



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101460604 B

(45) 授权公告日 2012. 12. 19

(21) 申请号 200780001364. X

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2007. 03. 20

C12M 1/00 (2006. 01)

(30) 优先权数据

审查员 张艳青

60/783, 881 2006. 03. 20 US

60/801, 759 2006. 05. 20 US

60/846, 036 2006. 09. 20 US

60/852, 798 2006. 10. 19 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008. 05. 16

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2007/064343 2007. 03. 20

(87) PCT申请的公布数据

W02007/109639 EN 2007. 09. 27

(73) 专利权人 李荣山

地址 美国威斯康星州

(72) 发明人 李荣山

(74) 专利代理机构 北京凯特来知识产权代理有

限公司 11260

代理人 郑立明

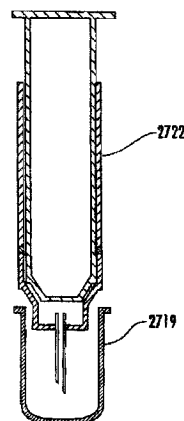
权利要求书 1 页 说明书 18 页 附图 25 页

(54) 发明名称

细胞块的制备装置

(57) 摘要

本发明公开了用于收集目标细胞或组织, 以制备细胞块的各种装置 (2122, 2141, 2222, 2002, 2032, 2622, 2141, 2320, 80, 30, 2701) 及方法。



1. 一种细胞块制备装置,其特征在于,包括:
在平面上延伸的底部;
一个收集管,所述收集管是在所述底部上制成垂直的侧壁以形成的腔室;
一个与所述腔室相连接的针头;
一个与所述腔室相连接的真空生成器;
一个覆盖在针头轴上的盖子,所述盖子使针头在收集管内形成一个面向侧面的开口。
2. 如权利要求 1 所述的装置,其特征在于,所述真空生成器包括:
与所述收集管相连的针筒;及
在针筒内可移动的活塞。
3. 如权利要求 2 所述的装置,其特征在于,所述收集管可移动地与所述针筒相连接。
4. 如权利要求 2 所述的装置,其特征在于,所述针筒与所述收集管螺纹连接。
5. 如权利要求 2 所述的装置,其特征在于,所述针筒与所述收集管直接连接。
6. 如权利要求 2 所述的装置,其特征在于,所述针筒通过接头和所述收集管连接,在外力作用下,通过这个接头能够把针筒与管分离。
7. 如权利要求 2 所述的装置,其特征在于,所述针筒和所述收集管为一个整体。
8. 如权利要求 1 所述的装置,其特征在于,所述针头有一个孔连接收集管底部。
9. 如权利要求 8 所述的装置,其特征在于,所述针头的孔的开口方向和收集管的中轴线不平行。
10. 如权利要求 1 所述的装置,其特征在于,还包括:
支持管,用于可移动性地支持收集管和针头。
11. 如权利要求 1 所述的装置,其特征在于,所述底部和所述针头连接在一起,能够移动性地和收集管连接搭配在一起。
12. 如权利要求 1 所述的装置,其特征在于,所述底部和所述收集管形成一个独立的整体。
13. 如权利要求 1 所述的装置,其特征在于,还包括组织盒,所述组织盒包括:至少有一个腔的容器,每个腔的形状和大小同其装载的混合物相匹配。
14. 如权利要求 1 所述的装置,其特征在于,还包括一个可移动的温度培养箱,该温度培养箱包括:
一个用来接收包含基质容器的内腔;
邻近内腔用来加热基质容器的内容物的加热器。
15. 如权利要求 1 所述的装置,其特征在于,还包括了一个钳子,所述钳子有一对钳臂,所述钳臂具有向外的弹性,钳臂的底部具有同收集管内壁相对应的形状和大小。
16. 如权利要求 1 所述的装置,其特征在于,所述针头的一端和收集管直接相连,并靠近收集管的底端。
17. 如权利要求 1 所述的装置,其特征在于,所述真空生成器包括一个真空管,用于给腔室制造真空。

细胞块的制备装置

[0001] 根据 35USC 119(e) 本申请主张如下申请的优先权,申请日为 2006 年 10 月 19 日,申请号为 60/852,798 的美国未授权的临时专利申请;申请日为 2006 年 9 月 20 日,申请号为 60/845,036 的美国临时专利申请;申请日为 2006 年 5 月 20 日,申请号为 60/801,759 的美国专利申请;以及申请日为 2006 年 3 月 20 日,申请号为 60/783,881 的美国临时专利申请;本申请与申请日为 2005 年 11 月 22 日,申请号为 60/630,870 的未授权的美国专利以及与申请日为 2004 年 11 月 24 日,申请号为 60/630,870 的美国临时专利申请相关,上述专利申请所公开的内容与本申请的方案是一体。

技术领域

[0002] 本发明涉及一种为进行显微镜检查而分离和制备细胞和 / 或组织的装置及方法,尤其涉及一种将由细针穿刺所收集的样本制备成细胞块以便进行进一步的免疫细胞化学及其它的检验的装置及方法。

背景技术

[0003] 细针穿刺 (FNA) 是一种应用广泛的筛检诊断过程。通过细针穿刺所收集的细胞和组织被用来制作涂片以便在病床边进行快速染色和显微镜检查。在多数情况下,所收集的细胞和组织是用来制备细胞块以便进一步研究。目前,细针穿刺的程序可以分成两个步骤并使用两个独立的系统:第一步是标本的收集,第二步是细胞块制备。

[0004] 在目前的临床实践中,通常被广泛用作标本收集抽吸工具的是附有细针的注射器。

[0005] 细针主要由三部分组成:针座、柄和斜面。针座是在细针的一端并与注射器连接的部分;柄是细针又长又细的主干部分,并在其中一端倾斜形成一个尖端;针柄的中空部分就是腔,在制备混合物的时候应该总是用一次性的细针,因为他们是经过预先消毒并独立包装以确保无菌的。细针的容量由长度和精确计量所指定。针长以英寸为单位进行测量,是指从针座与柄部的连接点到针尖的距离。针长的范围一般是从 3/8 英寸到 3 1/2 英寸;某些特殊用途的细针甚至更长。细针的精确计量是用来指定腔的容量的,其范围从 27(最小的)到 13(最大的)。

[0006] 在常规 FNA 过程中所使用的细针都有一个留有小空隙的小针座,这是因为针座的主要功能就是要把针柄连接到注射器,而注射器提供了一个贮存所收集细胞和组织的空间。普通针座的直径不会超过 4mm。在常规 FNA 过程中,所使用的是普通的细针和注射器,部分所收集得到的细胞和组织小碎片常常会留在针柄与注射器接头的针座的小空隙里。对于大多数的 FNA 过程来说,所述留在小空隙里的那部分所收集的细胞和组织对进一步的研究显得很重要,对这部分样品的有效利用依然是个难题。目前尝试解决这个问题的方法是用固定剂(福尔马林或乙醇)冲洗注射器以及细针,以转移所有的残留样品到一个盛放固定剂的容器中,然后再使用离心技术把样品物质从液态固定剂中分离出来。离心后,除去上清液(固定剂),加入基质(“组织原”、“琼脂”或其它)并使之与细胞或组织的片状沉淀物

混合以制作一个凝胶-样品混合物。盛放混合物的管状容器被放到低温(40℃)中冷却,以使混合物相对凝固,然后再把它移出管状容器,用组织用纸包裹并放进组织盒中作进一步的处理。由于FNA技术仅能得到少量有限的标本,并且当前临床实验室的检验过程没有最大限度地使用这有限的标本。在这一过程中所收集到的标本量的局限性在很大程度上限制了对疾病的进一步的分类。这又会导致为了得到更加明确的诊断,必须进行更多侵入性的检查。这不仅引起费用的增加,同时还会明显延缓疾病的诊断。

[0007] 我们仍然需要一种能够在不同的(HE染色、免疫细胞化学和其它)检验中最大限度地利用这种有限标本的系统和方法,这样就不需要更多侵入性的操作,而从单次FNA检验中就能得到更加明确的诊断。

附图说明

- [0008] 图1为本发明实施例制备细胞块的装置的简要示意图;
- [0009] 图2为图1所示装置使用的试剂盒的简要示意图;
- [0010] 图3为本发明实施例已经加了细胞的含有固定剂的离心管的简要示意图;
- [0011] 图4为本发明实施例对图3所示的离心管进行离心的简要示意图;
- [0012] 图5为本发明实施例使用移液器移去样品离心后的上清液的简要示意图;
- [0013] 图6为本发明实施例移去上清液后将离心管中的细胞沉淀块转移至输送管示意图;
- [0014] 图7为本发明实施例将输送管中的细胞沉淀块移至已将基质填压、预热好的基质容器中示意图;
- [0015] 图8为本发明实施例使用搅拌棒将基质和细胞沉淀块混匀的示意图;
- [0016] 图9为本发明实施例将基质/细胞沉淀块混合物冷却以制备凝胶样品的示意图;
- [0017] 图10为本发明实施例将凝胶样品从基质容器中移至输送管的示意图;
- [0018] 图11A为本发明实施例将凝胶样品从输送管加至组织盒示意图;
- [0019] 图11B为本发明实施例带有可移动腔室的组织盒示意图;
- [0020] 图12为本发明实施例将凝胶样品放入包埋块的腔室中包埋示意图;
- [0021] 图13A-13C为本发明实施例运用透视法观察不同的包埋块及其腔室中样品的结构;
- [0022] 图14为本发明实施例包埋盘覆盖含有凝胶样品的包埋块的示意图;
- [0023] 图15为本发明实施例将包埋盘放在加热器上加热示意图;
- [0024] 图16为本发明实施例将包埋盘放在冷却器上冷却示意图;
- [0025] 图17为本发明实施例注射器形状的基质容器示意图;
- [0026] 图18为本发明实施例含有分隔装置的包埋盘示意图;
- [0027] 图19A-19C为本发明实施例输送管示意图;
- [0028] 图20-27为本发明图2所示试剂盒的离心管其他实施例示意图;
- [0029] 图28为本发明实施例收集装置的示意图;
- [0030] 图29-32为本发明图28所示收集装置其它实施例示意图;
- [0031] 图33-36为本发明图28所示收集装置的另外实施例示意图;
- [0032] 图37-40为本发明图33-36所示收集装置的过滤器的示意图;

- [0033] 图 41 为本发明实施例托盘装置的示意图；
- [0034] 图 42-54 为本发明图 2 所示试剂盒的其它离心管实施例示意图；
- [0035] 图 55-65 为本发明实施例离心管的补充形式示意图；
- [0036] 图 66 为本发明实施例转移钳的示意图；
- [0037] 图 67 为本发明实施例组织盒的其它实施例示意图；
- [0038] 图 68-71 为图 19A 所示输送管的其它实施例示意图。

具体实施方式

[0039] 下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0040] 图 1 描述了制备细胞块的装置 10。单独使用所述实验室装置 10 就可以得到 FNA 样品以进行显微镜检查。在本发明具体实施例中,所述装置 10 包括:离心机 12、移液器 14、温度培养箱 16、混合器 18、加热器 60 和冷却器 19。在最佳实施例中,装置 10 是一个整体的装置。然而,从方便的角度出发,所述装置 10 也可以仅将上述的任意两个或多个设备组合在一起。

[0041] 装置 10 在样本制作过程中可使用附加的材料,包括可丢弃的和/或可消耗的材料,而这些材料则由试剂盒 20 提供,如图 2 所示。在本发明实施例中试剂盒 20 包括:包含有固定剂 F 的离心管 22、含有基质材料 M 的基质容器 24、输送管 26、填压器 28、组织盒 30、包埋盘 32、以及石蜡油或其他填充物 34。根据本发明的原理,试剂盒 20 可包含上述的物品中的任意一种或多种,而且每种物品的量可根据不同需要而定。本实施例在图 2 中,试剂盒 20 内的输送管 26 和填压器 28 是分开放置的,实际上也有可能某些试剂盒 20 内填压器 28 已被置入输送管 26 中,可直接用于制备细胞块样品。

[0042] 装置 10 和试剂盒 20 的联合使用将非常适合于免疫细胞化学研究中样本的制备,所述免疫细胞化学研究是对通过 FNA 试验、活组织检查、内窥镜过程以及灌胃的洗涤液等过程所得到的少量物质的研究。显然,装置 10 和试剂盒 20 也可应用于别的研究,比如:特殊染色、原位杂交、RNA 和 DNA 的研究以及基础研究中需要收集和保存处理过的细胞等。

[0043] 所述装置 10 和试剂盒 20 可以组成一个系统,用于从单个 FNA 所收集的样本中制备多个连续的组织(细胞)切片。每一个组织(细胞)切片都包含足够量的细胞用于染色或其他检验。

[0044] 如图 3 所示,本发明实施例把从 FNA 试验或其他样品中得到的细胞物质 C 加入含有固定剂 F,如福尔马林的离心管 22 中。按照本发明实施例,离心管 22 有一个逐渐变小的区域 36 和不变小且直径固定的底部或腔室 38。这样的结构可以让离心管 22 中的细胞或样品在离心后最大程度地集中在底部。正如下文所说,输送管 26 和填压器 28 结合一起的结构,可以更好地移除所有的细胞物质。

[0045] 可以想到,细胞物质 C 也可加入无预定决定量固定剂的离心管 22 中。在这种情况下,适当剂量的固定剂应与细胞物质 C 一同加入离心管 22 中。

[0046] 接着,可将离心管 22 放入离心机 12 中进行离心。如图 4 所示,通常情况下,离心机

12 是一个低速离心机,可把抽吸物 / 固定剂混合物分为上清液 S 和细胞沉淀块 P 两部分。

[0047] 如图 5 所示,离心后用移液器 14 可以采用如用抽吸管 40 或其他的抽吸方式移去上清液 S,只留细胞沉淀块 P 在离心管 22 中。我们要尽可能多地移去上清液 S 而不影响沉淀块 P。在优选实施例中,移液器 14 包含一个真空容器,或其他可以选择的移去上清液 S 的方法,包括但不限于:装置 10 所提供的激光器或热源。装置 10 还可以包含一个探测器以测出离心管 22 中液体的量。

[0048] 含有粘稠的基质混合物 M 的基质容器 24 先要放入温度培养箱 16 中预热。在本发明实施例中,可采用多种不同的基质,如室温下呈现固态的琼脂、琼脂糖凝胶、或“组织凝胶”,以及 METHO 细胞、基质凝胶、OCT 复合物、石蜡油、变性及未变性胶原、纤维结合蛋白、层粘连蛋白以及它们的混合物等。经验丰富的研究人员无需做很多的试验即可得出其他的适宜的固定细胞的基质。温度培养箱 16 可以是一个单一的可调节温度范围较广的空间,如 $-50-100^{\circ}\text{C}$ 。温度培养箱 16 可包含独立的加热室和冷冻室(如单独的加热板和冷冻板),它们可以单独调整确定的温度范围,如 $50-100^{\circ}\text{C}$ 和 $2-8^{\circ}\text{C}$ 。

[0049] 我们选择一个温度预热基质材料 M,使基质得以熔解。温度培养箱 16 有一个容器(未显示),可将基质容器 24 放在里面,在将基质材料 M 加到细胞沉淀块 P 前先把基质材料 M 加热到预定的温度。很明显,温度培养箱 16 含有一系列这样的容器,可以是相同或不同尺寸或构造的,这样才能适应于不同尺寸或形状样品或容器 24。一种实施例,如,温度培养箱 16 的温度会先设在 $90-100^{\circ}\text{C}$ 来熔解基质材料 M。一旦基质材料 M 熔解了,就将温度调至 50°C ,以保持其液态。

[0050] 采用输送管 26 和填压器 28 将沉淀块 P 从离心管 22 中取出来。输送管 26 有一个空心部分 42 和开放的末端 44。如图 6 所示,输送管 26 放入离心管 22 中,使沉淀块 P 移至空心部分 42 处。输送管 26 有附属结构腔室 38,可更好地收集转移所有的沉淀块 P。如图 7 所示,填压器 28 末端部分 46 的尺寸仅限于通过输送管 26,将沉淀块 P 释放到基质容器 24 中。尽管填压器 28 被做成固体的,更好的方法是在其中设置一个沿着它的长度的中空管。中空管可达末端部分 46。这个空心管可以释放填压器 28 中的空气。这种情况下,基质容器 24 就得含有预先测量好的基质材料以满足所需的基质材料 M 和细胞沉淀块 P 的比例,如 1 : 1。

[0051] 输送管 26 和填压器 28 若采用金属制作,则可重复使用,若采用塑料制作,则使用一次后即可丢弃。图 19A-19C 是输送管 26 和填压器 28 的示意图。图 19A 描绘了输送管 126 和填压器 128 配合的最佳实施例,填压器 128 的中心部分要窄一点。通过推填压器 128 使其更深入输送管 126,而拉填压器 128 又可使其回缩。

[0052] 图 19B 与图 19A 相类似,不过输送管 226 和填压器 228 有交叉的螺丝钉结构,这样,往一个方向旋转填压器 228 就可使其进入输送管 226,往另一个方向旋转,即可使其出来。

[0053] 图 19C 为又一最佳实施例,不过输送管 326 和填压器 328 间有一个弹簧器。在这种情况下,通过将填压器 328 推向弹簧使填压器 328 进入输送管 326。再推一次填压器 328 则可使使其回缩。这个机制和利用弹簧圆珠笔相类似。本发明实施例利用输送管 26,126,226,326 和填压器 28,128,228,328 来转移细胞样品,也可将上述仪器用在医学领域,如皮肤病学的活组织检查。

[0054] 接着将使用混合器 18 将沉淀块 P 和基质材料 M 再次混匀。如图 8 所示,混合器 18

有搅拌棒 48,它可以放入并靠近基质容器 24 的底部,提供机械搅拌。当然也可提供其他形式的搅拌,如涡流等。

[0055] 现在到图 9,将基质容器 24 放入温度培养箱 16 中一段足够的时间,使样品凝固变为凝胶 G。温度培养箱 16 将基质容器 24 中的基质材料 M/ 细胞沉淀块 P 混合物冷冻,使其达到所需的温度。温度被调整在一个范围以内,使组织凝胶固化,尽量控制为 -2 至 -8°C ,最好为大约 -4°C 。

[0056] 所述基质容器 24 应提供一个逐渐变细的区域 50 和一个减小的直径腔 52,与离心管 22 相似。直径腔 52 可用作形成和维持凝胶样本 G 于一种希望要得到的形状或结构。在本发明实施例中,所述直径腔 52 是一种圆形或圆柱形的结构,可形成形状是圆形或圆柱形结构的凝胶样本 G。所述直径腔 52 能够把凝胶样本 G 转变成各种想要形成的大小和形状,像方形或椭圆形。

