



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103119441 A

(43) 申请公布日 2013. 05. 22

(21) 申请号 201180045595. 7

G01N 33/53 (2006. 01)

(22) 申请日 2011. 08. 12

G01N 35/08 (2006. 01)

(30) 优先权数据

61/373, 866 2010. 08. 15 US

61/383, 710 2010. 09. 16 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2013. 03. 22

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2011/047654 2011. 08. 12

(87) PCT申请的公布数据

W02012/024194 EN 2012. 02. 23

(71) 申请人 GPB 科学有限责任公司

地址 美国弗吉尼亚

(72) 发明人 H·海内克

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 罗菊华

(51) Int. Cl.

G01N 33/49 (2006. 01)

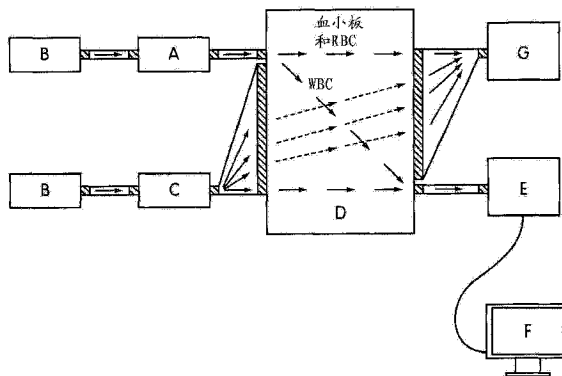
权利要求书2页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

血液分析中的微流体细胞分离

(57) 摘要

本发明涉及用于分析血液样品以定量存在的白细胞类型的方法。此外,本发明包括可用于这些方法的设备。所述方法学的一个特征是使用微流体装置将白细胞与红细胞分离。



1. 一种用于分析血液样品中存在的细胞类型的系统,其包含:

a) 反应室,其具有允许血液样品及可检测标记的抗体导入的至少一个开口或端口和来自所述反应室的培养基可以经其流过的至少一个出口开口或端口;

b) 微流体装置,其包含从所述反应室与所述出口端口或开口处于流通连接的至少一个入口端口或开口和从所述装置离开的可以经其通过材料的至少一个出口端口或开口,其中所述装置能够将白细胞与红细胞分离并且其中所述反应室独立于或集成至所述微流体装置中;

c) 至少一个泵,其与在所述装置上的入口或出口端口以如此方式连接,以允许所述泵提供足以推动流体从所述装置上的入口端口或开口至所述装置上的出口端口或开口的力;

d) 分析仪,其包括与在所述微流体装置上的出口端口或开口处于流通连接的入口端口或开口,其中所述分析仪能够进行材料的光学或化学分析,所述材料从所述微流体装置上的出口流至所述分析仪上的入口;

e) 用于打印或显示来自所述分析仪的结果的数据输出装置。

2. 根据权利要求1所述的装置,其中所述反应室独立于所述微流体装置并且所述微流体装置包括至少两个出口端口或开口,其中至少一个出口或开口与所述分析仪处于流通连接并且至少端口或开口与独立的收集器皿处于流通连接。

3. 根据权利要求2所述的装置,其中所述分析仪是流式细胞仪、分光光度计、荧光检测器或放射性活度计数器。

4. 根据权利要求2所述的装置,其中所述分析仪是流式细胞仪并且所述微流体装置的出口端口或开口位于所述装置相对于入口端口或开口的对侧上。

5. 根据权利要求2所述的装置,还包括独立于所述反应室、微流体装置、分析仪和数据输出装置的缓冲液储器,其中所述缓冲液储器与所述微流体装置处于流通连接。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的装置,其中所述微流体装置基于大小分离样品。

7. 根据权利要求6所述的装置,其中所述微流体装置包括具有空隙网络的微流体通道,当流体经所述微流体通道流过时,来自空隙的所述流的通量不等地分成主要通量组分和次要流量组分。

