



(21)申请号 201710138263.2

(22)申请日 2017.03.09

(71)申请人 中国科学院生物物理研究所  
地址 100101 北京市朝阳区大屯路十五号

(72)发明人 纪伟 谷陆生 付彦辉 徐晓君  
贾策 张翔 李慰兴

(74)专利代理机构 北京方圆嘉禾知识产权代理  
有限公司 11385

代理人 董芙蓉

(51)Int.Cl.

G02B 21/28(2006.01)

G02B 21/26(2006.01)

G01N 21/01(2006.01)

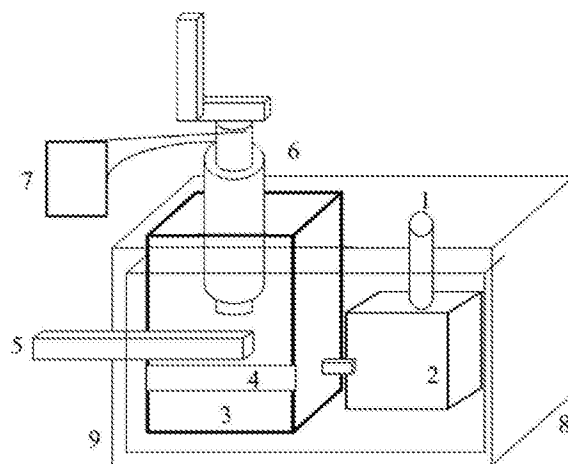
权利要求书1页 说明书3页 附图3页

(54)发明名称

冷冻显微镜用超低温样品台

(57)摘要

本发明涉及光学显微成像技术领域,具体涉及一种冷冻显微镜用超低温样品台,包括外壳,外壳内壁设置有保温层,外壳内设置有液氮储存室和样品腔室,液氮储存室连接有液氮管,液氮管安装在外壳上,用于导入液氮;样品腔室内设置有水平的蒸发板,蒸发板与液氮储存室之间连通;外壳上设有物镜通孔,物镜通孔用于物镜进入到样品腔室内;还包括有样品夹,样品夹和物镜的镜头都位于蒸发板的上方。本发明提供的冷冻显微镜用超低温样品台,可用于低温光学成像或者冷冻样品的光电融合成像,保护和适合任何尺寸的显微镜物镜,便于样品的温度散热,样品装载也更简单便捷,除了保证样品的温度特性以外还能保证系统成像的稳定性。



1. 冷冻显微镜用超低温样品台, 包括外壳 (8), 外壳 (8) 内壁设置有保温层 (9), 其特征在于, 所述的外壳 (8) 内设置有液氮储存室 (2) 和样品腔室 (3), 所述的液氮储存室 (2) 连接有液氮管 (1), 所述的液氮管 (1) 安装在外壳 (8) 上, 用于导入液氮; 所述的样品腔室 (3) 内设置有水平的蒸发板 (4), 所述的蒸发板 (4) 与液氮储存室 (2) 之间连通;

所述的外壳 (8) 上设有物镜通孔, 所述的物镜通孔用于物镜 (6) 进入到样品腔室 (3) 内, 物镜 (6) 从样品腔室 (3) 的正上方或者侧方进入; 还包括有样品夹 (5), 所述的样品夹 (5) 和物镜 (6) 的镜头都位于蒸发板 (4) 的上方。

2. 根据权利要求1所述的冷冻显微镜用超低温样品台, 其特征在于, 所述的样品夹 (5) 的中心线和物镜 (6) 的光轴垂直。

3. 根据权利要求1所述的冷冻显微镜用超低温样品台, 其特征在于, 所述的样品腔室 (3) 和外壳 (8) 之间填充隔热材料。

4. 根据权利要求1所述的冷冻显微镜用超低温样品台, 其特征在于, 所述的蒸发板 (4) 上开设有多个孔, 上表面覆盖有隔热材料。

5. 根据权利要求1所述的冷冻显微镜用超低温样品台, 其特征在于, 所述的物镜 (6) 上安装有物镜恒温器 (7)。

6. 根据权利要求1所述的冷冻显微镜用超低温样品台, 其特征在于, 所述的样品腔室 (3) 内设置有温度探头和液面传感探头, 用于反馈控制样品腔室内环境温度和液氮存量。