[0057] 在凝固后,如图 10 所示,使用输送管 26 和填压器 28 或其他的转移方式转移所述凝胶样本 G。输送管 26 放置在基质容器 24 里,并穿过样本 G。输送管 26 能使样本 G 保持在空心轴 42 中,就像根通过固体胶里的吸管。输送管 26 的大小和形状最好能够与直径腔 52 相互补充,因此能够允许真正的所有凝胶样本 G 被收集和转移,同时有助于使样本 G 维持在希望得到的结构上。然后填压器 28 穿过空心轴 42,释放凝胶样本 G,接着凝胶样本 G 会被进一步处理,例如,通过冰冻切片,或石蜡包埋,或采用其他方式包埋等。值得注意的是,虽然石蜡是首选的包埋材料,并且在包埋过程中从始至终都是以石蜡为例进行说明,本领域技术人员可知,任何合适的包埋材料都可以被使用。通常采用的包埋材料包括,但不止限于:硝化纤维、动物胶、变性的或不变性的胶原、纤维结合蛋白、层粘连蛋白、树脂糖浆、非处方化合物和各种组成的塑胶聚合体。

[0058] 在包埋样本 G 的过程中,样本 G 接着被放到组织盒 30 里。组织盒 30 可以由塑料或其他适宜的材料组成,并能用作单种或多种用途。如图 11A 所示,组织盒 30 有个凹壁或腔 54,能够装载样本 G。此外,腔 54 还能够根据需要容纳其它添加的样本或同质的对照样本。如图 11B 所示的组织盒 30,提供一种可抽取式的篮子 56 包含一个或多个腔 54。腔 54 延伸至可移动的篮子 56,在篮子 56 内形成孔隙。一个盖子或其它的掩蔽物(表面上看不到)可以被用来覆盖在腔 54 上,起到进一步保护组织盒 30 中的样本 G。腔 54 不仅要有类似于与腔 38 互补的大小和形状,也要在随后的加工过程中使样本 G 维持所需要的形状。

[0059] 所述可抽取篮子 56 里最好能够形成至少一种完整的圆柱形腔 54。然而,篮子 56 中腔 54 的大小、数量和形状可以不同,以广泛地适用于不同样本数量和类型。所述可抽取篮子 56 可以由任何适宜的材料组成,包括塑料材料或泡沫材料,但又并不仅限于塑料材料或泡沫材料。

[0060] 如图 12 所示,加工处理后,样本 G 从组织盒 30 中转移至事前钻好的孔(或井)58,孔 58 内置有石蜡包埋块 34。石蜡包埋块 34 能根据需要,带有至少一个事前钻好的孔 58,这种孔 58 能够接收配制好的凝胶样本 G。如图 13A 至 13C 所示,通常样本能够形成与包埋块 34 和孔 58 相似的形状,但样本的形状并不限于包埋块 34 和孔 58 的形状。显而易见地是,包埋块 34 能够形成任何适宜的大小和形状,像矩形(图 13A 和 13B)或方形(图 13C)。同时,孔 58 的大小、数量和形状能够适应各种数目和类型的样本的处理过程,像单个包埋块 34 就可以形成不同形状的孔 58(如图 13A)。

[0061] 另一方面,包埋块 34 不需要事前钻好的孔 58 也可以被放置到试剂盒 20 中。在这种情况下,输送管 26 最好由金属或其他适宜于在包埋块 34 上钻孔以形成一个或一系列的孔 58,以便孔 58 的数量和位置能够被使用者所控制。

[0062] 放在包埋块 34 上的包埋盘 32 能够与包埋块 34 形成互补的大小和形状(图 14)。如图 14 中所示,包埋盘 32 是常用的包埋盘,可由金属、塑料或其他适宜的材料组成,并能适用于一种或多种用途。

[0063] 然后,包埋盘 32(包括板上含有样本 G 的包埋块 34)被倒置于加热器 60 上(图 15),也可以用其他方式加热样本 G,使样本 G 充分液化,填满孔 58,最终使样本 G 被包埋进去。加热器 60 的温度能够根据需要在一定的范围里调节,所述范围要保证使样本 G 能够起到充分的液化,例如从 55 至 65°C。

[0064] 在本发明另一实施例中,孔 58 可以被关闭,样本 G 可以不用包埋盘 32 而通过吸液管或其他传递热化的、液化的石蜡油的方式被包埋进去(图中未能显示)。石蜡油可以通过放置在加热器 60 上、或通过微波、或其他方式事先被加热或液化。

[0065] 在本发明另一实施例中,包埋盘 32 可以有一个分段的插入物 62,插入物 62 内有多个分割区 64,如图 18 所示。在使用的过程中,插入物 62 最初是放在包埋盘 32 中。至少一种样本 G 可以被接着放进插入物 62 上的分割区 64 中。样本 G 通过移液方式或其他加热石蜡油使其液化的方式转移至包埋盘 32 中。接着冷却包埋盘 32,凝固形成固态包埋块 34。另一种可供选择的方式是在插入物 62 放置到包埋盘 32 前用石蜡油填满包埋盘 32。接着将插入物 62 放置到包埋盘 32 的石蜡上,之后,至少一种样本 G 可以被放进插入物 62 上的每个分割区 64 中。然后冷却包埋盘 32,形成固态包埋块 34。

[0066] 包埋盘上的插入物 62 可以有任何适宜数量和形状的分割区 64。插入物 62 可由任何适宜的材料构成,包括塑料或金属,但也并不止限于这两种材料。所述形状能够被显著地在构建细胞芯片中使用,包括来自茶胺的细胞样本,在下文中会有进一步解释。

[0067] 接着包埋块 34 被放到冷却器 19 或其他能够使包埋块 34 冷却并凝固的器皿上(图 16)。冷却器 19 的温度可以根据需要在适宜范围内选择调控,所述范围要保证能够使得包埋块 34 凝固,例如从 -50°C 到 +4°C。随后包埋块 34 可以在包埋盘 32 中,也可以从包埋盘 32 中取出,以进行进一步的细胞学或组织学处理,例如将制好的包埋块 34 切成多个连续的组织(细胞)切片。每一个组织(细胞)切片都包含足够量的细胞用于染色或其他检验。在这个系统中所描述的,尤其是起到相互关联、互补作用的元件是结构腔室 38 和直径 52、输送管 26、填压器 28、孔 58,这些元件用于维持包埋的样本 G 处于所需要的形状,如圆柱形。因为样本 G 由始至终能够在样本处理过程中维持在所需要的形状上,使得每个载玻片上细胞或其他组织材料的数量和质量能够保持连贯和一致。结果可以使更多诊断操作过程能够在单个 FNA 或其他的样本中使用,以减少收集更多样本的必要,因此也能够减少侵入性诊断程序。虽然圆柱形是最优选择的,但任何适宜的形状都是可以采用的,如结构腔室 38 和直径 52、输送管 26、填压器 28、孔 58 都可以形成所需的形状。

[0068] 图 17 揭示另一种可采用的方式,所述基质容器 24A 形似注射器。基质容器 24A 可通过放置到温度培养箱 16 或采用其他预热方式使基质材料 M 液化溶解。接着所需数量的基质材料 M 可直接转移至离心管 22 中,离心管 22 含有片状沉淀物 P(亦如图 5 所示)。在这种布置下,基质容器 24 可容纳足够的基质材料 M 去制备更多的样本,去实现原料的再加

热和再利用。一种具体化的形式是温度培养箱 16 内有一个能盛放液体的盛器（图中未能显示）或以其他方式去维持基质材料 M 在基质容器 24A 中的加热和转移过程。片状沉淀物 P 接着在离心管 22 中被完全地混合和冷却，得到凝胶样品 G，分别见上文在图 8 和 9 的描述。接着用输送管 26 和填压器 28 转移凝胶样本 G 到组织盒 30，见上文图 10 所示。值得注意的是，即基质原料应进一步染色，以致使得石蜡油能够在细胞混合物中容易被辨别。

[0069] 虽然本项发明的实用对象首选细针穿刺抽取的细胞，但根据这一原理，本项发明也可广泛运用于其它来源的细胞和组织碎片。这些细胞和组织碎片也可以通过内窥镜检查法收集，内窥镜检查法包括但并不止限于以下几种：关节（内窥）镜检查、支气管镜检查、结肠镜检查、阴道镜检查、膀胱镜检查、内窥镜逆行胰胆管造影术、食道-胃-十二指肠镜检查、内窥镜活组织检查、胃窥镜、腹腔镜检查、喉镜检查、直肠镜检查和胸腔镜检查。还可以通过灌洗方式获得细胞，灌洗部位或来源包括但并不止限于：支气管肺泡、乳腺管、鼻部、胸膜、腹膜、胃肠、关节镜、膀胱灌洗术。值得注意的是，细胞也能采用导管收集，例如那些用于灌注的、心血管的、肾脏、膀胱、尿道、血液动力学监测、神经学上的，或者其他手术操作中所用的导管。

[0070] 在不同的细胞株中筛选基因或分子的表达水平是困难的，特别是新发现的基因。目前采用的常规方法是蛋白质斑迹法、荧光标记抗体的免疫细胞化学、实时逆转录 PCR（技术）、RNA 转移吸印技术、原位杂交等。

[0071] 目前细胞研究的来源包括商品化的或非商品化的有活性的细胞、特殊细胞株的冰冻活性细胞以及从不同有机体、植物、动物和 / 或人类的不同器官 / 组织中获得的原代培养细胞。要保养这些细胞在科学研究中是非常困难和非常昂贵的。可以提供“固定的或永久的细胞库”去改善现有的系统，形成细胞源。在这个新系统里，细胞可以从任何可能的、不同的来源获得（细胞可以来自动物或其他的来源，可以是以商业为目的的公司进行培养，也可以个人进行细胞培养），所有的细胞都能被培养、收集、固定在固定剂（福尔马林、酒精等）里和包埋在石蜡油或其他能够使得细胞原得到长期保存（永久保存）的物质里。基于这些原理，不同的细胞能够被独立的植入，就像开设了个人帐户，并且不同的细胞培养能够一起形成一个“细胞库”。

[0072] 值得注意的是，许多细胞株能够被收集和植入到包埋块 34 中。培养细胞先是通过传统的方法或上述介绍的方法植入到石蜡块中。

[0073] 然后，包埋块 34 中植入了细胞的部分可以通过不同的方法取出（如使用输送管 26 和填压器 28），再植入到另一个包埋块 34 中，如上所述形成一种细胞阵列。不同类型的阵列可以通过上述的方式建立。

[0074] 如下例所示，但并不止限于以下的例子，这些阵列类型包括：胚胎细胞阵列、成人细胞阵列、原代细胞阵列、细胞株阵列、组织阵列、哺乳动物细胞阵列、禽类动物细胞阵列、人类细胞阵列、遗传变异细胞阵列、化疗细胞阵列、疾病细胞阵列。须进一步注意的是，通过上述方式在不同细胞的混合体中建立细胞阵列与在一细胞群中选择单一或多种特征的细胞建立的阵列不同。这些细胞群包括有相同基因特性、种型、起源、发育阶段、进化源、组织起源、化学处理过程、细胞分裂周期点、疾病状态。

[0075] 包埋块 34 可以包含各种来自不同系统和器官的不同细胞制品。如下例所示，但并不止限于所举例子，不同的乳腺癌细胞株、癌细胞系、肉瘤细胞株、良性肿瘤细胞株、上皮细

胞株、间（充）质细胞株分别放不同的包埋块里。值得注意的是，可以从几个不同类型的身体组织中的细胞群产生一个细胞阵列，这些组织包括：血液、肌肉、神经、脑组织、心脏、肺、肝脏、胰腺、脾脏、胸腺、食管、胃、肠、肾脏、睾丸、卵巢、头发、皮肤、骨、乳腺、子宫、膀胱、脊髓和体液，但也并不限于以上提及的各组织。

[0076] 细胞可以来自不同的细胞株，包括：原代培养的细胞，人类、鼠类或其他动物的细胞，不同的有机体以及在不同发育阶段的有机体，这些细胞株可以形成一个单细胞包埋块。这些细胞也可以根据特定的需要量在不同的条件（不同的化学、温度、培养条件等）下进行处理，收集，植入一个独立的包埋块中。

[0077] 许多种细胞株可以作为“细胞库”被保存，包含有特殊细胞株的包埋块 34 可以预先形成，并作为“易于使用的”包埋块 34 提供给研究者或其他所需的人。预先制备了的包埋块 34 包括所需植入的样本或细胞株，这些包埋块可以根据使用者的需要赋予特定的用途（像特殊的细胞株和一定数目的盛放液体的盛器）和加工。

[0078] 不同的包埋块 34 制成切片，用切片上的细胞制作载玻片，并按照需要进行处理，像蛋白质、DNA 和 RNA 研究，或其他方面的研究。

[0079] 图 20-27 是其它形式离心管 22 的示意图。图 20 所示为离心管 422，离心管 422 除了有一个开放性的末端 423 之外，与离心管 22 是很相似的。这样一来，上清液在重力的作用下更加易于从离心管 422 中移走。

[0080] 图 21 所示为过滤装置 522。过滤装置 522 与离心管 422 很相似，但它还另外包括一个放置在离心管 422 的开口处 423 的过滤器 523。过滤器 523 可能由特殊的玻璃绒毛、玻璃纤维、纸、薄膜、塑胶或金属网制成，可有或无附加的支撑连接板。过滤器 523 具有阻隔间隙，在特定的离心速率下，可以让水滤过，而使细胞、细胞碎片、细胞器或细胞分泌物保留。然而，过滤器 523 也可以设计成这样一种形式，就是在一般情况（没有离心力作用）下或靠底部的真空系统或使用能把液体挤出过滤器 523 的装置，就可以保留细胞和基质的混合物。过滤器 523 可以被固定在离心管 422 的底部，也可以从离心管 422 的开口处移走。

[0081] 在另一种实施例中，过滤器 523 可能有阻隔间隙，或者具有一定大小和密度的开口，即使没有离心作用，它都能够让液体滤过。在液体流过过滤器 523 之后，过滤器 523 就会被一层物质（凝胶、凡士林、塑胶带、纸带等）盖上并封闭，或者过滤器 523 的间隙会被特定物质（凝胶、凡士林等）从过滤器 523 底部开始填充。这样一来，基质和细胞与基质的混合物将会被留在离心管 422 内而不会泄漏。

[0082] 图 22 所示为过滤装置 622，该过滤装置 622 除了另外还附带一个塞子 A 629 之外，与过滤装置 522 很相似。塞子 A 与其底部的过滤器 523 连接在一起，并固定在离心管 422 的开口处。塞子 A 与离心管 422 连接在一起的。在特殊的情况下，塞子 A 是以不同的方式与离心管 422 连接的，比如使用摩擦装置、钩、螺纹之类的。例如，图 23 所示过滤装置 722，在这个装置上，塞子 A 就是靠摩擦装置（推力）与离心管 422 连接在一起的。图 24 所示过滤装置 822，在这个装置上，塞子 A 是通过螺纹与离心管 422 连接的。

[0083] 正如图 25 和图 26 所示，在实际操作过程中，当液体流过过滤器 523（如图 28 所示）后，封口材料 625 会被置于过滤器 523 上。封口材料 625 可由条带、凝胶物质或其它能防止水泄漏的材料制成，用来封闭过滤器 523 中的所有间隙。

[0084] 还有一种实施例如图 27 所示，第二个塞子（塞子 B）628 可以从外部盖住第一个塞

子（塞子 A），塞子 B 包括材料 627，诸如凡士林、粘性条带或其它物质。然后基质就可以被加进离心管 422 中，细胞 - 基质混合物便得以制作出来。混合物在低温冷却过后移出，既能通过冲力，也可以靠其它方法，比如，把塞子移出离心管 422，使离心管 422 的末端再次开放，然后用活塞从离心管 422 的顶部一直到底部把混合物压出开放末端。

[0085] 图 28 所示为上清液在流出滤过器 523 后的收集过程。特别地，图 28 为抽取式离心管 422 与收集系统 927 连接的示意图。配置收集系统 927 是为了回收从过滤器 523 漏出的液体，这样一来，所收集到的液体可以被再次利用，以达到防止过滤器 523 有泄漏或者实现其它的目的。在图 28 所示的情况下，收集系统 927 还包括容器 929。正如图 28 所示，容器 929 有一个用来承载离心管 422 底端开口的嘴部 931。在这个实施例中，嘴部 931 是用于在过滤过程中支撑离心管 422 的肩部的。在其他实施例中，容器 929 的大小和形状都是可以不同的。它也可以由各种各样的材料制成。

[0086] 图 29-32 为收集系统 927 其他实施例示意图，图 29-31 为收集系统 1029 的示意图。正如图 29 和图 30 所示，收集系统 1029 包括真空装置 1031 和塞子 1042，真空装置 1031 由一个形状类似瓶子的装置组成，其顶端有个较窄的开放性端口。端口的形状既可以是圆形的，也可以是别的特殊形状。此真空装置 1031 的下部较大，底端同样是开放性的。底部开口的大小和形状也可以是不同的，但是它的边缘必须是平的。在此真空装置 1031 的侧边，有一个小孔或开口 1041，是用来与真空装置 1031 相连接的。

[0087] 正如图 30 所示，塞子 C 1042 是用来遮盖上述真空装置的顶端开口的。这个塞子 C 被分成两个部分。其底部的大小和形状是与真空装置 1031 的顶端开口精确吻合的，接口处不会有任何的空气泄漏。其顶部也有特定的大小和形状，以便与离心管 422 匹配。塞子 C 的中间有一个大小适中的开口 1043，这就使得一部分离心管 422 能够插入其中，并让液体可以流入真空装置 1031 中。收集系统 1029 还有一个管 1044，其一端置入塞子 C 中间开口的下部，而另一端通向真空装置 1031 的底部，它可以有不同的长度。

[0088] 图 31 为组合的收集系统 1029 的示意图。如图 31 所示，收集系统 1029 还附加了支持系统 1033 和收集容器 1030，在所实施例中，支持系统 1033 由一个平软、防水的弹性垫（衬垫或托）制成。这个衬垫应该比瓶状装置的底端大一些。

[0089] 在真空装置 1031 内部的真空作用下，收集容器 1030 能够收集通过塞子 C 的液体。在实际操作中，收集容器 1030 置于支持系统 1033 的中央，底部放在支持系统 1033 上，中心管朝向真空装置 1031。当真空装置 1031 的底端被放在衬垫上时，这个真空装置 1031 的底部就会自动被封住，与衬垫连接处也不会有气体的泄漏。通过真空装置 1031 旁边的开口 1041 能够在真空装置 1031 内部产生真空。收集系统 1029、塞子 C 和衬垫 1033 能由各种不同材料制成。他们可以由玻璃、塑料、橡胶、纤维以及其它物质组成。

