



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

230601

(11)

(B1)

/22/ Přihlášeno 27 08 79
/21/ /PV 5784-79/

(51) Int. Cl.³

A 61 N 1/30

(40) Zveřejněno 15 09 81

(45) Vydáno 15 05 86

(75)

Autor vynálezu

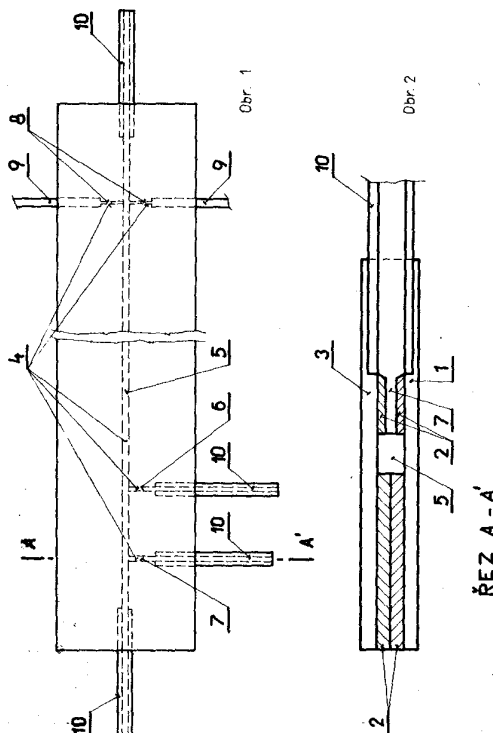
SVOBODA MICHAL dr., MODRA

(54) Jednotka zařízení pro elektroforézu

Jednotka zařízení pro elektroforézu je určena k provádění dělení, nástřiku vzorku nebo detekce, popřípadě kombinací těchto operací, při elektroforetických analýzách, popřípadě preparacích.

Je tvořena vrstveným pásem, skládajícím se ze základní, krycí a nejméně jedné vnitřní distanční vrstvy z chemicky rezistentního materiálu, například z fluorouhlovodíkového polymeru, přičemž nejméně jedna vnitřní distanční vrstva je popřípadě vytvořena ze světlnepropustného materiálu.

Ve vrstveném páse je průběžně uspořádán dělicí kanálek, například čtvercového průřezu a do tohoto jsou popřípadě zaústěny přívodní kanálek pro nástřik vzorku a odpadní kanálek a/nebo vodičové kanálky pro pevné nebo kapalné vodiče elektrického proudu. Jednotka zařízení pro elektroforézu je použitelná pro přístroje k provádění elektroforézy, zejména izotachoforézy.



Vynález se týká jednotky zařízení pro elektroforézu. Beznosičová, tj. volná elektroforéza získává v poslední době stále větší význam jako analytická a mikropreparativní technika. Nejvýznamnější technikou beznosičové elektroforézy je elektroforéza v trubicích kapilárního průřezu - kapilární elektroforéza, zejména pak kapilární isotachoforéza.

Zařízení pro nekapilární typy beznosičové elektroforézy jsou ve srovnání se zařízeními pro kapilární elektroforézu podstatně větších rozměrů, například zařízení pro klasickou beznosičovou elektroforézu, tzv. Tiseliovu elektroforézu, která dosahují nezhledka délky až 5 m a vzhledem ke způsobu detekce například fotografické metody založené na rozdílech indexu lomu mezi jednotlivými zónami jsou méně citlivá. Proto prakticky jedinými v současné době rozšířenými zařízeními pro beznosičovou elektroforézu jsou zařízení pro kapilární elektroforézu, která v jejich dosavadní verzi lze pohodlně umístit na ploše jednoho laboratorního stolu a která umožňují přímou objektivní detekci jednotlivých zón.

Dosavadní zařízení pro kapilární elektroforézu, zejména kapilární isotachoforézu, využívají pro separaci stanovovaných látek kapiláry kruhového průřezu o světlosti cca 0,4 mm až 0,6 mm, obvykle z polytetrafluoroethylénu (PTFE). Tato kapilára je na jednom konci připojena k nástřikovému zařízení, na druhém konci k vhodnému detekčnímu zařízení, obvykle průtokovému UV-fotometru a/nebo průtokovému konduktometru.

