



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105606795 A

(43) 申请公布日 2016.05.25

(21) 申请号 201511026918.4

(22) 申请日 2015.12.31

(71) 申请人 上海白泽医疗器械有限公司

地址 201814 上海市嘉定区安亭镇园国路
1585号7幢3楼

(72) 发明人 钱其军 周进 师传胤 庞震国

胡金伟 吕功路 颜开冬

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 韦东

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G12M 1/42(2006.01)

G12M 1/38(2006.01)

G12M 1/36(2006.01)

权利要求书4页 说明书13页 附图4页

(54) 发明名称

一种细胞免疫磁珠分选系统

(57) 摘要

本发明涉及用于细胞免疫磁珠分选的装置，所述装置包括：驱动单元，用于驱动流体在管道中流动，所述驱动单元具有第一接口和第二接口，分别与用于混合样品和磁珠的混合容器的第一接口和第二接口连通；磁力分选单元，用于产生磁力以分选出与磁珠结合的细胞；以及如文中所述的第一控制开关，第二控制开关，第三控制开关，第五控制开关，第六控制开关，第七控制开关，第八控制开关和第九控制开关。

1. 一种用于细胞免疫磁珠分选的装置,所述装置包括:

驱动单元,用于驱动流体在管道中流动,所述驱动单元具有第一接口和第二接口,分别与用于混合样品和磁珠的混合容器的第一接口和第二接口连通;

磁力分选单元,用于产生磁力以分选出与磁珠结合的细胞;

控制开关,包括:

第一控制开关,用于控制容纳缓冲液的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

第二控制开关,用于控制容纳磁珠的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

第三控制开关,用于控制容纳样品的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

第五控制开关,用于控制混合容器第一接口与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

第六控制开关,用于控制混合容器第二接口与所述驱动单元的第二接口之间的连通;

第七控制开关,用于控制所述驱动单元的第二接口与收集容器之间的连通;

第八控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集未结合磁珠的细胞样品的容器;和

第九控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集目标细胞样品的容器;和

任选的第四控制开关,用于控制容纳磁珠分离试剂的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;和

任选的第十控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集废液的容器。

2. 如权利要求1所述的用于细胞免疫磁珠分选的装置,其特征在于,所述装置还包括:

温度模块,用于调控混合容器内的温度;和/或

控制单元,用于控制所述装置按预先设定的方案运行;和/或

步进电机,用于控制所述磁力分选单元的磁力发生单元靠近或远离管道,从而实现或消除管道周围的磁力。

3. 如权利要求1-2中任一项所述的用于细胞免疫磁珠分选的装置,其特征在于,所述装置具有以下一个或多个特征:

所述控制单元包括显示器,用于控制所述装置按预先设定的方案运行并实时显示所述装置的运行状态;

所述驱动单元为双向蠕动泵;

所述磁力分选单元包括磁力发生单元,优选为永磁磁铁,其中,所述磁力发生单元通过固定装置与步进电机的联动杆连接;

所述磁力分选单元包括磁力噪音消除装置,用于使磁力在管道周围均匀分布;和

所述各控制开关均为夹管阀。

4. 一种细胞免疫磁珠分选装置,其特征在于,所述装置包括:

(1)样品供应单元;

(2)样品处理单元;

(3)磁力分选单元;

(4)样品收集单元;

(5)驱动单元,用于驱动流体在所述管道中流动;

(6)连通所述样品供应单元、样品处理单元、驱动单元、样品收集单元的管道;和

(7)控制所述样品供应单元、样品处理单元、驱动单元和样品收集单元之间的连通的控制开关；

其中,所述样品供应单元包括用于容纳缓冲液的容器,用于容纳磁珠的容器,和用于容纳细胞样品的容器,和任选的用于容纳磁珠分离试剂的容器；

所述样品处理单元包括混合容器,用于混合细胞样品和磁珠；

所述磁力分选单元位于所述样品处理单元和样品收集单元之间,包括位于管道四周、用于提供分选的磁力的磁力发生单元和任选的用于使磁力在管道周围均匀分布的磁力噪音消除装置；和

所述样品收集单元包括用于收集未结合磁珠的非目标细胞的容器和用于收集目标细胞的容器,以及任选的用于收集废液的容器。

5.如权利要求4所述的细胞免疫磁珠分选装置,其特征在于,所述细胞免疫磁珠分选装置还包括：

(7)控制单元,用于控制所述分选装置按预先设定的方案运行；优选的,所述控制单元包括显示器,用于控制所述分选装置按预先设定的方案运行并实时显示所述分选装置的运行状态；

(8)步进电机,用于实现或消除管道周围的磁力；其中,所述磁力发生单元通过固定装置与所述步进电机的连接；和

(9)任选的温度模块,位于所述混合容器周围,用于调控混合容器内的温度。

6.如权利要求4或5所述的细胞免疫磁珠分选装置,其特征在于,

所述混合容器具有第一接口和第二接口,分别与所述驱动单元的第一接口和第二接口连通；

所述连通所述样品供应单元、样品处理单元、驱动单元、样品收集单元的管道包括：

第一主管道,用于连通所述混合容器的第一接口与所述驱动单元的第一接口；

第二主管道,用于连通所述混合容器的第二接口与所述驱动单元的第二接口；

第三主管道,用于连通所述样品收集单元与第二主管道；

第一分支管道,用于连通所述用于容纳缓冲液的容器与所述第一主管道；

第二分支管道,用于连通常用于容纳磁珠的容器与所述第一主管道；

第三分支管道,用于连通常用于容纳细胞样品的容器与所述第一主管道；

任选的第四分支管道,用于连通常用于容纳磁珠分离试剂的容器与所述第一主管道；

第八分支管道,用于连通常用于收集未结合磁珠的非目标细胞的容器与所述第三主管道；

第九分支管道,用于连通常用于收集目标细胞的容器与所述第三主管道；和

任选的第十分支管道,用于连通常用于收集废液的容器与所述第三主管道。

7.如权利要求4—6中任一项所述的细胞免疫磁珠分选装置,其特征在于,所述控制开关包括：

第一控制开关,用于控制用于容纳缓冲液的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通；

第二控制开关,用于控制用于容纳磁珠的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通；

第三控制开关,用于控制用于容纳样品的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

第五控制开关,用于控制混合容器第一接口与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

第六控制开关,用于控制混合容器第二接口与所述驱动单元的第二接口之间的连通;

第七控制开关,用于控制所述驱动单元的第二接口与收集容器之间的连通;

第八控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集未结合磁珠的细胞样品的容器;

第九控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集目标细胞样品的容器;和

任选的第四控制开关,用于控制容纳磁珠分离试剂的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;和

任选的第十控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集废液的容器;

优选的,所述第一控制开关用于控制第一分支管道的畅通与闭合;所述第二控制开关用于控制第二分支管道的畅通与闭合;所述第三控制开关用于控制第三分支管道的畅通与闭合;所述第五控制开关位于混合容器第一接口和与第一主管道相连的最靠近第一接口的分支管道之间,用于控制第一主管道的畅通与闭合;所述第六控制开关位于混合容器第二接口和第二主管道与第三主管道连通位置之间,用于控制第二主管道的畅通与闭合;所述第七控制开关位于第二主管道与第三主管道连通位置和磁力分选单元之间,用于控制第三主管道的畅通与闭合;所述第八控制开关用于控制第八分支管道的畅通与闭合;所述第九控制开关用于控制第九分支管道的畅通与闭合;所述任选的第四控制开关用于控制第四分支管道的畅通与闭合;和所述任选的第十控制开关用于控制第十分支管道的畅通与闭合。

8.如权利要求4—7中任一项所述的细胞免疫磁珠分选装置,其特征在于,

所述控制开关为夹管阀;

所述驱动装置为双向蠕动泵;和

所述磁力分选单元包括1个或多个磁力发生单元,所述磁力发生单元为永磁磁铁。

9.一种套盒,所述套盒包括权利要求1—3中任一项所述的用于细胞免疫磁珠分选的装置和一次性耗材,所述一次性耗材包括:

用于容纳缓冲液的容器;

用于容纳磁珠的容器;

用于容纳细胞样品的容器;

用于容纳、混合细胞样品和磁珠的混合容器;

用于收集阴性样品的容器;

用于收集阳性样品的容器;

任选的用于容纳磁珠分离试剂的容器;

任选的用于收集废液的容器;