8. 一种分析血液样品以确定存在的不同细胞类型的量的方法,包括:

a) 获得测试血液样品;

b) 将所述测试血液样品与一种或多种可检测标记的抗体孵育,其中:

i) 所述抗体很大程度上不与红细胞结合;

ii) 所述抗体优选地与一种或多种靶白细胞结合;

iii) 所述孵育导致抗体-细胞复合物的形成;

c) 使用微流体装置,将所述抗体-细胞复合物与所述红细胞并且与未结合的抗体分离;

d) 将分离步骤c)中所获得的分离的抗体-细胞复合物中可检测标记物的量定量以确定存在的靶白细胞的量。

9. 根据权利要求8所述的方法,其中还包括将步骤d)中所获得的结果与来自一个或多个对照样品的结果比较并且基于这种比较得出所述靶白细胞是异常高或低的结论。

10. 根据权利要求 9 所述的方法,其中所述抗体优选地与淋巴细胞结合。
11. 根据权利要求 10 所述的方法,其中与优选地与淋巴细胞结合的抗体分离的抗体与测试血液样品孵育,所述分离的抗体优选地与选自以下的一种或多种靶细胞结合:嗜中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞和树枝状细胞,并且其中,所述分离的抗体具有与识别所述淋巴细胞的抗体上的可检测标记物不同的可检测标记物。
12. 根据权利要求 10 或 11 所述的方法,其中所述淋巴细胞是 T 淋巴细胞。
13. 根据权利要求 11 所述的方法,其中所述淋巴细胞是 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞。
14. 根据权利要求 9 所述的方法,其中所述血液样品从作为试验的部分的个体获得,以确定所述个体是否患有 AIDS,或从已知患有 AIDS 的患者获得,以确定疾病是否正在进展。
15. 根据权利要求 14 所述的方法,其中所述抗体优选地与 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞结合。
16. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述抗体用荧光标记物标记并且通过流式细胞术定量。
17. 根据权利要求 8 所述的方法,还包括通过荧光激活的细胞分选法分离细胞。
18. 根据权利要求 8-17 中任一项所述的方法,其中所述微流体装置基于大小分离细胞。
19. 根据权利要求 8-18 中任一项所述的方法,其中使用根据权利要求 1 所述的系统实施所述分析法并且使用 0.25-0.5ml 血液样品。
20. 根据权利要求 19 所述的方法,其中所述系统还包括独立于所述反应室、微流体装置、分析仪和数据输出装置的缓冲液储器,其中所述液储器与所述微流体装置处于流通连接。

## 血液分析中的微流体细胞分离

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2010 年 9 月 16 日提交的美国临时申请 61/383,710 和 2010 年 8 月 15 日提交的美国临时申请 61/373,866 的权益,所述文献的内容因而通过引用的方式完整并入。

### 发明领域

[0003] 本发明涉及可以用来快速分析血液样品存在的不同类型的细胞的方法并涉及可以用于实施这些方法的系统。

[0004] 发明背景

[0005] 人血液由 3 个主要类型的细胞:红细胞(RBC)、白细胞(WBC)和血小板组成。WBC 以结构和功能上不同的几种形式存在并且可以划分为嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞和巨噬细胞。这些细胞的异常水平与许多严重疾病如白血病、粒细胞缺乏症和 AIDS 相关。因此,检测特定类型 WBC 的水平异常的能力具有重大的诊断意义。对于 AIDS,尤其如此,其中患者具有比正常个体低得多的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞水平。

[0006] RBC 通常比 WBC 更小,但是以大得多的量存在(见 US2007/0160503)。因此通常有利的是在试图对 WBC 类型的水平定量之前移除 RBC。虽然可以通过离心实现 RBC 和 WBC 的粗略分离,但是这种方法在区分存在的 WBC 的类型方面无效。更特异的方法如流式细胞术和细胞分选法(Bauer, J. Chromatog. B, 722:55-69(1999);Anderson 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA93:8508-8511(1996);Moore 等人, J. Biochem. Biophys. Methods37:1-2(1998))可以使用,但是制备用于这些方法的样品可能不适于自动化并且可能包括细胞裂解和可能干扰分析的物质释放。