Nástřikové zařízení může být tvořeno nástřikovým kohoutem, čtyř- nebo šesticestným s hlavním vrtáním o průměru, rovném vnitřnímu průměru kapiláry, tj. 0,4 až 0,6 mm a délce cca 10-15 mm, k němuž je kapilára připojena vtažením do přechodového kusu. Základním požadavkem je přítomnost souososti kapiláry v přechodovém kusu a hlavního vrtání, tolerance max. 0,01 mm.

Dalším požadavkem je přesné krytí otvorů všech vrtání v jádře s otvory v plášti v provozní i promývací poloze. Aby nevznikaly v nástřikovém kohoutu mrtvé nepromývané objemy, jsou tolerance řádu 0,01 mm při délce jednotlivých vrtání cca 10-15 mm. Jádro i plášť takového kohoutu jsou vyrobeny z izolačního, chemicky rezistentního materiálu, obvykle PTFE. Mezera mezi jádrem a pláštěm nesmí přesahovat několik tisícín milimetru, aby bylo možno jádro v plášti dokonale utěsnit a aby jednak po připojení elektrického proudu neprocházely mezi jádrem a pláštěm svodové proudy, jednak nedocházelo k průbojům mezi kohoutem a kotroutou. Kohout je v průběhu analýzy na potenciálu až cca 30 kV proti zemi.

Druhou používanou variantou nástřikového zařízení je nástřik septem. Podstatnou součástí tohoto zařízení je kuželový ventil, uzavírací boční otvor hlavního vrtání bloku nástřikového zařízení. Toto vrtání má průměr cca 0,4-0,6 mm při délce přibližně 15 mm. Je na jednom konci uzavřeno septem, obvykle ze silikonového kaučuku. Těsně při uzavřeném konci zasahuje kolmo do hlavního vrtání boční vrtání rovněž o průměru řádu 0,5 mm.

Běžně používaná detekční část se skládá ze dvou dílčích bloků - celý průtokový fotometr a/nebo celý průtokový konduktometr. Konduktometrická cela je realizována ve formě válečku z vhodné plastické hmoty, obvykle polymethylmetakrylátu - PMMA, opatřeného axiálním vrtáním o průměru rovném vnitřnímu průměru kapiláry a délce asi 15-20 mm. Tento váleček je zhotoven stmelněním ze dvou kratších válečků. V místě stmelnění jsou na čelo jednoho z válečků přitmeleny dvě elektrody, zasahující až do axiálního vrtání. Obě čela stmelěného válečku jsou leštěna stejně jako k nim těsně dosedající plochy přechodových kusů, do nichž je kapilára upevněna vtažením. Celá cela je upevněna stažením ve vhodném pouzdře. Základním požadavkem je tu souosost otvorů v přechodových kusech s axiálním vrtáním válečku a těsnost spojení všech částí.

Fotometrická cela je tvořena vrtáními v bloku vhodného materiálu, jedním z těchto vrtání prochází kapilára a druhé kolmé k předešlému, slouží pro průchod světla. Aby se omezilo množství světla, které prochází ze zdroje k fotocele jinudy než měrnou částí kapiláry, používá se různých clonek s otvory o průměru cca 0,1 mm, které musejí být přesně vycentrovány, a to tak, aby světlo procházelo přesně středem kapiláry.

Zásadní nevýhodou dosud známých zařízení je jejich značná mechanická složitost, například nástřikový kohout se běžně skládá z více než 10 součástek, konduktometrická cela minimálně ze šesti dílů a podobně. Jednotlivé části dosavadních elektroforetických jednotek jsou navíc velmi náročné na mechanickou přesnost při výrobě, například řada vrtání o průměru řádu 0,5 mm značné délky, tolerance rozměrů většiny součástek včetně dílu z PTFE řádu 0,01 mm a lepší při požadované dlouhodobé stabilitě rozměrů. Z toho vyplývá značná pracnost při výrobě a nevhodnost pro výrobu ve větších množstvích.

