



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113106009 B

(45) 授权公告日 2022. 07. 29

(21) 申请号 202110451289.9

CN 208420958 U, 2019.01.22

(22) 申请日 2021.04.26

EP 3877085 A1, 2021.09.15

(65) 同一申请的已公布的文献号

JP 2014082975 A, 2014.05.12

申请公布号 CN 113106009 A

US 10677713 B1, 2020.06.09

EP 2261638 A1, 2010.12.15

(43) 申请公布日 2021.07.13

苑立波. 纤端光操纵: 光镊·光手·光枪.

(73) 专利权人 桂林电子科技大学

《光学与光电技术》. 2020, 第18卷(第2期), 第1-6页.

地址 541004 广西壮族自治区桂林市桂林  
金鸡路1号

赵宇. 基于倏逝场的微纳光纤光镊的研究.

(72) 发明人 成煜 冯智宇 申泽 苑立波  
陈明

《中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技  
II辑》. 2014, (第07期), 第C030-72页.

刘晓帅等. 光纤光镊在生物系统中的应用.  
《安庆师范大学学报(自然科学版)》. 2019, 第25  
卷(第1期), 第4-9页.

(51) Int. Cl.

C12M 1/36 (2006.01)

ZONGBAO LI等. High throughput trapping  
and arrangement of biological cells using  
self-assembled optical tweezer. 《OPTICS  
EXPRESS》. 2018, 第26卷(第26期), 第34665-  
34674页.

C12M 1/34 (2006.01)

C12M 1/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 111889153 A, 2020.11.06

Joanna Korec等. SPR Effect Controlled  
by an Electric Field in a Tapered Optical  
Fiber Surrounded by a Low Refractive  
Index Nematic Liquid Crystal. 《MATERIALS》  
. 2020, 第13卷(第21期), 第1-14页.

CN 103344903 A, 2013.10.09

CN 112414760 A, 2021.02.26

CN 102981005 A, 2013.03.20

CN 108387505 A, 2018.08.10

CN 111948119 A, 2020.11.17

CN 111295578 A, 2020.06.16

CN 1330151 A, 2002.01.09

CN 106190829 A, 2016.12.07

审查员 杨亚楠

权利要求书2页 说明书5页 附图5页

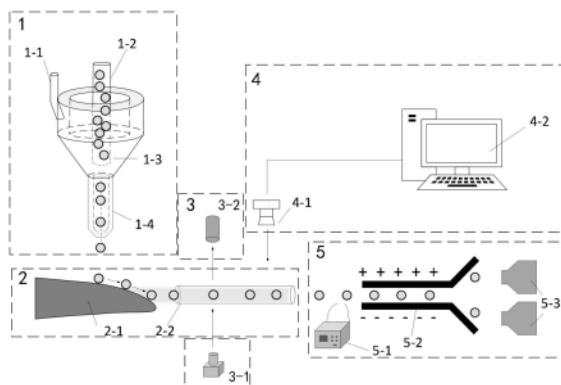
(54) 发明名称

一种多功能细胞分析系统

(57) 摘要

本发明是一种多功能细胞分析系统, 所述细胞分析系统由液流控制系统、定向排列系统、荧光激发及探测系统、显微成像及图像处理系统以及分类处理系统组成。本发明是利用光镊对细胞的光动力原理进行时域定向排列, 结合荧光激发和显微成像, 实现在微流检测槽内对细胞进行荧光分析、自动成像和数据处理。本发明可应用于细胞特性分析、形态分析和特殊细胞计数。

CN 113106009 B



1. 一种多功能细胞分析系统,其特征在于,所述细胞分析系统由液流控制系统、定向排列系统、荧光激发及探测系统、显微成像及图像处理系统以及分类处理系统组成;

所述液流控制系统包括鞘液输入通道、细胞样品输入通道、液流混合室以及液流输出通道;

所述定向排列系统包括细胞定向发射器和微流通道;所述细胞定向发射器为光纤光镊工具,位于所述液流控制系统的正下方,用于将细胞发射至所述微流通道;所述微流通道位于所述细胞定向发射器的右侧,用于收集和定向排列所述细胞定向发射器推送来的细胞;其中,所述光纤光镊工具的细胞发射频率间距在 $0.5\text{颗}/\text{ms}\sim 2\text{颗}/\text{ms}$ 之间,所述光纤光镊工具的直径大的一端的直径为 $125\mu\text{m}$ ,所述光纤光镊工具的直径小的一端的直径在 $5\sim 8\mu\text{m}$ 之间,所述光纤光镊工具的曲率半径 $r$ 在 $80\sim 100\mu\text{m}$ 之间,所述直径大的一端是泵浦光输入端,所述直径小的一端是细胞发射端,泵浦光在光纤上激发侧面对细胞的捕获力,在所述直径小的一端采用散射场作用力进行细胞发射;

