



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0036314

(51)⁷ C12M 1/24; G01N 9/30

(13) B

(21) 1-2017-04837

(22) 30/11/2017

(45) 25/07/2023 424

(43) 25/06/2019 375A

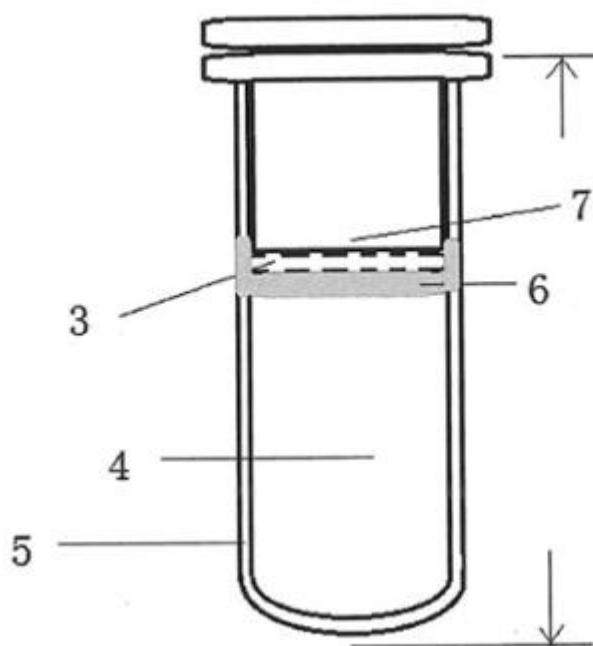
(76) Yang Wang (CN)

No. 3 Chengxi Xueyuan Road, Hai Kou, Hai Nan, China

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) ỐNG TÁCH CHIẾT VÀ LÀM SẠCH TẾ BÀO CHÂM

(57) Sáng chế đề cập đến ống tách chiết và làm sạch tế bào châm từ nước biển tự phân giải. Ống cải tiến này có nắp kéo dài theo chiều dọc và được gắn vải lưới kỹ thuật ở đầu, cả hai chi tiết này được ấn vào bên trong ống. Nắp kéo dài có thể được khóa bên trong ống bằng cách nút gờ ở mép nắp và khe bên trong của ống với nhau. Hai lỗ trên nắp được bố trí để rót nước biển tự phân giải vào và để xả áp suất của khoang nắp trong khi rót. Khi tra nắp vào trong ống, thì vải lưới được gắn và cố định ở đầu của nắp. Vải lưới này thiết lập ra một màn chắn cơ học để tạo thành khoang chứa bên trong phần nắp, để rót và chứa nước biển tự phân giải trong trạng thái tĩnh (như ở điều kiện trọng lực bình thường). Khi nước biển tự phân giải được rót vào trong khoang chứa của nắp, thì tế bào châm bao gồm nước biển bị ngăn lại trong khoang. Chức năng khác của vải lưới là để lọc và gom tế bào châm nguyên dạng bằng cách được ly tâm bằng lực ly tâm tương đối từ 300×g đến 900×g (RCF). Vải lưới đã gom và tế bào châm được dôn lại có thể được tách rửa và thu hoạch một cách nguyên vẹn và không bị hư hại.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến thiết bị để tách chiết tế bào châm ra khỏi dung dịch tự phân giải thô trong nước biển và phương pháp chuẩn bị tế bào châm cho việc phân tích sau đó.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Tế bào châm là tế bào gây độc chứa một cơ quan bài tiết lớn của sứa biển. Thông thường, tế bào châm được tách chiết ra khỏi dung dịch nước biển tự phân giải bằng cách ly tâm. Tuy nhiên, rác thải biển và các phần tử nhỏ lẫn trong nước biển cũng có mặt cùng với các tế bào châm này và ảnh hưởng đến việc phân tích và ứng dụng sau đó trong các ngành công nghiệp có tính khoa học.

Ống ly tâm cải tiến có nắp kéo dài được mở rộng khoảng không bên trong mặt nắp. Khoảng không này cho phép nạp đầy dung dịch tự phân giải. Vải lọc sẽ được gắn dễ dàng vào phía còn lại của nắp, tạo ra màn chắn cơ học để giữ dung dịch tự phân giải này bên trong khoảng không đó. Tế bào châm sạch thu được bằng cách ly tâm trong điều kiện lực ly tâm tương đối (Relative Centrifuge Force – RCF) nằm trong khoảng từ 300g đến 900g bằng cách loại bỏ nước biển và phần tử nhỏ và rác thải lẫn trong đó.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất phương pháp tách chiết tế bào châm sạch và loại bỏ nước biển và các phần tử nhỏ theo cách nhanh chóng và thuận tiện bằng cách sử dụng ống ly tâm cải tiến.