## 冷冻显微镜用超低温样品台

### 技术领域

[0001] 本发明涉及光学显微成像技术领域,具体涉及一种冷冻显微镜用超低温样品台。

### 技术背景

[0002] 冷冻样品制备方法能保持样品最原始的状态,但需要在低温环境下观察,另外在超低温状态下荧光分子具有更高的稳定性,能够收集到更多的荧光分子,因此低温光学显微成像技术成为细胞成像里越来越重要的实验手段,而且冷冻电镜技术的发展使得越来越多的生物大分子结构被陆续解析出来,冷冻电镜和光学显微镜的融合成像能提供更多的生物学信息,但缺乏成熟可靠的光学成像低温冷台。在低温显微镜技术中,很重要的器件就是低温冷台,它负责保持样品处于超低温状态,防止在成像过程中发生温度升高造成的重结晶以及融化,影响样品的形态。

[0003] 目前已有的低温冷台通常为真空冷台,即样品处于真空环境中。这样做的目的是利用真空隔绝样品与周围腔室之间的热传导。但是使用真空腔室同时存在一些缺点,如需要加入窗口,只能使用工作距离较长的且具备玻片矫正的物镜。同时由于真空下样品散热很慢,当成像时照明功率较高的时候不利于将照明光产生的热量散发出去,造成样品局部升温并被破坏。而在进行冷冻条件下的荧光显微成像过程中,往往需要较大的功率密度,才能将样品的荧光漂白。因此样品的散热效率较低会影响冷冻条件下荧光显微成像的应用。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种冷冻显微镜用超低温样品台,为冷冻显微镜观察的样品提供了超低温氮气环境,能够提高样品的散热效率,达到在成像过程中使用更高照明功率的目的。

[0005] 本发明的目的是通过下述技术方案实现的。

[0006] 冷冻显微镜用超低温样品台,包括外壳,外壳内壁设置有保温层,所述的外壳内设置有液氮储存室和样品腔室,所述的液氮储存室连接有液氮管,所述的液氮管安装在外壳上,用于导入液氮;所述的样品腔室内设置有水平的蒸发板,所述的蒸发板与液氮储存室之间连通;所述的外壳上设有物镜通孔,所述的物镜通孔用于物镜进入到样品腔室内;物镜从样品腔室的正上方或者侧方进入;还包括有样品夹,所述的样品夹和物镜的镜头都位于蒸发板的上方。

[0007] 所述的样品夹的中心线和物镜的光轴垂直。

[0008] 所述的样品腔室和外壳之间填充隔热材料。

[0009] 所述的蒸发板上开设有多个孔,上表面覆盖有隔热材料。

[0010] 所述的物镜上安装有物镜恒温器。

[0011] 所述的样品腔室内设置有温度探头和液面传感探头,用于反馈控制样品腔室内环境温度和液氮存量。

[0012] 本发明提供的冷冻显微镜用超低温样品台与已有技术具有以下显著优点:

- [0013] 1、开放式设计提供液氮温度下的超低温环境,便于其他系统的集成;
- [0014] 2、解决了因液氮汽化震动造成的样品焦面漂移;
- [0015] 3、可抑制环境改变、光源功率高等因素带来的样品局部温度不稳定,显著提高成像效果;
- [0016] 4、超低温不会对物镜造成损坏,并适用于任何尺寸的显微镜物镜。
- [0017] 本发明提供的冷冻显微镜用超低温样品台,可用于低温光学成像或者冷冻样品的光电融合成像,该技术与现有的低温样品台相比,不需要加入光学窗口进行密闭,保护和适合任何尺寸的显微镜物镜,便于样品的温度散热,样品装载也更简单便捷,除了保证样品的温度特性以外还能保证系统成像的稳定性。为冷冻显微镜的样品提供超低温环境,该技术相比以往的超低温冷台具有开放式设计、高散热效率、适用于任何物镜等诸多优点。

### 附图说明

- [0018] 图1为本发明实施例1的结构示意图;
- [0019] 图2为本发明实施例2的结构示意图;
- [0020] 图3为本发明的样品腔室温度曲线的示意图;
- [0021] 图4A为利用本发明获得的标记线粒体的细胞冷冻切片宽场荧光成像照片;
- [0022] 图4B为图4A图位置超分辨成像照片。
- [0023] 其中:1-液氮管;2-液氮存储室;3-样品腔室;4-蒸发板;5-样品夹;6-物镜;7-物镜恒温器;8-外壳;9-保温层。

