



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 18 Absatz 2 Patentgesetz
anerkannt nach dem Abkommen über die
gegenseitige Anerkennung von Urheber-
scheinen und anderen Schutzdokumenten
für Erfindungen vom 18.12.1976

(19) DD (11) 242 525 A3

4(51) A 61 N 1/04

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

(21) WP A 61 N / 253 043 6

(22) 14.07.83

(45) 04.02.87

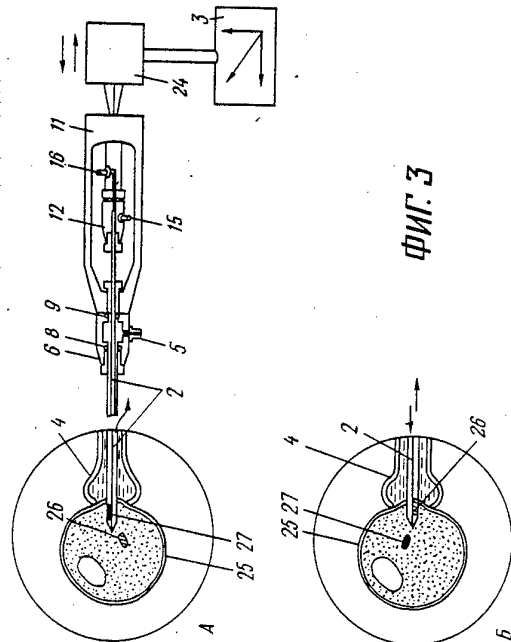
(71) Inst. biochimii i fiziologii mikroorganizmov AN SSSR, 142292 Puscino, M. o., pr. Nauki, d. 6; SKB biologices-
kogo priborostroenija AN SSR, 142292 Puscino, M. o., prospekt Nauki, SU

(72) Nikitin, Vladimir A.; Chochlov, Anatolij M.; Larin, Vjaceslav T.; Fichte, Boris A., SU

(89) 1088171, SU

(54) Vorrichtung zur Durchführung von Mikrooperationen in Zellen und Verfahren zur Durchführung von Mi-
krooperationen in Zellen -

(57) Die Erfindung betrifft das Gebiet der Biologie. Bei der Vorrichtung zur Durchführung von Mikrooperationen ist, um die Genauigkeit und Effektivität der Durchführung von Mikrooperationen zu erhöhen, ein Mikroinstrument (2) koaxial im Hohlraum des Mikrosaugorgans (4) angeordnet, die Halterung (6) des Mikrosaugorgans (4) und des Mikroinstrumentes (2) ist als T-Stück mit hermetisch abgedichteten Öffnungen an seinen gegenüberliegenden Stirnseiten ausgeführt. Bei dem Verfahren ist neu, daß der Hohlraum des Mikrosaugorgans (4) vorher mit einer isotonischen Lösung gefüllt wird und daß das Perforieren der Zellmembran (25) mit dem Mikroinstrument (2) in dem Bereich erfolgt, der durch die Ränder des Mikrosaugorgans (4) abgegrenzt ist. Fig. 3A und 3B



ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

Заявлено: 24.04.81

Заявка: № 3280050/30-15

МКИ³: А 61 N 1/04

Авторы: В.А.Никитин, А.М.Хохлов, В.Т.Ларин и Б.А.Фихте

Заявитель: Институт биохимии и физиологии микроорганизмов Академии Наук СССР и Специальное конструкторское бюро биологического приборостроения Академии Наук СССР

Название изобретения: УСТРОЙСТВО ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ МИКРО-
ОПЕРАЦИЙ НА КЛЕТКАХ И СПОСОБ
ПРОВЕДЕНИЯ МИКРООПЕРАЦИЙ НА КЛЕТКАХ

Изобретение относится к области биологии, в частности к устройствам проведения микроопераций на клетках и к способам проведения микроопераций на клетках для пересадки клеточных органелл, и может быть использовано в области микробиологии и цитологии.

Известно устройство для проведения микроопераций с помощью микроприсоски и микроинструмента [1,2].

Известно устройство для проведения микроопераций на клетках, включающее основание, микроинструмент для прокалывания, механизм перемещения микроинструмента в трех взаимноперпендикулярных плоскостях и микроприсоску с имеющим штуцер держателем [3].

Известен способ проведения микроопераций на клетках, заключающийся в закреплении клетки с помощью микроприсоски и введения внутрь клетки микроинструмента [1,3].