Thân của ống ly tâm cải tiến có đường kính xấp xỉ 14mm và chiều dài bằng 40mm. Nắp kéo dài có chiều dài là 2mm. Phần này tạo ra một khoang rỗng có đường kính 8mm và chiều dài 2mm để chứa dung dịch tự phân giải.

Ống ly tâm cải tiến bao gồm nắp kéo dài theo chiều dọc, mở rộng khoang rỗng theo chiều dọc và vải lọc được gắn vào phía đáy của nắp. Gờ nằm ở mép đáy của nắp và phần khe bên trong nằm trên thành ống được khóa vào với nhau để cố định vải lọc bên trong ống và giữ cho nắp và vải lọc ổn định trong khi ly tâm.

Do các tế bào châm trong dung dịch tự phân giải nằm lẫn với nước biển, các

phần tử nhỏ và rác thải nên việc thu gom tế bào chambers sẽ được thực hiện bằng cách sử dụng vải lọc trong điều kiện RCF nằm trong khoảng từ $300\times g$ đến $900\times g$ để thu được các tế bào chambers sạch.

Vải lọc được gắn vào để làm màn chắn cơ học sẽ tích tụ các tế bào chambers có hình dáng thích hợp bên trên vải lọc để phân tích hoặc sử dụng sau đó trong các ngành công nghiệp có tính khoa học.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Sáng chế sẽ được hiểu rõ nhất dựa trên phần mô tả chi tiết dưới đây kết hợp với các hình vẽ đi kèm. Trên các hình vẽ này, các dấu hiệu khác nhau của cấu trúc ống ly tâm cải tiến sẽ được nhấn mạnh.

Fig.1 là hình vẽ thể hiện mặt cắt ngang của nắp cải tiến của ống ly tâm dùng để tách chiết tế bào chambers.

Fig.2 là hình vẽ thể hiện mặt cắt ngang của nắp cải tiến được gắn vải lọc.

Fig.3 là hình vẽ thể hiện hình chiếu nhìn từ dưới lên của nắp cải tiến được gắn vải lọc.

Fig.4 là hình vẽ thể hiện hình chiếu bằng của nắp.

Fig.5 là hình vẽ thể hiện mặt cắt ngang của ống ly tâm khi ống ly tâm dùng để tách chiết tế bào chambers ở trạng thái mở nắp.

Fig.6 là mặt cắt ngang của ống ly tâm khi được đẩy bằng nắp kéo dài và gắn vải lọc.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trước khi mô tả ống ly tâm cải tiến nêu trên dùng cho phương pháp thu gom tế bào chambers sạch nhanh chóng và thuận tiện, cần hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn ở một phương án cụ thể được mô tả, tất nhiên vì vậy sáng chế có thể thay đổi. Cần hiểu rằng thuật ngữ sử dụng trong bản mô tả này chỉ dùng cho mục đích mô tả các phương án cụ thể, và không được dự định để giới hạn phạm vi của sáng chế, vì phạm vi của sáng chế sẽ chỉ bị giới hạn bởi các yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Khi một khoảng giá trị được nêu ra, thì cần hiểu rằng mỗi giá trị xen giữa, tính đến một phần mười đơn vị của giới hạn dưới, trừ khi ngữ cảnh chỉ ra hoàn toàn khác,

mà nằm giữa giới hạn trên và giới hạn dưới của khoảng đó cũng được nêu một cách cụ thể. Mỗi khoảng nhỏ nằm giữa một giá trị bất kỳ được nêu hoặc giá trị xen giữa bất kỳ nằm trong khoảng được nêu và bất kỳ giá trị được nêu khác hoặc bất kỳ giá trị xen giữa khác trong khoảng nhỏ đã nêu đó cũng bao gồm trong phạm vi sáng chế. Giới hạn trên và giới hạn dưới của các khoảng nhỏ này có thể độc lập được bao gồm hoặc loại trừ khỏi khoảng đã nêu, và mỗi khoảng có một trong hai giới hạn, không có giới hạn nào hoặc cả hai giới hạn đều nằm trong khoảng nhỏ cũng sẽ được bao gồm trong sáng chế, tùy theo giới hạn cụ thể bất kỳ bị loại trừ khỏi khoảng đã nêu. Khi khoảng đã nêu bao gồm một hoặc cả hai giới hạn thì khoảng mà loại trừ một trong hai hoặc cả hai giới hạn này cũng sẽ nằm trong phạm vi của sáng chế.