### 具体实施方式

- [0024] 下面结合附图和实施例对本发明进一步说明。
- [0025] 本发明在保证冷冻显微镜的样品处于超低温环境下的前提下,利用稳定液氮挥发技术和物镜系统温度控制技术对低温样品实现。
- [0026] 实施例1
- [0027] 如图1所示,冷冻显微镜用超低温样品台,包括外壳8,外壳8内壁设置有保温层9,所述的外壳8内设置有液氮储存室2和样品腔室3,所述的液氮储存室2连接有液氮管1,所述的液氮管1安装在外壳8上,用于导入液氮;所述的样品腔室3内设置有水平的蒸发板4,所述的蒸发板4与液氮储存室2之间连通;
- [0028] 所述的外壳8顶部上设有物镜通孔,所述的物镜通孔用于物镜6进入到样品腔室3内;还包括有样品夹5,所述的样品夹5和物镜6的镜头都位于蒸发板4的上方。物镜6从样品腔室3的正上方或侧方进入。
- [0029] 所述的样品夹5的中心线和物镜6的光轴垂直。
- [0030] 所述的样品腔室3和外壳8之间填充隔热材料。
- [0031] 所述的样品腔室3内设置有温度探头和液面传感探头,用于反馈控制样品腔室内环境温度和液氮存量。
- [0032] 所述的蒸发板4上开设有多个孔,上表面覆盖有隔热材料。
- [0033] 所述的物镜6上安装有物镜恒温器7。
- [0034] 外壳8可以在底部或者顶部进行固定,顶部用于安装液氮管1和物镜6,便于液氮挥

发和物镜进入,物镜6根据外壳8的开口,从顶部或者侧面伸入样品腔室3,样品夹5与物镜6光轴垂直。样品腔室3在工作时保持常压状态,内部充满低温氮气。样品腔室3和外壳8为耐低温金属材料构成,样品腔室3和外壳8之间填充海绵或泡沫塑料等导热系数小于或等于0.2的材料,用以保温。液氮通过液氮管1流入液氮存储室2,液氮存储室2与蒸发板4联通,当液氮存储室2中液氮液面上升到一定程度后,液氮流入蒸发板4,汽化为低温氮气。蒸发板4为多孔耐低温材料,上侧附有海绵或泡沫塑料等导热系数小于或等于0.2的材料,使汽化的液氮气流更平稳,解决液氮震动带来的样品焦面漂移。低温氮气进入到样品腔室3中,样品腔室3中的低温氮气使得样品夹5上的样品处于低温环境下。样品腔室3内设置有温度探头和液面传感探头,用于反馈控制样品腔室内环境温度和液氮存量,如图3所示,样品腔室3的温度曲线变化。物镜恒温器7具有自动加热和温度反馈功能,使物镜6达到物镜的设计使用温度,避免了低温对物镜造成的损坏、成像差等影响,从而实现样品荧光成像。该超低温样品台可用于低温光学成像或者冷冻样品的光电融合成像。

[0035] 实施例2

[0036] 如图2所示,所述的外壳8侧壁上设有物镜通孔,物镜6水平的进入到样品腔室3,而样品夹5则为垂直的进入样品腔室3。其他设计与实施例1相同。

[0037] 图4A为利用本发明获得的标记线粒体的细胞冷冻切片宽场荧光成像照片;图4B为图4A图位置超分辨成像照片。

[0038] 以上结合附图对本发明的具体实施方式作了说明,但这些说明不能被理解为限制了本发明的范围,本发明的保护范围由随附的权利要求书限定,任何在本发明权利要求基础上进行的改动都是本发明的保护范围。