Указанный способ обладает существенными недостатками, а именно: при такого рода микрооперациях невозможно избежать значительных деформаций клетки и ее повреждения, связанных с большими разрывами мембраны и потерями цитоплазмы; способ требует установки дополнительных микро-

- 2 -

манипуляторов, что усложняет устройство, замедляет процесс микроманипулирования.

Целью изобретения является повышение точности и эффективности проведения микроопераций.

Для достижения цели в устройстве для проведения микроопераций на клетках, включающем основание, микроинструмент для прокалывания, механизм перемещения микроинструмента в трех взаимноперпендикулярных плоскостях и микроприсоску с имеющим штуцер держателем, микроинструмент размещен соосно в плоскости микроприсоски, держатель микроприсоски выполнен в виде тройника с герметизированными отверстиями на его противоположных торцах, в которых расположен микроинструмент, причем устройство снабжено дополнительным механизмом продольного перемещения микроинструмента.

Для достижения цели в способе проведения микроопераций на клетках, включающем закрепление клетки микроприсоской, прокалывание мембраны микроинструментом, полость микроприсоски предварительно заполняют изотоническим раствором, а прокалывание мембраны микроинструментом осуществляют в зоне, ограниченной кромками микроприсоски.

На фиг.1 изображен общий вид устройства; на фиг.2 изображен механизм перемещения; на фиг.3 изображены: А - момент вытягивания ядра, Б - начальное и конечное положение микроинструментов при пересадке.

Устройство состоит из основания 1, микроинструмента 2 для прокалывания механизма 3 перемещения микроинструмента в трех взаимноперпендикулярных плоскостях 3, микроприсоски 4 с имеющим штуцер 5 держателем 6. Микроприсоска 4 и инструмент 2 для прокалывания выполнены в виде микропипеток. Микроприсоска 4 закреплена с помощью гайки 7 и уплотнителя 8 в полом корпусе держателя 6 со штуцером 5. Держатель 6 микроинструмента 2 для прокалывания имеет форму полого тройника, два противоположных конца которого

снабжены уплотнителями 8 для микроприсоски 4 и 9 для микроинструмента 2 для прокалывания. Микроинструмент 2 для прокалывания с помощью уплотнителя 9 и гайки 10 герметизируется с противоположной стороны держателя 6. Корпус держателя 6 ввернут в кронштейн II, внутри которого расположен держатель 12 для закрепления микроинструмента 2 для прокалывания, состоящий из гайки 13, уплотнителя 14, штуцеров 15 и 16. Кронштейн II установлен неподвижно на втулке 17 переднего фланца 18. Внутри втулки 17 помещен толкатель 19, жестко соединенный с гибкой гофрированной мембраной 20, а корпус держателя 12 соединен неподвижно с толкателем 19. Задний фланец 21 со штуцером 22 и втулкой 23 соединен с передним фланцем 18, а мембрана 20 и фланец 21 соединены между собой герметично и образуют мембранную коробку 24, которая закреплена втулкой 23 на механизме 3 перемещения микроинструмента в трех взаимно-перпендикулярных плоскостях. Мембранная коробка 24 является механизмом продольного перемещения микроинструмента.

Устройство работает следующим образом.

С помощью механизма 3 для перемещения микроинструмента в трех взаимноперпендикулярных плоскостях, обеспечивающего перемещение микроинструмента 2 для прокалывания и микроприсоски 4, микроинструмент 2 для прокалывания и микроприсоску 4 устанавливают в поле зрения микроскопа около клетки 25 (фиг.3).

Далее, создавая разрежение с помощью отдельного микроинъектора через штуцер 5 в полости корпуса держателя 6, с помощью микроприсоски 4 закрепляют клетку 25. Затем подают давление через штуцер 22 в полость мембранной коробки 24. При этом мембрана 20 деформируется и перемещает толкатель 19 во втулке 17, корпус держателя 12 и с ним микроинструмент 2 для прокалывания, который проходит через наружную мембрану клетки 25 в участке, ограниченном кромками микроприсоски 4. Микроинъекция и микровсасывание через микроинструмент 2 для прокалывания осуществляется при по-

даче давления или разряжения внутри держателя 12 по двум каналам с помощью штуцеров 15 и 16. Подачу изотонического раствора, снижающего повреждающий эффект нарушения целостности наружной мембраны клетки, осуществляют при помощи микроинъектора через штуцер 5.