[0007] 发明简述

[0008] 本发明基于改造微流体分离法(尤其大小分离法)以分析血液样品的不同类型的细胞的水平。所述方法具有快速检验样品的白细胞水平的价值,其中所述白细胞水平提示癌症或 AIDS 的存在。这种方法学也可以用来监测 AIDS 患者以确定疾病是否正在进展。因为本项技术使用简单并且始于自动化,所以它应当在临床化学实验室中和在筛查流程方面具有价值。

[0009] 用于进行分析的系统

[0010] 在其第一方面,本发明涉及一种用于分析血液样品中存在的细胞类型的系统。该系统包括:a) 反应室;b) 能够将红细胞与白细胞分离的微流体装置;c) 与所述装置处于流通连接的泵,所述泵能够驱使流体流经所述装置;d) 分析仪,其与所述装置的出口处于流通连接并且能够进行已经分离的材料的光学或化学分析;和 e) 可以作为分析仪的部分或独立于分析仪的数据输出装置。

[0011] 反应室(上文的部件“a”)与微流体装置处于流通连接并且必须具有至少一个开口或端口允许导入样品(一般地是血液样品)和试剂(一般是可检测标记的优选地与特定类型 WBC 结合的抗体)。如本文所用的术语“流通连接”意指必须存在允许流体从系统的一个部

分(例如,反应室)流动至系统的另一个部分(例如,微流体装置)的途径。一般,此途径将由塑料或金属管路提供。

[0012] 微流体装置必须能够将白细胞与红细胞分离,并且下文更充分地提供对适用于此目的的装置的描述。该装置必须具有与反应室的至少一个出口端口或开口处于流通连接并且在操作期间从反应室接受血液样品的至少一个入口端口或开口。还必须存在通常位于该装置对侧上的至少一个出口端口,材料可以经其离开。优选地存在至少两个出口端口,安置其中之一以传输相对于全血样品富含 WBC 的流体并且安置其中之一以传输含有 RBC 和血小板但含有相对少的 WBC 的流体。这些端口或开口可以任选地包括可以由操作该装置的某个人打开或关闭的阀门。

[0013] 通常,反应室和微流体装置将彼此独立,但是在替代性设计中,反应室可以集成至装置本身中。必需存在从装置的入口端口或开口行至其出口端口或开口的至少一条微流体通道,并且正是在这条通道或这些通道内部进行材料的分离。如本文所用的术语“微流体通道”指具有 10nm 至 1mm 范围内的至少一个截面尺度的流体用途。

[0014] 最优选的微流体装置是基于其大小分离细胞和其他材料的那些。筛分装置(sizing device)可以通过在微流体通道内部产生空隙网络的障碍物、柱或阻挡物阵列实现分离。当流体流经通道时,随着它通过空隙网络,流体分成主要通量组分和次要流量组分。这导致主要通量组分的平均方向非平行于流场的平均方向。应当如此安排微流体通道内部的障碍物,从而当血细胞通过此装置时,白细胞总体上以一种通量组分的平均方向转运,并且红细胞总体上以另一种通量组分的平均方向转运,从而根据大小分离细胞。

[0015] 该分析系统必须包括用于产生驱使材料经该装置分离的力的手段。已经在本领域描述的这种力的任何方式可以用于此目的。因此,这个系统可以使用产生电力、电泳力、电渗力、离心力、重力、水动力、压力梯度力或毛细力的装置。最优选地,一个或多个泵将用来产生推动流体流动的水动力。泵必须与装置上的入口或出口端口处于流通连接并且必须产生推动流体经过微流体通道的足够的力。泵可以与装置上的端口或开口直接连接或它可以间接地连接。例如,泵可以与反应室连接以产生由流通连接从反应室传递至装置的力。