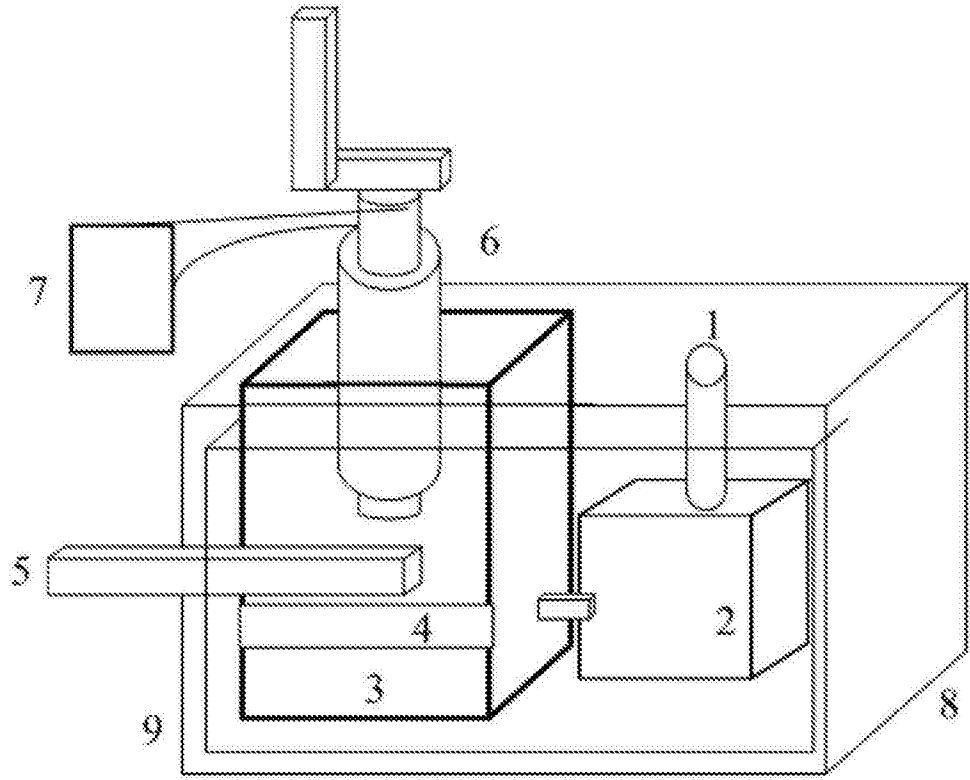


图1

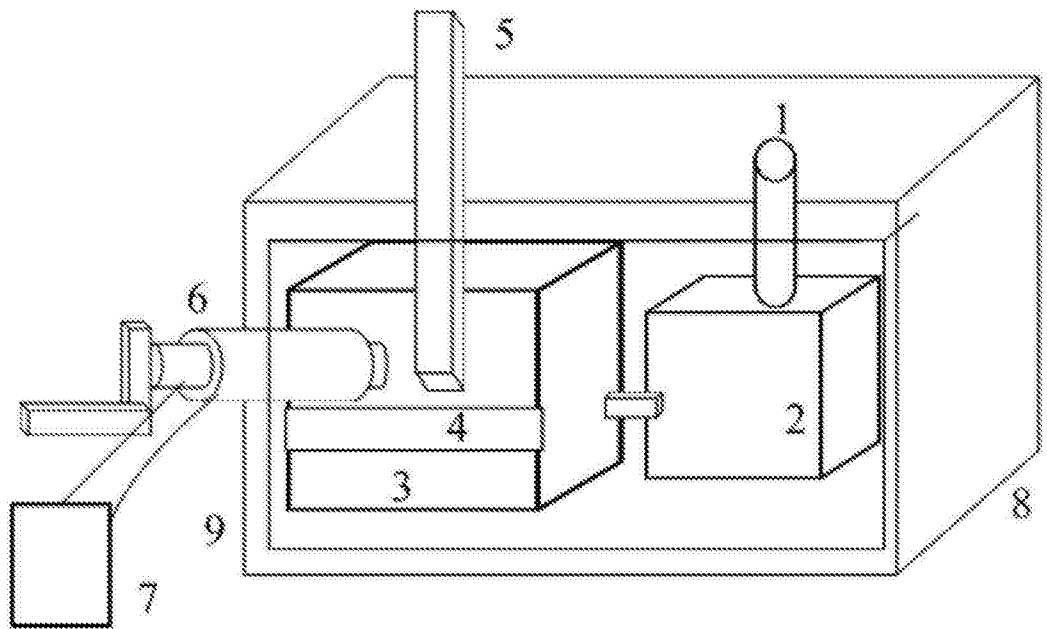


图2

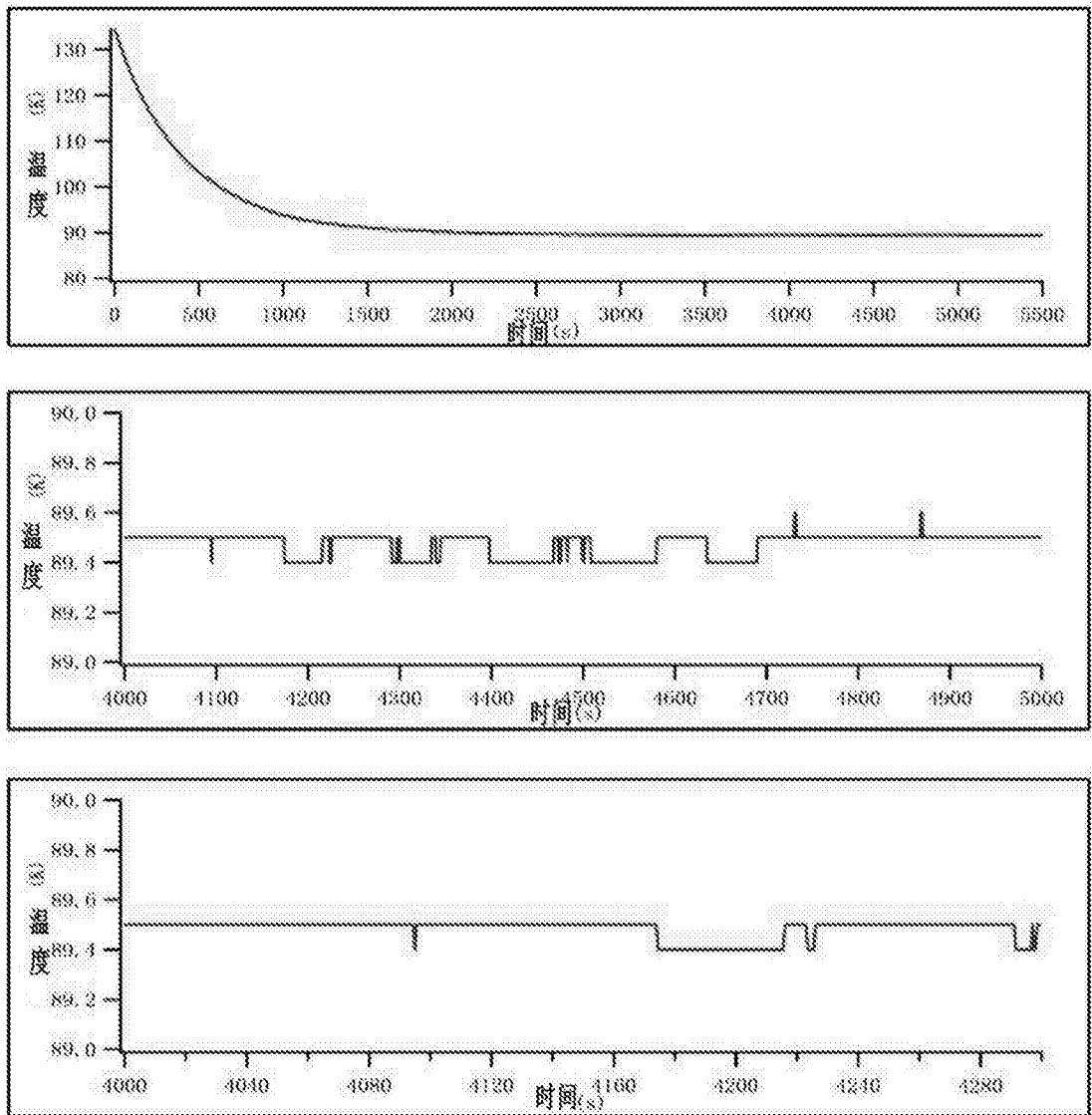