所述荧光激发及探测系统包括荧光激发装置和光电探测器;所述荧光激发装置用于产生激光以激发所述微流通道中的细胞产生荧光;所述光电探测器用于探测微流通道中的被激发细胞的光谱;

所述显微成像和图像处理系统包括显微成像设备和图像处理设备;所述显微成像设备对检测区域内的细胞进行时序成像;所述图像处理设备用于对所述显微成像设备所拍摄的细胞的形态进行处理和分析;

所述分类处理系统包括充电电路模块、偏置电路模块以及收集装置;所述充电电路模块用于对选定的细胞进行充电;所述偏置电路模块用于对选定的细胞进行偏置;所述收集装置用于收集从所述偏置电路模块筛选出来的细胞。

2. 根据权利要求1所述的多功能细胞分析系统,其特征在于,经特异性标记的细胞样品从所述细胞样品输入通道进入时,会在液流压力下进入所述液流混合室,鞘液从所述鞘液输入通道进入后沿着所述液流控制系统的四周流下,进入所述液流混合室;细胞样品被鞘液包围后从所述液流输出通道流出,送往捕获区。

3. 根据权利要求1所述的多功能细胞分析系统,其特征在于,所述定向排列系统可以根据设计的方向与角度进行稳定的细胞排列。

4. 根据权利要求1所述的多功能细胞分析系统,其特征在于,由所述液流控制系统输出的细胞排列稳定性差,推送到所述细胞定向发射器上特定区域,并按照一定角度和距离的发射,通过所述微流通道对细胞进行收集,得到的细胞具有排列稳定性好、时序上可识别的特点。

5. 根据权利要求1所述的多功能细胞分析系统,其特征在于,所述荧光激发及探测系统的激发光斑半径在 $3\mu\text{m}\sim 14\mu\text{m}$ 之间,匹配特异性标记的细胞样品的平均直径;激光器是氩离子激光器、氦离子激光器或染料激光器。

6. 根据权利要求1所述的多功能细胞分析系统,其特征在于,所述的显微成像设备具有多个可选择光圈、定时定焦拍摄功能;所述图像处理设备能够对所述显微成像设备所拍摄的图像进行处理,剔除不含细胞的图像,保证一张图像一个细胞。

7. 根据权利要求1所述的多功能细胞分析系统,其特征在于,不同的细胞在捕获光场和散射光场中的受力大小正比于细胞尺寸,且随泵浦光功率的增大,捕获力和散射力同时增

大,因此可以实现同频率、同角度和同速率对不同细胞进行定向排列。

## 一种多功能细胞分析系统

### (一) 技术领域

[0001] 本发明所涉及的是细胞分析领域,具体涉及一种多功能细胞分析系统。

### (二) 背景技术

[0002] 细胞是生物体最基本的结构和功能单位,所有生物的生命活动必须在细胞中才能进行,因此可以通过分析细胞得知生物体的健康状态。

[0003] 自从显微镜的问世,为人类对细胞的研究提供了一把新的钥匙。细胞成像分析是一种对细胞进行显微成像观察并分析的方法,可以观察不经染色的实验样品,是生物学、细胞学、遗传学等研究工作的理想仪器。细胞成像获得的各种细胞图像,可以进行精确地、客观的量化分析,从而获得细胞内信息和图像所蕴藏的潜在信息,从而准确判断细胞的健康状态。

[0004] 目前细胞分析的方法主要有质谱分析法和流式细胞法。

[0005] 但是以上方法都具有一定的局限性,如基于质谱分析法的单细胞质谱分析装置及方法(中国专利CN111965093A)中,根据细胞中各种成分的分子量的不同对细胞的多组分进行同时分析的结构复杂,步骤繁琐;又如基于流式细胞法的用于稀有细胞筛选的微流控芯片系统(中国专利CN107505249 A),采用压电基片进行细胞筛选,产生的声波对样品聚焦,会对细胞产生损害,影响其活性及基因表达;又如微流控芯片及细胞分析系统(中国专利CN112058327A)中虽然能够省去鞘液,减慢流速,但是需要增加一个水冷流道对压电元件产生的热量进行散热处理,水冷散热的水冷泵安装复杂,如果安装不好,会导致芯片烧坏。

### (三) 发明内容

[0006] 为了解决以上述现有技术中的不足,本发明的目的在于提供一种原理新颖、结构简洁、自动化程度高的一种多功能细胞分析系统,可实现细胞荧光特性分析、形态分析和特殊细胞计数等功能。