[0090] 图 32 是收集系统 1129 的示意图，它是收集系统 1029 的另外一种实施例，收集系统 1129 与 1029 很相似，不同的是它包含容器 1131，而不是真空装置 1031，容器 1131 与 1031 也很相似，只不过 1131 的底部是封闭的，于是从每一种标本中过滤出来的液体不能被分别回收。取而代之的是，这个容器 1131 的底部侧边有一个孔隙或开口 1133，正如图 32 所示，并且会有一支管 1135 接到开口 1133 处，以便让收集到的液体能够顺着管子 1135 流出该容器 1131。

[0091] 图 33-36 是过滤装置 1222 和收集系统 1229 的示意图。它们是用来处理较大量样

品的。过滤装置 1222 为过滤装置 522 的又一种实施例,正如图 33-35 所示,过滤装置 1222 包含一个双盘设备,也就是由两个托盘 1240、1242 组成。这两个托盘形状相似或完全相同,所以它们能够紧紧地套在一起。然而这两个托盘可有不同的大小。托盘的底端中央部分都是开放性的。有一个过滤器 1223(特定的一张纸板、薄膜、塑胶、金属网或其它材料)会被放在两个托盘中间,并把它们的开放性区域盖住。此种“托盘-滤器-托盘”的三明治模型能作为一个整体设备使用。真空装置的塞子的顶端能够和外部的托盘相互匹配,于是当双盘装置被放在塞子上面的时候,它们能够很好地吻合而不至于漏气。

[0092] 正如图 36 中所示,收集系统 1229 与 1099 很相似,只是 1229 包括塞子 D1250,塞子 D 与塞子 C 是很相似的,但是 D 是专门用来支撑过滤装置 1222 的。图 36 还进一步显示,一旦过滤装置 1222 被置于塞子 D 上面,并且收集系统 1229 开始运作,标本将会被加到托盘上,液体将通过过滤器 1223,组织或细胞材料将会被过滤器 1223 阻留。之后,内盘被移走,留在过滤器 1223 上的物质会被包装,在这个过程中,使用的是同样的过滤器 1223。然后把这些物质放进盒中作进一步的处理。托盘可有不同的大小和形状,且可以由各种材料制成(塑料、纸、滤纸、纤维及其它)。

[0093] 还有一种实施例是,上述托盘中的一个盖在过滤器 1223 上,而不需要第二个托盘了,也就是单盘装置。在这两种装置中,过滤器 1223 都是可以从托盘中取出并可被包装的。

[0094] 图 37-40 为过滤器 1223 另外实施例示意图。特别地,图 37-40 显示了过滤器 1323。过滤器 1323 介于开放和紧闭位置的中间,从而形成了紧闭的甚至完全密封的容积。构成过滤器 1323 的材料(布料、纤维、塑胶、金属等)与一个条状的系结物连接在一起的。系结物 1252 能使过滤器 1323 折叠并封闭以形成一个状如袋子的结构,并在必需的时候可以被打开并显露出来。上述密封、袋状的过滤器 1323 是可以被直接放进盒子中去的。还有第二种实施例是这样的,过滤器 1323 可以被缝纫机样的设备、吻合器、加热器或者其它技术所折叠并密封。在此示例中,过滤器 1323 的边缘包括钩环系结装置(VELCRO)的相对部分。在其它实施例中,其他固定或非固定附件或系结设备可以代替 VELCRO。

[0095] 图 41 为一种单盘装置 1322 实施例的示意图,在该实施例中该单盘装置 1322 被制成漏斗的形状。盘的底部是开放性的,带有一个特定大小和形状的突出的边缘 1350。即便没有冷滤器,托盘边缘 1350 也能直接放进组织盒 1351 中去。在这种情况下,含有小的组织碎片的液体能被直接倒入漏斗状的单盘装置 1322 中,液体就会流过组织盒底部,组织碎片可直接在盒内被收集到。

[0096] 这些设备不仅可以用于处理细胞学标本,还能用来处理诸如子宫颈内刮除术及其它外科刮除术所获得的外科病理学标本。

[0097] 还有一种实施例是不使用真空系统,离心管和托盘被直接被放在纸片、纸巾、棉花或者其它能够吸水的材料上面,以帮助液体流过过滤器。

[0098] 图 42 为改进的样品管 A1422 的示意图。样品管 1422 与过滤装置 622 很相似,只不过塞子 A 上面有一个孔(或很多小孔)1425,并且还有一个突出的结构 1426。这个突出结构 1426 可能作为螺丝钉的一部分和作为支架,它能把塞子 A 从样品管 1422 中拔出以使两者分开。在管腔内有一个非锥形的、内径减小了的底部区域或腔室,叫做样品收集腔 1427。

[0099] 图 43 为改进的样品管 B1522 的示意图。样品管 1522 与样品管 1422、离心管 22 以及过滤装置 622 都很相似,只是样品管 1522 包括了非锥形的、内径减小了的底部区域或腔

室 1538, 还带有一个非锥形的、内径减小了的、圆柱形的腔, 称作样品收集腔 1527, 这个样品收集腔在图 3 的离心管 22 中有说明并标注为 38。

[0100] 图 44 为一个支架 1641 的结构示意图。它包括了一个筒状结构 1642、内针 1643、带孔 1645 的阀门 1644、一个带有螺丝 1647 的样品管支持器 1646 以及带孔 1649 的隔板 1648。

[0101] 样品管 A1422 可以直接与支架 1641 以螺纹系统连接, 该螺纹系统是由突出部分 1426 和支架上的螺丝 1647 组成的。塞子 A1425 上的孔则与支架 1641 的隔板 1648 上的孔 1649 相连接。真空管 1650 能够放入支架 1641 的筒状结构 1642 内。内针 1643 将穿透真空管的盖子 1651。当支架上的阀门被置于“开放”位置时, 孔隙 1645 就会与隔板 1648 上的孔隙 1649 连通, 真空转移到了样品管 A 的内腔 1427。于是, 液体会流过滤器 (薄膜) 并被收集在真空管 1650 中。同时, 细胞、细胞碎片、细胞器及 / 或组织碎片将会被过滤器 (薄膜) 阻留。这样一来, 细胞及 / 或组织材料会被备用真空装置所分开。这些材料被分开之后, 样品管 A 也会与支架分开, 并且密封材料会把孔 1425 封住。密封材料可由一些能防止水泄漏的条带、凝胶物质或其它物质组成, 能够用于封闭过滤器中的任何间隙。还有包括诸如凡士林或粘性条带或其它的密封材料的第二个塞子能够从外面把第一个塞子覆盖。然后, 基质材料能够被加进离心管中, 从而制得细胞 - 基质混合物。在低温冷却后, 混合物既能被压出, 也能采用其它的方式移出, 比如把塞子从管中移走使其末端开放, 用活塞把混合物压出离心管, 这个活塞是从顶端一直通到底部的。混合物将被直接放在特定设计好的组织盒的孔中。真空管中收集得到的液体能被用于不同的检验, 包括 pH、化学的、生化的、免疫的、分子的以及其它的研究。尽管控制阀是可选作控制真空的存在或解除的, 但是在这个装置中, 为了节省产品的成本, 可以不设置真空控制阀。

[0102] 在另外一种装置中, 样品管 B1522 只包括非锥形的、窄径的底部区域或腔室 1538, 1538 还带有一个非锥形的、窄径的圆柱形内腔 - 样品收集腔 1527。样品管 B1522 可被放在管的支持器 1660 内部, 管的顶部 1528 是朝向支持器 1660 的底板 1661 的。样品收集腔 1527 会跟支持器 1660 的接头 1664 的中心腔 1665 相连接。然后螺丝装置能够把支架 1641 与管支持器 1660 紧紧地连接在一起。如上所述, 真空管 1650 会被放进支架的桶状结构内。真空控制阀门 1644 是用来控制真空的。当阀门被置于“开放”状态时, 阀门的孔 1645 会与隔板 1648 上的孔 1649 相连, 样品收集腔、接头和针头的中心腔都会有真空出现。而当真空阀门被放在“关闭”状态时, 孔 1645 就不会与孔 1649 相连接, 样品收集腔与针头也就不会有真空。在穿刺过程中, 当针头被放在目标组织中时, 阀门会置于“开放”状态, 真空管提供的真空会转移到组织中去, 细胞和组织碎片会通过针头被吸进样品管 B 的样品收集腔中去。细胞、细胞碎片、组织碎片会被样品管的滤器 (薄膜) 所阻留。从组织中吸出的液体会流过滤器并在真空管中被收集。这样一来, 目标细胞和组织碎片在抽吸的过程中会从液体中被分离出来, 以备用来制作细胞块。一旦这个过程完成, 真空控制阀会被重新被置于“关闭”状态, 样品管和针头内的真空也会消失。针头能从组织中移出, 细胞和组织碎片不会通过针头逆吸进目标组织中去。整个设备会被放在一个针头朝上的位置上。样品管支持器会与支架分开, 并且样品管 B 会从支架上被移走。孔隙 1525 会被封住, 细胞 - 基质混合物会按照以上所描述的方法被制作出来。虽然此发明装置优先利用靠细针穿刺技术得到的细胞, 但是靠其它方法获得的细胞材料同样能被用来从液体中分离细胞和组织碎片并制作细胞块。比

如,支持器 1660 的接头 1664 能和导管或其它管而不是针头连接。于是,该设备能被用于收集其它过程如内窥镜检查法来源的细胞和组织碎片。内窥镜检查法包括但不限于以下几种:关节(内窥)镜检查、支气管镜检查法、结肠镜检查、阴道镜检查、膀胱镜检查、ERCP(内窥镜逆行胰胆管造影术)、EGD(食道-胃-十二指肠镜检查)、内窥镜活组织检查、胃窥镜、腹腔镜检查、喉镜检查、直肠镜检查、胸腔镜检查。细胞也可以从灌洗过程中获得,包括但不限于:支气管肺泡、乳腺管、鼻部、胸膜、腹膜、胃肠、关节镜、膀胱灌洗术。值得注意的是,细胞也能采用导管收集,例如那些用于灌注的、心血管的、肾脏、膀胱、尿道、血液动力学检测、神经学上的、以及其它手术操作过程中所用的导管。

[0103] 阀门 1644 可以设计成不同形状并且安装在装置的不同位置。图 45(A) 和 45(B) 举了两种不同阀的例子来说明:推阀 1744 及旋转阀 1844。图 54 举例说明一个由不同组件组成的旋转阀。真空状态指示窗 1846 设计成通过显示不同的颜色来指示真空装置的开和关。例如,绿色指示真空装置的“开”而红色指示“关”。在本实施例中,阀门 1644 安装在隔板 1648 并且距离连接样品管的末端很近的地方。或者,阀门可以安装在装置的不同地方。阀门 1844 由不同部分组成,包括一个真空状态指示窗 1846,一个空穴 1847,齿轮 1848,软塑料盖子 1849,弹簧 1850,弹簧标准 1851,弹簧 1852,内针孔 1853,筒 1854,阻流板制动器 1855,阻流板 1856,轴 1856。

[0104] 真空指示器将安装在系统的真空管内或与阀门连接。真空指示器可以反映真空管和/或样品收集管的实际真空状态。真空指示器可以根据不同的机制设计,如颜色改变,球形结构体积改变,电信号或/和转换成的数字信号以及其他可能的形式。真空指示器是这个装置的重要部分。

[0105] 图 46 所示为样品管 A 与支架 1641 的连接状态。样品管 1422 能够通过螺钉 1426 和螺母 1427 紧紧连接到支架 1641 上。塞子 A1424 能够紧紧连接到支架 1641 的隔板 1648 的一端。塞子 A 上的孔 1425 能与隔板 1648 上的孔 1649 匹配并且连接,形成一个通道。

[0106] 图 47 所示为有橡胶盖 1651 和管体 1652 的真空管 1650。

[0107] 图 48 所示为真空管 1650 和支架 1641 的连接状态图。真空管 1650 能够放入支架 1641 的筒状结构 1642 内。内针 1643 将穿透真空管的盖子 1651。当阀门 1644 转动到能将自己的孔 1645 与框架上的孔相通的位置时,真空将从真空管 1650 传送到样品管的通道 1427 或者通道 1527,依次通过内针 1643,孔 1649,孔 1645,样品管 A1424 上的孔或样品管 B1525 上的孔和薄膜 1423。

[0108] 图 49 所示为支持器 1660 示意图,它有一个底壁 1661,一个侧壁 1662,一个侧壁外表面的螺丝 1663 和短接管 1664。底壁 1661 是圆形并且有一个平坦的表面。短接管 1664 位于底壁 1661 的中央并且有一个中央通道 1665。短接管能够用来连接内针 1666。侧壁 1662 是圆形并且外螺丝可以用于连接框架 1641。侧壁 1662 和底壁 1661 一起形成一个能够容纳样品管 B1522 的腔。

[0109] 图 55 所示为收集管 2122 (2122A, B 和 C) 示意图。图 55A 中,收集管 2122A 是由离心管 22 修改得到的,该收集管 2122A 有一个锥形部分 2136 和一个非锥形的,直径逐渐缩小的底部或者有平坦下壁 2123 的腔室 2138。图 55A 举例说明收集管 2122A 通过柄或针 2104 穿透平坦下壁 2123 并且伸入腔室 2138 的内部空间使柄上部 2114 位于下壁上方。简单说来,柄 2104 的上部 2114 有两种特殊作用:1) 阻止收集的样本经柄回流;2) 在可以用作包埋

过程定向标记的细胞基质混合物块的底部外表面进行点标记。基本上,细胞基质混合物制成并保持圆筒状同时细胞置于底部表面区域,该底部需要包埋在最终的石蜡块切面。在操作过程中很容易将顶部表面与底部表面混淆,因为他们非常相似。有了上部结构 2114 的存在,它将在混合物 G 的底部占据一个小的空间。当混合物 G 从管内移出时将产生一个可以作为底部表面标志的小洞(点标)。小洞本身能够用作定向标志。底部表面也能够用特殊染料逐渐染色,于是小孔就会容纳染料从而指示底部表面。

[0110] 图 55B 中,是收集管 2122A 的另一实施例 2122B,收集管 2122B 在管 2103 的上部外表面有一个螺纹 2102。上部通过螺纹将收集管与特殊设计的注射器或其他真空系统连接。

[0111] 在图 55C 中,是收集管 2122A 的另一实施例 2122C。收集管 2122C 在管顶有“耳朵”或者“肩膀”的伸出部分 2118。伸出部分 2118 作为缺口的一部分连接到特别设计的注射器。支持管 2119 也能加入这个系统中。该支持管 2119 有两个作用:1) 当收集管被离心以用来分离上清和细胞时支持管 2122A, 2122B, 2122C ;2) 保护内针并且收集可能从收集管内泄漏的物质。

[0112] 图 56 举例说明特别设计的真空装置 2141 的框架。真空装置 2141 有一个筒 2142, 一个活塞 2143 及连接部分 2146, 连接部分 2146 内表面上的螺纹 2147。在图 56A 中, 隔片 2148 将筒 2142 和连接部分 2146 分开, 在隔片 2148 的中央有一处开口 2149。在不同的形式中, 一片缓冲垫 2130 能够安装在隔片的下表面, 这个缓冲垫将直接与收集管 2122 (A, B, C) 的上边缘接触, 更好的密封隔片与管上边缘的连接点。图 56B 举例说明真空装置的另一实施例的形式。隔片被乳头状螺纹接套 2131 替代, 该乳头状螺纹接套由连接部分 2146 和螺纹部分 2147 组成。乳头状螺纹接套 2131 与收集管 2122 的上部突出部分 2118 连接。螺纹接套 2131 的直径需与收集管 2122 大小适配。在另一实施例中, 过滤膜 2132 能够置于螺纹接套 2131 的开口处以避免收集的样品经螺纹接套 2131 的开口处 2149 泄漏到真空装置的筒内。

[0113] 图 57 举例说明离心管 22 的不同的实施例的形式。图 57A 举例说明具有框架 2422 和开放底部 2423 的收集管 2222。

[0114] 图 57B 举例说明平坦下壁 2223。如图 57D 所示, 框架 2422 和平坦下壁 2223 能够以不同的方法一起装配, 形成收集管 2222A。

[0115] 图 57C 举例说明平坦下壁 2223 的另一实施例塞子 2225。将框架 2422 按入塞子 2225, 塞子 2225 能够安装在框架 2422B 上, 从而形成如图 57E 所示的具有平坦底部表面的收集管 2222B。缓冲垫 2230 能安装与塞子内表面从而更有效地密封框架 2422 和塞子 2225 之间的连接处。

[0116] 图 57F 举例说明框架 2422C 与塞子 2226 经螺钉连接的示意图。

[0117] 图 57G 举例说明平坦下壁 2223 的另一实施例。在本实施例中, 柄 2104 利用上部 2014 穿透平坦下壁 2223 后固定于平台上。

[0118] 图 57H 举例说明柄 2104 的上部 2014 的不同形式。在本实施例中, 柄 2104 的上部有弯曲 2015。柄的上部开口处位于平坦下壁 2223 的上方, 这个位置可以避免收集到的样品经柄回流。弯曲 2015 将帮助指导收集到的样品沿管的侧壁储存以避免抽吸过程中样品扩散。针柄能安装于平坦下壁 2223 的不同地方, 包括中心或偏心位置, 或者边缘。

[0119] 图 58 举例说明腔室 38 和塞子 2225 之间连接的不同形式。图 58A, 58B, 58C 和 58D

举例说明不同形式的腔壁 2238A, 2238B, 2238C 和 2238D 及与之相匹配的塞子 2225A, 2225B, 2225C 和 2225D。腔壁 2238 也能够由横穿整个腔的两部分连接而成, 如图 57A 所示。

[0120] 图 59 举例说明了收集管 2222 的不同形式, 该收集管 2222 将其腔室固定于带有针的塞子上。

[0121] 图 60 举例说明该装置的不同形式。在本例中, 只涉及离心管 22 的腔室部分 38。

[0122] 图 60A 是申请 US60/846, 036 的附图 42 的副本, 描绘如下:

[0123] 图 60A 举例说明样品收集器 2002。收集器 2002 设计成包括三部分结构, 包括带有中央内腔 2006 的金属柄或针 2004, 急剧斜面 2008 和带有针的注射插孔 2010。这个新颖的收集器和常规针最大的不同之处在于, 收集器的插孔设计成特别的大小和形状来确保插孔本身就是样品收集器, 而不是仅作为带有常规针头的注射器和注射器柄的连接者起作用。

[0124] 本实施例所示的注射插孔是圆柱形的, 当然也可以制成其他形状。插孔的底部 2016 应该是平坦的圆形或其他形状的。插孔的内部空间 2012 的直径应该至少为 4mm (常规针头的注射插孔的内部空间直径最大为 4mm)。插孔的长度可变 (2 到 25mm), 取决于不同程序的特殊要求以及目标器官。金属柄 2014 的上面部分可以贯穿插孔 2016 底部并且通过长度不等的突出物 (0 到 20mm) 伸入插孔内部空间 2012 从而固定。针 2004 和它的上面部分 2014 能够放置于插孔底部 2016 的不同位置, 包括中心位置, 边缘位置或者偏心位置。柄的上面部分 2014 可以是直的或者是有一个引导收集到的物质到插孔侧壁的弯曲。插孔可能有“耳朵”或者“肩膀”2018, 可以作为缺口的一部分将收集器 2002 连接到一个真空系统中, 比如注射器。收集器也能够通过凝胶、胶水或者其他化学物质连接到真空系统。在 FNA 过程后, 收集器将通过物理或者其他方法从真空系统中分离出来。