连接混合容器第一接口与驱动单元第一接口的第一主管道;

连接混合容器第二接口与驱动单元第二接口的第二主管道;

与第二主管道连通并穿过磁力分选单元的第三主管道;

连接容纳缓冲液的容器与第一主管道的第一分支管道;

连接容纳磁珠的容器与第一主管道的第二分支管道；
连接容纳样品的容器与第一主管道的第三分支管道；
连接收集阴性样品的容器与第三主管道的第八分支管道；
连接收集阳性样品的容器与第三主管道的第九分支管道；
任选的连接容纳磁珠分离试剂的容器与第一主管道的第四分支管道；和
任选的连接收集废液的容器与第三主管道的第十分支管道；

其中,所述第一主管道、第一分支管道、第二分支管道、第三分支管道和任选的第四分支管道各自独立或形成一体;所述第三主管道、第八分支管道、第九分支管道和任选的第十分支管道各自独立或形成一体,或与第二主管道形成一体。

10.一种采用权利要求8所述的细胞免疫磁珠分选装置进行细胞分选的方法,其特征在于,所述方法包括以下步骤:

(1)样品混合及孵育,包括:将含细胞的样品、缓冲液和磁珠分别转运至混合容器中,在其它控制开关关闭而开启第五控制开关和第六控制开关的情况下,通过驱动单元驱动而使得混合物在混合容器与驱动单元之间流动,实现混合和孵育;

(2)细胞分选,包括:开启磁场,关闭其它控制开关而开启第五控制开关、第七控制开关和第八控制开关,由驱动单元将混合容器中的混合物驱动通过磁力分选单元,其中,结合目标细胞的磁珠被吸附到管壁上,而未结合磁珠的非目标细胞随着液体的流动进入阴性样品收集容器,即为阴性样品;和

(3)收集阳性细胞,包括:撤除磁场,关闭其它控制开关而开启第一控制开关、第七控制开关和第九控制开关,由驱动单元驱动缓冲液将吸附到管壁上的阳性细胞带入收集阳性样品的容器中;

任选地,所述方法还包括润洗管路的步骤,包括:关闭其它控制开关而开启第一控制开关、第七控制开关和第十控制开关,由驱动单元驱动缓冲液,将管道内气体排入收集废液的容器,通式润洗管道;

任选地,步骤(2)后,所述方法还包括磁珠分离的步骤,包括:关闭其它控制开关而开启第五、第七和第九控制开关,并撤除磁场,由驱动单元驱动收集阳性样品的容器中的缓冲液将吸附在管壁上的细胞样品带入混合容器中;然后关闭其它控制单元而开启第四和第六控制开关,由驱动单元将容纳磁珠分离试剂运入混合容器中,进行磁珠分离;磁珠分离后,开启磁场,关闭其它控制开关而开启第五、第七和第九控制开关,由驱动单元将混合容器中的液体驱动流过磁力分选单元,磁珠被吸附到管壁上,而含目标细胞的液体流入容纳阳性样品的容器中。

一种细胞免疫磁珠分选系统

技术领域

[0001] 本发明属于细胞分选领域,具体涉及一种细胞免疫磁珠分选系统。

背景技术

[0002] 磁珠富集或分离是一项上世纪末新兴的分子及细胞生物学技术,详见美国专利US5411863和US5385707。该技术现已广泛应用于分子生物学的核酸提取、固相cDNA文库构建、蛋白质和细胞的分选或富集。首先由生化技术手段在磁珠表面接合特异性配体或抗体。工作原理是将上述表面接合配(抗)体的磁珠悬浮液与待选目标分子或者细胞溶液(悬液)混合,通过配体-受体结合反应或者抗原-抗体反应,磁珠与目标分子或细胞紧密结合;通过磁力捕获磁珠-目标复合物,可富集或纯化目标分子或者细胞。磁珠富集或者分选相对于其他的分离手段如离心,层析等传统的操作,具有分离速度快、量化程度高、成本低、样品无需有害或有毒化学试剂处理等优点。

[0003] 实际使用中,根据磁珠微粒的大小可分为微米级和纳米级磁珠;根据磁珠的材料可分为永磁材料或为顺磁材料。而磁珠分离的效率实际上受制于产生捕捉磁力的分离磁场。大部分的常规分离磁场往往设计随意,未进行精确的磁力计算和磁场布置设计,磁珠在这样的磁场中,不同位置受到的磁场强度往往难以进行精确地控制,靠磁铁近的磁珠长时间暴露在高强度磁场中,磁珠发生不可逆性聚集,丧失磁性,甚至失去重悬浮能力等;距磁铁远的磁珠所受的磁场作用力微弱,沉降缓慢,需要分离的目标细胞或者分子损失量大。

[0004] 磁珠在磁场中沿吸附力移动的速度受磁珠表面积,溶液的阻滞系数及磁场强度梯度差影响,在磁珠表面积和溶液阻滞系数固定的情况下,增加磁场强度梯度差,而不是简单地增加磁场强度,不仅可提高磁珠的吸附力,还能避免磁珠吸附过于集中。

[0005] 目前普遍使用的磁力分选装置或分选器等大多并未针对磁珠分选的特性进行设计,分选的重重复率不高,分选效果亦不理想。磁珠分选按照操作形式可以分为静态分选和流式分选两种。

[0006] CN 201220420020.0中,静态分选装置因受分选液容器的容量、形状等限制,对分选磁场产生装置的体积、形状有特定要求。同时,对于分选样品量大,且分选效率要求高的情况,难以满足需求。

[0007] 流式分选因样品流经位于分选磁场中的管路实现动态分选,更适合于高通量分选。但目前市场上的流式磁珠细胞分选(富集)仪器非常少。

[0008] EP 0842704A1公开了一种细胞磁珠分选的磁场产生装置,该装置由一对二极永磁体组成,中间包含一个分选柱,分选柱中填充硅胶质形成微孔,细胞分选液流经分选柱进行细胞分选,分选柱通过手动移出磁场的方式脱离磁场进行重悬浮。该装置由于本身微孔的设计的特点,液体流过的速度受到极大限制,细胞分选后洗涤纯化效率、分选效果不理想,且不适用于高通量分选。

[0009] US 20120077267A1公开了一种流过式细胞分选装置,该装置所用磁场由多个串联式单个磁铁构成,附着有目的细胞的磁珠会吸附在靠近磁铁的一侧管壁。该装置中磁珠近

距离靠近磁场,磁珠易发生上述已经阐明的不可逆性聚集现象,从而形成大量的磁珠聚集团,磁珠失去重新悬浮的能力。

[0010] US 20120034624A1公开了一种震荡式免疫分析仪,该分析仪设计有一种磁珠捕获磁场,该磁场有平行排列的多个条形磁铁构成,每个磁铁的磁极方向相同。该磁场仅仅用于捕获磁珠结合的样品,不能对捕获效率做任何保证。上述装置由于磁场本身设计局限,无法对细胞分选的速度和效率作有效保证。

发明内容

[0011] 本发明第一方面提供一种用于细胞免疫磁珠分选的装置,所述装置包括:

[0012] 驱动单元,用于驱动流体在管道中流动,所述驱动单元具有第一接口和第二接口,与分别用于混合样品和磁珠的混合容器的第一接口和第二接口连通;

[0013] 磁力分选单元,用于产生磁力以分选出与磁珠结合的细胞;和

[0014] 控制开关,包括:

[0015] 第一控制开关,用于控制容纳缓冲液的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

[0016] 第二控制开关,用于控制容纳磁珠的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

[0017] 第三控制开关,用于控制容纳样品的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

[0018] 第五控制开关,用于控制混合容器第一接口与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

[0019] 第六控制开关,用于控制混合容器第二接口与所述驱动单元的第二接口之间的连通;和

[0020] 第七控制开关,用于控制所述驱动单元的第二接口与收集容器之间的连通。

[0021] 在某些实施方案中,所述用于细胞免疫磁珠分选的装置还包括:

[0022] 第八控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集未结合磁珠的细胞样品的容器;和

[0023] 第九控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集目标细胞样品的容器。

[0024] 在某些实施方案中,所述用于细胞免疫磁珠分选的装置还包括:

[0025] 第四控制开关,用于控制容纳磁珠分离试剂的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;和/或