Trừ khi được định nghĩa khác đi, toàn bộ các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả này có ý nghĩa tương tự như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập đến. Mặc dù các phương pháp và nguyên liệu bất kỳ tương tự hoặc tương đương với các phương pháp và vật liệu được mô tả trong bản mô tả này, có thể được sử dụng trong thực hành hoặc thử nghiệm sáng chế, nhưng bản mô tả này chỉ mô tả các phương pháp và vật liệu được ưu tiên. Toàn bộ các công bố được đề cập ở đây, được đưa vào trong bản mô tả này bằng cách viện dẫn để bộc lộ và mô tả các phương pháp và/hoặc vật liệu liên quan đến các công bố được trích dẫn.

Cần lưu ý rằng như được sử dụng trong bản mô tả này và các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo, dạng thức số ít sẽ bao gồm số nhiều trừ khi ngữ cảnh quy định khác đi. Theo đó, ví dụ, khi đề cập đến “một mẫu” có nghĩa sẽ bao gồm nhiều mẫu và khi đề cập đến “thử nghiệm” có nghĩa sẽ bao gồm một hoặc nhiều thử nghiệm cũng như các tương đương của chúng mà đã biết đối với những người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật tương ứng, v.v..

Các ấn phẩm được thảo luận ở đây được cung cấp chỉ vì chúng được bộc lộ trước ngày nộp của đơn này. Không có ấn phẩm bất kỳ được nêu ở đây được coi là sự thừa nhận rằng sáng chế không được tạo ra trước ấn phẩm đó. Hơn nữa, các ngày công bố được cung cấp có thể khác so với các ngày công bố thực tế mà có thể cần được xác nhận độc lập.

Fig.1 là hình vẽ thể hiện mặt cắt ngang dưới dạng sơ đồ của nắp theo sáng chế. Trên Fig.1, nắp bao gồm phần đầu 1, thân của nắp kéo dài 2, gờ 3 ở mép tại đáy của nắp, đáy hờ 4 của nắp và khoang trống 5 trong thân nắp. Khoang trống 5 là khoang để chứa dung dịch tự phân giải. Vải lọc được gắn lên đáy hờ 4 của nắp.

Như được thể hiện trên Fig.2, Fig.3 và Fig.5, khi vải lọc 6 được gắn lên đáy của nắp, thì vải được gắn lỏng lẻo với gờ ở mép. Khi nắp được lắp vào bên trong thân ống, thì vải 6 trên Fig.6 sẽ bị khóa chặt ở giữa gờ và khe bên trong thân ống.

Khi sử dụng RCF thấp nằm trong khoảng từ 300×g đến 900×g để ly tâm dung dịch tự phân giải trong khoang rỗng của nắp, thì nước biển và các phần tử nhỏ cùng với rác thải sẽ di chuyển xuống khoang trống ở đáy ống 4 trên Fig.5 và Fig.6. Các tế bào châm có hình dáng thích hợp 7 trên Fig.6 bị dồn lại bên trên vải lọc.

Mắt lưới trên Fig.3 của vải lọc quyết định kích thước và hình dạng của tế bào châm. Kích thước và hình dạng của các tế bào châm bị dồn lại có thể được điều chỉnh bằng cách thay đổi cả RCF (nằm trong khoảng từ 300×g đến 900×g) và mắt lưới của vải.

Ngoài ra, ống hình trụ này không hạn chế ở tác dụng để thu gom tế bào châm mà còn có thể dùng để tách chiết các tế bào ra khỏi loại mô bất kỳ khác.

Ống nêu trên có thể được chế tạo theo nhiều kích thước khác nhau, để vừa với kích thước của máy ly tâm, như từ 0,1mL đến 50mL, hoặc lớn hơn kích thước này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây cung cấp phần bộc lộ và mô tả hoàn chỉnh về cách thức thực hành sáng chế cho người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật tương ứng. Các ví dụ này không được dự định để giới hạn phạm vi của đối tượng mà các tác giả coi là sáng chế cũng như chúng không được dự định để đưa ra rằng các thí nghiệm dưới đây là tất cả các thí nghiệm hoặc là các thí nghiệm duy nhất được thực hiện. Mặc dù các tác giả đã rất cố gắng để đảm bảo độ chính xác của con số được nêu (ví dụ, số lượng, nhiệt độ, loại tế bào v.v.), nhưng cũng nên tính đến sai số và độ lệch của thử nghiệm ở một mức nào đó. Trừ khi được biểu thị khác đi, nếu không các phần sẽ là các phần khối lượng, giá trị đếm tế bào là giá trị đếm trung bình, nhiệt độ tính theo độ C, và lực ly tâm tương đối là lực quán tính (còn được gọi là lực "giả" hoặc lực "ảo") hướng từ