Данное устройство позволяет ускорить процесс микроманипуляционных работ, обеспечивает высокую сохранность биологического объекта и исключает необходимость применения дополнительных микроманипуляторов. Все это и определяет положительный эффект от применения данного изобретения.

Пример.

Клетка 25 с ядром 26 удерживается микроприсоской 4, в которой расположен микроинструмент 2 для прокалывания с двумя каналами и пересаживаемым ядром 27 другой клетки.

Микроприсоска 4 удерживается в держателе 6 с уплотнителем 8 для микроприсоски 4 и уплотнителем 9 для микроинструмента 2 для прокалывания. Держатель 6 имеет штуцер 5 для подключения микроинъектора, которым создаётся разряжение в полости микроприсоски 4 для удержания клетки 25. Микроинструмент 2 для прокалывания удерживается держателем 12 со штуцерами 15, 16 для подключения микроинъекторов.

Держатели 6 и 12 установлены в кронштейне II мембранной коробки 24, которая является механизмом продольного перемещения.

Пересадка осуществляется следующим образом.

Полость микроприсоски 4 предварительно заполняют изотоническим раствором. Микроприсоска 4 с введенным в нее микроинструментом 2 для прокалывания и ядром 27 подводится под микроскопом к клетке 25 с ядром 26 с помощью механизма 3 для перемещения в трех взаимноперпендикулярных плоскостях. Микроинъектором через штуцер 5 создается и поддерживается для удержания клетки 25 разряжение внутри полости микроприсоски 4. Затем подводят микроинст-

- 5 -

румент 2 для прокалывания к мембране клетки 25 в зоне, ограниченной кромками микроприсоски 4, и прокалывают ее. Ядро 26 клетки 25 всасывается в полость микроинструмента 2 для прокалывания разряжением, создаваемым микроинъектором через штуцер I6 держателя I2, а пересаживаемое ядро 27 выталкивается из канала микроинструмента 2 для прокалывания давлением, создаваемым микроинъектором через штуцер I5 (фиг.3А).

После указанной операции микроинструмент 2 для прокалывания с помощью механизма продольного перемещения (мембранной коробки 24) выводят из клетки 25 (фиг.3Б). Далее клетка 25 может быть перенесена для дальнейшего культивирования.

Таким образом, указанный способ проведения микроопераций значительно снижает повреждение клетки за счет уменьшения ее деформации и позволяет из одного прокола проводить сложные микрооперации на клетке.

- 6 -

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Устройство для проведения микроопераций на клетках, включающее основание, микроинструмент для прокалывания, механизм перемещения микроинструмента в трех взаимноперпендикулярных плоскостях и микроприсоску с имеющим штуцер держателем, отличающееся тем, что с целью повышения точности и эффективности проведения микроопераций, микроинструмент размещен соосно в полости микроприсоски, держатель микроприсоски выполнен в виде тройника с герметизированными отверстиями на его противоположных торцах, в которых расположен микроинструмент, причем устройство снабжено дополнительным механизмом продольного перемещения микроинструмента.