Dále mají současné díly elektroforetických jednotek nevýhodu ve značné pracnosti montáže do přístroje. Každý díl je třeba vyrábět a montovat samostatně a nelze je vyrobit jako jeden kompaktní celek. Rovněž údržba dosavadních zařízení je dosti náročná a vyžaduje si poměrně mnoho času. Životnost zejména nástřikové a separační části, je poměrně malá, neboť stárnutím vznikají netěsnosti mezi jádrem a pláštěm nástřikového kohoutu. Nástřikový kohout může být kromě toho snadno znehodnocen poškrábáním jádra či pláště při neopatrné manipulaci, je nutná častá výměna septa, přičemž útržky septa mohou snadno ucpat kapiláru v separační části.

Kruhový průřez kapiláry, s ohledem na připojení kapiláry vtažením do přechodových kusů a na kruhový průřez vrtání jednotlivých dílů nelze použít kapiláry o nekruhovém průřezu, dále značně zhoršuje podmínky činnosti fotometrického detektoru, neboť se měří absorpce světla v cylindrické kyvetě, což si vynucuje složitou mechanickou konstrukci detektoru s použitím clonek s otvory o průměru cca 0,1 mm a s vysokými nároky na souosost celé optické části. Kromě toho nejsou optické vlastnosti kapilár z používaných materiálů, zejména PTFE, příliš dobré, zejména v krátkovlnné UV oblasti, což dále značně zhoršuje podmínky činnosti fotometrického detektoru.

Přechod od běžně používaných kapilár o světlosti 0,4-0,6 mm ke kapilárám tenčím, 0,1 mm a méně, který je velmi žádoucí z analytického hlediska, naráží nejen na značné problémy technického rázu, ale při světlostech pod 0,1 mm i na principiální omezení při vrtání.

Složitá a komplexní konstrukce dosud používaných elektroforetických jednotek značně znesnadňuje a v kritických bodech, jako jsou nástřik a detekční cely, v podstatě i znemožňuje účinné termostatování aparatury, které je pro řadu aplikací nezbytné.

Rovněž konstrukce jednotky, která by využívala současně více než jednu kapiláru, je vzhledem ke komplikovanému a mechanicky náročnému charakteru dosavadních jednotek pro kapilární elektroforézu vyloučena nebo je v krajním případě výrobně neekonomická. V dosavadních zařízeních přechází čelo každé zóny přes řadu různých rozhraní mezi jednotlivými částmi aparatury, přičemž jsou v řadě případů tato rozhraní tvořena dvojicemi různých materiálů, například PTFE - PMMA, na nichž kromě rozostření hranic zón mrtvými objemy v netěsnostech dochází často i k rozostření vlivem změny elektroosmotického potenciálu. Oba tyto faktory samozřejmě snižují rozlišovací schopnost příslušných zařízení.

Z uvedených příkladů je dále zřejmé, že připojení každé další trubice nebo dílu k elektroforetické jednotce je vysoce pracné, náročné na přesnost a tedy i drahé. Z toho vyplývá, že tyto zásahy, jakkoli by byly žádoucí z hlediska účelnosti a užitečnosti aparatury, jako je například připojení dalších detektorů nebo odvodní trubice pro mikropreparativní účely, je nutno omezit na minimum.

Výše uvedené nevýhody známých zařízení odstraňuje jednotka zařízení pro elektroforézu podle vynálezu, jejíž podstatou je, že je tvořena vrstveným pásem, skládajícím se ze základní, krycí a nejméně jedné vnitřní distanční vrstvy z chemicky rezistentního, například z ohebného materiálu, například z fluorouhlovodíkového polyméru, přičemž nejméně jedna distanční vrstva je popřípadě zhotovena ze světlnepropustného materiálu a v celém vrstveném pásu je průběžně uspořádán, například ve směru podélné osy, dělicí kanálek hranatého, například čtvercového průřezu, například kapilární světlosti a do dělicího kanálku jsou popří-

padě, například kolmo, zaústěny přívodní kanálek pro nástřik vzorku a odpadní kanálek a/nebo vodičové kanálky.

