

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G02B 21/16 (2024.01); G01N 21/6458 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2023134331, 20.12.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
20.12.2023Дата регистрации:
11.06.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 20.12.2023

(45) Опубликовано: 11.06.2024 Бюл. № 17

Адрес для переписки:

302026, г. Орёл, ул. Комсомольская, 95, ОГУ
им. И.С. Тургенева

(72) Автор(ы):

Шуплецов Валерий Витальевич (RU),
Ератова Любовь Васильевна (RU),
Маковик Ирина Николаевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "ОРЛОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени И.С. ТУРГЕНЕВА" (ОГУ им. И.С.
Тургенева) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: US 2003011772 A1, 16.01.2003. US
2018188516 A1, 05.07.2018. US 2005270640 A1,
08.12.2005.

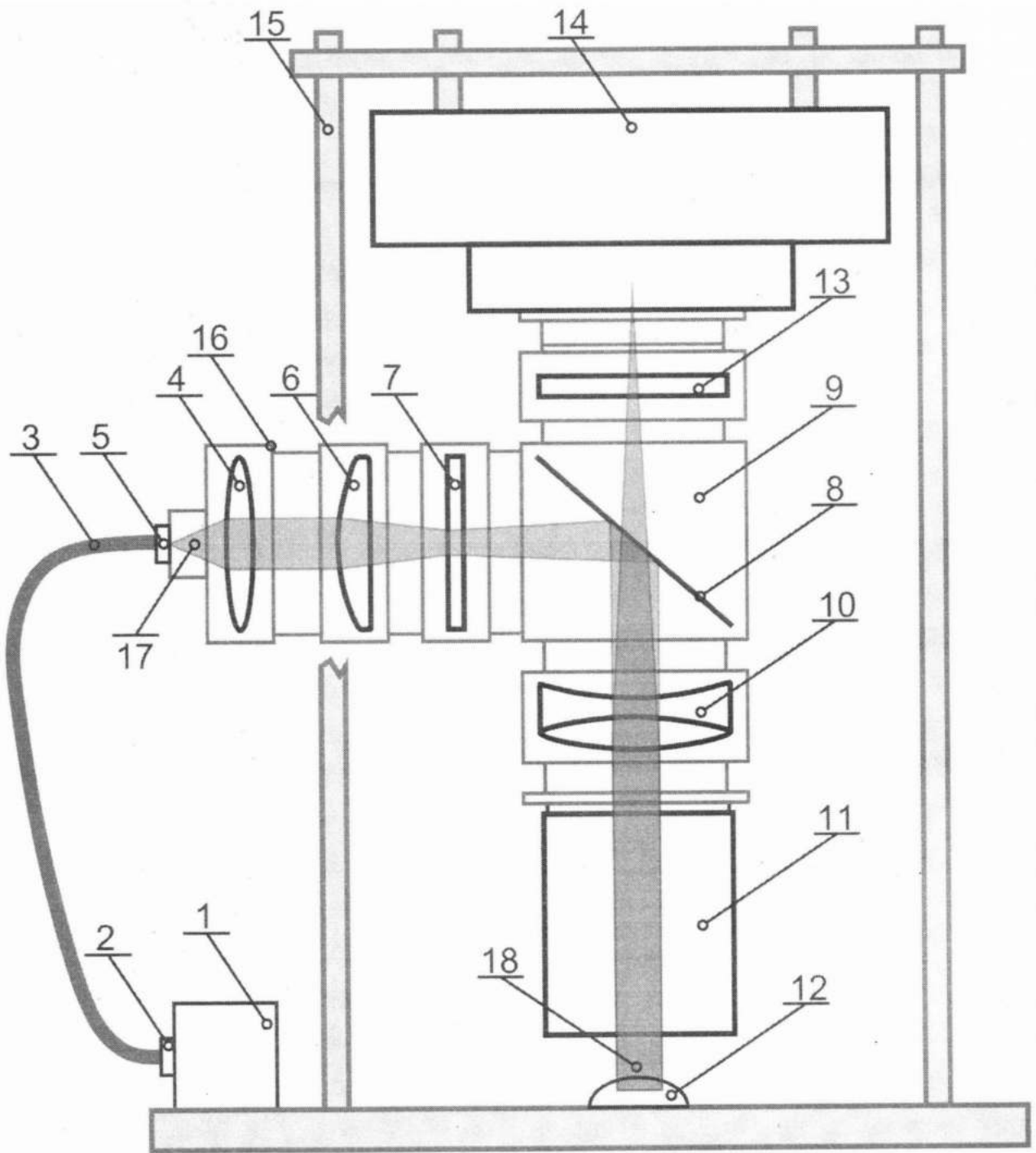
(54) УСТРОЙСТВО ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СРЕЗОВ ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ

(57) Реферат:

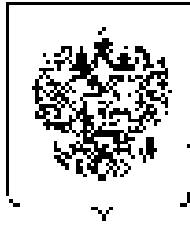
Изобретение относится к области оптики, а именно к оптическим элементам, системам или приборам для проведения микроскопии, и может быть использовано для проведения ex vivo исследований срезов тканей и органов. Устройство флуоресцентной микроскопии для изучения срезов тканей и органов содержит источник возбуждающего излучения, зеркало, направляющее возбуждающее излучение на объект исследования, флуоресцентный оптический фильтр, установленный по ходу флуоресцентного излучения объекта исследования и не пропускающий возбуждающее излучение, но пропускающий весь спектр флуоресцентного излучения, цифровую камеру. Источник возбуждающего излучения через оптическое

волокно подключен к установленным на пути прохождения возбуждающего излучения оптоволоконному коллиматору, связанному через собирающую линзу и оптический диффузор с механическим держателем фильтров, в котором закреплено дихроичное зеркало под углом 45° как к возбуждающему, так и к флуоресцентному излучениям. Оптический фильтр связан с ПЗС камерой, а по ходу флуоресцентного излучения от объекта исследования размещены объектив и ахроматический дуплет. Технический результат заключается в реализации равномерного поля освещенности и оптического канала с минимальными ахроматическими aberrациями при возможности изменения оптической конфигурации устройства. 1 ил.

RU 2820882 C1



RU 2820882 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
G02B 21/16 (2024.01); G01N 21/6458 (2024.01)

(21)(22) Application: **2023134331, 20.12.2023**

(24) Effective date for property rights:
20.12.2023

Registration date:
11.06.2024

Priority:

(22) Date of filing: **20.12.2023**

(45) Date of publication: **11.06.2024** Bull. № 17

Mail address:

**302026, g. Orel, ul. Komsomolskaya, 95, OGU im.
I.S. Turgeneva**

(72) Inventor(s):

**Shupletsov Valerij Vitalevich (RU),
Eratova Lyubov Vasilevna (RU),
Makovik Irina Nikolaevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "ORLOVSKIJ
GOSUDARSTVENNYJ UNIVERSITET imeni
I.S. TURGENEVA" (OGU im. I.S. Turgeneva)
(RU)**

(54) **FLUORESCENCE MICROSCOPY DEVICE FOR STUDYING TISSUE AND ORGAN SECTIONS**

(57) Abstract:

FIELD: optics.

SUBSTANCE: invention relates to optics, namely to optical elements, systems or devices for microscopy, and can be used for ex vivo studies of tissue and organ sections. Fluorescence microscopy device for studying sections of tissues and organs comprises an exciting radiation source, a mirror directing the exciting radiation to the object under study, a fluorescent optical filter installed along the fluorescent radiation of the investigated object and not transmitting exciting radiation, but transmitting the entire spectrum of fluorescent radiation, a digital camera. Exciting radiation source through optical fibre is connected to

fibre-optic collimator installed on path of exciting radiation and connected through a converging lens and an optical diffuser with a mechanical filter holder, in which a dichroic mirror is fixed at angle of 45° to both exciting and fluorescent radiation. Optical filter is connected to the CCD camera, and a lens and an achromatic doublet are placed in the direction of fluorescent radiation from the analysed object.