[0026] 第十控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集废液的容器。

[0027] 在某些实施方式中,所述用于细胞免疫磁珠分选的装置还包括:温度模块,用于控制混合容器内的温度。

[0028] 在某些实施方式中,所述用于细胞免疫磁珠分选的装置还包括控制单元,用于控制所述装置按预先设定的方案运行。

[0029] 在某些实施方案中,所述控制单元包括显示器,用于控制所述装置按预先设定的方案运行并实时显示所述装置的运行状态。

- [0030] 在某些实施方案中,所述驱动单元为双向蠕动泵。
- [0031] 在某些实施方案中,所述磁力分选单元包括磁力发生单元。
- [0032] 在某些实施方案中,所述磁力发生单元为永磁磁铁。
- [0033] 在某些实施方案中,所述用于细胞免疫磁珠分选的装置包括步进电机,所述磁力发生单元通过固定装置与步进电机的联动杆连接。
- [0034] 在某些实施方案中,所述磁力分选单元包括两个分开的磁力发生单元。
- [0035] 在某些实施方案中,所述磁力分选单元包括磁力噪音消除装置,用于使磁力在管道周围均匀分布。
- [0036] 在某些实施方案中,所述控制开关为夹管阀。
- [0037] 在某些实施方案中,所述驱动单元、磁力分选单元、控制开关、温度模块、控制单元和步进电机集成于所述装置的机箱上。
- [0038] 本发明第二方面提供一种细胞免疫磁珠分选装置,所述装置包括:
- [0039] (1)样品供应单元;
- [0040] (2)样品处理单元;
- [0041] (3)磁力分选单元;
- [0042] (4)样品收集单元;
- [0043] (5)驱动单元,用于驱动流体在所述管道中流动;
- [0044] (6)连通所述样品供应单元、样品处理单元、驱动单元、样品收集单元的管道;和
- [0045] (7)控制所述样品供应单元、样品处理单元、驱动单元和样品收集单元之间的连通的控制开关;
- [0046] 其中,所述样品供应单元包括用于容纳缓冲液的容器,用于容纳磁珠的容器,和用于容纳细胞样品的容器;
- [0047] 所述样品处理单元包括混合容器,用于混合细胞样品和磁珠;
- [0048] 所述磁力分选单元位于所述样品处理单元和样品收集单元之间,包括位于管道四周、用于提供分选的磁力的磁力发生单元;
- [0049] 所述样品收集单元包括至少两个容器,其中一个容器用于收集未结合磁珠的非目标细胞,另一容器用于收集目标细胞。
- [0050] 在某些实施方式中,所述分选装置还包括:
- [0051] (8)控制单元,用于控制所述分选装置按预先设定的方案运行。
- [0052] 在某些实施方案中,所述控制单元包括显示器,用于控制所述分选装置按预先设定的方案运行并实时显示所述分选装置的运行状态。
- [0053] 在某些实施方案中,所述目标细胞结合的磁珠已被切除或未被切除。
- [0054] 在某些实施方案中,所述分选装置还包括用于容纳磁珠分离试剂的容器和/或用于收集废液的容器。
- [0055] 在某些实施方案中,所述驱动单元具有分别与所述混合容器的第一接口和第二接口连通的第一接口和第二接口。
- [0056] 在某些实施方式中,所述混合容器的第一接口经由第一主管道与所述驱动单元的第一接口连通,所述混合容器的第二接口经由第二主管道与所述驱动单元的第二接口连通,所述样品收集单元经由第三主管道与第二主管道连通。

[0057] 在某些实施方案中,所述用于容纳缓冲液的容器、用于容纳磁珠的容器、用于容纳细胞样品的容器和用于容纳磁珠分离试剂的容器各自通过第一分支管道、第二分支管道、第三分支管道和第四分支管道与所述第一主管道连通。

[0058] 在某些实施方案中,所述用于收集未结合磁珠的非目标细胞的容器、用于收集目标细胞的容器和用于收集废液的容器各自通过第八分支管道、第九分支管道和第十分支管道与所述第三主管道连通。

[0059] 在某些实施方式中,所述控制开关包括:

[0060] 第一控制开关,用于控制容纳缓冲液的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

[0061] 第二控制开关,用于控制容纳磁珠的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

[0062] 第三控制开关,用于控制容纳样品的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

[0063] 第五控制开关,用于控制混合容器第一接口与所述驱动单元的第一接口之间的连通;

[0064] 第六控制开关,用于控制混合容器第二接口与所述驱动单元的第二接口之间的连通;和

[0065] 第七控制开关,用于控制所述驱动单元的第二接口与收集容器之间的连通。

[0066] 在某些实施方案中,所述用于细胞免疫磁珠分选的装置还包括:

[0067] 第八控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集未结合磁珠的细胞样品的容器;和

[0068] 第九控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集目标细胞样品的容器。

[0069] 在某些实施方案中,所述用于细胞免疫磁珠分选的装置还包括:

[0070] 第四控制开关,用于控制容纳磁珠分离试剂的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;和/或

[0071] 第十控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集废液的容器。

[0072] 在某些实施方案中,所述控制开关包括:

[0073] 第一控制开关,用于控制第一分支管道的畅通与闭合;

[0074] 第二控制开关,用于控制第二分支管道的畅通与闭合;

[0075] 第三控制开关,用于控制第三分支管道的畅通与闭合;

[0076] 第五控制开关,位于混合容器第一接口和与第一主管道相连的最靠近第一接口的分支管道之间,用于控制第一主管道的畅通与闭合;

[0077] 第六控制开关,位于混合容器第二接口和第二主管道与第三主管道的连通位置之间,用于控制第二主管道的畅通与闭合;

[0078] 第七控制开关,位于第二主管道与第三主管道的连通位置和磁力分选单元之间,用于控制第三主管道的畅通与闭合;

[0079] 第八控制开关,用于控制第八分支管道的畅通与闭合;和

[0080] 第九控制开关,用于控制第九分支管道的畅通与闭合。

- [0081] 在某些实施方案中,所述控制开关还包括:
- [0082] 第四控制开关,用于控制第四分支管道的畅通与闭合;和/或
- [0083] 第十控制开关,用于控制第十分支管道的畅通与闭合。
- [0084] 在某些实施方案中,所述控制开关为夹管阀。
- [0085] 在某些实施方案中,所述驱动装置为双向蠕动泵。
- [0086] 在某些实施方案中,所述磁珠结合有待分选的细胞的表面抗原的特异性抗体。
- [0087] 在某些实施方案中,所述磁力发生单元为永磁磁铁。
- [0088] 在某些实施方案中,所述装置包括步进电机,用于实现或消除管道周围的磁力。
- [0089] 在某些实施方案中,所述磁力分选单元包括两个分开的磁力发生单元。
- [0090] 在某些实施方案中,所述磁力分选单元包括磁力噪音消除装置,用于使磁力在管道周围均匀分布。
- [0091] 在某些实施方案中,所述装置还包括位于所述混合容器周围的温度模块。

附图说明

- [0092] 图1显示了本发明细胞免疫磁珠分选系统的结构示意图。
- [0093] 图2显示使用本发明的免疫磁珠分选系统对CD3细胞进行分选获得的阴性样品。
- [0094] 图3显示使用本发明的免疫磁珠分选系统对CD3细胞进行分选获得的阳性样品(未进行磁珠分离)。
- [0095] 图4显示使用本发明的免疫磁珠分选系统对CD3细胞进行分选获得的阳性样品(进行磁珠分离后)。

具体实施方式

[0096] 本发明细胞免疫磁珠分选系统(装置)的工作原理是基于抗体对抗原的特异性识别,磁性微珠通过直接或者间接偶联在抗体上而与细胞相连,从而在高强度磁场中实现细胞分离与收集;根据需要,能够对富集后的磁珠进行切除或者不切除,保证细胞最好的生长状态;结合了单克隆抗体的特异性与无柱磁珠分选系统的简便性,避免了磁力分选柱的堵塞以及残留问题。

[0097] 本装置可通过正选或者负选来纯化目的细胞(目标细胞),具有高效的细胞分选能力,可应用于涉及细胞分离的各个领域,尤其可广泛应用于临床及科学研究领域。本发明尤其可用于人外周血单核细胞、骨髓干细胞等细胞的分离。