[0125] 图 60B 举例说明了弯曲的针柄上面部分 2015。针的上面部分可能弯曲以引导收集到的细胞或组织碎片到达管腔的一边。这个覆盖的部分能使组织细胞上行进入真空装置筒内。弯曲的部分 2015 可以是针柄的一部分; 或者可以从针柄底部的邻近部分像“伞”或者“盖子”一样展开。或者“伞”或者“盖子”结构也能够从针开口出邻近的底部附近展开。

[0126] 图 60C 和图 60D 应用图 57, 图 58 和图 59 中的说明原则举例说明腔室的不同形式。图 60D 举例一种形式, 金属柄或针 2004 在下壁或者底部 2026 附近有上底, 并且盖子 2027 展开覆盖内腔 2006 的中心轴。结果, 吸进内腔 2006 的细胞和 / 或组织直接导入旁路方向以减少细胞或组织进一步向上吸进注射器筒造成组织损失的可能。在一种情况下, 盖子 2027 形成针 2004 的一部分。在另一种情况下, 盖子 2027 形成下壁或底部 2026 (图 60D 所示)。

[0127] 图 61 举例说明一种注射器型真空系统 2032。真空系统 2032 有一个筒 2038, 一个活塞 2040 和保险器 2036, 以及螺纹接头 2034。螺纹接头 2034 和保险器 2036 的直径应该可以变化以匹配针孔 2002。另外, 过滤膜 2035 可以置于螺纹接头 2034 开口的底处, 以避免收集的样品经开放的螺纹接头 2034 泄漏到真空筒内。

[0128] 图 62 所示为“真空方法改良管”, 是如图 20 到图 32 所示装置的另外实施例示意图。本实施例中, 图 62B 中的塞子 2625 包括一个带有中心开口 2649 的平坦的底部 2627。过滤膜 2630 置于内底表面。

[0129] 图 62C 举例说明通过安装塞子 2625 到管 2622 形成管 2622A。

[0130] 图 62D 举例说明图 29 和图 31 描述的真空装置 1029 的不同实施例的形式。本实施例中, 真空装置 2629 有一个筒 2636, 一个底 2631, 展开底座 2632。在筒 2636 的内表面上

部有一个螺钉 2633。在一面的侧壁上,有带有“耳朵”或者“肩膀”的开放的塞子 2634,能够经安全器连接到注射器。

[0131] 图 62E 举例说明管 2622A 与真空装置 2629 通过螺纹 2636 连接的形式。

[0132] 图 62F 举例说明管 2622 的不同形式。本实施例中,管 2622 的框架与塞子的连接是螺纹连接。

[0133] 图 63 举例说明图 45A 和图 45B 中说明的阀门的不同形式。本例中,没有内针。

[0134] 图 64 举例说明图 43 中所示的样品管 B1522 和图 49 与图 50 中所示的支持器 1660 的不同形式。本例中,样品管 1522A 与 1522 相同。支持器 1660A 没有螺纹接套出现。作为替代,针体 1604A 穿透平坦下壁底壁 1661A,并且其上面部分 1614A 伸入样品管 1522A 的内腔 1527A。

[0135] 图 65 举例说明图 8 中所示的温度培养箱 16 的便携形式。本例中,温度培养箱 2316 是电池动力的并且方便携带。它包括电池 2317,通过连接电线连接到电池的电阻 2319,有内腔 2324 的加热腔 2320。基质容器 2326 含有能放入加热腔 2320 内腔 2324 的基质 2328。还包括一个开关(图中未展示)来调整腔内温度。温度可以在 0-100℃。

[0136] 图 66 举例说明特殊设计的钳子,它可以用来将相对固态的细胞-基质混合物 G 从收集管转移到如图 8 到图 10 所示的特殊设计的组织盒中。本例中,如图 66A 所示,钳 80 有两个通过连接点 84 连接在一起的臂 85。钳 80 的下面部分 81 是半环形的。两臂之间有空隙。当将两臂彼此推近时,两臂的下面部分 81 能形成圆筒状。两臂之间形成的圆筒形的直径应该与腔室 38,样品管 B1522,腔室 2138,腔壁 2238,插孔内部空间 2012,样品收集腔 1527 和内腔 1527A 的直径相匹配。

[0137] 图 66B 所示为钳 80 下面部分的底面示意图。底部 82 应该是平坦的。

[0138] 图 66C 举例说明两臂的下面部分的内部。在内部有像牙齿一样的结构 83 在转移过程中用来帮助夹持混合物 G。

[0139] 图 67 举例说明如图 11A 和图 11B 所示的特殊设计的组织盒 30 的不同实施例。本实施例中,组织盒 30A 在下壁有容许液体通过的狭缝或者开口,也有带有开放空间的腔室 54A 的吸收皿 31A。腔室 54A 大小形状应该与混合物 G 相匹配以保持 G 的形状和方向。另一实施例中,在吸收皿下方或/和上方放置滤网或者滤纸以覆盖腔室,从而阻止混合物 G 中的细胞在操作过程中丢失。在其他形式中,吸收皿 31 也可以与组织盒 30 的剩余部分形成一个单独整体。

[0140] 图 67C 举例说明含有多个腔室 54B 和一个定向标志 32 的吸收皿 31B 的不同形式。标志 32 可以是吸收皿 31B 的一个缺陷(例如一角的缺失),一块染色区域或者特殊标记。

[0141] 图 68 举例说明图 10,图 11A,图 19A,图 19B 和图 19C 所示的输送管 26,输送管 126,输送管 226 和输送管 326 的不同实施例。本实施例中,输送管 126A 含有具有中心开放腔 130A 的密封塞 128A,密封塞 128A 的底部有或没有结构 129A。从中心开放腔 130A 到密封塞底部和混合物 G 上表面形成真空状态,有助于在转移过程中控制混合物 G。

[0142] 图 69 为输送管 126 的另一实施例。本实施例中,一个柔韧、狭窄的薄片 132 沿输送管 126B 管壁安放,薄片 132 有手柄 131 可以使薄片 132 沿输送管 126B 移动。在把混合物 G 倒入管 126B 后,手柄 131 将沿管壁向下移动。薄片 132 的下底碰到腔室 38 的底部表面并沿腔室 38 的底部表面向腔室中心弯曲。结构的弯曲部分 133 将有助于把混合物 G 从

腔室转移到组织盒中。薄片 132 能够设计成如图 69 所示的单一薄片。它也可以是多片放置在不同的方向上。它可以放置在输送管的内部或外部甚至管壁内部。

[0143] 图 70 举例说明离心管 22 的不同实施例。图 70A 示例了改良的收集管 2722, 含有一个筒 2701, 一个锥形区域 2736 和一个非锥形、逐渐缩小的区域或者腔室 2738, 一个平坦下壁 2725。另外, 针头 2704 穿透平坦下壁 2725 并通过或不通过上面部分 2714 伸入腔室 2738 的内部空间 2711。针体上部开口与平坦下壁 2725 内表面间的距离根据不同情况变化 (0-1.5cm)。上面部分 2714 可以是直的或者弯曲的, 如上描述。另外, 注射器活塞 2705 也是本实施例离心管的一部分。注射器活塞 2705 有一个下面部分是锥形区域 2707 的中心柱 2706, 中心柱 2706 有一个平坦底部 2708。即使本例活塞 2705 是最合适的, 但活塞仍可以由不同材料制成不同的形状。活塞 2705 与筒 2701 的内腔 2710 在大小和形状上吻合。在 FNA 操作过程中, 针体插入目的组织, 活塞 2705 从筒的内腔拉出, 在筒内腔里形成一个真空, 从而将目的组织经针体内腔转移。真空将目的细胞和组织吸引到腔室 2738 的内腔 2711 内。

[0144] 图 70B 阐述了另外一个收集管 2722 的实施例。在这个实施例中, 筒 2730 由筒上部 2701 和筒下部 2702 组成。这两部分由接头 2703 连接在一起。这个接头 2703 可以安放在筒 2730 的不同位置; 甚至可以向下到达锥体区 2736 和 / 或者非锥体区的腔室 2738。筒 2730 的内表面应该是光滑的。安装接头的方法应该包括: 1. 直接用凝胶、胶水、超声、UV 光以及其他的方法把两个部分连接起来; 在收集完样品后, 可以用力或者其他方法把这两部分分离开来; 2. 利用图 57, 图 58, 图 59 和图 60 中的方法进行安装。

[0145] 图 70C 阐述了收集管 2722 的另一实施例, 支持管 2719 也可以加进这个装置。

[0146] 图 70D 阐述了收集管 2722 另外一个完全不同的实施例。在这个实施例中, 底部 2725A 代替了平底的 2725。基于图 57、图 58、图 59 和图 60 中阐述的原理, 可以采用不同的方法把底部 2725A 和腔室 2738 连接起来。

[0147] 收集管 2722 有三种特殊的功能: 首先, 它作为 FNA 装置进行工作, 在 FNA 的操作过程中, 针头 2704 被放进组织内, 然后活塞 2705 从针筒的内壁 2710 抽出, 这样就在针筒内形成真空, 细胞和组织就被真空吸进腔室 2738 的内壁 2711 内。

[0148] 其次, 收集管 2722 是作为一个样本收集器来储藏收集的材料, 被收集的材料通过针头 2704 然后直接进入收集管 2722 的内壁 2710。这个过程可以避免材料收集过程中的任何丢失, 收集过程包括: 材料从针头进入针座, 再进入针座与收集器的接头处, 接着通过一个可能存在的橡皮奶头, 最后进入收集器的收集空间, 例如, 注射器的针筒。

[0149] 最后, 收集管 2722 作为一个装置, 在这个装置中, 被收集的材料可以直接被制成细胞块。从 FNA 收集来的材料可以直接储存在内壁 2710, 也可以储存在腔室 2738 的内壁 2711 里, 但后者比较理想化。在完成 FNA 的过程后, 其针头被一个类似钳子的特殊工具切断。在这个切断的过程中, 针头的远端被削尖, 针头的内腔被密封, 密封的方式有两种, 一是用力量直接把针头压扁, 二是用一些特殊的材料, 例如石蜡、凝胶、胶带、橡胶或者其他材料塞住内腔。支持管 2719 可以套住收集管 2722 的底部。如果收集的材料少于 300 微升 (ul), 可以向内壁 2711 加入足够量的基质材料从而形成细胞-基质混合物 G, 然后把收集管 2722 放进低温环境下, 例如放在冰上, 或者更冷的环境下几分钟, 这时混合物 G 将会凝固。这时, 混合物 G 就可以从腔室的内壁 2711 里拿出来, 然后转移到一个如图 10、图 11 和图 67 所描述的组织盒内, 而转移所使用的特殊输送管则像图 10、图 11、图 19(A、B、C) 和图

68 中所描述的那样,或者像图 66 中所描述的钳子 80 那样。如果收集的样品大于 400 微升 (ul),收集管 2722 则放进一个特殊的离心机里进行离心,把细胞吸附在腔室 2738 的平底上,而上清液则可以用不同的方法去除掉,这些方法主要使用移液管和图 4 和图 5 中所描述的便携式真空装置 14。剩下的细胞沉淀物则可以用上面所描述的方法制成细胞基质混合物 G。

[0150] 在图 70B 所描述的另外一个实施例中,收集完样品后,针筒 2730 的上部分 2701 和下部分 2702 则从接头 2703 处分开,下面的部分则可以用上面描述的方法为细胞块的制备做准备。

[0151] 在图 70D 所描述的另一个实施例中,制备完混合物 G 后,并不是用输送管或者钳子把混合物 G 从腔室转移出来,取而代之的是,先把底部 2725A 从腔室 2738 上分开,然后将混合物 G 放进一个专门设计的组织盒 30A(如图 67 中所描述的那样)中的腔室 54A 里面,而放置的过程是用一个搅拌棒把混合物 G 从腔室的下面开口处推出来。

[0152] 这个装置同样也可以用在骨髓吸引术中。在现在的骨髓吸引术过程中,一个带有又长又宽针状物(11 规格和 51/2 英寸)的特殊骨髓活检装置(例如,为 LEE MEDICAL 而制造的 LEE-LOK, LTD)用来刺穿皮肤,皮下软组织和骨头。在这个穿刺的过程中,在针状物的内腔内放置一个搅拌棒以防止内腔被皮肤软组织和骨的碎片堵塞。穿过骨到达骨髓后,这个搅拌棒被抽取,这时针状物的内腔被打开,灌注器就可以从内腔内吸取骨髓了。收集到的骨髓可以用来制作涂片和细胞块。在现在的操作过程中,制备骨髓细胞块的步骤有两个:注射器抽吸和把收集到的骨髓转移到装置里从而制成细胞块。在收集管 2722 的例子中,收集管 2722 的针头 2704 被设计成足够的大小和长度,从而与骨髓活检针状物的内腔相匹配。这样,骨髓就可以直接被吸引到收集管 2722 腔室的内壁 2711 里,细胞块就可以按照上面所说的方法进行制备了。

[0153] 上面所阐述的方法和体系可以使得内科医生第一次就可以操作 FNA,并且能在较短的时间内使用相同的装置在相同的位置制备细胞块。与传统的 FNA 和细胞块制备过程相比,目前的系统主要有以下几个优点:1. 能够最大限度地利用从 FNA 收集到的材料用于诊断目的;2. 它花费较短的时间和较少的步骤来制作细胞块,并且能够缩短实际操作过程中的回转时间;3. 在制作细胞块的过程中,能够节省时间和劳动力;4. 能够控制细胞块的大小、形状和厚度,并且能够有效地使用有限的可及材料为 IHC 和其他研究(如果需要的话)制作足够的切片。

[0154] 图 71 阐述了收集管 2722 的另外一个实施例。在本实施例中,收集管 2722A 的针筒 2701A 没有锥形的部位和非锥形、较小直径的腔室。底部 2725A 是平的或者弱曲线型的。针头 2704A 的上半部分 2714A 和底部 2725A 在同一个水平上,并且没有凸进量筒的内壁。注射器活塞 2705 底部表面 2708A 的形状和底部 2725A 的内壁是精确相匹配的。在这个例子中,当活塞被放进针筒后,活塞的底部表面和底部 2725A 的内表面将会完全吻合,两个表面之间不会留任何的空隙。

[0155] 上面的收集管 2722A 的实施例与常规的带有针头的注射器相比,有以下几个优点:

[0156] 首先,金属针头直接连接到针筒的底部,内腔室直接到达针筒的内壁,并且有一个针头和针筒的内壁。这种设置可以最大限度地减少液体的泄露,把材料保留在这些附加的

连接处和接头处。当使用这个装置去传递液态的药物或者化学物时,它将会比传统的注射器更加精确。像这种精确的传递装置也许对某些临床操作具有巨大的意义,例如,如果所要传送的药物有很强的作用和副作用、有毒或者剂量很少且很贵时。

[0157] 其次,制作这种装置可以很简单并且很便宜。再次,使用起来很简单、友好,因为不用单独打开注射器和针头,也不用把他们装配在一起就可以使用了。

[0158] 最后,像一次性装置一样,这个装置可以有以下两个功能:1. 里面充满特定体积的液体药物或者化学物质,并且针头的远端开口处被一种特殊的方法给封盖了,然后这个装置才开始使用,它是特殊药物或化学物的一种特殊容器;2. 它不用把注射器和针头装配在一起,也不用在把药物输送到目的地之前把药物吸进注射器里,就可以把预充填的药物或化学物输送到目的地。

[0159] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,可轻易想到的变化或替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。因此,本发明的保护范围应该以权利要求的保护范围为准。