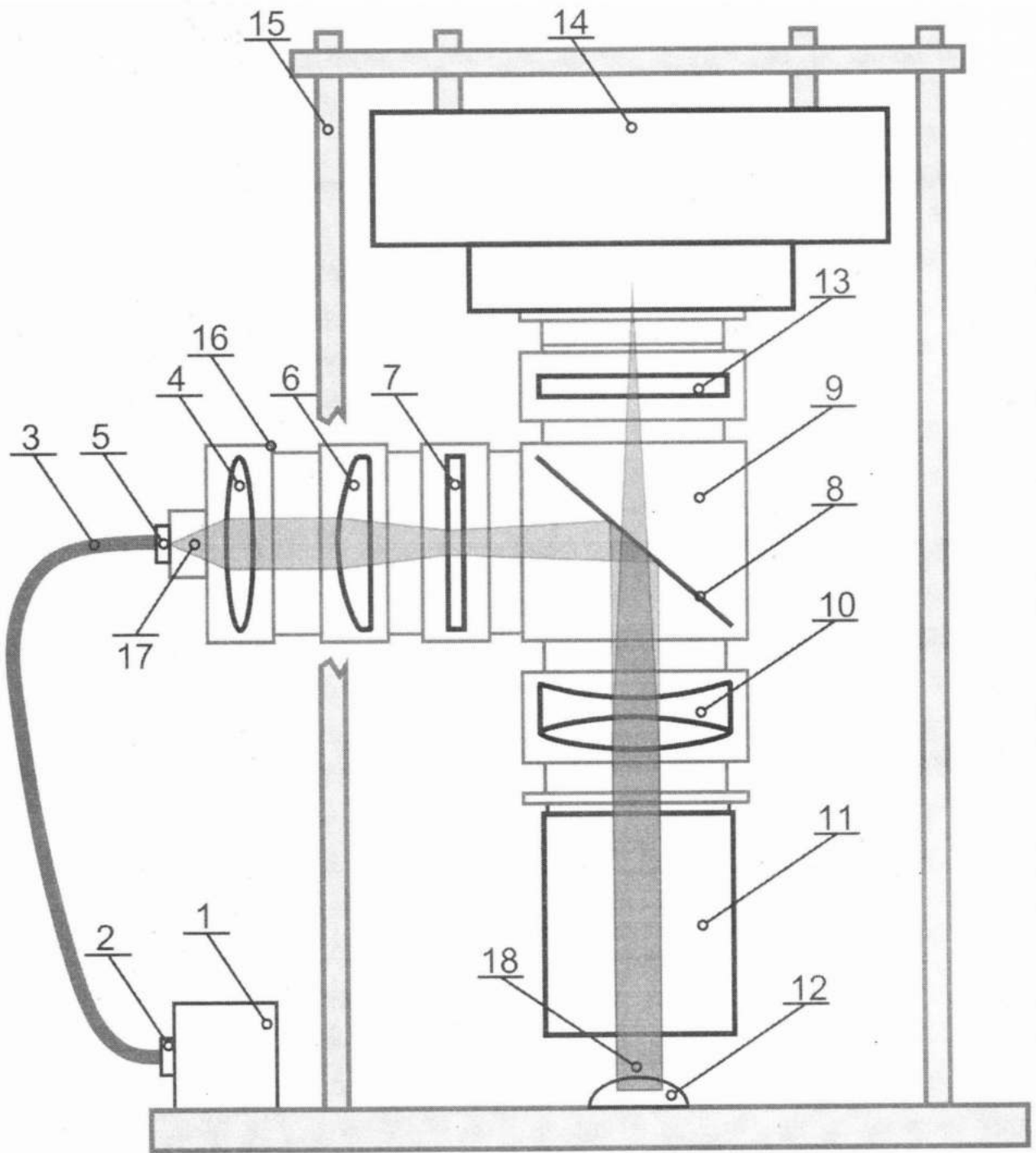
EFFECT: implementation of a uniform illumination field and an optical channel with minimum achromatic aberrations with the possibility of changing the optical configuration of the device.

