



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

218549
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
C 12 M 1/22

(22) Přihlášeno 30 10 81
(21) (PV 8001-81)

(40) Zveřejněno 25 06 82

(45) Vydáno 15 03 85

(75)

Autor vynálezu

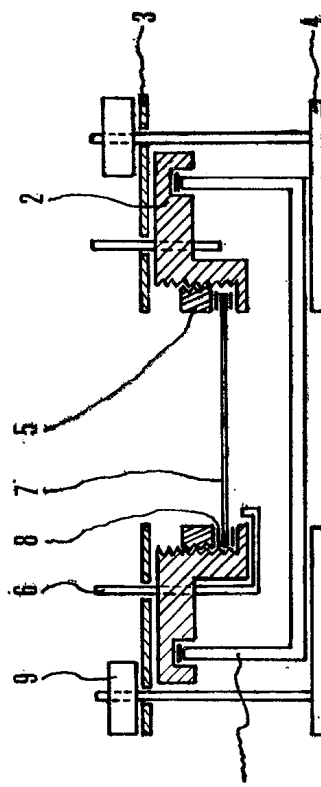
ČERVINKA MIROSLAV RNDr. CSc., HRADEC KRÁLOVÉ

(54) Víceúčelová kultivační komůrka pro buněčné kultury

1

Vynález využívá dobrých optických vlastností kultivačních misek, které jsou hermeticky uzavřeny uzavíracím prstencovým krytem. Tento kryt umožňuje libovolnou manipulaci s kultivačním prostředím, například periodickou výměnu média, zapojení na perfúzní systém, přidání látek do kultivačního prostředí, odebírání vzorků kultivačního prostředí přímo v průběhu pozorování. Tyto vlastnosti jsou nepostradatelné například při časosběrné mikrokinematografii buněk pěstovaných in vitro.

2



Vynález se týká víceúčelové kultivační komůrky pro buněčné kultury, opatřené kultivační miskou.

Pokusy na buňkách, tkáních nebo organismech in vitro mají v biologii a medicíně stále větší význam. V mnoha těchto experimentech je třeba provádět přímé mikroskopické pozorování živých organismů v průběhu řady dnů a týdnů. V těchto pokusech je z technického hlediska největším problémem kultivačně pozorovací komůrka, na kterou je kladena celá řada velmi náročných a mnohdy protichůdných požadavků. V posledních letech bylo ve světové literatuře popsáno několik typů komůrek. Z nich některé mají výborné optické vlastnosti, ale hůře se hodí pro pěstování buněk, jiné jsou vhodné pro kultivaci buněk, ale neumožňují kvalitní mikroskopická pozorování. Vždy je manipulace s komůrkami poměrně pracná a navíc není možné přímé srovnání výsledků získaných v těchto komůrkách a výsledků získaných ve standardních kultivačních miskách.

Uvedené nedostatky odstraňuje podle vynálezu víceúčelová kultivační komůrka pro buněčné kultury, opatřená kultivační miskou. Její podstata spočívá v tom, že kultivační miska je opatřena uzavíracím prstencovým krytem, v jehož středové části je pomocí dalšího prstence uchyceno mezi dvěma těsněními krycí sklo a jímž procházejí manipulační trubičky, přičemž kultivační miska a uzavírací prstencový kryt jsou sevřeny mezi horním a spodním dílem držáku pomocí svorníků a stahovacích matek.

Výhody komůrky podle vynálezu spočívají především ve stabilní konstrukci, jednoduché a rychlé montáži a v možnosti sterilizovat celý systém, který je zhotoven z materiálů pro buňky netoxických. Komůrka umožňuje provádět pozorování jak v normálním, tak invertovaném mikroskopu při použití fázového kontrastu a poskytuje možnost libovolné manipulace s kultivačním prostředím na stolku mikroskopu.

Komůrka umožňuje dlouhodobé mikroskopické pozorování živých buněk, tkání a organismů pěstovaných in vitro. Při pozorování jsou zachovány stejné podmínky jako v paralelních pokusech, ve kterých se provádí například biochemické nebo jiné stanovení.

Víceúčelová kultivační komůrka podle vynálezu je dále blíže popsána na příkladu němž je nakreslena komůrka ve schematickém provedení v řezu.

Kultivační miska **1** je opatřena uzavíracím prstencovým krytem **2**, který je vyroben z netoxické nerezové oceli. V tomto prstencovém krytu **2** je pomocí dalšího prstence **5** hermeticky upevněno kulaté krycí sklo **5**. Těsnění **8** je zhotoveno z netoxické silikonové pryže. Díly **3**, **4** držáku, který spojuje obě uvedené části pomocí stahovacích matek **9**, jsou zhotoveny z nekorodujících kovů. Pomocí manipulačních trubiček **6** z nerezové oceli je umožněna manipulace s médiem. Kultivační miska **1**, ať skleněná, nebo z plastické hmoty, ve které se buňky standardně pěstují, má dobré optické vlastnosti. Proto část kultivačního systému tvoří kultivační miska **1**. Toto řešení má tu výhodu, že při pozorování jsou buňky ve stejných podmínkách jako v paralelních pokusech. Navíc je možno kteroukoliv kultivační misku **1** v pokusu kdykoliv začít pozorovat nebo filmovat. Soustava manipulačních trubiček **6** umožňuje výměnu média v průběhu pozorování, přidání různých látek k buňkám, odběry vzorků média na analýzu, případně je možno napojit celý systém na perfúzní pumpu a kultivovat buňky v rovnovážném otevřeném systému za optimálních podmínek. V kultivačním systému je také dost prostoru pro plynou fázi, to je vzduch + 5% CO₂, která je při kultivaci buněk in vitro velmi tvoří držák, který pevně spojí dvě předešlé části a navíc umožní upevnění kultivačního systému na stolek mikroskopu a pomocí zabudovaných mikrometrických posunů i přesnou lokalizaci objektu v zorném poli.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Víceúčelová kultivační komůrka pro buněčné kultury, opatřená kultivační miskou, vyznačená tím, že kultivační miska (1) je opatřena uzavíracím prstencovým krytem (2), v jehož středové části je pomocí dalšího prstence (5) uchyceno mezi dvěma těs-

něními (8) krycí sklo (7) a jímž procházejí manipulační trubičky (6), přičemž kultivační miska (1) a uzavírací prstencový kryt (2) jsou sevřeny mezi horním dílem (3) držáku a spodním dílem (4) držáku pomocí svorníků a stahovacích matek (9).