Hlavní výhodou jednotky zařízení pro elektroforézu podle tohoto vynálezu spočívá v tom, že neobsahuje žádné výrobně náročné mechanické části. Jednotky lze použít jak v zařízeních k provádění kapilární elektroforézy, zejména kapilární isotachoforézy, tak ve vhodném provedení i v zařízeních pro jiné typy beznosičové elektroforézy. Vzhledem k nízkým výrobním nákladům lze jednotky podle vynálezu, naplněné vhodným nosičem, využít i v zařízeních pro jiné typy elektroforézy, například jako výměnné jednotky pro jedno použití, naplněné polyakrylamidovým gélem pro diskovou elektroforézu. Přitom v sobě spojuje řadu funkcí od nástřiku vzorku přes separaci až po detekční celu, jež mohou být realizovány v jednom kompaktním, mechanicky pevném, prostorově a výrobně nenáročném celku.

Přechod k malým světlostem dělicího kanálku, jehož úseky představují hlavní součásti nástřikové části a detekčních celů a vlastní separační část, nepředstavuje z hlediska výroby podstatný problém a nejsou principiální problémy ani při výrobě kanálku o průřezu pod $0,01 \text{ mm}^2$. Z jednoduché konstrukce zařízení plyne i jeho vhodnost pro sériovou výrobu. Přitom mohou být snadno vyrobeny jen jednotlivé funkční části navrhované elektroforetické jednotky, zejména nástřiková část a detekční cely, a využity v dosavadních zařízeních pro beznosičovou elektroforézu.

Výrobní jednoduchost spolu s možností sériové výroby značně snižuje výrobní náklady a tím i cenu jednotky. V případě kontaminace nebo poruchy lze v minimálním čase a s malými náklady vyměnit celou jednotku za novou, čímž se snižují náklady na údržbu a provoz zařízení pro beznosičovou elektroforézu.

Dále se při použití jednotky podle vynálezu značně zlepšují podmínky pro činnost optického detektoru. Průřez dělicího kanálku a tedy i celý fotometrický detektor je v podstatě pravouhlý, čímž se ve srovnání s dosud používaným kruhovým průřezem zvětšuje plocha použitelná pro průchod světla. Dále se podstatně rozšiřuje lineární rozsah detektoru. Lze též snadno získat fólie či desky z chemicky rezistentních plastických hmot s poměrně velmi dobrými optickými vlastnostmi a tím značně zlepšit podmínky pro činnost fotometrického detektoru, zejména v krátkovlnné UV oblasti. Další zřejmé zjednodušení přináší využití vnitřní distanční vrstvy ze světlopropustného materiálu, kde tato sama vycloňuje po obou stranách fotometrickou celu a lze se omezit na použití jediné clonky, na takto již částečně vycloněné cele délkový úsek, na němž bude probíhat detekce. V této variantě pak přirozeně odpadají problémy z centrováním clonek.

Jednotka podle vynálezu rovněž značně zjednodušuje konstrukci vodivostní cely, která se zde redukuje na dva nebo několik vodičů, uložených ve vodičových kanálcích.

Termostatování jednotky vzhledem k její ploché konstrukci a rovnoměrné tloušťce stěny dělicího kanálku ve všech částech aparatury je značně jednoduché. Vzhledem k její kompaktní a jednoduché konstrukci odpadají i problémy se svody v termostatujícím médiu, kde potenciálové rozdíly mezi jednotlivými částmi aparatury mohou dosáhnout až 30 kV a je možné ji termostatovat jak běžnými kapalinami, tak i prostým sevřením mezi dva termostatované kovové bloky. Jednotka podle vynálezu v podstatě nevyžaduje údržbu a neobsahuje součásti, které by se stárnutím podstatněji znehodnocovaly.