1 cl, 1 dwg

RU 2 820 882 C1

RU 2 820 882 C1

RU 2820882 C1



RU 2820882 C1

Изобретение относится к области оптики, а именно к оптическим элементам, системам или приборам для проведения микроскопии, и может быть использовано для проведения *ex vivo* исследований срезов тканей и органов.

5 На сегодняшний день модель срезов тканей и органов обладает уникальными преимуществами перед другими моделями для проведения *ex vivo* исследований. Срезы в значительной степени сохраняют архитектуру исследуемых тканей и органов и могут
10 быть использованы при изучении молекулярных механизмов развития различных заболеваний, а также выявления путей их предупреждения и лечения (S. Cho, A. Wood, M.R. Bowlby, Brain slices as models for neurodegenerative disease and screening platforms to identify novel therapeutics, Curr Neuropharmacol 5(1) (2007), pp. 19-33). Совершенствование технологий получения данной модели исследования способствовало повышению
15 интереса к разработке устройств для их изучения, в частности, для анализа эндогенной флуоресценции срезов с применением добавок химических соединений и при непосредственном оказании внешнего воздействия.

Известен флуоресцентный микроскоп, относящийся к оборудованию для проведения научных исследований, реализующий одновременно несколько излучателей волоконного и диодного типа, а также возможность перемещения образца напротив объектива
20 микроскопа (Патент РФ №2182328, МПК G01N 21/64, G02B 21/00, 2000 г.).

Недостатками данного устройства являются ограничение в применимости для
25 определенных типов образцов или флуорофоров, неравномерность поля освещенности от источников излучения, а также возможные трудности в настройке и обслуживании сложной оптической системы микроскопа.

Известно устройство, относящееся к люминесцентно-микроскопическому анализу объектов, обладающих флуоресценцией. Данный флуоресцентный микроскоп реализован
30 в виде открытой оптической системы с возможностью фиксации изучаемого образца и наблюдением за ним во время проведения исследования. Техническая реализация позволяет использовать два источника возбуждения флуоресцентного излучения, расположенных под углом к образцу, и сменные флуоресцентные фильтры для выделения различного диапазона излучения флуоресценции (Патент РФ №2166201, МПК G01N
35 21/00, 1999 г.).

Недостатками данного устройства являются неравномерность зондируемой площади излучения, возникающая вследствие расположения источников излучения под углом к образцу, и вытекающие из этого потенциальные ограничения в отношении разрешения и чувствительности.

35 Наиболее близким к заявляемому изобретению является флуоресцентный микроскоп, относящийся к оборудованию для проведения научных исследований, в частности, для изучения люминесцирующих объектов, содержащий лазер, зеркало, направляющее излучение лазера на исследуемый объект, установленный по ходу пути флуоресцентного излучения исследуемого объекта отрезающий флуоресцентный фильтр, не пропускающий
40 излучение лазера, но пропускающий весь спектр флуоресцентного излучения исследуемого объекта, перестраиваемую поляризационную пластину, акустооптический перестраиваемый фильтр, цифровую камеру, связанную с компьютером. Данный флуоресцентный микроскоп позволяет получать спектральную информацию об объекте исследования с возможностью применения поляризационной оптики для получения
45 дополнительной диагностической информации (Патент РФ №2312326, МПК G01N 21/64, 2006 г.).

Недостатком данного решения является использование больших мощностей лазерного излучателя, что может вызвать нежелательные фотоэффекты при изучении

биологических объектов. Это обусловлено использованием акустооптического фильтра совместно с поляризационными пластинами, что отсекает больше 50% света в оптическом канале микроскопа и вынуждает повышать мощность источника излучения для сохранения оптимального соотношения сигнал/шум.

5 Техническая проблема состоит в обеспечении возможности проведения исследований эндогенной флуоресценции срезов, в том числе, с применением добавок химических соединений и при непосредственном оказании внешнего воздействия для оценки развития физиологических процессов в исследуемых образцах с минимальными потерями интенсивности в оптическом канале устройства.