[0098] 本发明的细胞免疫磁珠分选装置包括样品供应单元,样品处理单元,磁力分选单元,样品收集单元,驱动单元,连通所述样品供应单元、样品处理单元、驱动单元、样品收集单元的管道,和控制所述样品供应单元、样品处理单元、驱动单元和样品收集单元之间的连通的控制开关。这些单元和管道可被安排、安装或容纳在构成所述装置支撑部分的外壳内或支架上,可采用常规的技术手段对其进行安装和固定。

[0099] 样品供应单元包括用于容纳缓冲液的容器,用于容纳磁珠的容器和用于容纳细胞样品的容器,和任选的用于容纳磁珠分离试剂的容器。对这些容器在装置主体结构上的排列并无特殊限制。图1给出了示意性的例子,即四个容器一字排开。但实际上四个容器也可以两两并排,具体可根据装置的整体布局确定。

[0100] 样品处理单元包括混合容器,该混合容器用于容纳、混合细胞样品和磁珠,优选还包括缓冲液。混合容器可以为腔室的形式,即混合室。混合容器包括第一接口和第二接口,分别用于与驱动单元的第一接口和第二接口连接。

[0101] 驱动单元用于驱动各流体在管道中流动。驱动单元具有第一接口和第二接口,分别用于与混合容器的第一接口和第二接口连接。驱动单元通常是蠕动泵,更优选是双向蠕动泵。本文中,“双向蠕动泵”指该泵可驱动流体正向流动,也可驱动其反向流动。可采用本领域常用的蠕动泵来实施本发明,通常,蠕动泵流量在1~20ml/min的蠕动泵都可用于实施本发明。

[0102] 样品收集单元至少包括用来收集未结合磁珠的细胞(阴性样品)和目标细胞(阳性样品)的容器。优选的是,样品收集单元还包括用来收集废液的容器。因此,在某些实施方案中,如图1所示,样品收集单元包括三个独立的容器,分别用于收集未结合磁珠的细胞(阴性样品)、目标细胞(阳性样品)以及废液。

[0103] 连通样品供应单元、样品处理单元、驱动单元、样品收集单元的管道包括主管道和分支管道。对管道的内径并无特殊限制,但通常可为1~10mm。主管道包括连通混合容器第一接口与驱动单元第一接口的第一主管道,连通混合容器第二接口与驱动单元第二接口的第二主管道,和直接与第二主管道连通的第三主管道。图1示例性地示出了第一主管道A、第二主管道B和第三主管道C。

[0104] 分支管道包括连通容纳缓冲液的容器与第一主管道的第一分支管道,连通容纳磁珠的容器与第一主管道的第二分支管道,连通容纳样品的容器与第一主管道的第三分支管道,连通容纳磁珠分离试剂的容器与第一主管道的第四分支管道,连通收集阴性样品与第三主管道的第八分支管道,连通收集阳性样品的容器与第三主管道的第九分支管道,以及连通收集废液的容器与第三主管道的第十分支管道。图1示例性地示出了第一分支管道1',第二分支管道2',第三分支管道3',第四分支管道4',第八分支管道8',第九分支管道9'和第十分支管道10'。

[0105] 控制所述样品供应单元、样品处理单元、驱动单元和样品收集单元之间的连通的控制开关通常为夹管阀,包括:第一控制开关,用于控制容纳缓冲液的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;第二控制开关,用于控制容纳磁珠的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;第三控制开关,用于控制容纳样品的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;第五控制开关,用于控制混合容器第一接口与所述驱动单元的第一接口之间的连通;第六控制开关,用于控制混合容器第二接口与所述驱动单元的第二接口之间的连通;第七控制开关,用于控制所述驱动单元的第二接口与收集容器之间的连通;第八控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集未结合磁珠的细胞样品的容器;第九控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集目标细胞样品的容器;和任意的第四控制开关,用于控制容纳磁珠分离试剂的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;任意的第十控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集废液的容器。

[0106] 更具体而言,控制开关包括:第一控制开关,用于控制第一分支管道的畅通与闭合;第二控制开关,用于控制第二分支管道的畅通与闭合;第三控制开关,用于控制第三分支管道的畅通与闭合;第五控制开关,位于混合容器第一接口和与第一主管道相连的最靠近第一接口的分支管道之间,用于控制第一主管道的畅通与闭合;第六控制开关,位于混合

容器第二接口和第二主管道与第三主管道连通位置之间,用于控制第二主管道的畅通与闭合;第七控制开关,位于第二主管道与第三主管道连通位置和磁力分选单元之间,用于控制第三主管道的畅通与闭合;第八控制开关,用于控制第八分支管道的畅通与闭合;和第九控制开关,用于控制第九分支管道的畅通与闭合;任选的第四控制开关,用于控制第四分支管道的畅通与闭合;任选的第十控制开关,用于控制第十分支管道的畅通与闭合。

[0107] 图1示例性地示出了第一控制开关1,第二控制开关2,第三控制开关3,第四控制开关4,第五控制开关5,第六控制开关6,第七控制开关7,第八控制开关8,第九控制开关9和第十控制开关10。

[0108] 如图1所示,用于容纳缓冲液的容器通过第一分支管道1'与第一主管道A连通,第一分支管道1'和第一主管道A之间存在第一控制开关,即夹管阀1,用于控制缓冲液向混合室流动。用于容纳磁珠的容器通过第二分支管道2'与第一主管道A连通,第二分支管道2'与第一主管道A之间存在第二控制开关夹管阀2,用于控制磁珠向混合室流动。用于容纳样品的容器通过第三分支管道3'与第一主管道A连通,第三分支管道3'和第一主管道A之间存在第三控制开关夹管阀3,用于控制样品向混合室流动。用于收集阴性样品的容器通过第八分支管道8'通过第八控制开关夹管阀8和第三主管道C连通;用于收集阳性样品的容器通过第九分支管道9'与通过第九控制开关夹管阀9和第三主管道C连通。

[0109] 图1所示的例子中,该装置还包括用于容纳磁珠分离试剂的容器,该容器通过第四分支管道4'与第一主管道A连通,第四分支管道4'和第一主管道A之间存在第四控制开关夹管阀4,用于控制磁珠分离试剂向混合室流动;和用于收集废液的容器,该容器通过第十分支管道10'与第三主管道C连通,第四分支管道10'和第三主管道C之间存在第四控制开关夹管阀10。

[0110] 磁力分选单元用于产生磁力,将结合了磁珠的细胞与未结合磁珠的细胞分离。磁力分选单元位于所述样品处理单元和样品收集单元之间,包括位于第三主管道四周的磁力发生单元。磁力发生单元通常由永磁磁铁提供分选的磁力。分选时管道周围磁力的实现及消除可通过步进电机来实现。永磁磁铁通过固定装置与步进电机的联动杆连接。优选的是,本装置提供的磁场的磁力能够实现对多种类型磁珠的富集。磁力发生单元通常完全包围着管道的外周。或者,磁力发生单元可以是数片磁铁,例如两片、三片、四片磁铁,当包围管道外周时,这些磁铁对称排列。

[0111] 磁力分选单元还可包括磁力噪音消除装置,用于使磁力在管道周围均匀分布。

[0112] 在一个优选的实施方案中,磁力分选单元包括磁力发生单元、用于固定所述磁力发生单元的固定装置、和磁力噪音消除组件;其中,磁力发生单元由沿着同一轴心排列的四块磁力组件(即磁铁)构成,并由固定装置固定为两两相对,四块磁力组件合围,形成允许管道穿过的通道;其中,磁力噪音消除组件设置在固定装置的两端,覆盖所述磁力发生单元,中空部分允许管道通过。

[0113] 固定装置可由四个组件组成,两两组合,分别在所述磁场发生装置的两端固定住四块磁力组件。所述组件顶部投影为“凸”形,正面投影为“凹”形,位于磁场发生装置一端两个组件组装后,凸出部与凹进部能相互嵌合。所述单元的凸出部具有穿透孔和半圆形凹陷,所述穿透孔用于容纳并固定磁力组件,在两个组件组装后,各自的半圆形凹陷合并形成允许管道穿过的圆形通道。应理解,凹陷并不一定是圆形,也可以是其它形状,只要组装后