Umožňuje též práci současně v několika hlavních kanálcích na jediném zařízení, čímž se podstatně snižují pořizovací a provozovací náklady zařízení pro beznosičovou elektroforézu, zejména kapilární isotachoforézu, a zvyšuje produktivitu práce těchto zařízení. Nevyžaduje složitou montáž do zařízení pro beznosičovou elektroforézu, naopak díky svým malým rozměrům a vysoké kompaktnosti snižuje rozměry těchto zařízení.

Tím, že zóna postupuje stále týž dělicím kanálkem a nepřechází přes žádné příčné spoje

ve stěně, není její ostrost snižována, čímž se zlepšuje rozlišovací schopnost zařízení. Jednoduchá konstrukce jednotky podle vynálezu umožňuje napojení v podstatě libovolného počtu kanálků o nejrůznějších průřezích a v nejrůznějších úhlech k dělicímu kanálku a tím umožňuje bez prakticky významného zvýšení výrobních nákladů provádět užitečné modifikace, například jednoduché připojení odvodní trubice pro mikropreparativní účely.

Výrobní jednoduchost spolu s možností sériové výroby značně snižuje výrobní náklady a tím i cenu jednotky. V případě kontaminace nebo poruchy lze v minimálním čase a s malými náklady vyměnit celou jednotku za novou, čímž se snižují náklady na údržbu a provoz zařízení pro beznosičovou elektroforézu.

Jednotka zařízení pro elektroforézu podle vynálezu je schematicky znázorněna na připojeném výkresu. Na obr. 1 je v nárysu naznačen příklad celkového provedení jednotky, schopné realizovat dělicí, nástřikovou a detekční funkci. Obr. 2 znázorňuje řez A-A' jednotkou v místě připojení kanálku pro přívod vzorku. Pro lepší názornost je řez poněkud zvětšen oproti nárysu.

Jednotka zařízení pro elektroforézu k provádění dělení a/nebo nástřiku vzorku a/nebo detekce látek je tvořena vrstveným pásem, skládajícím se ze základní 1, krycí 3 a nejméně jedné vnitřní distanční vrstvy 2 z chemicky rezistentního, například ohebného materiálu, například z fluorouhlovodíkového polymeru, přičemž nejméně jedna vnitřní distanční vrstva 2 je popřípadě zhotovena ze světlonepropustného materiálu a v celém vrstveném pásu je průběžně uspořádán, například ve směru podélné osy, dělicí kanálek 5 hranatého, například čtvercového průřezu, například o kapilární světlosti a do dělicího kanálku 5 jsou popřípadě, například kolmo, zaústěny přívodní kanálek 6 pro přívod vzorku a odpadní kanálek 7 a/nebo vodičové kanálky 8.

P ř í k l a d 1

Jednotka k provádění separace a fotometrické detekce.

Vrstvený pás se skládá ze základní 1 a krycí 3 vrstvy, jež jsou vytvořeny z bezbarvého kopolymeru tetrafluoroethylénu s hexafluoropropylénem, dále označovaného jako FEP. Vrstvy jsou tvořeny fóliemi o rozměrech 250 x 10 x 0,25 mm. Dále se skládá ze dvou vnitřních distančních vrstev 2, tvořených černými fóliemi z FEPu, tloušťky 0,15 mm. Tyto fólie k sobě ve vodorovném směru nepřiléhají a vytvářejí spolu se základní a krycí vrstvou dělicí kanálek 5 o prakticky čtvercovém průřezu 0,3 x 0,3 mm. Na oba konce dělicího kanálku 5 navazují přívodní trubice 10 z bezbarvého FEPu o světlosti 0,3 mm a tloušťce stěny 0,3 mm, délky cca 50 mm. Při výrobě jsou jednotlivé části polohovány v přípravku a spojeny slisováním za tepla.

Podélný úsek dělicího kanálku 5, na kterém probíhá fotometrická detekce, je vymezen štěrbinou fotometrického detektoru, do kterého je jednotka zařízení pro elektroforézu umístěna. Světlonepropustné vnitřní distanční vrstvy 2 zabraňují průchodu světla mimo dělicí kanálek 5.