10 Технический результат заключается в реализации равномерного поля освещенности и оптического канала с минимальными ахроматическими aberrациями при возможности изменения оптической конфигурации устройства, что повышает измерительную точность и удобство при измерениях на срезах тканей и органов.

15 Сущность изобретения поясняется чертежом - структурной схемой устройства флуоресцентной микроскопии.

Устройство содержит источник 1 с SMA разъемом 2, оптическое волокно 3, оптоволоконный коллиматор 4 с SMA разъемом 5, собирающую линзу 6, оптический диффузор 7, дихроичное зеркало 8, механический держатель 9 оптики, ахроматический дуплет 10, объектив 11, объект, 12 исследования, флуоресцентный оптический фильтр 13, монохромную высокочувствительную цифровую камеру с приборами с зарядовой связью (ПЗС камеру) 14, элементы 15 крепления. Все оптические элементы системы заключены в корпус, состоящий из закрытых элементов 16, соединенных друг с другом с возможностью демонтажа, которые обеспечивают точное позиционирование оптики и избегание паразитной составляющей возможной внешней засветки.

25 Источник 1, через SMA разъем 2 соединенный с оптическим волокном 3, также снабженным SMA разъемами на концах (на рисунке не показаны), подключен к установленным на пути прохождения возбуждающего излучения 17 SMA разъему 5 оптоволоконного коллиматора 4, связанному через собирающую линзу 6 и оптический диффузор 7 с механическим держателем 9 оптики, в котором закреплены дихроичное 30 зеркало 8 под углом 45° к возбуждающему излучению 17, флуоресцентный оптический фильтр 13, связанный с ПЗС камерой 14, установленный на пути прохождения флуоресцентного излучения 18 от объекта 12 исследования через объектив 11 и ахроматический дуплет 10 через дихроичное зеркало 8 и флуоресцентный оптический 35 фильтр 13 на ПЗС камеру 14.

Источник 1 излучения 17 свободно расположен рядом с оптической системой, объект 12 исследования располагают под объективом 12.

Источник 1 представляет собой светодиод, сопряженный с оптическим волокном 3, имеющим волоконный выход с SMA разъема 2. Управление источником 1 осуществляют с помощью светодиодного контроллера (на рисунке не показан).

40 Возбуждающее излучение 17 представляет собой поток монохроматической световой энергии, генерируемой источником 1.

Оптическое волокно 3 представляет собой одномодовый оптоволоконный жгут, используемый для сбора света от источника 1. Данный оптоволоконный жгут пропускает электромагнитное излучение в диапазоне длин волн 350-2000 нм. С двух концов 45 оптического волокна 3 имеются SMA разъемы (на рисунке не показаны).

Оптоволоконный коллиматор 4 предназначен для формирования выходящего из оптического волокна 3 потока фотонов в коллимированный (параллельный) пучок и направления возбуждающего излучения 17 на собирающую линзу 6 и оптический

диффузор 7.

Собирающая линза 6 необходима для проецирования возбуждающего излучения 17 от источника 1, направлением его на дихроичное зеркало 8. Механическим изменением расстояния от собирающей линзы 6 до дихроичного зеркала 8 задают площадь возбуждающего излучения 17. Просветляющее покрытие собирающей линзы 6 находится в диапазоне длин волн 350-700 нм, что позволяет использовать источники излучения практически всего видимого диапазона электромагнитного излучения.

Оптический диффузор 7 используют для обеспечения равномерности возбуждающего излучения 17, зондирующее объект 12 исследования. Оптический диффузор 7 выполнен из нефлуоресцирующего материала, тем самым не создает оптических помех в канале флуоресцентного излучения 18.

Дихроичное зеркало 8 используют для разделения возбуждающего излучения 17 и флуоресцентного излучения 18 от объекта 12 исследования за счет выборочной оптической преломляющей и пропускающей способности данного элемента. Дихроичное зеркало 8 расположено в механическом держателе 9 оптики и является сменным элементом. Могут быть использованы дихроичные зеркала с различными оптическими характеристиками, в зависимости от используемого источника излучения.