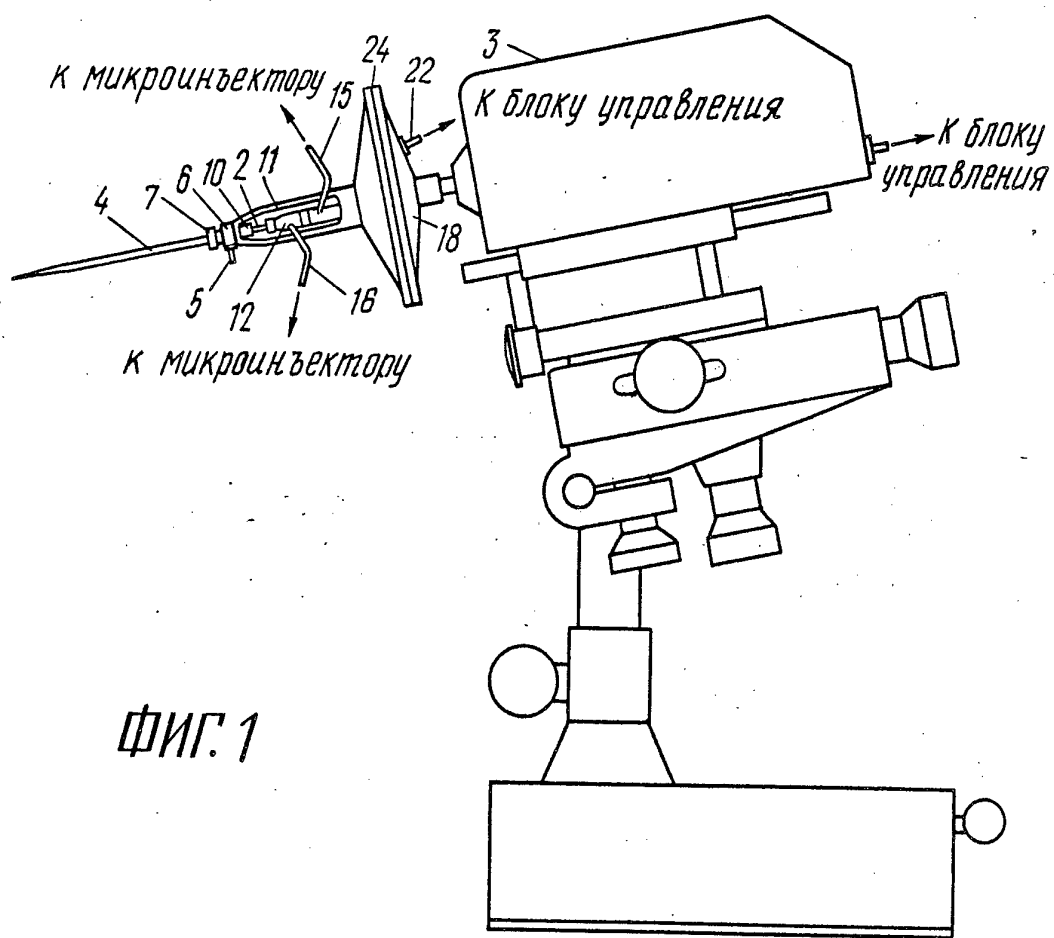
2. Способ проведения микроопераций на клетках, включающий закрепление клетки микроприсоской, прокалывание мембраны микроинструментом, отличающийся тем, что, с целью повышения точности и эффективности проведения микроопераций, полость микроприсоски предварительно заполняют изотоническим раствором, а прокалывание мембраны микроинструментом осуществляют в зоне, ограниченной кромками микроприсоски.

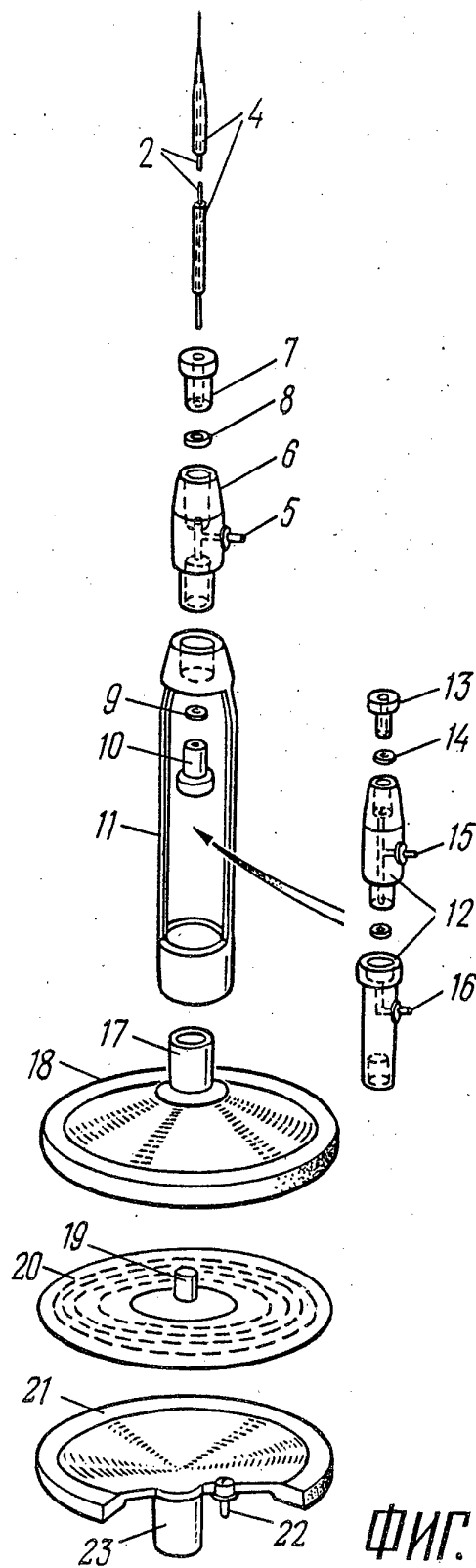
Источники информации:

1. Корас М. J. Instrumentation for the transplantation of Nucloli, E. of the Franklin institute, 262, 407-411, 1956.
2. Фонбрюн П. Методы микроманипуляции, ИЛ, М., с. 147-149, 1951.
3. Патент Франции № 1085965, кл. А 61N, 1955 г.