[0016] 微流体装置上的至少一个出口端口或出口(尤其为传输富含 WBC 的流体所安置的端口或开口)必须与分析仪上的入口端口或开口处于流通连接,所述流通连接允许分析仪接受已经由装置分离的材料用于光学或化学分析。可以使用的分析仪的类型的实例包括流式细胞仪、分光光度计、荧光检测器和放射性活度计数器。这些实例中最优选荧光检测器。一般而言,分析仪将独立于微流体装置,但是也可能集成分析仪作为装置本身的部分。优选地,微流体装置具有引向分析仪的至少一个端口或开口和引向收集器皿的第二端口或开口,所述收集器皿用于采集比 WBC 更小的 RBC、血小板和其他材料。

[0017] 最后,用于分析细胞类型的系统必须具有用于打印或显示来自分析仪的结果的数据输出装置。通常,这将是显示光学或化学分析结果的计算机或打印机。数据输出装置可以独立于分析仪或作为其部分。

#### [0018] 分析方法

[0019] 另一个方面,本发明涉及一种分析血液样品以确定存在的不同细胞类型的量的方法。这种方法包括首先获得测试血液样品并且将它与一种或多种可检测标记的抗体孵育,其中所述抗体 a) 很大程度上不与红细胞结合和 b) 优选地与一种或多种靶白细胞结合。如

本文所用的短语“很大程度上不与红细胞结合”意指抗体对红细胞的亲和力比其对靶白细胞(即,设计由抗体检测的 WBC) 的亲和力低至少 1000 倍。优选地,亲和力低至少 10,000 或 100,000 倍。如本文所用的短语“优选地与一种或多种靶白细胞结合”意指抗体对一个特定类型白细胞的亲和力比其对任何其他类型的亲和力大至少 100 倍。例如,如果抗体设计成识别 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞,它将与这些细胞以比其对任何其他淋巴细胞或白细胞大至少 100 倍的亲和力结合。优选大于 1000 或 10,000 的差异。如本文所用的短语“可检测标记的抗体”意指抗体与可以使用标准实验室技术检测到的分子或化合物连接。例如,抗体可以与放射性同位素如 <sup>125</sup>I 或与荧光标签如荧光素异硫氰酸酯 (FITC) 连接。最优选的可检测标记物是藻红蛋白 (PE)。在足以允许抗体-细胞复合物形成的条件和时间实施血液和可检测标记的抗体之间的孵育。

[0020] 接下来,使用微流体装置,将形成的复合物与红细胞并且与未结合的抗体分离。在一个优选实施方案中,将复合物从反应室泵送经过基于大小分离细胞的装置。这一般将导致白细胞而非红细胞和未结合的标记物在不同位置离开该装置。

[0021] 将分离的白细胞收集并分析以确定存在的可检测标记物的量。取决于所用标记物的类型,可以用流式细胞仪、分光光度计、放射性活度计数器、荧光检测器或其他设备进行分析。在使用如上文所述的那种系统实施的自动化分析中,细胞将从微流体装置的出口经过并且直接进入分析仪,即,将不存在单独的收集步骤。例如,可以将荧光标记的复合物泵送至流式细胞仪中。来自分析仪的结果一般地将记录于数据输出装置(即打印或显示该结果的装置)。往往,这种数据输出装置将是整合于分析仪的计算机或打印机。然而,数据输出装置可以独立于分析仪。

[0022] 一般地,从测试样品获得的结果将与从一个或多个对照样品获得的结果比较。对照样品可以是例如源自健康人并且将提供白细胞水平的“正常”范围。测试样品和对照样品之间的比较将揭示一类 T 细胞是否异常升高或耗尽并且可以提示疾病的存在。虽然知晓细胞的正常范围具有诊断价值,但是不一定对于每个分析法均需要采用独立的对照样品以便比较。例如,一个对照可以用于多种分析法或可以单纯在测试结果和已知的正常范围之间比较。