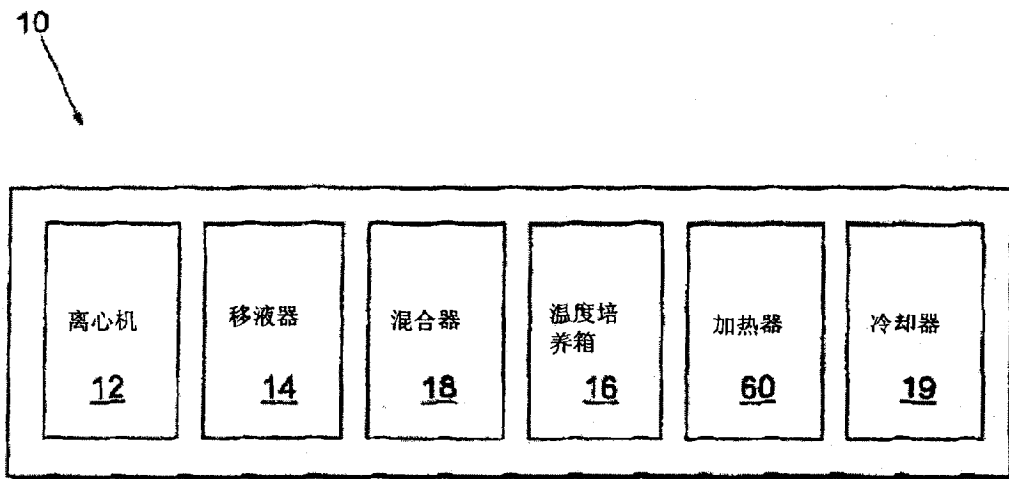


图 1

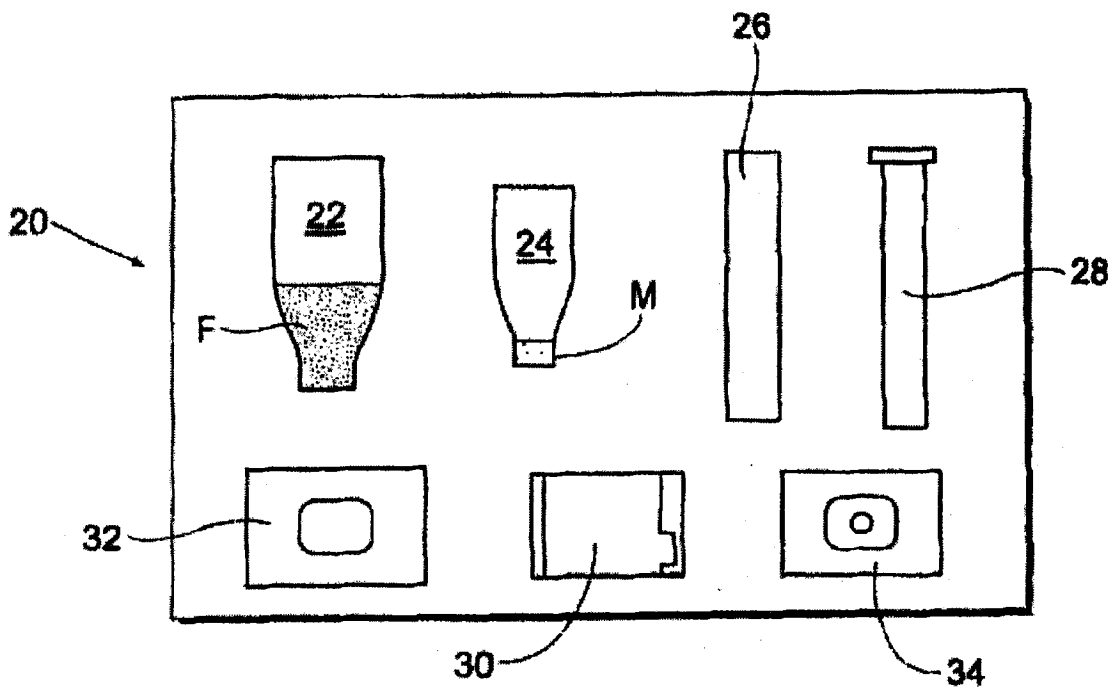


图 2

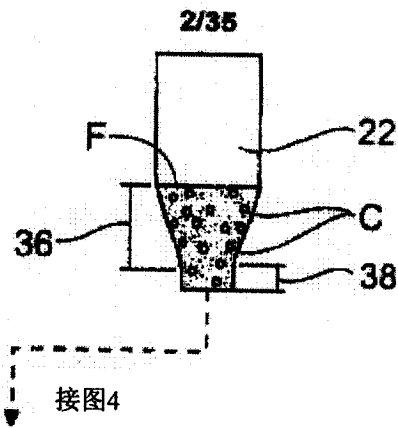


图 3

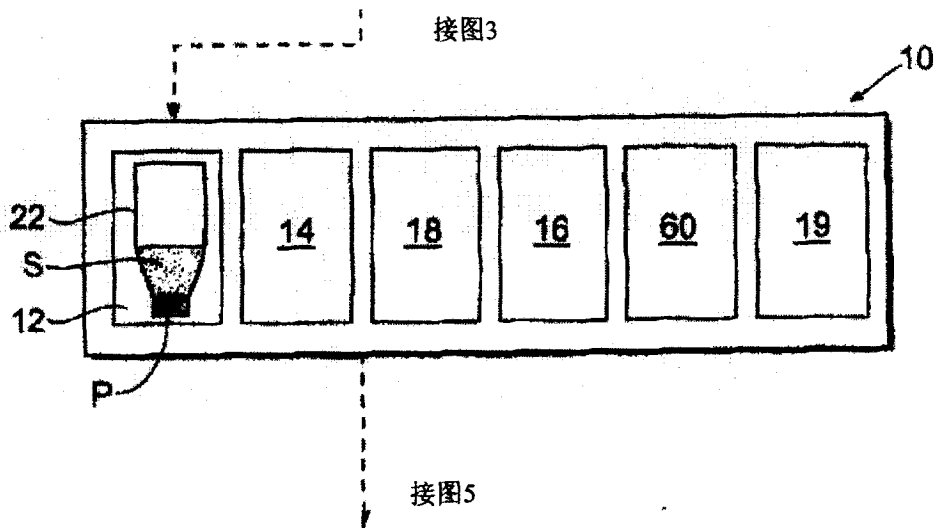


图 4

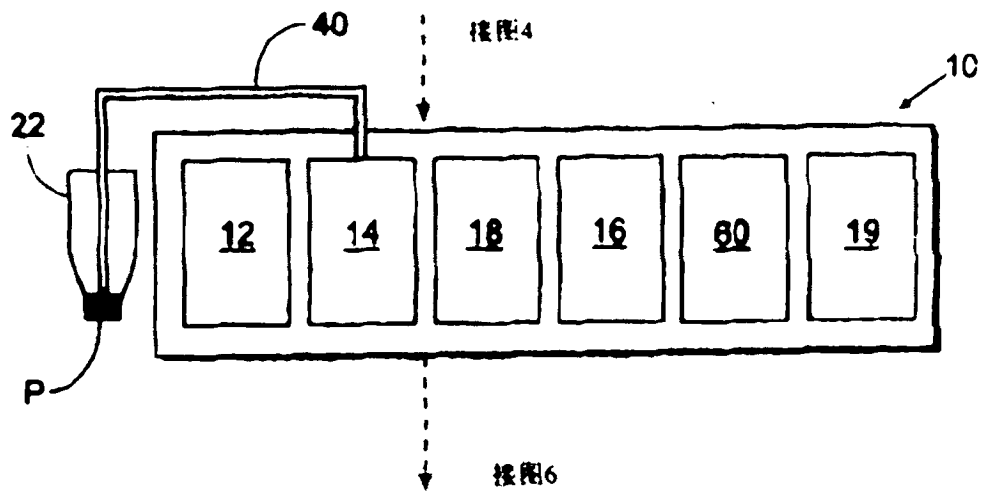


图 5

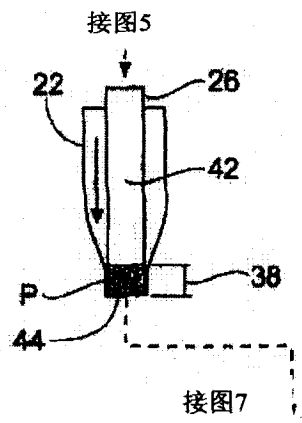


图 6

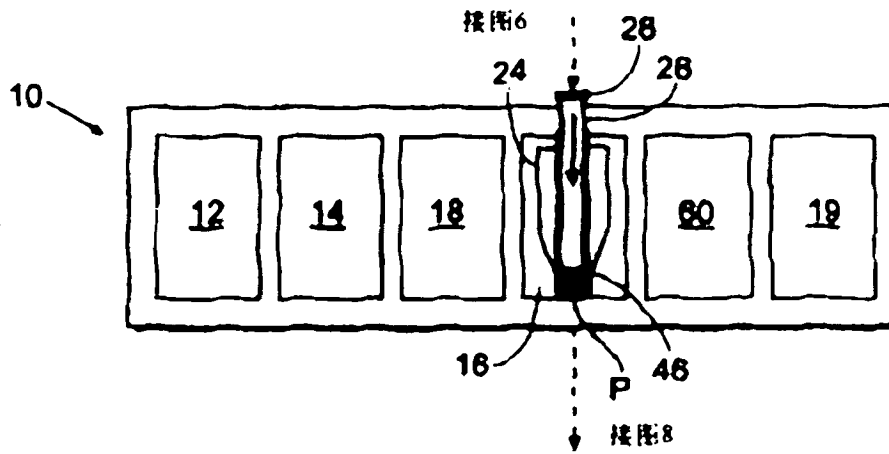


图 7

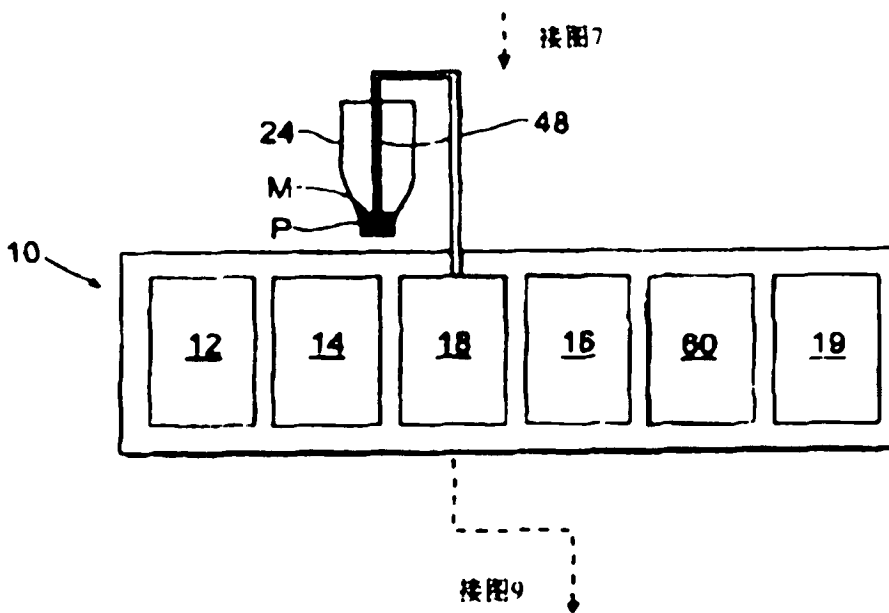


图 8

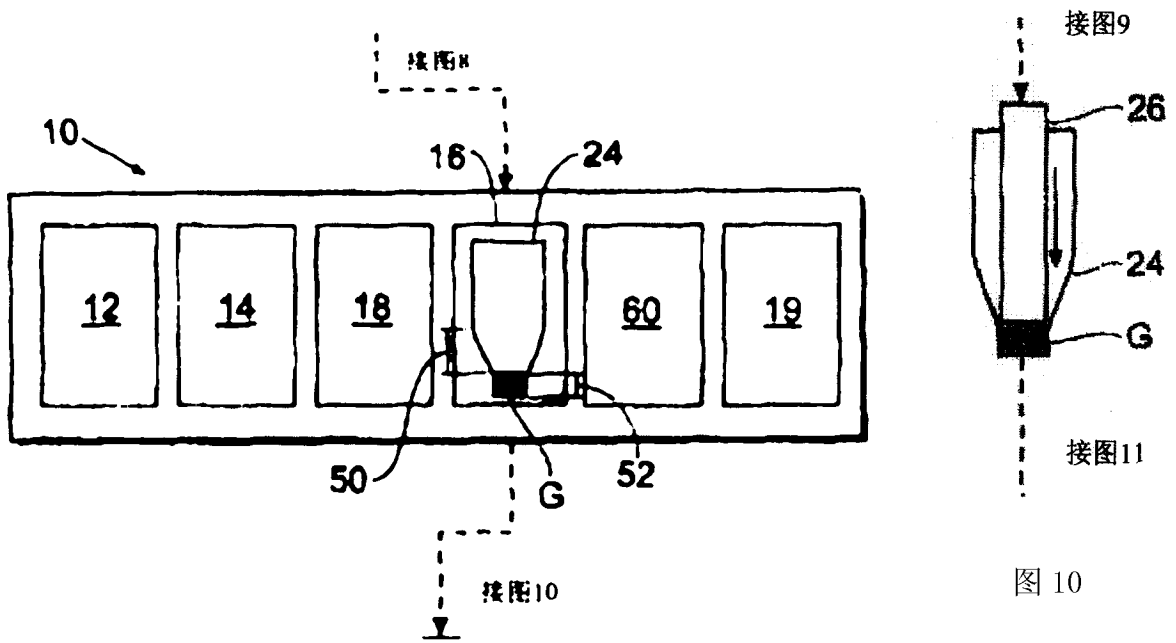


图 9

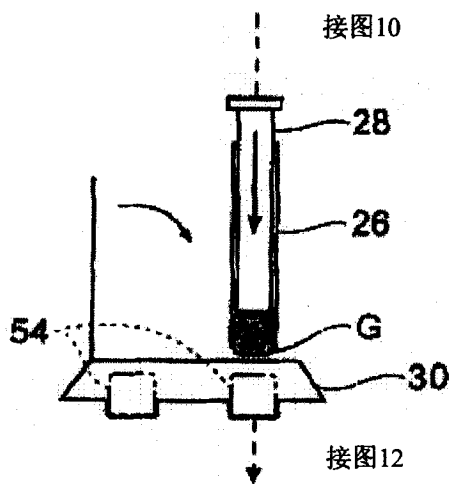


图 11A

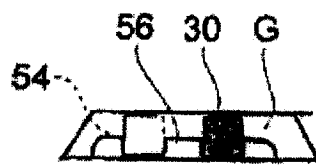


图 11B

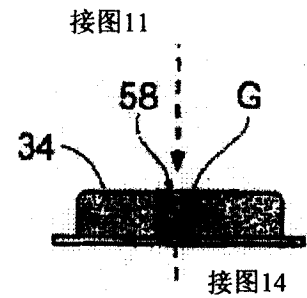


图 12

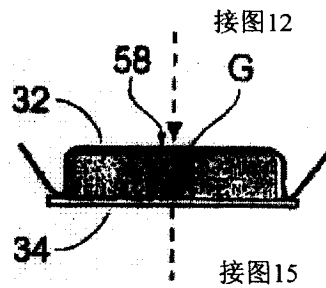


图 14

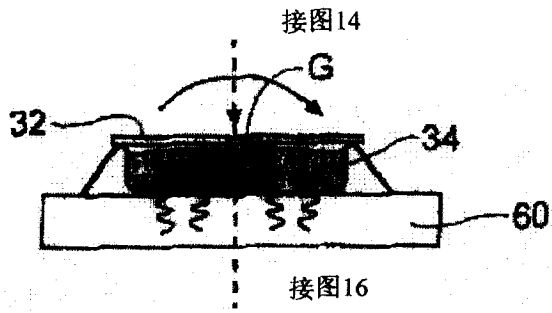


图 15

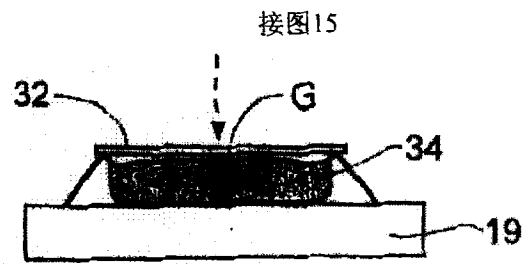


图 16

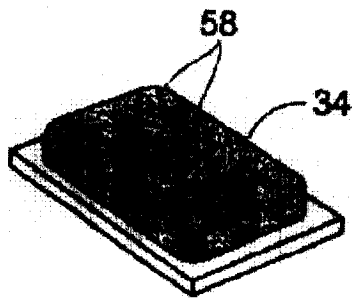


图 13A

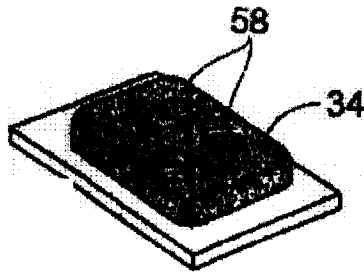


图 13B

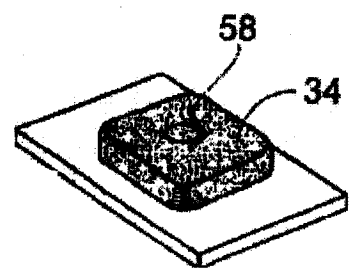


图 13C

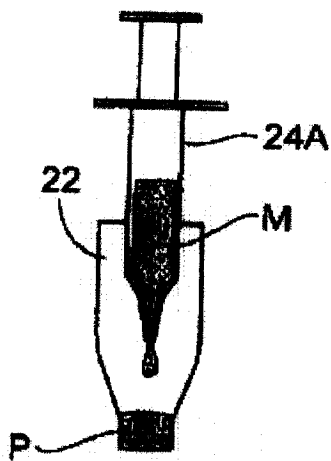


图 17

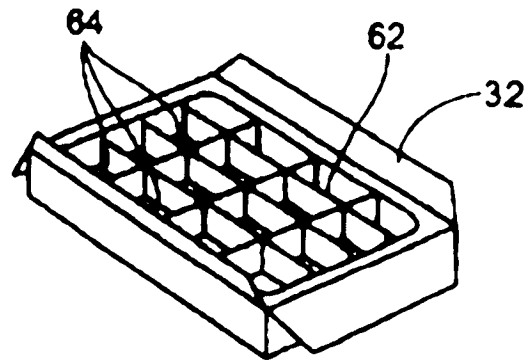


图 18

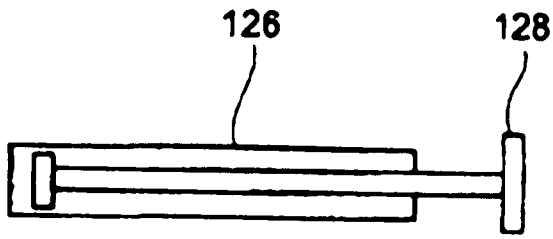


图 19A

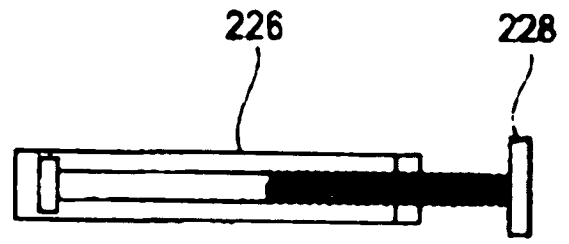


图 19B

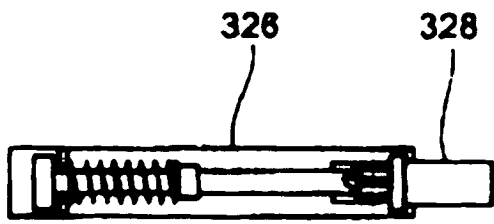


图 19C

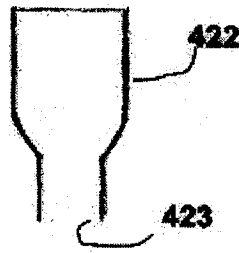


图 20

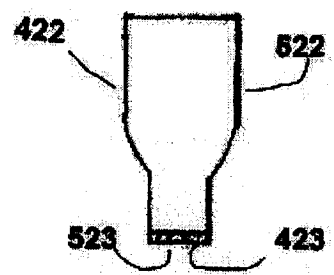


图 21

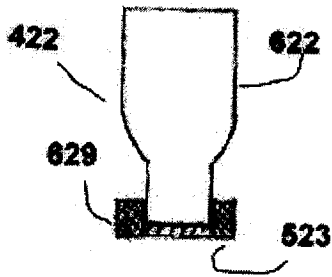


图 22

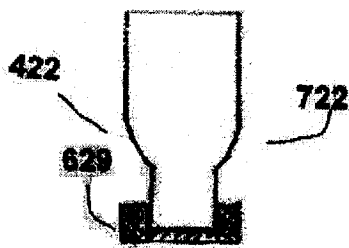


图 23