的两个组件的两个凹陷所形成的通道允许管道穿过即可。当然,优选的,所形成的通道与用于细胞流式磁珠分选的管道相贴合。

[0114] 这类磁力分选单元的某些实施方案可参见CN 201510500417.9,本文将其全部内容以引用的方式纳入本文。

[0115] 对磁力发生单元的长度并无特殊限制,通常在20~50cm之间。如果沿着管道使用多个磁力发生单元,则每两个磁力发生单元之间可存在一定的间隔,例如1~10cm,而每个磁力发生单元的长度可适当缩短,例如10~20cm。例如,图1所示的装置中,磁力发生单元的数量为两个,相互之间隔开一定距离。

[0116] 可使用表面磁场强度为0.2~1T的磁铁作为磁力组件。磁力噪音消除组件的材料为一般的软磁材料,如电工软铁。固定装置材料为非磁性材料,无其他任何限制,如亚克力材料。

[0117] 优选的实施例中,磁场强度以轴心向四周递增,磁力的方向与磁场强度递增的方向相同。优选的实施例中,相对的两块磁力组件的相对面的磁极都为N极,而另两块相对的磁力组件的相对面都为S极。

[0118] 磁力发生单元可以拆卸,并且之间距离可调,以适用于不同类型磁珠的分选。

[0119] 本发明的装置还可包括控制单元,用于控制该分选装置按预先设定的方案运行。可采用本领域周知的各种自动化设置和装置来实现细胞分选各步骤、器件的自动化操作。控制单元还包括与各控制开关、驱动单元连接的电路,用以通过所述电路控制所述控制开关的开与关以及所述驱动单元的运转。在某些实施方案中,所述控制单元包括显示器,用于控制该分选装置按预先设定的方案运行并实时显示所述分选装置的运行状态。显示器可以是触屏显示器。

[0120] 本发明装置还可包括温度模块,用于调控混合容器的温度。该温度模块由加热模块和温度传感器构成,加热模块在混合容器的外侧,提供磁珠分离试剂促反应所需的温度;温度传感器用于检测温度,并将温度值显示于显示器上,以便于控制温度情况。

[0121] 对上述各容器以及管道的材料并无特殊限制。通常,管道以及用于收集的容器等通常为生物相容性的塑料;其他的可为金属(如不锈钢)或塑料等材料。本发明的各容器可以是腔、室的形式。对各容器的大小也无特殊限制,可根据所容纳的对象(例如缓冲液、磁珠、样品、磁珠分离试剂)而不同,通常在5~150ml的范围内,例如10~80ml。例如,由于磁珠和磁珠分离试剂的用量相对较小,因此,两者容器的容积可相对较小,例如在5~20ml的范围内;缓冲液和样品的用量相对较大,因此容纳缓冲液和样品的容器的容积可在30~100ml的范围之内。混合容器的容积可为10~150ml,如50~120ml。

[0122] 上述管道和各容器(包括所述混合容器)都可以是一次性耗材,且都可分别拆卸。例如,各容器可分别与各分支管道、以及各分支管道与各主管道之间都是可拆卸的。或者,各分支管道与主管道是一体的,而各容器与这些管道之间是可拆卸的。例如第一、二、三和任选的第四分支管道与第一主管道可以是一体的,而第二主管道、第三主管道和第八、九和任选的第十分支管道可以是一体的。可采用本领域常规的技术手段,以允许这些容器与管道相互之间实现密封式的连接,以防流体渗漏。

[0123] 因此,在某些实施方案中,本发明提供的装置可不包括所述管道和容器,而包括所述控制开关、驱动单元、磁力发生单元、控制单元和任选的温度模块。各管道和各容器可以

一次性耗材的方式随该装置提供。除所述管道和容器之外,所述装置的其它组件,如所述控制开关、驱动单元、磁力发生单元、控制单元和任选的温度模块等均集成于所述用于细胞免疫磁珠分选的装置的机箱上。例如,机箱上可安装有驱动单元,显示屏,控制开关,固定混合容器的卡口,磁力分选单元,以及任选的用于安放容纳样品、磁珠分离试剂、缓冲液、磁珠、阴性样品、阳性样品、废液的各容器的各凹槽,或用于悬挂这些容器的挂钩和/或支架。

[0124] 因此,本发明也提供一种套盒,包括用于细胞免疫磁珠分选的装置(本文中,“用于细胞免疫磁珠分选的装置”指不包括所述管道和各容器的装置)和一次性耗材,其中,所述用于细胞免疫磁珠分选的装置包括:

[0125] 驱动单元,用于驱动流体在管道中流动,所述驱动单元具有第一接口和第二接口,分别与用于混合样品和磁珠的混合容器的第一接口和第二接口连通;磁力分选单元,用于产生磁力以分选出与磁珠结合的细胞;第一控制开关,用于控制容纳缓冲液的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;第二控制开关,用于控制容纳磁珠的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;第三控制开关,用于控制容纳样品的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;第五控制开关,用于控制混合容器第一接口与所述驱动单元的第一接口之间的连通;第六控制开关,用于控制混合容器第二接口与所述驱动单元的第二接口之间的连通;第七控制开关,用于控制所述驱动单元的第二接口与收集容器之间的连通;第八控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集未结合磁珠的细胞样品的容器;和第九控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集目标细胞样品的容器;

[0126] 所述一次性耗材包括:用于容纳缓冲液的容器,用于容纳磁珠的容器和用于容纳细胞样品的容器,用于容纳、混合细胞样品和磁珠的混合容器,用于收集阴性样品的容器,和用于收集阳性样品的容器;连接混合容器第一接口与驱动单元第一接口的第一主管道,连接混合容器第二接口与驱动单元第二接口的第二主管道,与第二主管道连通并穿过磁力分选单元的第三主管道,连接容纳缓冲液的容器与第一主管道的第一分支管道,连接容纳磁珠的容器与第一主管道的第二分支管道,连接容纳样品的容器与第一主管道的第三分支管道,连接收集阴性样品的容器与第三主管道的第八分支管道,连接收集阳性样品的容器与第三主管道的第九分支管道。

[0127] 如前文所述,所述用于细胞免疫磁珠分选的装置还包括:第四控制开关,用于控制容纳磁珠分离试剂的容器与所述驱动单元的第一接口之间的连通;第十控制开关,用于控制流经第七控制开关的流体进出用于收集废液的容器;任选的用于容纳磁珠分离试剂的容器和/或任选的用于收集废液的容器;以及任选的连接用于容纳磁珠分离试剂的容器与第一主管道的第四分支管道和任选的连接用于收集废液的容器与第三主管道的第十分支管道。

[0128] 该用于细胞免疫磁珠分选的装置还可包括前文所述的控制单元和温度模块。

[0129] 拿到套盒之后,可根据本文所述或随附的说明书将各容器和管道连接起来,并安装到所述用于细胞免疫磁珠分选的装置的机箱上,形成本发明的细胞免疫磁珠分选装置。

[0130] 可采用本装置进行细胞分选,细胞可以是本领域已知的各种细胞,优选是哺乳动物来源的细胞,更优选为人细胞。

[0131] 细胞包括但不限于外周血细胞、造血细胞、神经干细胞和肿瘤细胞,更具体而言,

包括但不限于红细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、外周血单核细胞或淋巴细胞等。

[0132] 可用于本发明的磁珠可以是本领域已知的各种磁珠,只要这类磁珠可用于吸附细胞。

[0133] 对细胞与磁珠孵育的条件并无特殊限制,通常按本领域常规的孵育条件进行。例如,通常在室温(约25℃)下进行孵育,孵育时间通常在10~30分钟。

[0134] 缓冲液可以是例如PBS。或者根据实际的实验情况选择其他类型的缓冲液。

[0135] 磁珠上的抗体为能特异识别目的细胞的商品化抗体即可。可参照例如Keir ME, Sharpe AH(2005)Immunol Rev 204:128-143.Thompson JA et al.(2003)Clinical Cancer Research 9:3562-3570将抗体连接到磁珠上。

[0136] 磁珠分离试剂是将磁珠与相结合的细胞进行分离的试剂,可以通过蛋白酶、核酸酶或其他生物、化学等方法断开磁珠与细胞捕获抗体之间的连接作用。

[0137] 本发明也包括采用本发明的装置进行细胞分选的方法,所述方法包括如下步骤:

[0138] (1)样品混合及孵育,包括:将含细胞的样品、缓冲液和磁珠分别转运至混合容器中,在其它控制开关关闭而仅开启第五控制开关和第六控制开关的情况下,通过驱动单元驱动而使得混合物在混合容器与驱动单元之间流动,实现混合和孵育;