[0023] 在一个特别优选的实施方案中,分析方法使用优选地与淋巴细胞(优选地 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞)结合的抗体以辅助确定某人是否患有 AIDS。通常,200 个或更少细胞 /mm<sup>3</sup> 的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞水平将是存在 AIDS 的指示,而将大致 500-1600 个细胞 /mm<sup>3</sup> 的水平视为正常。在其中患者已经诊断为患有 AIDS 的情况下,可以进行定期分析以确定 CD4<sup>+</sup> 水平是否变化并因此确定疾病是否显示正在进展或应答于疗法。

[0024] 可选地,可以使用优选地与 CD8<sup>+</sup>T 细胞结合的抗体并且这种方法可以充当癌症的诊断试验。例如,异常升高水平的这些细胞可以表示存在腺癌;黑色素瘤;骨髓瘤;肉瘤;畸胎瘤肉瘤和尤其白血病或淋巴瘤。受累的具体器官可以包括肾上腺、膀胱、骨、骨髓、脑、乳腺、子宫颈、胆囊、结肠、胃、心脏、肾、肝脏、肺、肌肉、胰腺、甲状旁腺、前列腺、甲状腺或子宫。

[0025] 这些分析法也应当用于其中特定白细胞或特定类别的白细胞的水平将预期变化的其他疾病。这将包括以下炎性疾病或病状,出于本发明目的,所述炎性疾病或病状包括动脉粥样硬化、哮喘、自身免疫疾病(例如,狼疮或多发性硬化),炎性肠病(例如,Crohn 病或溃

疡性结肠炎)、类风湿性关节炎、多种变态反应和移植排斥。例如,巨噬细胞或粒细胞水平的变化(例如,与来自健康个体或作为一个整体的群体中的对照样品相比,试验对象的血液中这些细胞的数目增加)可以提示疾病的存在。

[0026] 这种方法也可以用来比较两种或更多种不同类型白细胞的水平,所述水平可能具有诊断价值或对检查疾病的作用和疾病治疗的研究者有价值。可以例如使用优选地与具有不同标记物的不同靶细胞结合的两种或更多种抗体获得比较。如本文所用的术语“不同标记物”意指当标记物在一起时,正在这种方法中使用的分析仪或多台分析仪可以区分这些标记物。这种方法可以用来比较两个不同类型细胞(例如,嗜中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞和树枝状细胞)的水平或用来比较单一类型内部具有更多特定特征的细胞(例如,CD4<sup>+</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞)。此外,荧光激活的细胞分选法可以用来进一步分离从微流体装置获得的细胞类型,从而可以进行其他测试。

[0027] 使用如上文所述的多种区别性标记的抗体将允许确定不同类别的白细胞(例如,预期在应答于疾病存在时变化的白细胞和预期将不变化的白细胞)之间的比率。这将有助于控制因分析法变异性所致的特定白细胞水平变化。在这个方面特别有意义的是,使用宽泛度量白细胞水平的对 CD45 特异的抗体,连同对一个特定白细胞类型特异的抗体,例如,对 CD4<sup>+</sup>T 细胞或 CD8<sup>+</sup>T 细胞特异的抗体。例如,用于辅助鉴定 AIDS 患者的分析法可能使用以 Cy3 荧光染料标记的针对 CD45 特异的抗体,连同用 Cy5 荧光染料标记的针对 CD4 特异的抗体。CD4/CD45 细胞(或 CY5/CY3 标记物)的比率随后可以用来评估血液样品,异常低的值提示存在 AIDS。

[0028] 分析方法可以使用以下系统自动化,所述系统具有本文所述的部件:a) 反应室;b) 能够将红细胞与白细胞分离的微流体装置;c) 与所述装置处于流通连接的泵,所述泵能够驱使流体流经所述装置;d) 分析仪,其与所述装置的出口处于流通连接并且能够进行已经分离的材料的光学或化学分析;和 e) 可以作为分析仪的部分或独立于分析仪的数据输出装置。系统可以也包括独立于反应室、微流体装置、分析仪和数据输出装置的缓冲液储器。

