц.
2. Потребляемая мощность - 600 Вт.
3. Диапазон температурной регулировки $20-90^{\circ}$.
4. Точность поддержания температуры $\pm 1,5^{\circ}\text{C}$.
5. Вес без воды - 3 кг.
6. Габариты - $330 \times 200 \times 170$ мм.

Преимущества данного устройства.

1. При фиксации биологических объектов в вакуумном аппарате происходит полное обезвоживание образцов, что позволяет получать из них ультратонкие срезы (70-100 нм) на ультрамикротоме для проведения электронно-микроскопических исследований.

2. В образцах, прошедших фиксацию в вакуумном аппарате, устраняется деформация (фиг. 5А, В, С, G) про- и эукариотических клеток (фиг. 5D, E), сохраняется целостность окруженных мембраной оргanelл (фиг. 5F, H).

На нижеследующей фиг. 5 представлены сравнительные фотографии со светового (А, В, D, E) и электронного (С, F, G, H) микроскопов различных частей растений, сделанные после фиксации без вакуума (левый столбик - А, В, С, G) и фиксации в вакуумном аппарате, изготовленном нами (правый столбик - D, E, F, H), при том, что не производилось никаких изменений в составе реактивов, использующихся в процессе фиксации. Значительная деформация клеточных и неклеточных элементов растений, прошедших фиксацию без вакуума, хорошо видна и на световом, и на электронном микроскопе (А, В, С, G).

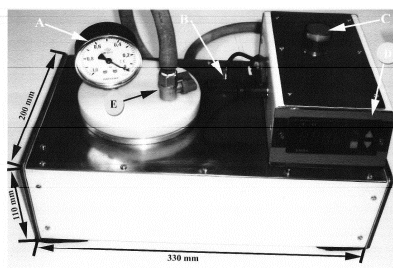
На ультраструктурном уровне наблюдается нарушение целостности мембраны, окружающей вакуоли, которые участвуют в формировании и создании объема растительных клеток, структурных элементов хлорофилла, связей между хлорофиллами и других органелл, находящихся в цитоплазме (в частности, нарушение целостности крист митохондрий) (С, G). В противоположность описанному, в образцах, прошедших фиксацию в вакуумном аппарате, в окруженных мембраной структурах клетки, не наблюдается заметных изменений. Необходимо отметить, что структура хлоропластов, отличающихся наличием мембранной структуры и сложностью элементов матрикса, выявляется только у растений, прошедших фиксацию с участием вакуумного аппарата (F, H).

Литература

Буданцев А.Ю. Устройство для вакуумной обработки гистологического материала// Цитология, 2015, т. 57, № 10, с. 742-745.

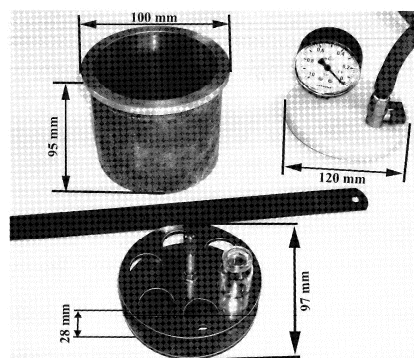
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Устройство для фиксации и вакуумной обработки объектов в электронной микроскопии, состоящее из электрической части с напряжением питания 220 В, 50 Гц, потребляемой мощностью 600 Вт, содержащее контроллер (8) для поддержания установленной температуры с точностью до $\pm 1,5^{\circ}\text{C}$ в диапазоне 20-90 $^{\circ}\text{C}$, датчик NTC-10 кОм, нагреватель (10) на 500 Вт, размещенный внутри ванны (13), сигнальную лампу (9), предохранитель (11) на 5 А, включатель сетевого питания (12), при этом устройство выполнено в виде корпуса, содержащего верхнюю панель, боковые панели, в котором размещена вакуумная камера (6) с держателем для образцов, верхней крышкой с прокладкой, при этом к вакуумной камере подключен безмасляный диафрагменный насос для поддержки давления в камере - $1\pm 0,1$ атм, причем вес устройства без воды - 3 кг, а габариты - 330×200×170 мм.



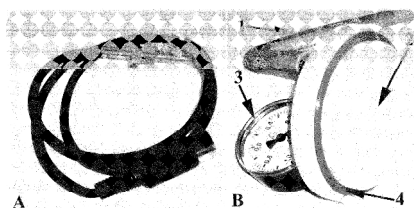
Общий вид вакуумного аппарата.
А – Манометр, В – Термосенсор (NTC), С – Сигнальная лампа, D – Контроллер, E – Вакуумный кран

Фиг. 1



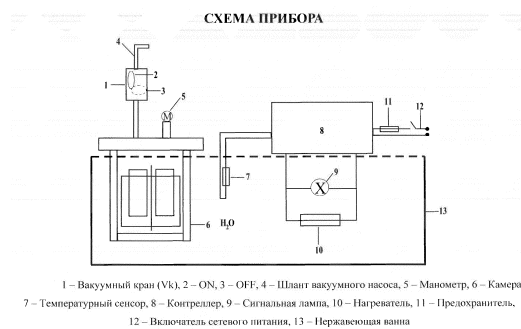
Части вакуумного аппарата

Фиг. 2

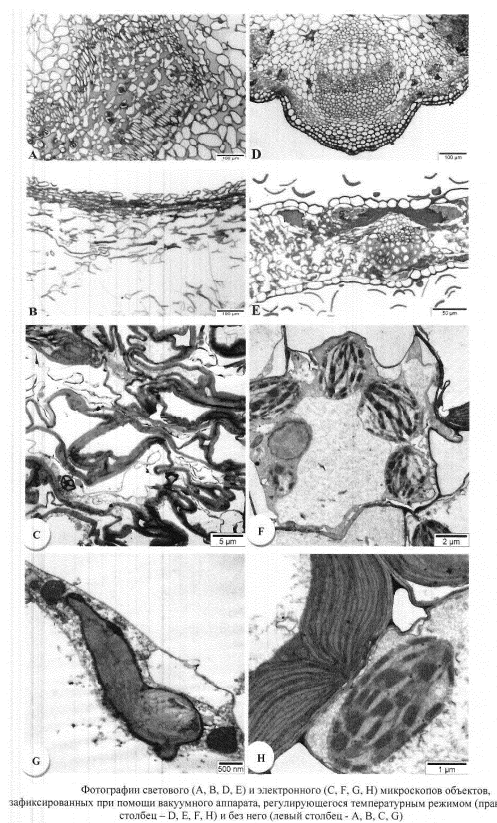


Части вакуумного аппарата.
А – Температурный датчик (NTC-10 кОм), В – Крышка камеры.
1 – Шланг верхней крышки, 2 – Крышка камеры, 3 – Манометр, 4 – Прессовка из силикона

Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