图3

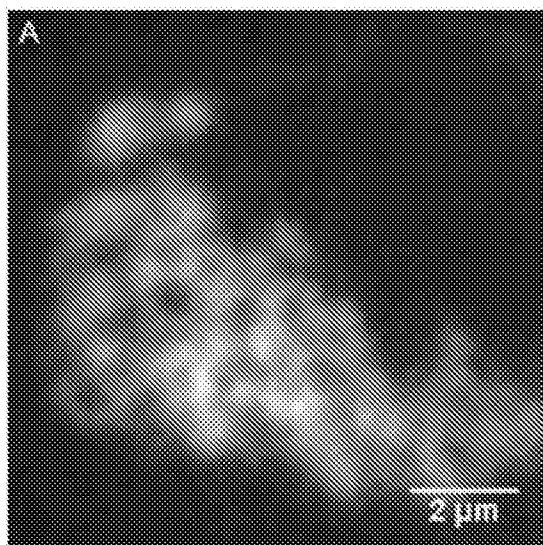


图4A

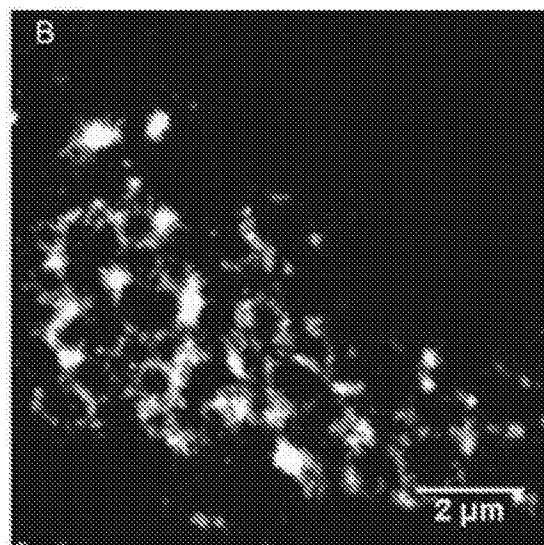


图4B