[0029] 附图简述

[0030] 图 1:图 1 是显示分析系统的各种部件的示意图。带有对角线的部分是引入或引出某部件的端口或开口,所述端口或开口的每一个可以任选地包括阀门。该图中的“A”代表其中可以组合血液样品和标记抗体的反应室。如果需要,可以将反应室加热和/或搅动以促进混合。将反应产物(一般包括抗体/抗原复合物)从反应室泵送至能够将红细胞与白细胞(优选地基于大小)分离的微流体装置(D)中。本图显示反应室和微流体装置作为分离的部件,也可能将反应室整合入微流体装置中。“B”代表该图中与反应室(A)并与缓冲液储器(C)连接的泵。这些泵提供推动材料穿过该系统的力。一旦在微流体装置上,使白细胞(WBCS)以引向分析仪(E)的出口的方向偏转,在所述分析仪中确定结合的标记物的量。“F”是从分析仪提供结果的数据输出装置(本图中描述为计算机监视器)。数据输出装置可以是分析仪的部分或独立于分析仪。将血小板、红细胞(RBCS)和其他材料导向独立的收集器皿(G)。

[0031] 发明详述

[0032] 本发明涉及用于分析血液样品中细胞的系统并且涉及使用微流体装置实施细胞

分离的分析方法。除部件的布局和使用微流体装置之外,构成分析系统的反应室、泵和分析仪是在临床化学领域中标准的并且可以从多家制造商商业地购买。

[0033] 分析操作方案

[0034] 确定血液样品内部不同细胞类型的量的分析法将或多或少地取决于具体目标变动。然而,其实质特征如下。

[0035] 初始步骤包括采集血液,一般地在抗凝血药如 EDTA、肝素、柠檬酸盐等存在的情况下进行。将抗凝的血液与一个或多个(通常一个)类型的白细胞特异性结合的因子混合。可以使用的结合因子的实例包括蛋白质、适配体、合成分子和最优选地包括与目的细胞上的表面标记(例如 CD4、CD3、CD8、CD14、CD19、表面蛋白、糖、脂类等)结合的抗体。结合因子必须是可检测标记的,即,结合因子必须天然具有或经修饰以具有允许定量测定它的特征。可以出于此目的而连接的标记物的实例包括荧光标记物、有色标记物、磁性标记物和放射性标记物。

[0036] 在混合后,将血液样品和结合因子在足以允许复合物在可检测标记的结合因子和它们特异性识别的细胞之间形成的条件和时间孵育。可以通过使用不同的标记结合因子和可以在标记物之间区分的检测系统,从单个分析法中评估多个细胞类型。

[0037] 一旦复合物已经形成,使用微流体装置(优选地,基于大小分离细胞的装置),将白细胞(包括与结合因子连接的那些)与红细胞、血小板、血浆和未结合的标记物分开。使细胞通过该装置也具有将它们转移至生理缓冲液如磷酸盐缓冲盐水、Hank 平衡盐溶液中的作用。

[0038] 最后,分析回收的白细胞以确定它们含有的标记结合物的量。因为未结合的标记分子和起干扰作用的红细胞、血浆、血小板等大部分从白细胞中移除,与白细胞连接的标记结合物的量将直接与样品中目的细胞的量相关。

[0039] 虽然不是优选的,但是可以在分析存在的标记物的量之前贮存分离的白细胞。由于检测不需要分离后有活力或完整的细胞,因此样品储存依赖于所用的标记结合物的稳定性。

[0040] 这种分析方法的一个优点在于它易于自动化和处置大量血液样品。由于 AIDS 的主要特征是 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞缺乏,因此这种方法特别良好地适于检测或监测这种疾病。其他优点是可以分析小量血液样品(例如,0.5 或更少),本方法允许快速移除可能干扰分析法的物质,并且基于大小分离是相对温和的,允许可能回收完整细胞用于进一步研究。