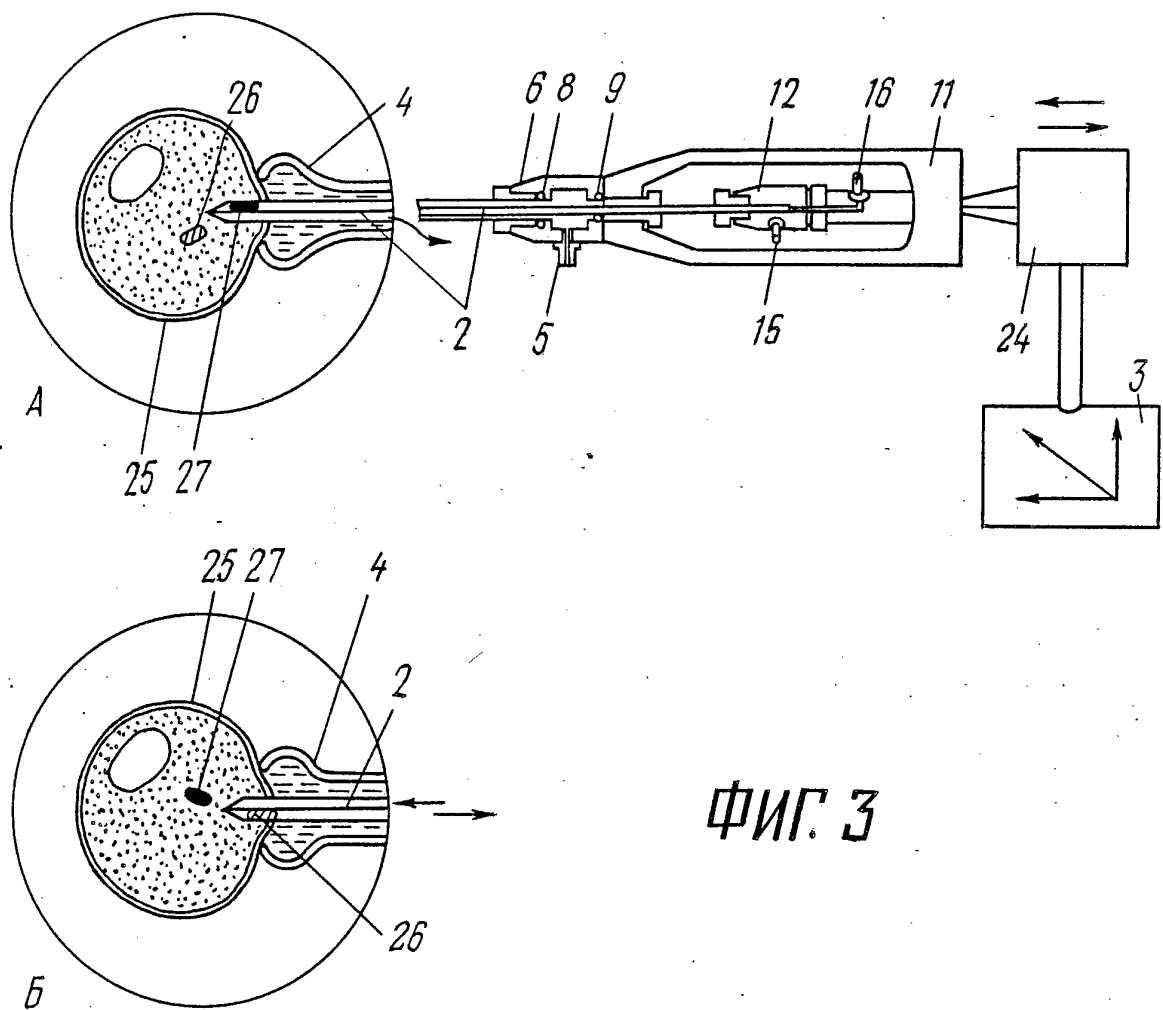
Hierzu 3 Seiten Zeichnungen

31. DEZ. 1985 * 312665





Фиг. 2



ФИГ. 3