P ř í k l a d 2

Jednotka k provádění nástřiku, separace a fotometrické detekce.

Jednotka je zhotovena obdobně jako v příkladu 1, ve vnitřních distančních vrstvách 2 jsou v ní však ještě s pomocí přípravku vytvořeny přívodní kanálek 6 a odpadní kanálek 7, a to tak, že jejich ústí vymezují na dělicím kanálku 5 úsek; dlouhý 20 mm, odpovídající nástřiknutému objemu vzorku cca 1,8 μ l. Vzdálenost ústí odpadního kanálku 7 od konce dělicího kanálku 5 je 10 mm.

P ř í k l a d 3

Jednotka k provádění separace, vodivostní nebo potenciálovogradientové detekce a popřípadě fotometrické detekce.

Jednotka je vytvořena, obdobně jako v příkladu 1, s pomocí vnitřních distančních vrstev jsou však navíc vytvořeny vodičové kanálky 8 pro vodiče elektrického proudu, které jsou v úseku, spojeném s dělicím kanálkem 5 zcela vyplněny platinovým drátkem o průměru 0,025 mm, připájeným k lanku, izolovanému FEPem, o délce cca 150 mm. Vodičové kanálky 8 jsou zaústěny do dělicího kanálku 5 ve vzdálenosti 10 mm od jeho konce.

P ř í k l a d 4

Jednotka k provádění nástřiku, separace, vodivostní nebo potenciálovogradientové detekce.

Jednotka je vytvořena obdobně jako v příkladu 2, navíc jsou v ní s pomocí vnitřních distančních vrstev 2 vytvořeny vodičové kanálky 8 stejně jako v příkladu 3. Vodičové kanálky 8 jsou do dělicího kanálku 5 zaústěny ve vzdálenosti 10 mm od jednoho konce dělicího kanálku 5, odpadní kanálek 6 je zaústěn ve vzdálenosti 10 mm od opačného konce dělicího kanálku 5, celková délka separační dráhy v dělicím kanálku 5 je tedy 210 mm.

Komunikace jednotlivých kanálků jednotky zařízení pro elektroforézu s ostatním zařízením pro elektroforézu je realizována trubicemi 10, popřípadě vodiči elektrického proudu 9. Vodičové kanálky 8 mohou ve speciálních případech místo kovových vodičů obsahovat vodiče kapalinové.

Základní vrstvu 1, vnitřní distanční vrstvy 2 a krycí vrstvu 3 lze vytvořit místo z fólie též z desek, dělicí kanálek 5 pak nemusí mít kapilární charakter.

Základní systém kanálků lze zásadně podle potřeby zmnožit pro současné provádění několika elektroforetických dělení v jednom zařízení.

Při použití pro provádění kapilární izotachoforézy je jednotka podle vynálezu propojena trubicemi 10 s ventilovým systémem zařízení pro kapilární izotachoforézu. U jednotek podle příkladů 2 a 4, které obsahují nástřikové zařízení, je trubice 10, navazující na dělicí kanálek 5 na straně detekční cely, propojena s elektrodovou nádobkou se zásobníkem vedoucího elektrolytu, trubice 10, navazující na opačný konec dělicího kanálku 5, je spojena s elektrodovou nádobkou se zásobníkem koncového elektrolytu. Je-li jednotka používána pro jiný typ elektroforézy, jsou trubice 10 spojeny se zásobníky elektrolytů podle určení jednotky. Trubice 10 navazující na odpadní kanálek 7, je přes odpadní ventil propojena se zásobníkem odpadních elektrolytů, trubice 10, komunikující s přívodním kanálkem 6 je propojena přes vzorkovací ventil se zásobníkem vzorku.

U jednotek, které neobsahují nástřikové zařízení, například u jednotek podle příkladu 1 a 3, je přívodní trubice 10, uspořádána na straně opačné k místu detekce, připojena na konvenční nástřikový systém elektroforetického zařízení.