[0041] 微流体装置

[0042] 本领域中已经描述的能够将红细胞和白细胞分离的任何微流体装置可以用于本发明。特别优选能够基于大小实施分离的装置。这类装置包括在 US5,837,115;US7,150,812;US6,685,841;US7,318,902;7,472,794;和 US7,735,652 中描述的那些;所述全部文献因而通过引用的方式完整并入。提供可能在产生和使用本发明装置时有益的指导的其他参考文献包括:US5,427,663;US7,276,170;US6,913,697;US2006/0134599;US2007/0160503;US20050282293;US2006/0121624;US2005/0266433;US2007/0026381;US2007/0026414;US2007/0026417;US2007/0026415;US2007/0026413;US2007/0099207;US2007/0196820;US2007/0059680;US2007/0059718;US2007/005916;US2007/0059774;US2007/0059781;US2007/0059719;US2006/0223178;US2008/0124721;US2008/0090239;

和 US2008/0113358 ;所述全部文献也通过引用的方式完整并入本文。

[0043] 在描述产生和使用装置的多种参考文献当中, US7, 150, 812 提供特别好的指导和 7, 735, 652 具有特别意义, 在于它特别涉及针对血液样品进行分离的微流体装置(在这个方面, 还见 US2007/0160503) 并且描述防止装置阻塞的方式(优选地也用于本文公开的方法中所用的装置内)。

[0044] ‘812 专利描述了其中存在通道的优选装置, 其中所述通道具有相对于所施加以推动流体经过该装置的力场的方向以非对称方式布置的有序的障碍物阵列。这些障碍物形成空隙网络, 在流体流存在的情况下, 所述空隙网络产生这样的场型 (field pattern), 从而来自空隙的场通量不等地分成主要流量组分和次要流量组分。通过该装置的大小相似的粒子通常将以相同的方向偏转, 即, 偏转至障碍物的相同侧, 而大小不同的粒子可以按不同的方向偏转。因此, 可以形成利用 RBC 和 WBC 的大小差异来实现其分离的障碍物阵列。

[0045] 根据 US7, 735, 652, US7, 150, 812 和 Huang 等人, Science304:987-990 (2004) 公开的确定性横向位移的基本分离原理, 一种方法在 ‘652 中称作“折曲 (bumping)”。位移可以在其中每行障碍物具有行移分数 (row shift fraction) 1/3 的阵列中完成, 这产生 3 条相等的通量流线。小粒子停留于液流内部并且大粒子在每个障碍物处位移。‘652 中详细讨论关于这类装置中分离的理论考虑。此外, 该参考文献描述通过提供替代途径以防止阻塞或堵塞下游而移除离散的巨大物体。

## 实施例

[0046] 当前的预示性实施例意在说明如何分析血液样品以确定血液样品是否从 AIDS 患者获得。

[0047] 在第一步骤中, 将血液从患者收集于含有 EDTA 的真空采血管中(约 1.8mg EDTA/ml 血液)。50  $\mu$  l 抗凝血液与 20  $\mu$  l 藻红蛋白 (PE) 标记的抗 CD4 抗体混合。混合物在室温于黑暗下孵育 15 分钟并且随后与 70  $\mu$  l 脱气的磷酸盐缓冲盐水(无钙和镁并含有 1% 牛血清白蛋白和 2mM EDTA) 混合。将 140  $\mu$  l 血细胞 / 抗体 / 缓冲液等分试样施加至设计成通过大小分离血细胞的微流体分离装置。使用脱气的磷酸盐缓冲盐水作为运行缓冲液, 推动样品通过该装置。随着样品运动穿过该装置, 白细胞移入运行缓冲液流中, 剩余的血液组分和未结合的标记结合物继续穿过芯片进入废物流中。随后通过荧光激活和检测分析所收集白细胞部分的 PE。荧光水平直接反映存在的 CD4<sup>+</sup>T 细胞的量。