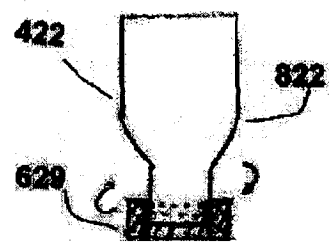


图 24

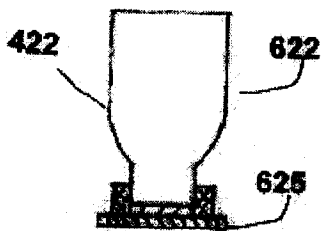


图 25

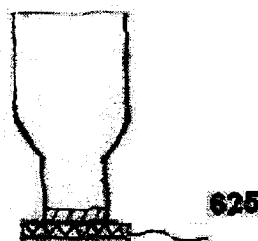


图 26

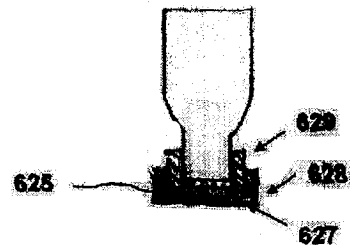


图 27

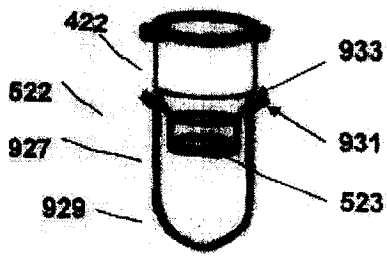


图 28

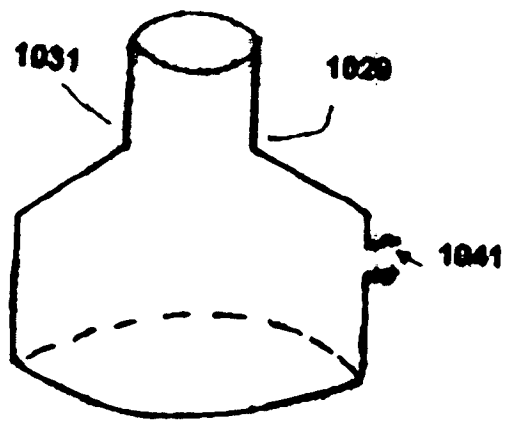


图 29

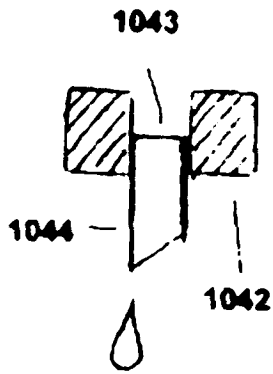


图 30

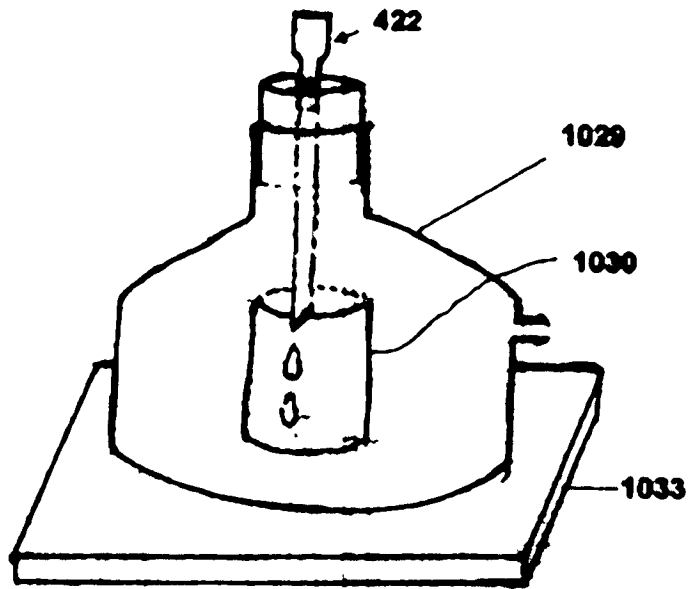


图 31

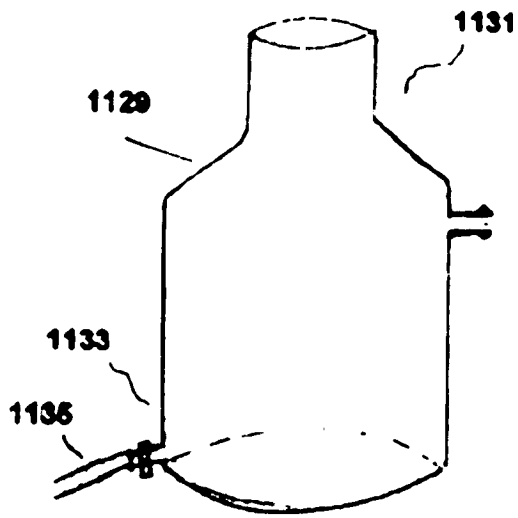


图 32

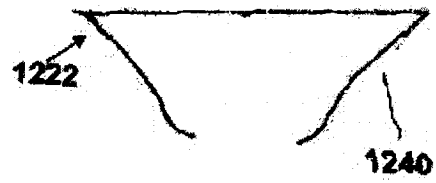


图 33



图 34

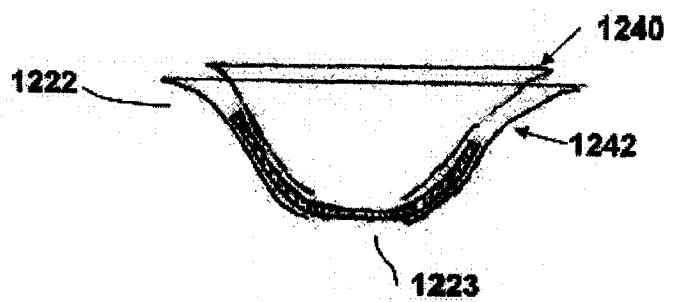


图 35

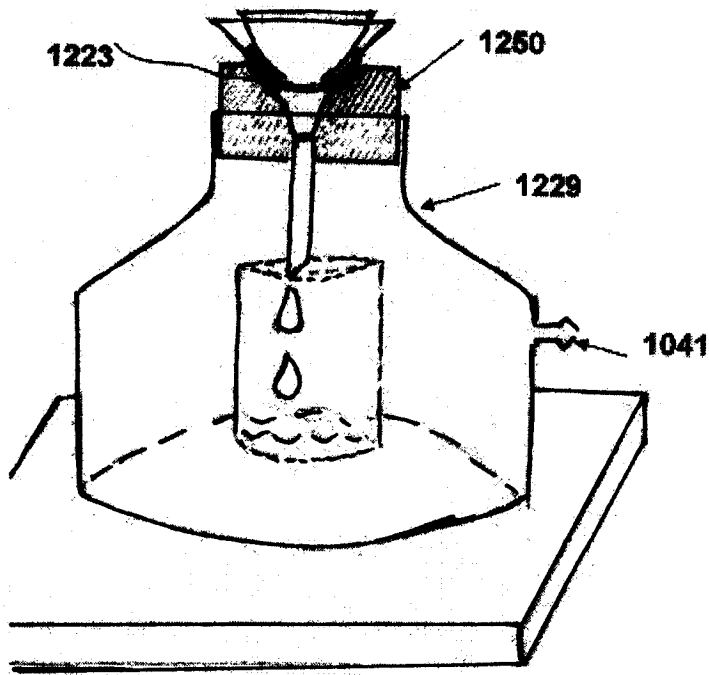


图 36

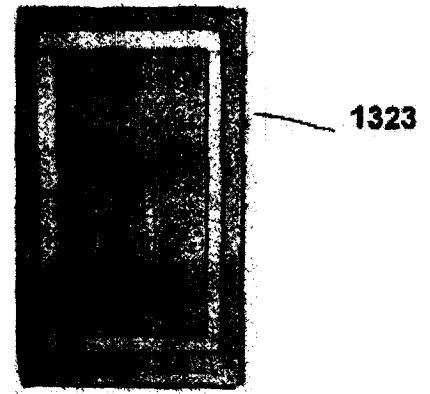


图 37

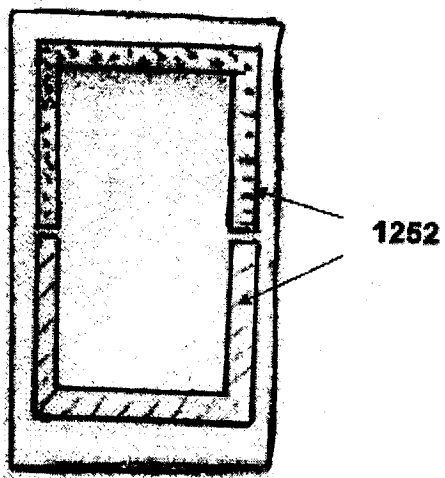


图 38

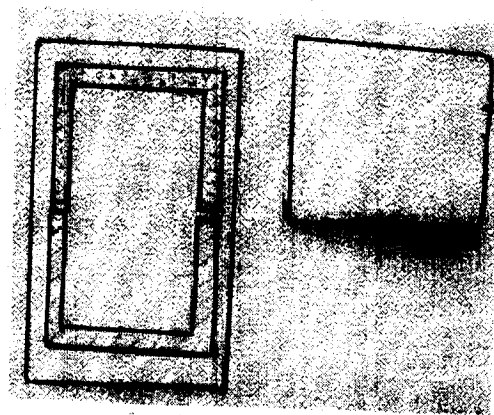


图 39

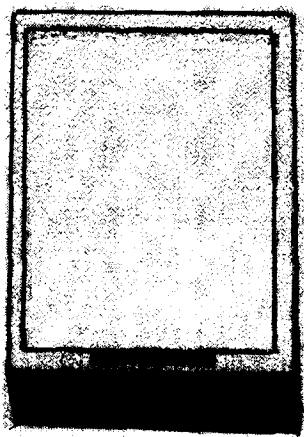


图 40

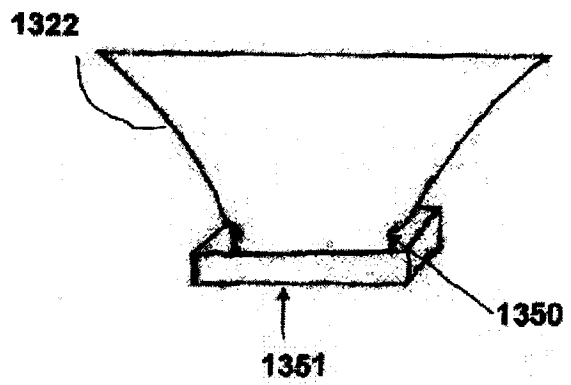


图 41

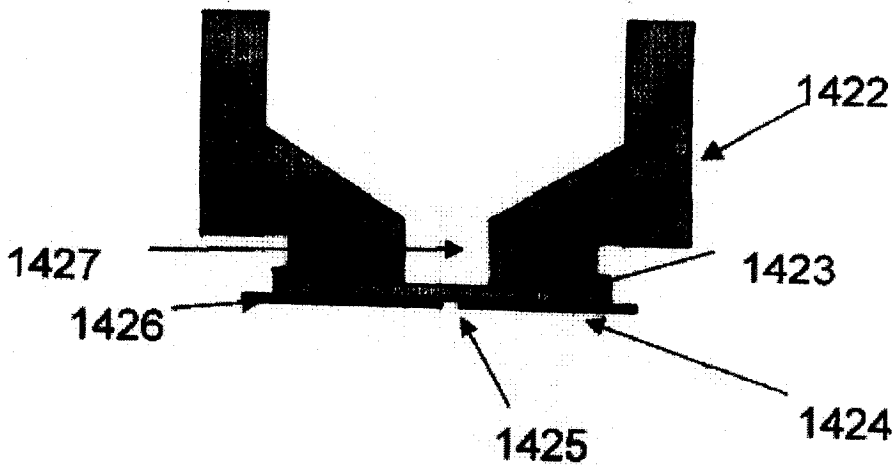


图 42

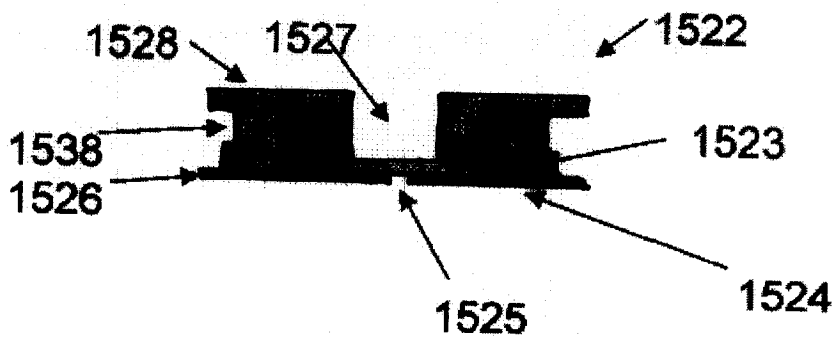


图 43

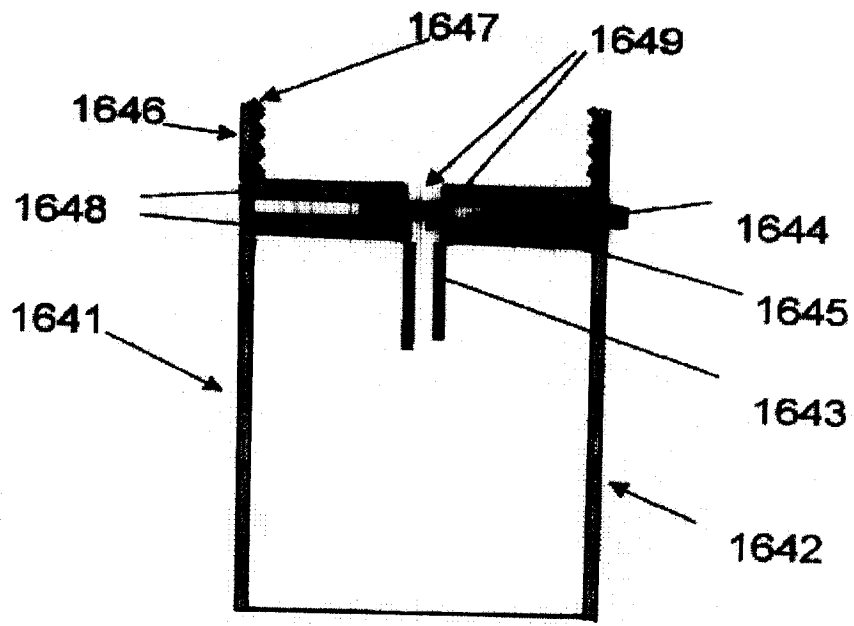


图 44

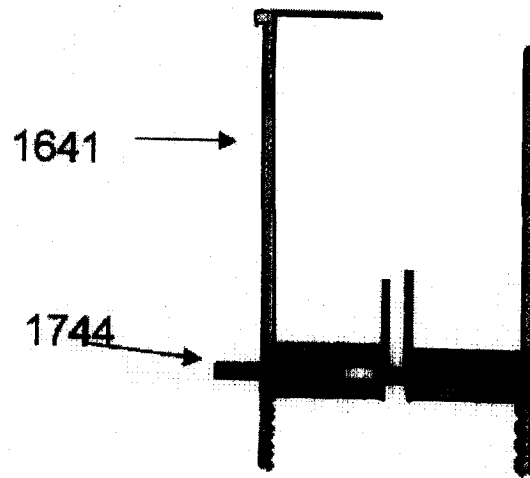


图 45A

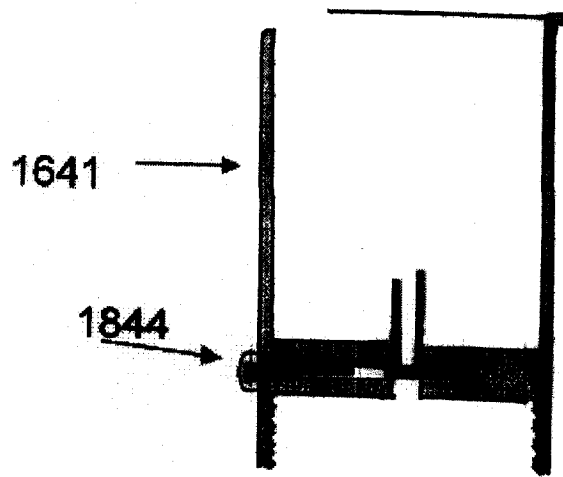


图 45B

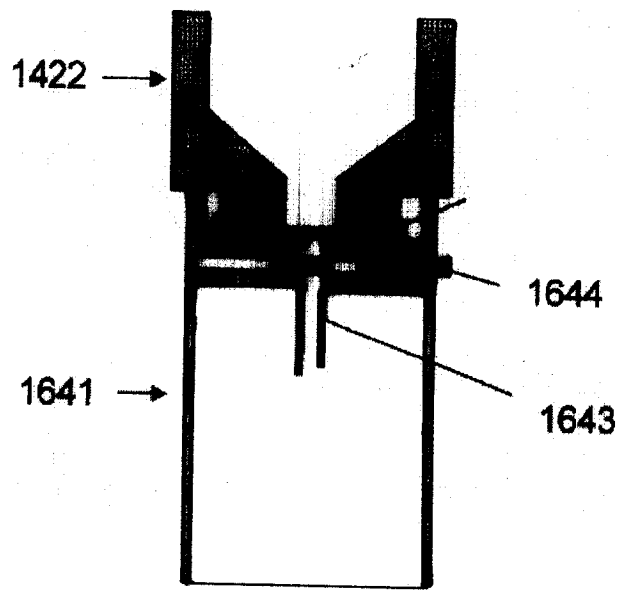


图 46

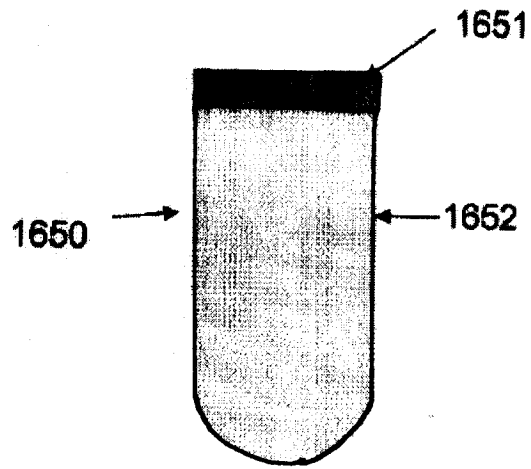


图 47

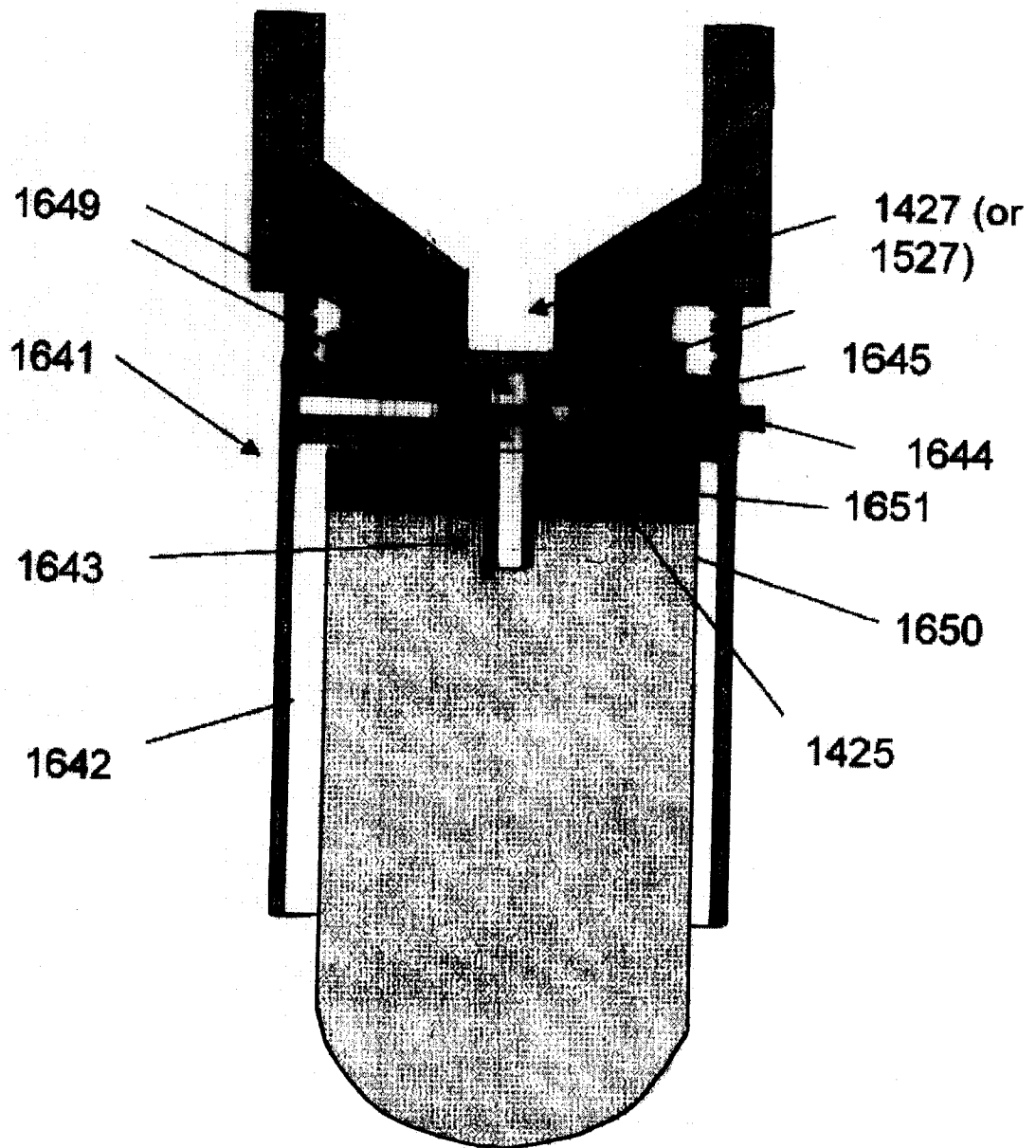


图 48

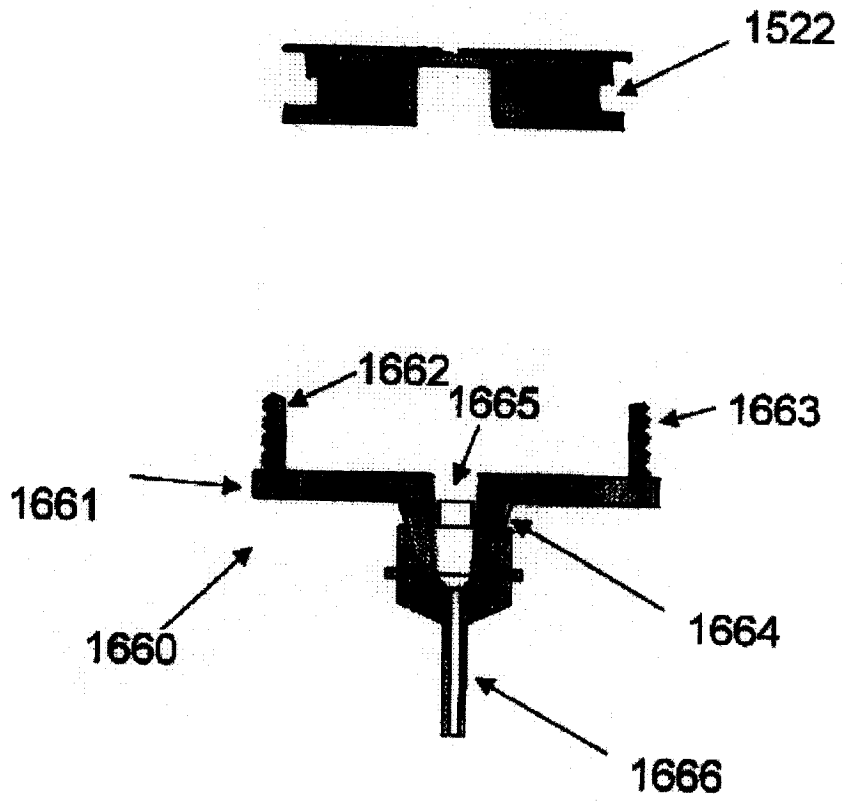


图 49

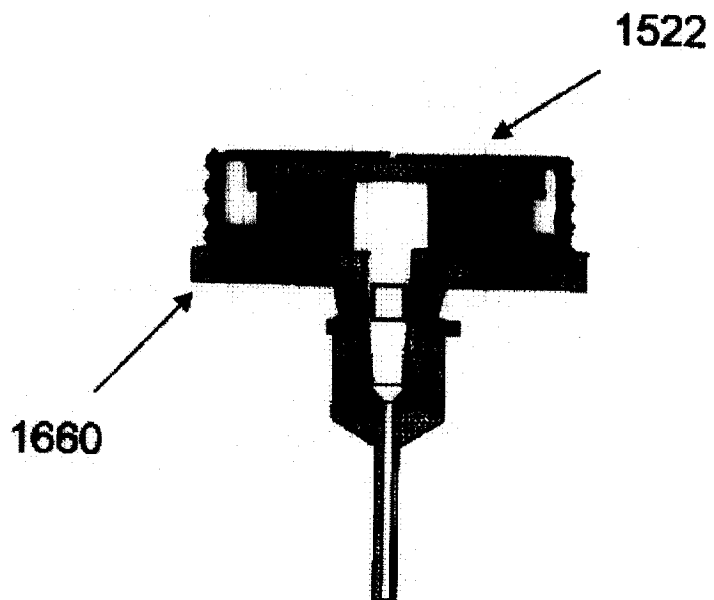


图 50