trục quay của máy ly tâm ra ngoài mà sẽ tác động lên tất cả các đối tượng nằm trong phạm vi của khung quay liên quan.

Kết cấu của nắp ống thể hiện trên các Fig.1, Fig.2, Fig.3, Fig.4 nhìn từ các góc cắt khác nhau, được sử dụng để tách chiết tế bào chlamydia sạch từ dung dịch tự phân giải của sữa biển theo cách đã mô tả bên trên. 50 ống (n=50) đã được lựa chọn và kiểm tra. Để kiểm tra độ chính xác của ống sau mỗi lần chuẩn bị ly tâm, các tác giả đã lựa chọn ống có đường kính trong là 8mm và chiều dài thân ống là 40mm; tiến hành nạp 100µL nước biển bao gồm dung dịch tự phân giải của sữa biển vào khoang lưu trữ, sau đó ly tâm ở +4°C, RCF 900×g trong 5 phút. Đối với quy trình bổ sung, các tác giả sáng chế lặp lại việc nạp và ly tâm với cùng điều kiện như trên thêm hai lượt. Sau bước ba nạp và ly tâm, các tác giả sử dụng máy đếm huyết cầu Louis-Charles Malassez để đếm số lượng tế bào chlamydia đã thu gom dưới kính hiển vi có độ phóng đại 400 (thị kính và vật kính lần lượt có độ phóng đại là 10 và 40). Tổng tế bào chlamydia được tính toán bằng cách sử dụng công thức chuẩn sau đây:

$$\text{Tổng số lượng tế bào chlamydia /ml} = \text{Số tế bào chlamydia đếm được} \times (\text{Hệ số pha loãng} / \text{Số mắt lưới}) \times 10,000/\text{ml}$$

Các giá trị tế bào chlamydia sạch mịn đếm được, được chia làm ba nhóm. Nhóm 1 là số lượng đếm được sau lần ly tâm thứ nhất, nhóm 2 là toàn bộ số lượng tế bào chlamydia đếm được sau lần nạp và đếm thứ hai, và nhóm 3 là toàn bộ số lượng tế bào chlamydia đếm được sau lần nạp và đếm thứ ba. Các tác giả sáng chế lặp lại ba lần cho mỗi ống. Các kết quả của tổng số 30 lần kiểm tra khác nhau được tính toán bằng giá trị trung bình (MEAN) ± độ lệch chuẩn của giá trị trung bình (SEM).

Như thể hiện trong ví dụ bên trên, ống theo sáng chế tạo ra khả năng thu được một cách ổn định gần như cùng lượng mẫu tế bào chlamydia. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật tương ứng sẽ hiểu rằng, ở một mức độ nào đó có thể khó thu được nhiều mẫu từ một dung dịch tự phân giải và sẽ hiểu được độ chính xác và sự thuận tiện của ống được mô tả ở đây.

Sau đó, thí nghiệm này được tiến hành lặp lại đối với 300 mẫu được lấy và được đếm dưới kính hiển vi. Các kết quả của các thí nghiệm bổ sung này được nêu trong Bảng 1. Kết quả này cho thấy rằng các ống theo sáng chế này tạo ra các mẫu có

kích thước đồng đều.

Bảng 1. Số lượng tế bào chắm trung bình sau ba bước ly tâm

Lượt	Ly tâm (+4°C)	Dung dịch tự phân giải được khuấy kỹ trong khoảng rỗng (μL)	Số lượng tế bào chắm trung bình
Lượt 1	RCF 900×g, 5 phút	100	4000±370
Lượt 2	RCF 900×g, 5 phút	100	10000±760
Lượt 3	RCF 900×g, 5 phút	100	17000±840
Tổng thể	3 lượt ly tâm	300	31000±920