[0048] 本文中提到的全部参考文献通过引用的方式完整并入。现在已经充分描述了本发明, 本领域技术人员将理解, 可以在宽大和等同的条件、参数等范围内实施本发明而不影响本发明或其任何实施方案的精神或范围。

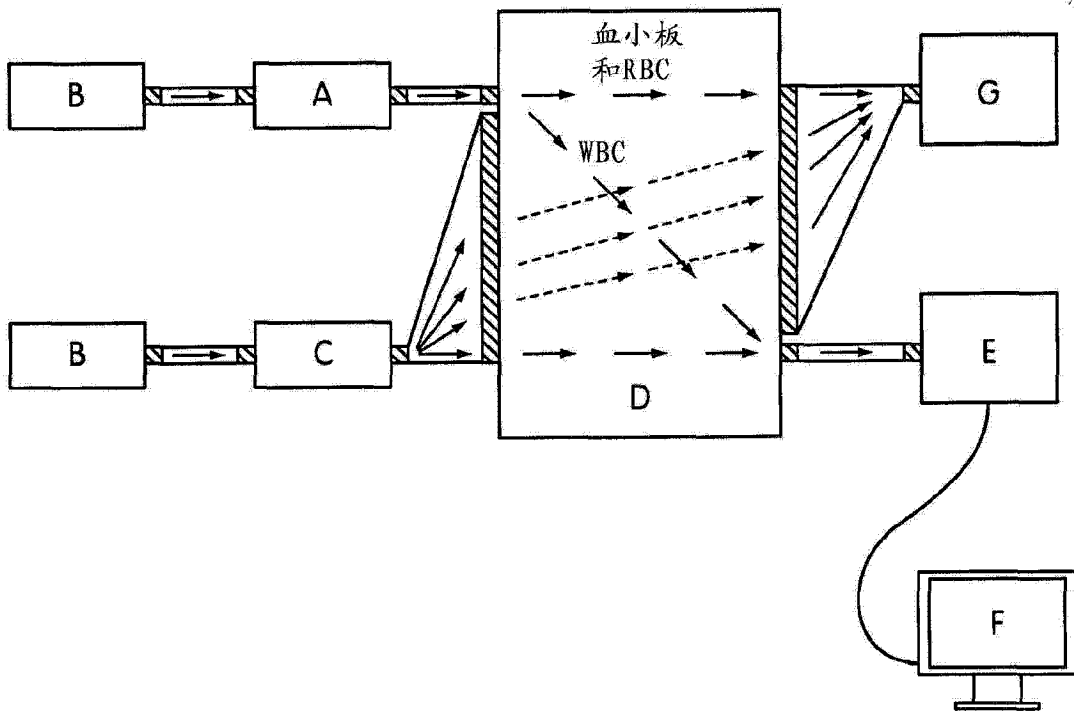


图 1

专利名称(译)	血液分析中的微流体细胞分离		
公开(公告)号	<a href="#">CN103119441A</a>	公开(公告)日	2013-05-22
申请号	CN201180045595.7	申请日	2011-08-12
[标]申请(专利权)人(译)	GPB科学有限责任公司		
申请(专利权)人(译)	GPB科学有限责任公司		
当前申请(专利权)人(译)	GPB科学有限责任公司		
[标]发明人	H海内克		
发明人	H·海内克		
IPC分类号	G01N33/49 G01N33/53 G01N35/08		
CPC分类号	G01N33/56972 B01L3/502753 B01L2200/0652		
优先权	61/383710 2010-09-16 US 61/373866 2010-08-15 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及用于分析血液样品以定量存在的白细胞类型的方法。此外，本发明包括可用于这些方法的设备。所述方法学的一个特征是使用微流体装置将白细胞与红细胞分离。