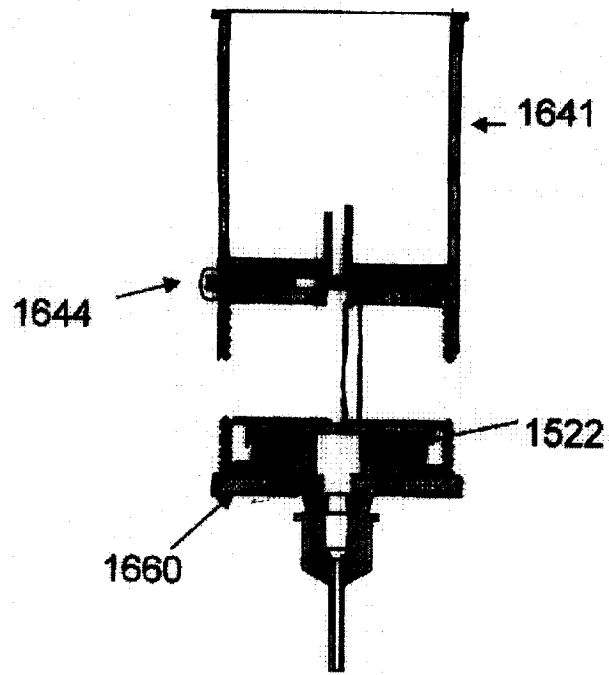


图 51

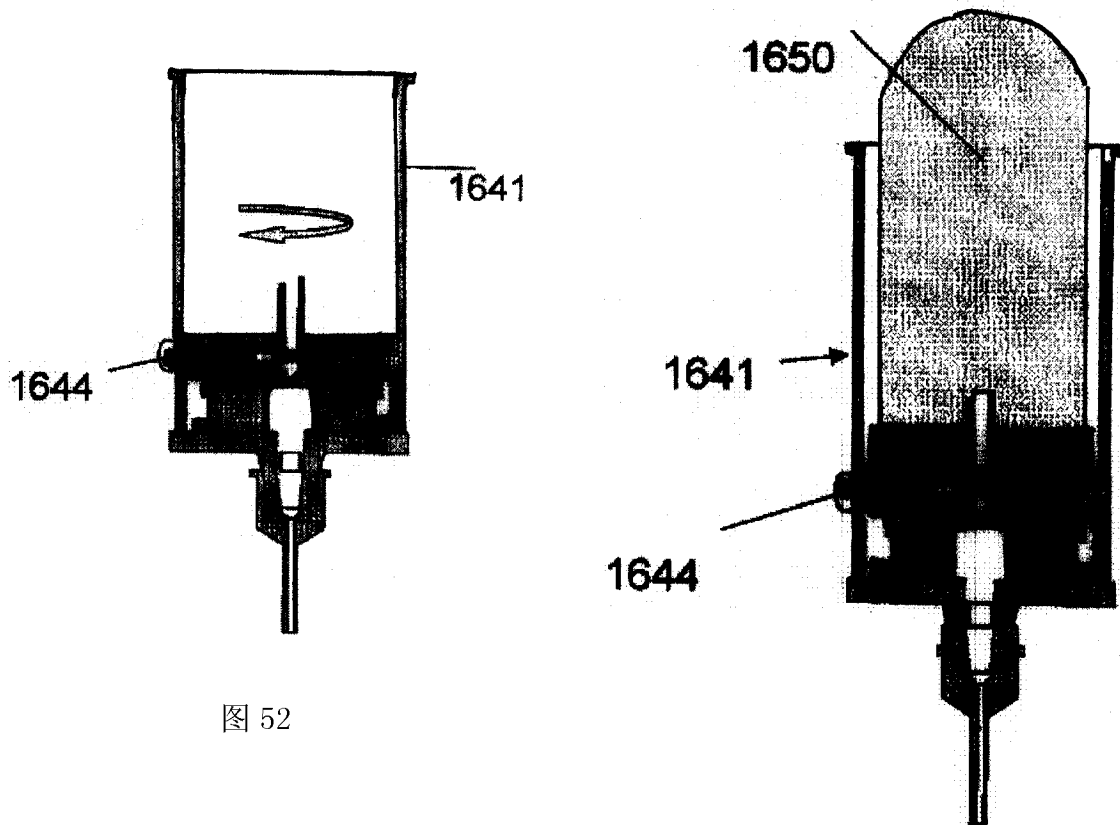


图 52

图 53

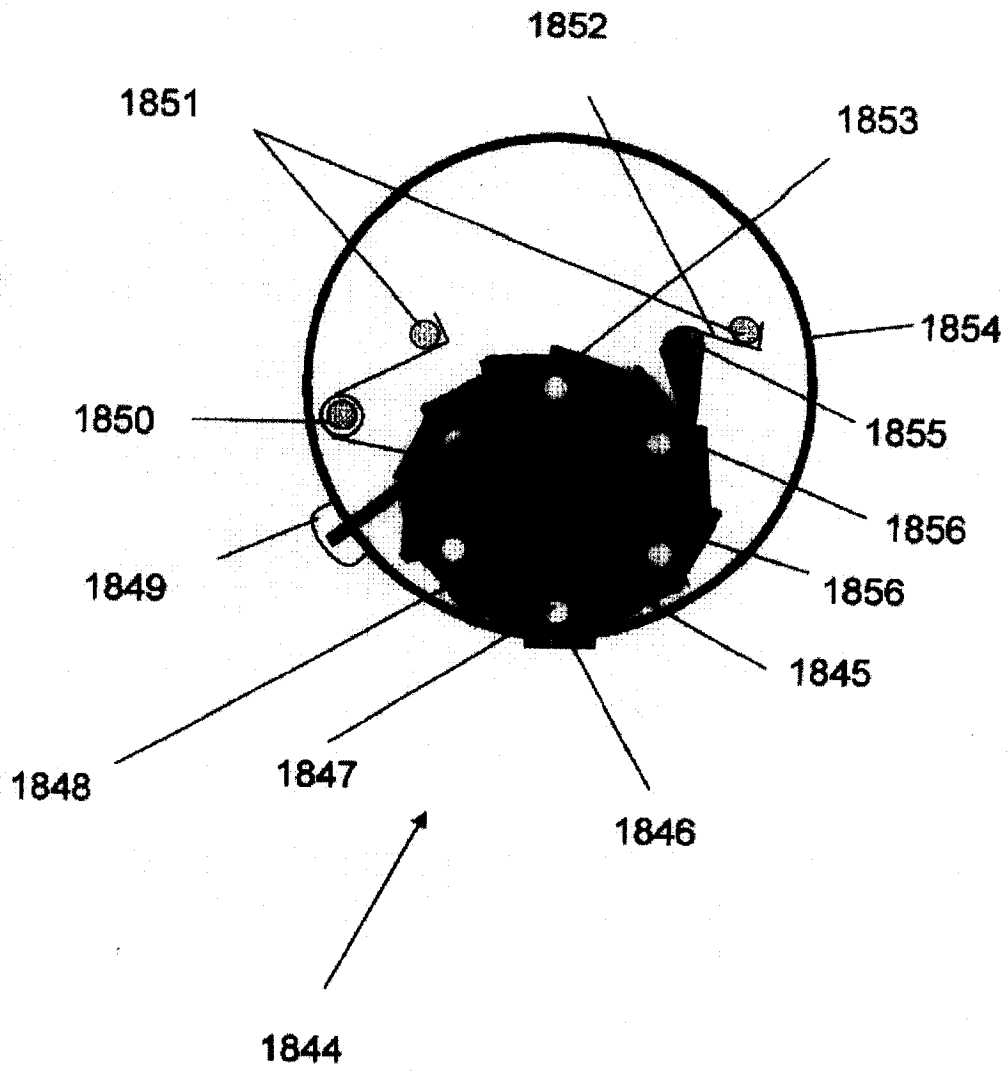


图 54

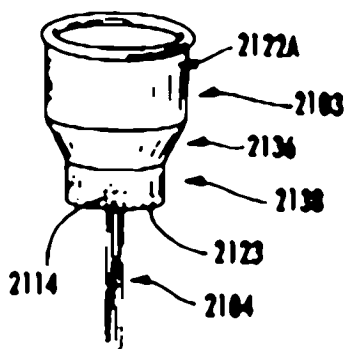


图 55A

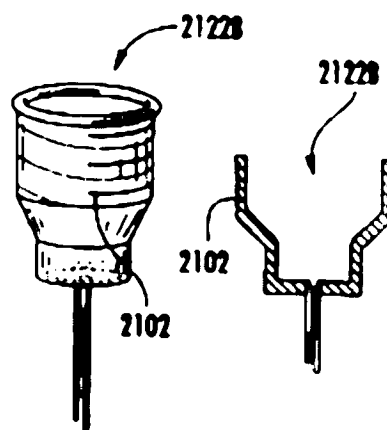


图 55B

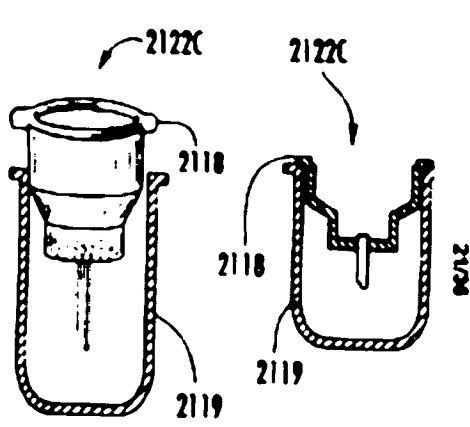


图 55C

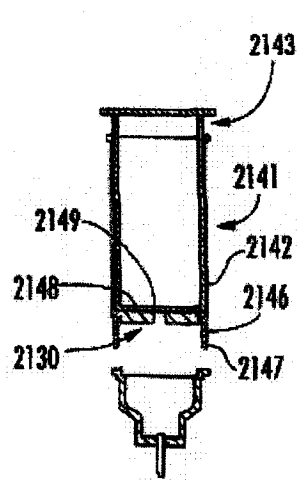


图 56A

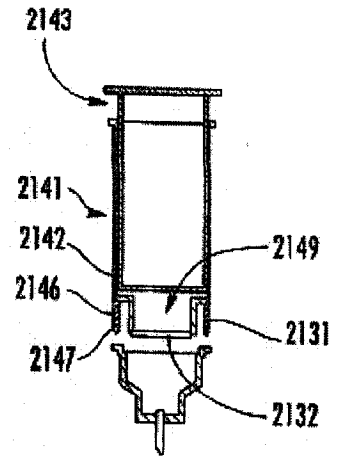


图 56B

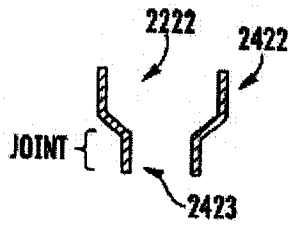


图 57A

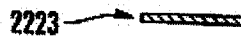


图 57B



图 57C

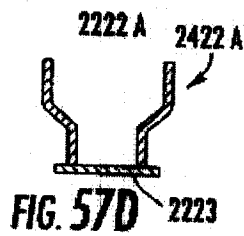


图 57D

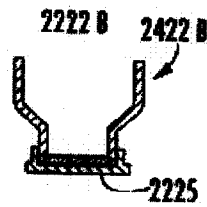


图 57E

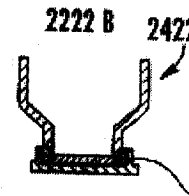


图 57F

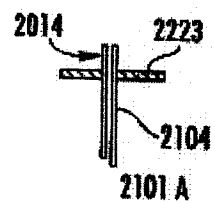


图 57G

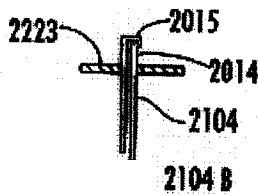


图 57H

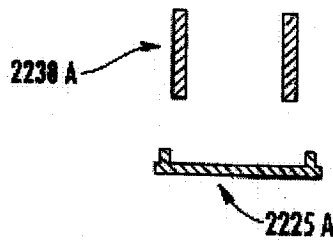


图 58A

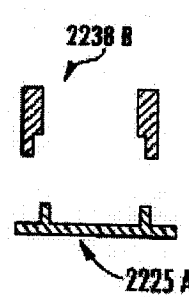


图 58B

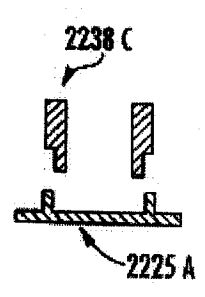


图 58C

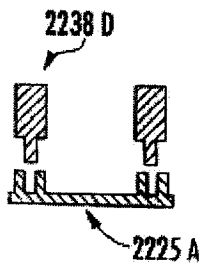


图 58D

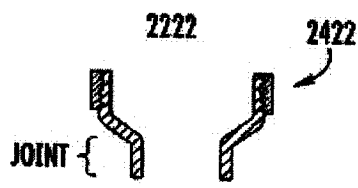


图 59A

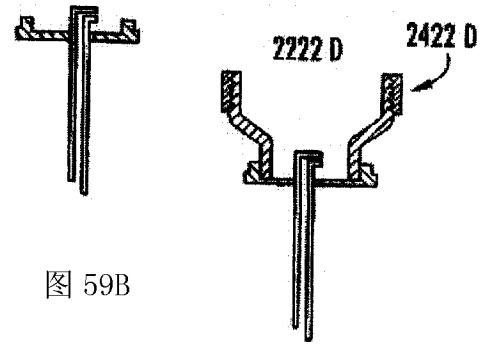


图 59B

图 59C

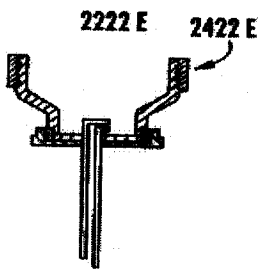


图 59D

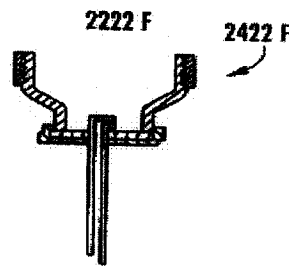


图 59E

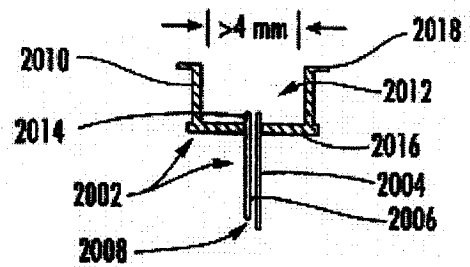


图 60A

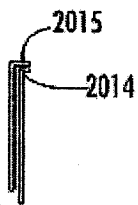


图 60B

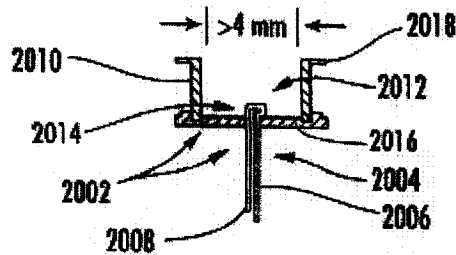


图 60C