[0139] (2)细胞分选,包括:开启磁场,关闭其它控制开关而开启第五控制开关、第七控制开关和第八控制开关,由驱动单元将混合容器中的混合物驱动通过磁力分选单元,其中,结合目标细胞的磁珠被吸附到管壁上,而未结合磁珠的非目标细胞随着液体的流动进入阴性样品收集容器,即为阴性样品;和

[0140] (3)收集阳性细胞,包括:撤除磁场,关闭其它控制开关而开启第一控制开关、第七控制开关和第九控制开关,由驱动单元驱动缓冲液将吸附到管壁上的阳性细胞带入收集阳性样品的容器中。

[0141] 在某些实施方案中,所述方法还包括润洗管路的步骤,包括:关闭其它控制开关而开启第一控制开关、第七控制开关和第十控制开关,由驱动单元驱动缓冲液,将管道内气体排入收集废液的容器,通式润洗管道。

[0142] 在某些实施方案中,步骤(2)后,所述方法还包括磁珠分离的步骤,包括:关闭其它控制开关而开启第五、第七和第九控制开关,并撤除磁场,由驱动单元驱动收集阳性样品的容器中预先放置的缓冲液将吸附在管壁上的细胞样品带入混合容器中;然后关闭其它控制单元而开启第四和第六控制开关,由驱动单元将容纳磁珠分离试剂运入混合容器中,进行磁珠分离。

[0143] 在某些实施方案中,磁珠分离后,启动磁力分选单元,关闭其它控制开关而开启第五、第七和第九控制开关,由驱动单元将混合容器中的液体驱动流过磁力分选单元,磁珠被吸附到管壁上,而含阳性细胞(即目标细胞)的液体流入容纳阳性样品的容器中。

[0144] 下文结合图1阐述使用图1所示装置进行细胞免疫分选的过程。

[0145] (1)管路润洗。仪器夹管阀初始均为关闭状态,此时夹管阀1、7、10开启,磁铁处于分离状态,蠕动泵逆时针转动,蠕动泵的转速可以根据实验过程及情况自行进行调整,例如采用2~4ml/min;缓冲液流动将管道内气体排入到废液腔内,同时管道内充满缓冲液,管路润洗有助于减少分选过程中对细胞的损伤;

[0146] (2)样品混合及孵育。往阳性样品收集腔内注入一定量的缓冲液,体积根据细胞量等来具体设定,例如,可将其设定为10~30ml,如20ml。阳性样品收集腔内的缓冲液之后作为磁珠切除的溶剂。夹管阀3、6开启,蠕动泵逆时针转动,驱动样品缓缓进入混合室;夹管阀2、6开启,蠕动泵逆时针转动,驱动磁珠缓缓进入混合室;夹管阀1、6开启,蠕动泵逆时针转动,驱动缓冲液进入混合室,缓冲液将管道壁上可能残留的磁珠以及样品冲进混合室。夹管阀5、6开启,蠕动泵转动的方向可采用正反双向,尽可能将样品和磁珠之间混和均匀,进行细胞磁珠之间的孵育,泵的转速应当比较慢,孵育可以在常温下进行。孵育时间与孵育温度、细胞种类等有一定关系,可由技术人员根据本领域常规技术确定。例如,孵育时间可以为20~60min,如30min左右。

[0147] (3)免疫细胞分选。控制步进电机的运动,将磁铁闭合,在管道周围构建磁场;夹管阀5、7、8开启,蠕动泵转动使上述已经孵育完成的磁珠细胞由混合室流入磁力分选单元,此时蠕动泵设为低转速(例如1~3ml/min),有利于磁珠在管壁的吸附;结合目标细胞的磁珠会吸附在管壁上,而未结合磁珠的非目标细胞随着液体的流动会进入阴性样品收集腔,即为阴性样品。夹管阀1、6开启,蠕动泵泵入一定量的缓冲液进入混合室,缓冲液的体积量需要根据样品总量进行调整,例如,体积可以为5~15ml,目的是将混合室里面残留的细胞样品再一次带入磁场分选单元;夹管阀5、7、8开启,蠕动泵逆时针转动将冲洗的10ml缓冲液泵入阴性样品收集腔收集,其经过分选磁场,可进一步富集阳性细胞,这对于珍稀细胞的处理具有很重要的意义。最后,再用一定量的缓冲液(例如20~40ml)冲洗管道内细胞,夹管阀1、7、8开启,蠕动泵逆时针旋转,将液体泵入到阴性样品收集腔。

[0148] (4)磁珠分离。最终的目标细胞上结合的磁珠根据实验要求可进行分离或者不分离。若不需要分离磁珠时,该步骤可直接跳过。而对富集的结合磁珠的阳性样品进行磁珠切除,可根据不同的抗原/抗体选用其特异性的切除试剂,如特异性的酶,包括内切酶试剂。首先将磁场撤除,夹管阀5、7、9开启,蠕动泵顺时针转动,吸附在管道中的阳性目标细胞,经由蠕动泵由阳性样品收集腔中先前注入的缓冲液带入混合室;夹管阀4、6开启,蠕动泵逆时针转动,将磁珠分离试剂(如内切酶)加入混合室;夹管阀5、6开启,蠕动泵逆时针低速转动,在特定温度下进行磁珠细胞的分离,分离的效果会因为磁珠种类以及大小会有所差异,在混合室周围的温度模块提供切除所需的温度条件;切除的时间与切除的温度、细胞种类、分离试剂等有一定关系,可由技术人员根据本领域常规技术确定。例如,该时间可以为1~10min,如5min左右。

[0149] (5)阳性样品收集。上述的磁珠分离试剂反应后,步进电机转动,磁铁闭合,磁场保持工作状态,仅夹管阀5、7、9开启,蠕动泵逆时针转动,将混合室的液体再次泵入磁场中,磁珠吸附在管道壁,而已经分离的细胞会经过管路进入阳性样品收集腔,获得纯度很高的目标细胞。

[0150] 最后,仅夹管阀1、6开启,蠕动泵泵入一定量的缓冲液进入混合室,缓冲液的体积量需要根据实验情况进行调整,例如5~20ml,目的是对混合室内残留的细胞进行清洗;仅夹管阀5、7、9开启,蠕动泵逆时针旋转,将液体泵入到阳性样品收集腔,最后的清洗步骤对于珍稀细胞的处理或者小体积量的阳性样品的收集具有重要的意义。

[0151] 本发明的其他方面由于本文的公开内容,对本领域的技术人员而言是显而易见的。

[0152] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照国家标准测定。若没有相应的国家标准,则按照通用的国际标准、常规条件、或按照制造厂商所建议的条件进行。除非另外说明,否则所有的份数为重量份,所有的百分比为重量百分比。

[0153] 如无具体说明,本发明的各种原料均可以通过市售得到;或根据本领域的常规方法制备得到。

[0154] 除非另有定义或说明,本文中所使用的所有专业与科学用语与本领域技术熟练人员所熟悉的意义相同。此外任何与所记载内容相似或均等的方法及材料皆可应用于本发明方法中。

[0155] 实施例

[0156] 本实施例描述CD3细胞分选实验的实施操作:

[0157] (1)首先进行管路润洗。仪器中仅夹管阀1、7、10开启,磁铁处于分离状态,蠕动泵逆时针转动(转速4ml/min),确保缓冲液充满整个管道,这有助于减少分选过程对细胞的损伤;

[0158] (2)进行样品混合及孵育。往阳性样品收集腔内注入一定量的缓冲液,作为后面磁珠切除的溶剂。仅夹管阀3、6开启,蠕动泵逆时针转动(转速2ml/min),向混合室中加入样品;仅夹管阀2、6开启,蠕动泵逆时针转动(转速2ml/min),向混合室中缓缓加入磁珠;仅夹管阀1、6开启,蠕动泵逆时针转动(转速6ml/min),向混合室中加入缓冲液,将管道壁上残留的少量磁珠和样品冲进混合室。之后夹管阀5、6开启,蠕动泵、进行正反双向间隔转动(转速2ml/min),尽可能将样品与磁珠混和均匀,进行细胞磁珠之间的孵育。孵育在常温下进行,时间为30min。