Při provádění izotachoforetické analýzy je v případě jednotek bez nástřikového zařízení dělicí kanálek 5 naplněn vedoucím elektrolytem pomocí konvenčního nástřikového zařízení. Současně je podle potřeby nástříknut vzorek.

V provedení, ve kterém jednotka obsahuje nástřikové zařízení, jak je tomu v příkladech 2 a 4, je při otevřeném odpadním ventilu jednotka nejprve promyta koncovým a vedoucím elektrolytem, a to v jednotlivých úsecích dělicího kanálku 5 od zásobníku příslušného elektrolytu po odpadní kanálek 7. Potom je s pomocí dávkovacího ventilu naplněn vzorkem úsek dělicího kanálku 5 mezi ústím odpadního kanálku 7 a přívodního kanálku 6.

Po uzavření všech ventilů je zapnut elektrický proud, pod jehož vlivem dochází k migraci iontových součástí vzorku podél dělicího kanálku 5, přičemž se tyto součásti dělí podle svých pohyblivostí do jednotlivých, na sebe navazujících zón. Po doputování k místu detekce, tj. k zaústění vodičových kanálků 8, se provádí detekce jednotlivých zón na základě jejich různé elektrické vodivosti.

Obdobně lze provádět detekci pomocí sledování propustnosti jednotlivých zón ve vhodné zvolené oblasti elektromagnetického záření, obvykle infračerveného, viditelného nebo ultrafialového záření.