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Ống tách chiết và làm sạch tế bào châm có kết cấu bao gồm ống hình trụ rỗng mờ được chia độ có nắp kéo dài có gờ nằm ở mép tại đáy hở của nắp, khe bên trong thân ống, mà sẽ ăn khớp với gờ của nắp để sau đó cố định vải lọc được gắn vào đáy của nắp để tạo ra khoang rỗng chứa dung dịch tự phân giải.
2. Ống tách chiết và làm sạch tế bào châm theo điểm 1, trong đó phần đỉnh của nắp có hai lỗ, một lỗ được bố trí ở trung tâm của phần đỉnh và lỗ còn lại ở bên cạnh của phần đỉnh và trong đó lỗ ở giữa của phần đỉnh dùng để xả áp suất nắp và lỗ bên cạnh dùng để nạp dung dịch vào trong khoang rỗng.

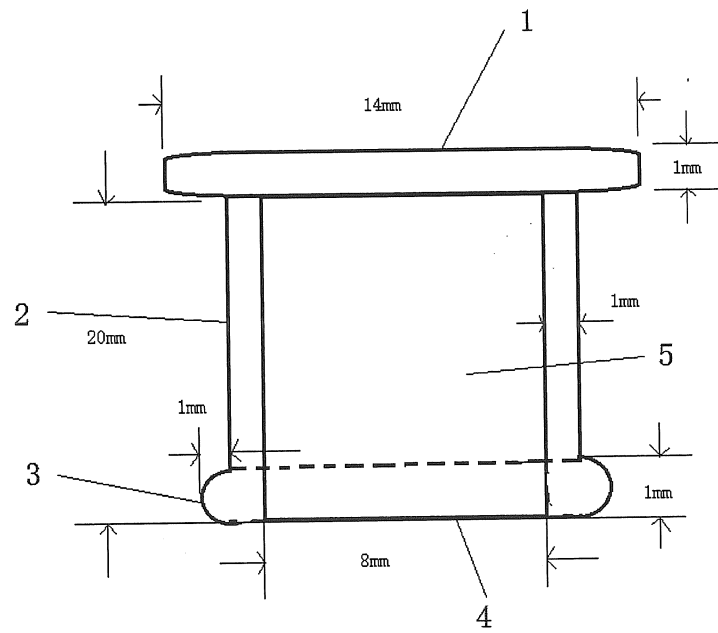


Fig.1

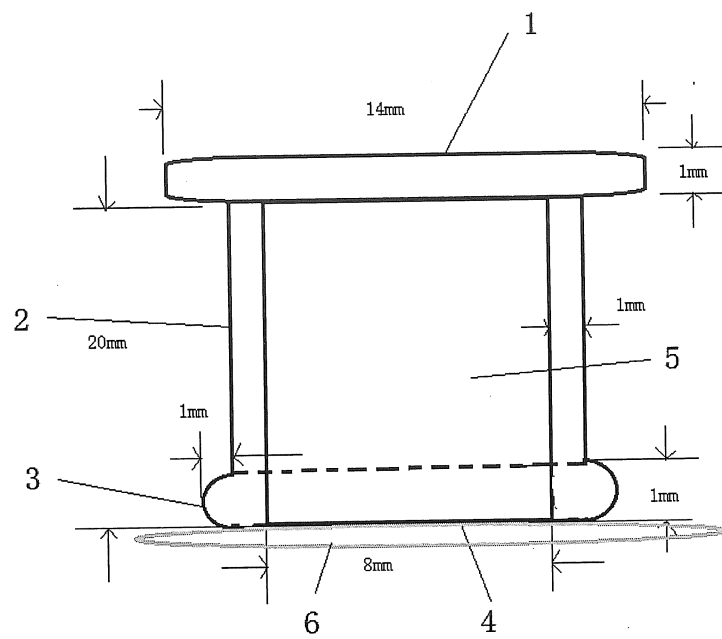


Fig.2

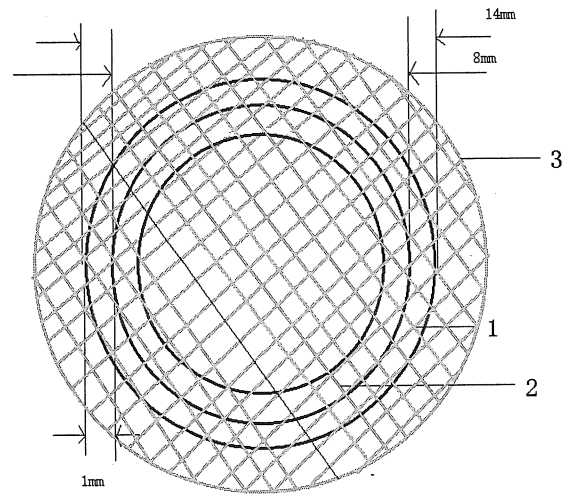


Fig.3

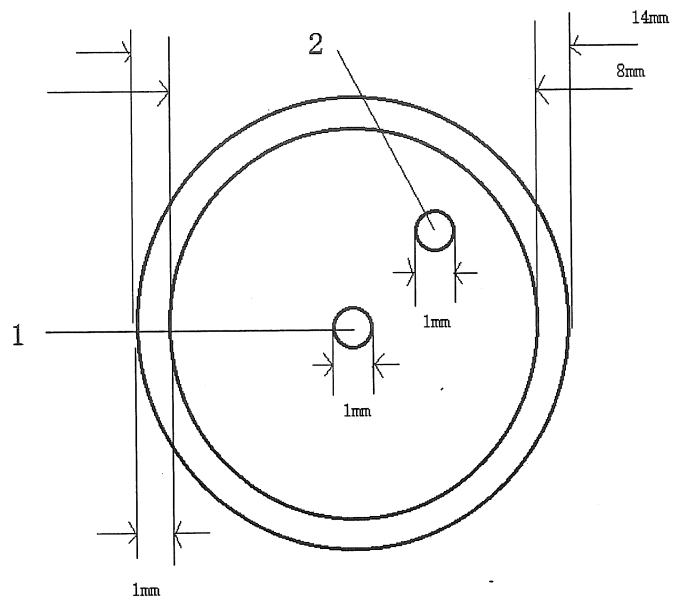


Fig.4

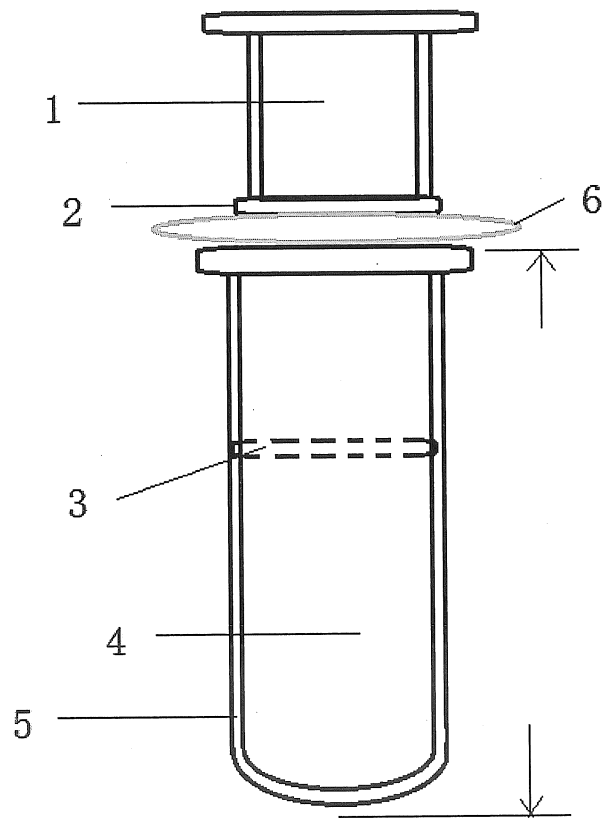


Fig.5

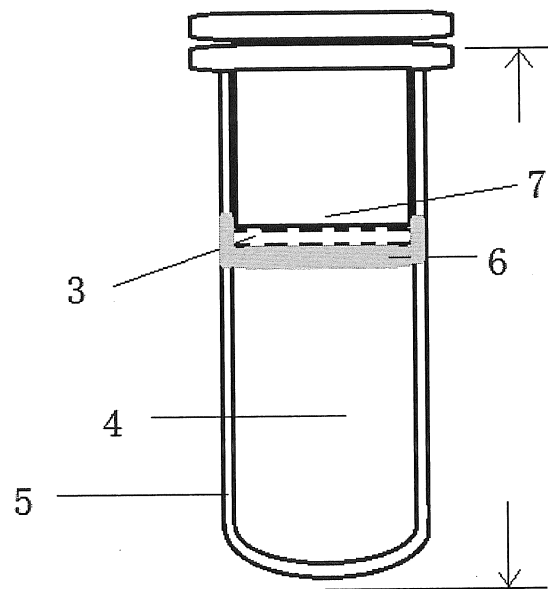


Fig.6