[0159] (3)阴性样品收集。控制分离的磁铁闭合,在管道周围形成磁场;夹管阀5、7、8开启,蠕动泵逆时针转动(转速2ml/min),使混合室内已经完成孵育的混合液由混合室流经分选磁场,其中结合目标细胞的磁珠会吸附在管壁上,其余液体通过磁场后直接进入阴性样品收集腔;仅夹管阀1、6开启,蠕动泵逆时针转动(转速4ml/min),加入缓冲液体积10ml至混合室中进行洗涤,充分保证混合室内残留的细胞样品可使用充分;再次进行磁场分离,仅夹管阀5、7、8开启,蠕动泵逆时针转动(转速2ml/min),混合室中的液体流经分离磁场至阴性样品收集腔;用20ml的缓冲液冲洗管道内细胞,夹管阀1、7、8开启,蠕动泵逆时针旋转(转速6ml/min),待所有的液体均流入到阴性样品收集腔中。

[0160] (4)磁珠分离。控制闭合的磁铁分离,撤除磁场,仅夹管阀5、7、9开启,蠕动泵顺时针转动(转速4ml/min),阳性样品收集腔内的缓冲液冲洗分选磁场管壁上的阳性目标细胞后流入至混合室内;仅夹管阀4、6开启,蠕动泵逆时针转动(转速2ml/min),向混合室中加入内切酶;仅夹管阀5、6开启,蠕动泵逆时针转动(转速2ml/min),在室温下进行磁珠细胞的分离(约3~5min),在混合室周围的温度模块保证室温即可;

[0161] (5)阳性样品收集。最后,控制分离的磁铁闭合,形成分离磁场;夹管阀5、7、9开启,蠕动泵逆时针转动(转速2ml/min),混合室的液体流经分选磁场,磁珠吸附在管道壁,而已分离的细胞会进入阳性样品收集腔。最后,仅夹管阀1、6开启,蠕动泵泵入10ml缓冲液进入混合室,对混合室内残留的细胞进行清洗;仅夹管阀5、7、9开启,蠕动泵逆时针旋转,将液体泵入到阳性样品收集腔,阳性样品收集完成。

[0162] (6)分选结果检测。用流式细胞仪对收集到的阴性以及阳性样品进行检测,检测结果见图2、图3和图4;分选实验结果见表1,阳性样品中CD3细胞比例均达到90%以上,目标细胞纯度较高,且细胞均匀无聚团的情况发生,相比于其他同类产品只能达到70%-80%的纯度。

[0163] 表1 免疫磁珠分选仪CD3细胞分选实验(磁珠直径:1 μ m)

[0164]

实验编号	CD3 细胞比例 (%)		
	初始细胞	阴性	阳性
1	48.20	2.02	92.00
2	48.20	2.00	92.60
3	48.20	1.71	90.70