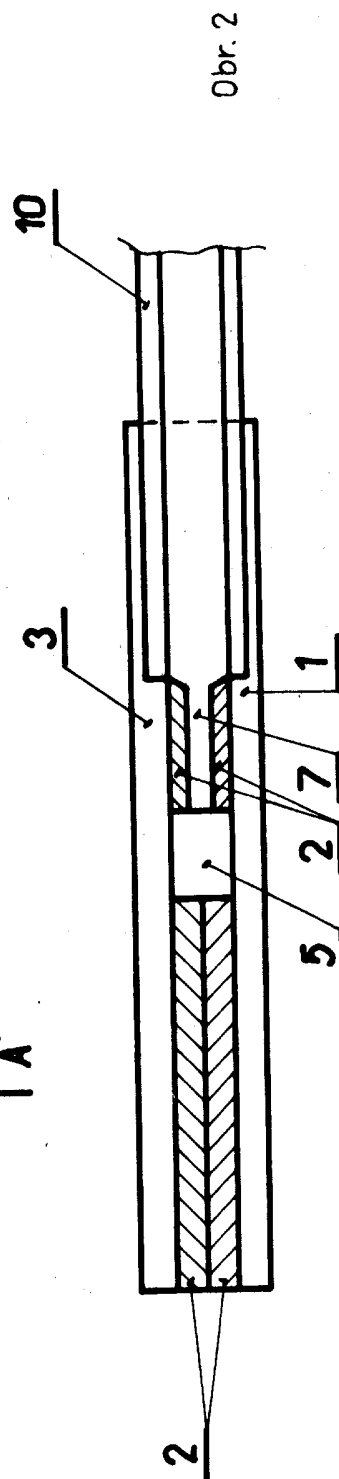
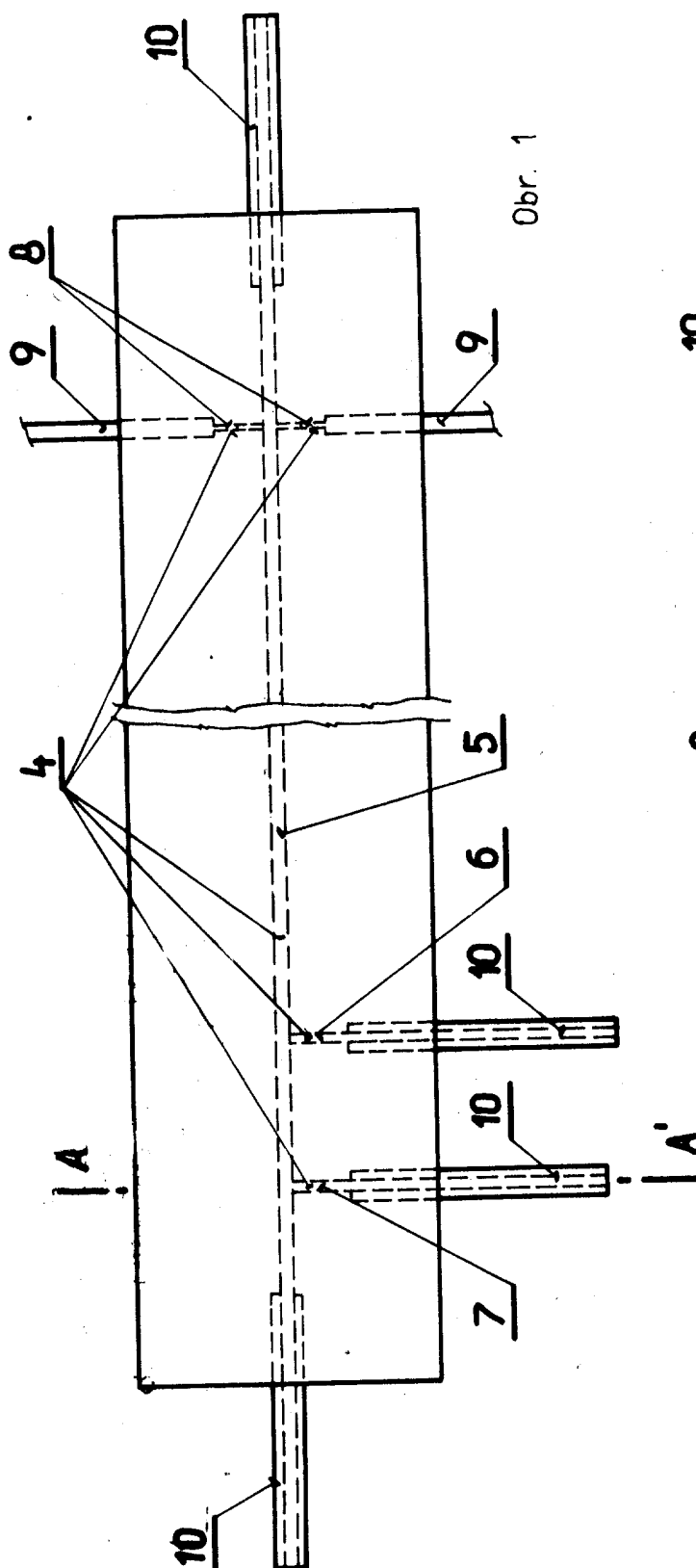
Jednotky zařízení pro elektroforézu podle vynálezu lze kromě v přístrojích pro elektroforetickou analýzu výhodně použít též v preparativním provedení, jež umožňuje přípravu velmi čistých látek, jinými metodami velmi nesnadno proveditelnou.

P R Ě D M Ě T V Y N Á L E Z U

Jednotka zařízení pro elektroforézu k provádění dělení a/nebo nástřiku vzorku a/nebo detekce látek vyznačující se tím, že je tvořena vrstveným pásem, skládajícím se ze základní /1/, krycí /3/ a nejméně jedné vnitřní distanční vrstvy /2/ z chemicky rezistentního, například ohebného materiálu, například z fluorouhlovodíkového polymeru, přičemž nejméně jedna vnitřní distanční vrstva /2/ je popřípadě zhotovena ze světlnepropustného materiálu a v celém vrstveném pásu je průběžně uspořádán, například ve směru podélné osy, dělicí kanálek /5/, hranatého, například čtvercového průřezu, například kapilární světlosti a do dělicího kanálku /5/ jsou popřípadě, například kolmo, zaústěny přívodní kanálek /6/ pro nástřik vzorku a odpadní kanálek /6/ a/nebo vodičové kanálky /8/.

1 výkres

230601



ŘEZ A - A'