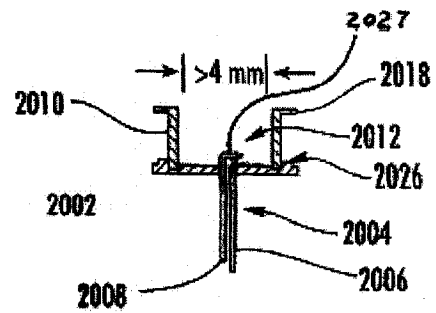


图 60D

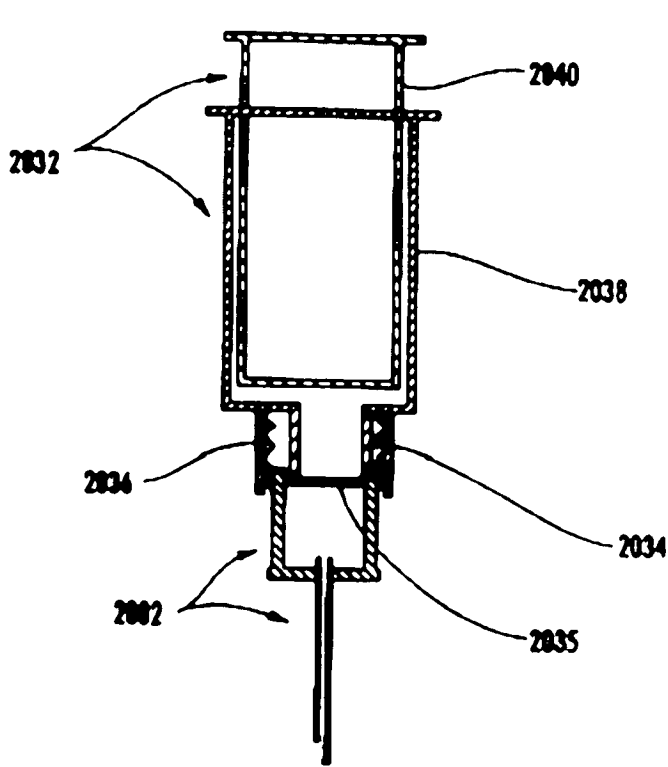


图 61

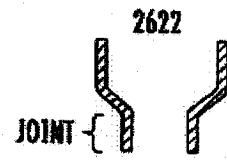


图 62A

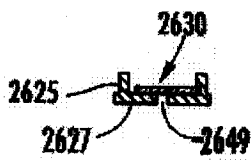


图 62B

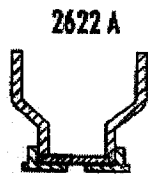


图 62C

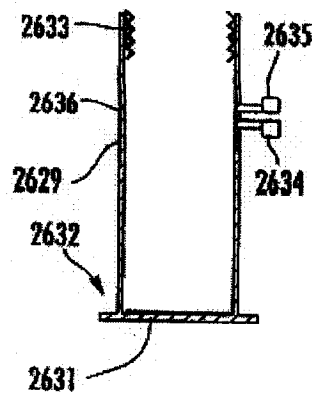


图 62D

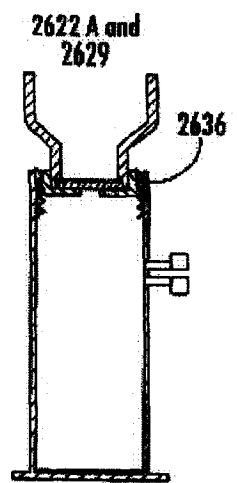


图 62E

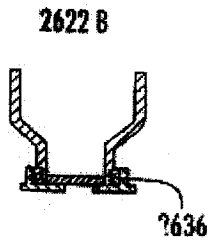


图 62F

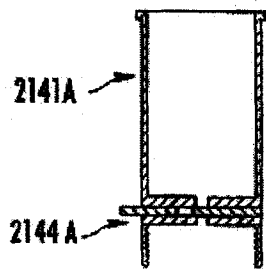


图 63A

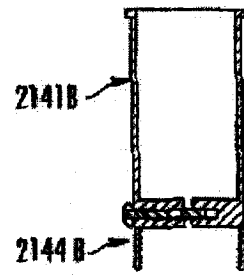


图 63B

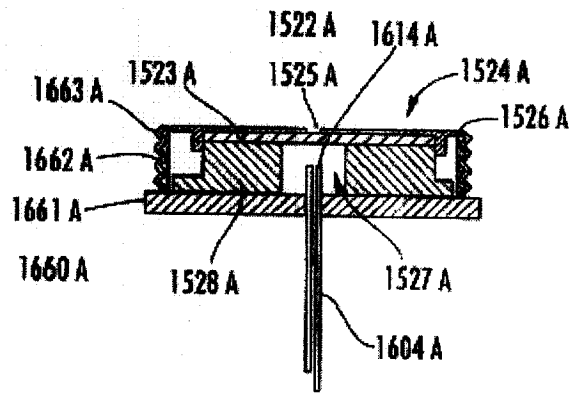


图 64

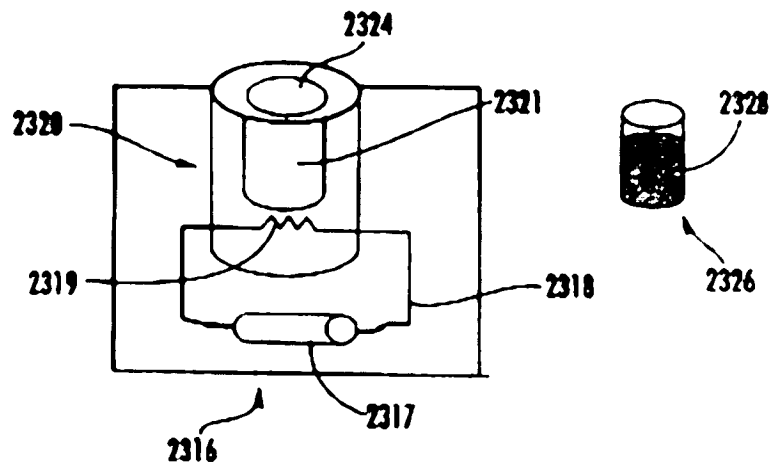


图 65

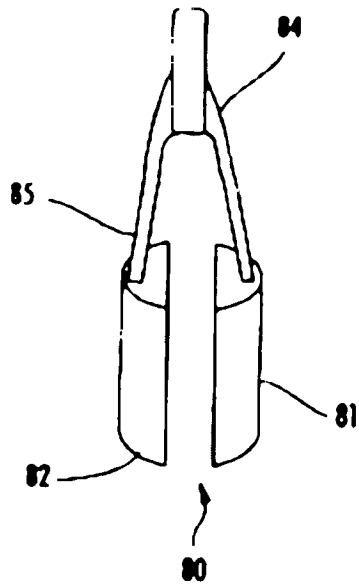


图 66A

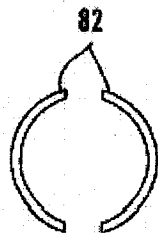


图 66B

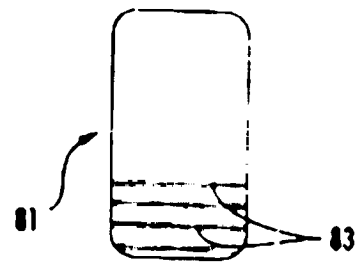


图 66C

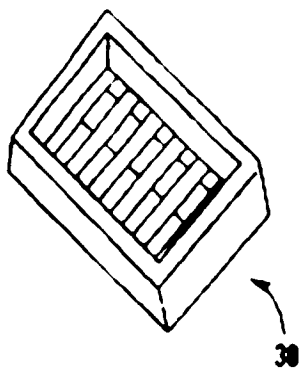


图 67A

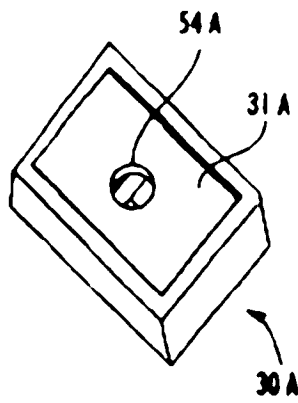


图 67B

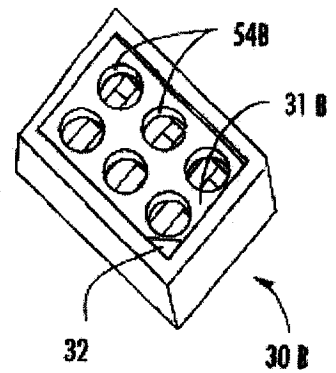


图 67C

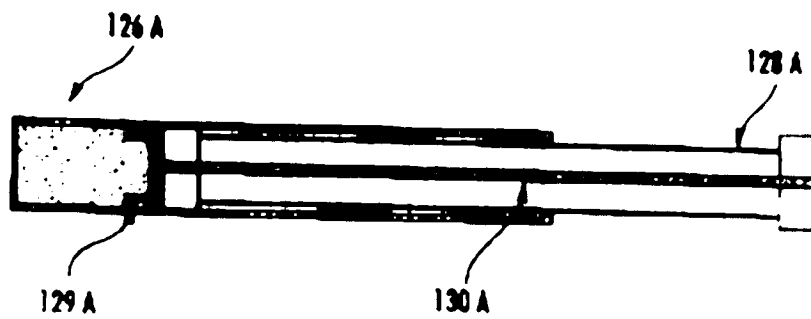


图 68

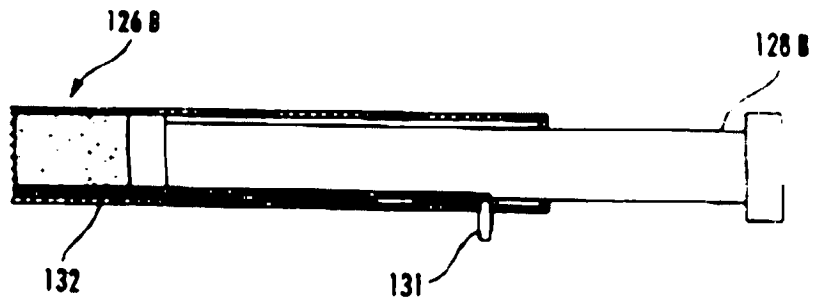


图 69A

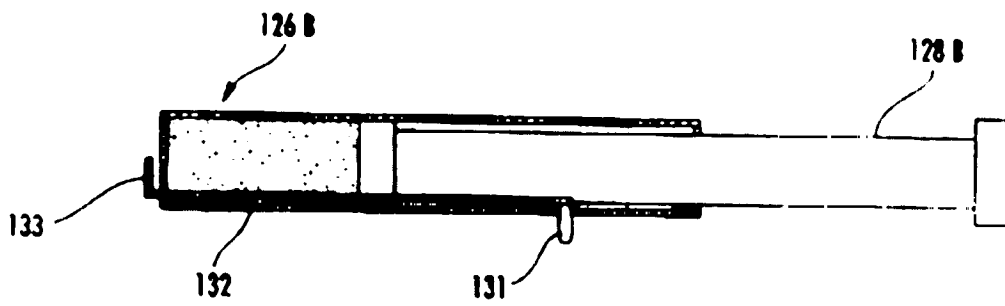


图 69B

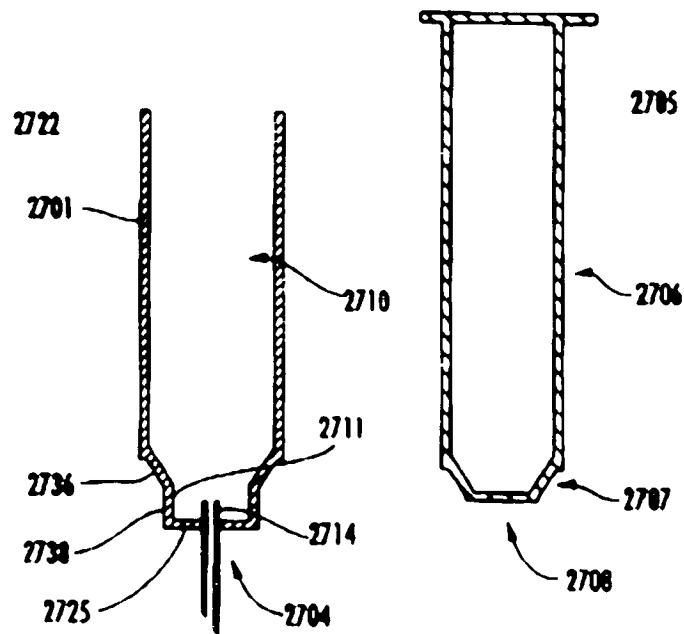


图 70A

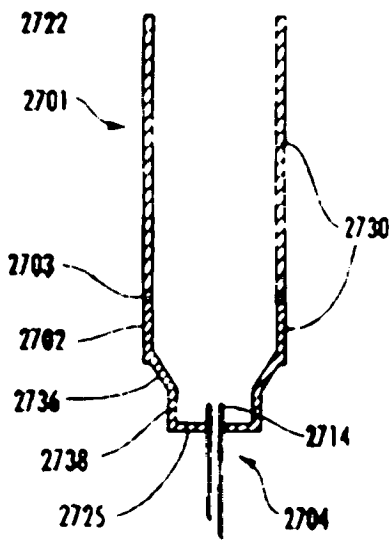


图 70B

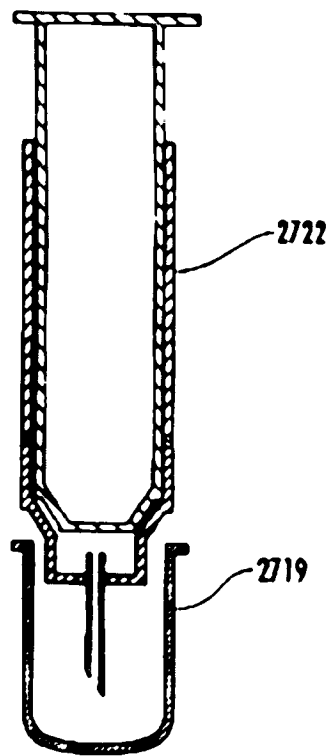


图 70C

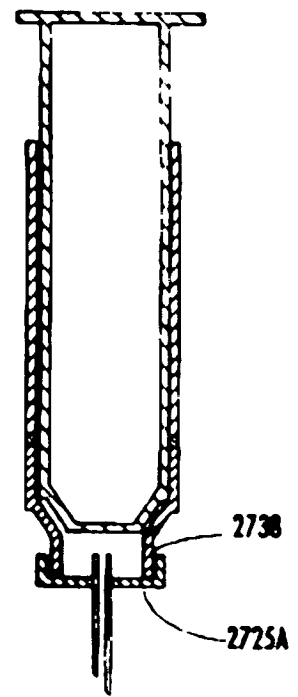


图 70D

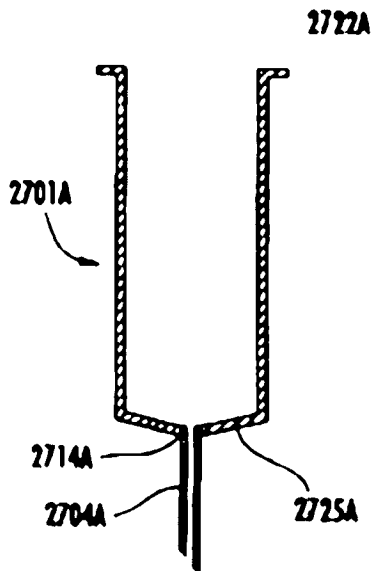


图 71A

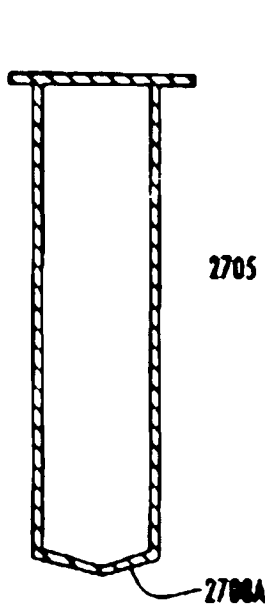


图 71B