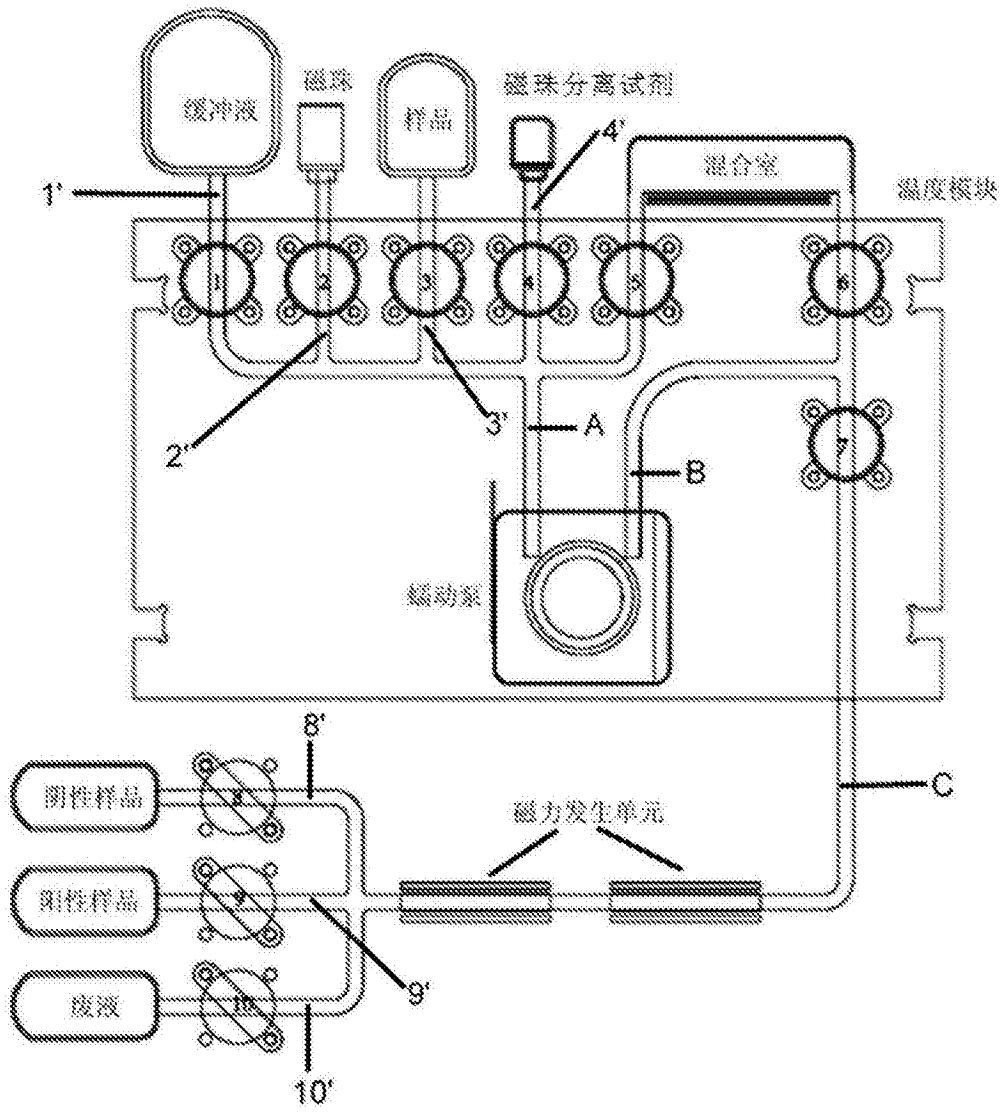


图1

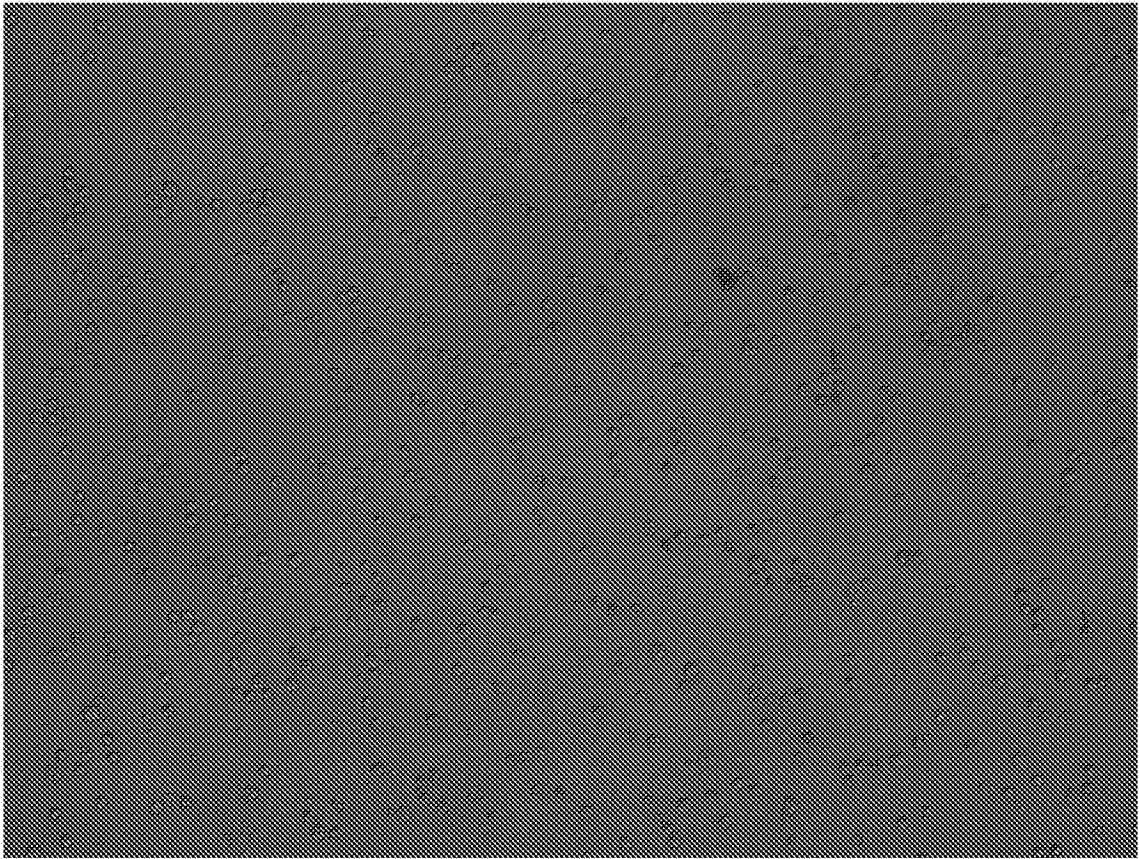


图2

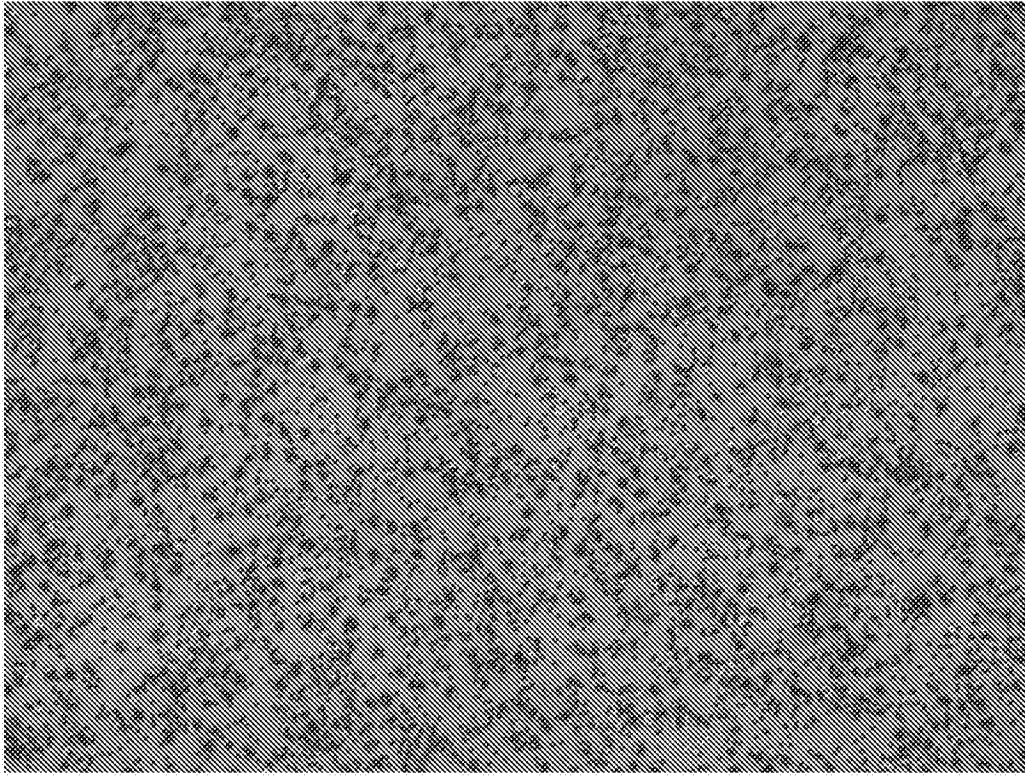


图3

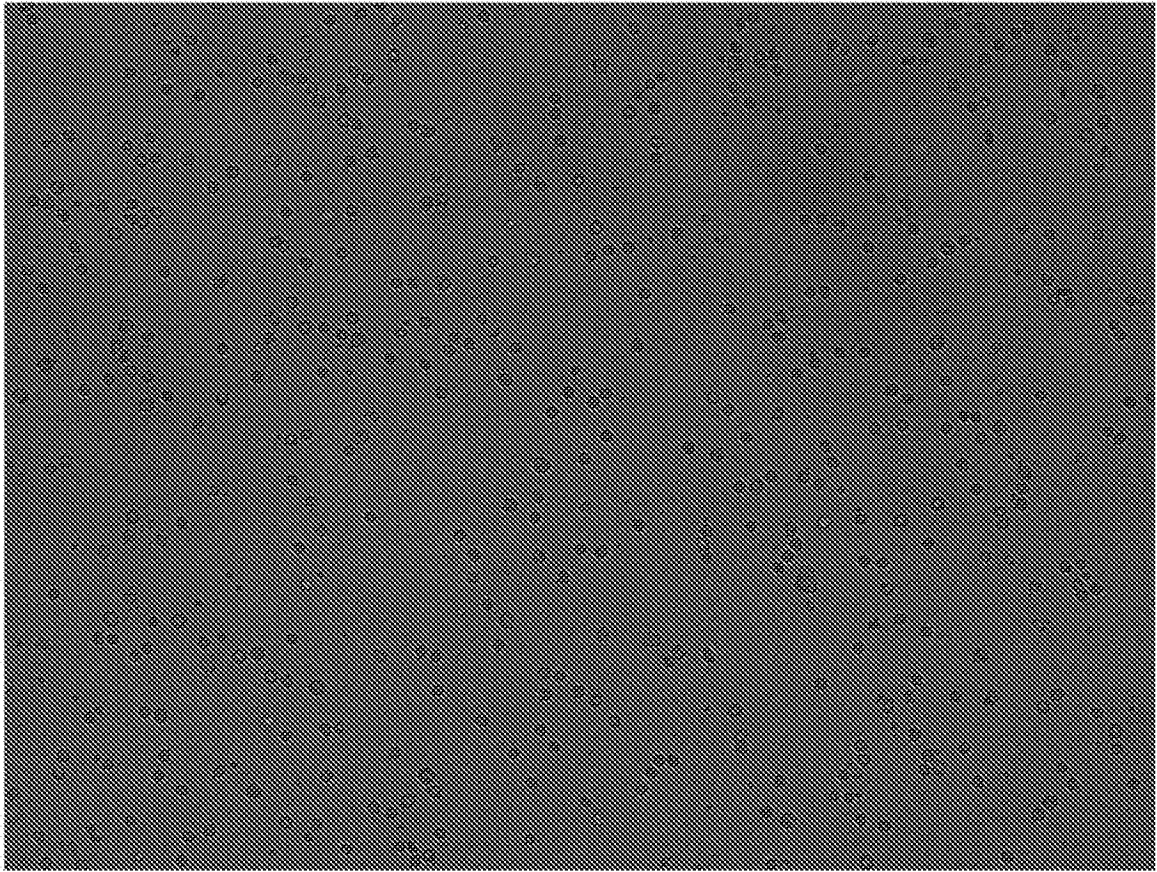


图4

专利名称(译)	一种细胞免疫磁珠分选系统		
公开(公告)号	CN105606795A	公开(公告)日	2016-05-25
申请号	CN201511026918.4	申请日	2015-12-31
[标]申请(专利权)人(译)	上海白泽医疗器械有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海白泽医疗器械有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海白泽医疗器械有限公司		
[标]发明人	钱其军 周进 师传胤 庞震国 胡金伟 吕功路 颜开冬		
发明人	钱其军 周进 师传胤 庞震国 胡金伟 吕功路 颜开冬		
IPC分类号	G01N33/53 C12M1/42 C12M1/38 C12M1/36		
CPC分类号	C12M23/44 C12M41/00 C12M41/12 C12M47/04 G01N33/53		
代理人(译)	韦东		
其他公开文献	CN105606795B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及用于细胞免疫磁珠分选的装置，所述装置包括：驱动单元，用于驱动流体在管道中流动，所述驱动单元具有第一接口和第二接口，分别与用于混合样品和磁珠的混合容器的第一接口和第二接口连通；磁力分选单元，用于产生磁力以分选出与磁珠结合的细胞；以及如文中所述的第一控制开关，第二控制开关，第三控制开关，第五控制开关，第六控制开关，第七控制开关，第八控制开关和第九控制开关。

实验编号	CD3 细胞比例 (%)		
	初始细胞	阴性	阳性
1	48.20	2.02	92.00
2	48.20	2.00	92.60
3	48.20	1.71	90.70