Механический держатель 9 оптики необходим для крепления флуоресцентного оптического фильтра 13 и дихроичного зеркала 8 и является сменным элементом. Перед использованием может быть изготовлено несколько механических держателей с целью быстрой смены оптической конфигурации системы. Механический держатель 9 оптики свободно расположен в устройстве с креплением на магнитах (на рисунке не показано) к элементам 15 крепления и обеспечивает стабильность и точность позиционирования оптики в установке.

Ахроматический дууплет 10, представляющий собой объектив из двух линз, необходим для ограничения эффектов хроматической и сферической аберрации. Ахроматический дууплет 10 направляет параллельный пучок возбуждающего излучения 17 на объектив 11 и сфокусированный пучок флуоресцентного излучения 18 на ПЗС камеру 14.

Объектив 11 фокусирует возбуждающее излучение 17, падающее на объект 12 исследования и создает его увеличенное изображение на ПЗС камере 14. Объектив 11 является сменным элементом с возможностью настройки изображения требуемой площади, в зависимости от увеличительной способности выбранного объектива.

В качестве объекта 12 исследования выступают гистологические срезы изучаемых тканей и органов.

Флуоресцентное излучение 18 представляет собой люминесцентный поток световой энергии, излучаемый объектом 12 исследования.

Флуоресцентный оптический фильтр 13, отсекающий возбуждающее излучение 17 и пропускающий только флуоресцентное излучение 18, расположен в механическом держателе 9 оптики и является сменным элементом. Флуоресцентный оптический фильтр 13 выполнен из нефлуоресцирующих материалов, тем самым не создавая оптических помех в получаемом сигнале.

ПЗС камеру 14 используют в качестве детектора с возможностью регистрирования изображения с высокой разрешающей способностью, сохраняя оптимальное соотношение сигнал/шум.

Элементы 15 крепления представляют собой установочные металлические элементы, выполненные в виде стержней.

Устройство работает следующим образом.

Источник 1 генерирует возбуждающее излучение 17, которое проходит через

оптическое волокно 3 и оптоволоконный коллиматор 4, собирающую линзу 6 и оптический диффузор 7, попадая на дихроичное зеркало 8, где преломляется под углом 90° и, проходя через ахроматический дуплет 10 и объектив 11, направляется на объект 12 исследования. Под действием возбуждающего излучения 17 в объекте 12 исследования возбуждается флуоресцентное излучение 18, фотоны от которого попадают на объектив 11 и проходят через ахроматический дуплет 10, попадая на дихроичное зеркало 8. Возбуждающее излучение 17 отсекается на флуоресцентном оптическом фильтре 13. Так как флуоресцентное излучение 18 обладает другой длиной волны, оно не преломляется на дихроичном зеркале 8, а попадает на ПЗС камеру 14. При необходимости оператор системы может заменить источник 1 и механический держатель 9 оптики для изучения другого диапазона флуоресцентного сигнала 18 от объекта 12 исследования.

(57) Формула изобретения

15 Устройство флуоресцентной микроскопии для изучения срезов тканей и органов, содержащее источник возбуждающего излучения, зеркало, направляющее возбуждающее излучение на объект исследования, флуоресцентный оптический фильтр, установленный по ходу флуоресцентного излучения объекта исследования и не пропускающий возбуждающее излучение, но пропускающий весь спектр флуоресцентного излучения, 20 цифровую камеру, отличающееся тем, что источник возбуждающего излучения через оптическое волокно подключен к установленным на пути прохождения возбуждающего излучения оптоволоконному коллиматору, связанному через собирающую линзу и оптический диффузор с механическим держателем фильтров, в котором закреплено дихроичное зеркало под углом 45° как к возбуждающему, так и к флуоресцентному излучениям, причем оптический фильтр связан с ПЗС камерой, а по ходу 25 флуоресцентного излучения от объекта исследования размещены также объектив и ахроматический дуплет.

30

35

40

45