[0007] 本发明的目的是这样实现的:

[0008] 一种多功能细胞分析系统,包括液流控制系统、定向排列系统、荧光激发及探测系统、显微成像及图像处理系统以及分类处理系统。

[0009] 本发明提供的液流控制系统,包括鞘液输入通道、细胞样品输入通道、液流混合室以及液流输出通道;所述鞘液输入通道是指输入鞘液的端口,所述细胞样品输入通道是指输入细胞样品的端口,所述液流混合室是指鞘液与细胞样品混合的空间,所述液流输出端口是指混合液体流出所述液流控制系统的端口;

[0010] 所述定向排列系统包括细胞定向发射器和微流通道;所述细胞定向发射器位于所述液流控制系统的正下方,用于将细胞发射至所述微流通道;所述微流通道位于所述细胞定向发射器的右侧,用于收集和定向排列所述细胞定向发射器推送来的细胞;

[0011] 所述荧光激发及探测系统包括荧光激发装置和光电探测器;所述荧光激发装置用于产生激光以激发所述微流通道中的细胞产生荧光;所述光电探测器用于探测微流通道中

的被激发的细胞的光谱；

[0012] 所述显微成像和图像处理系统包括显微成像设备和图像处理设备；所述显微成像设备对检测区域内的细胞进行低速成像；所述图像处理设备用于对所述显微成像设备所拍摄的图像进行处理；

[0013] 所述分类处理系统包括充电电路模块、偏置电路模块以及收集装置；所述充电电路模块用于对选定的细胞进行充电；所述偏置电路模块用于对选定的细胞进行偏置；所述收集装置用于收集从所述偏置电路模块筛选出来的细胞。

[0014] 本发明提供了一种细胞定向发射器，所述细胞定向发射器的本质是光纤光镊工具，细胞发射频率间距在0.5颗/ms~2颗/ms之间，所述光纤光镊大端直径为125 $\mu\text{m}$ ，小端直径在5~8 $\mu\text{m}$ 之间，其曲率半径r在80~100 $\mu\text{m}$ 之间，所述光纤光镊直径大的一端是泵浦光输入端，直径小的一端是细胞发射端，泵浦光在光纤上激发侧面对细胞的捕获力，在直径小的一端采用散射场作用力进行细胞发射。

[0015] 本发明提供的一种细胞定向发射器，所述细胞定向发射器的本质是光纤光镊工具，由于所述光纤光镊器件具有弯曲的特性，光在弯曲的光纤锥中会不断折射会聚，会改变所述光纤光镊侧面的倏逝场，形成增强的梯度光场。在该倏逝场中，细胞受的横向梯度力会将细胞吸附在所述光纤光镊工具侧上方，同时细胞在该倏逝场中还会受到沿着光传播方向的散射力。当细胞从侧上方进入该倏逝场时，细胞在所述光纤光镊侧上方受到一个横向梯度力，会被吸附在所述光纤光镊工具上。同时，该细胞还受到沿着光传播方向的纵向散射力，因此细胞会被推送到所述光纤光镊的侧下方。而在侧下方的某处，由于弯曲程度过大，导致细胞所受的横向梯度力急剧下降，远远小于所受的纵向散射力，因此细胞主要受光散射力的影响，像子弹一样被“弹射”出去，这就是定向发射器，可以实现对细胞的连续，单独地定向，等时序发射的功能。

[0016] 本发明提供的液流控制系统，所述液流控制系统从所述细胞样品输入通道从上而下提供细胞样品，鞘液从所述鞘液输入通道进入后沿着所述液流控制系统的腔壁流入所述液流混合室，细胞样品被鞘液包围后从所述液流输出通道流出，将细胞送往捕获区。

[0017] 本发明提供的定向排列系统，所述定向排列系统用于将由所述液流控制系统输出的排列稳定性差的细胞推送到所述细胞定向发射器上特定区域按照一定角度和距离的发射，由所述微流通道对细胞进行收集，得到的细胞具有排列稳定性好、时序上可识别的特点。光场中的细胞受力大小由麦克斯韦应力张量进行面积积分，可知不同的细胞在捕获光场和发射光场中的受力大小正比于细胞尺寸，且随泵浦光功率的增大，捕获力和散射力同时增大，因此可以实现同频率、同角度和同速率对不同细胞进行定向排列。相对于流式细胞仪以及其他进行细胞排列的仪器设备所输出的细胞，本发明定向排列系统对胞排列稳定性更好，具有更优的同步性、运动轨迹直线性、等间隔的特性，是由于新颖的光镊工具创新所赋予的特性。

[0018] 本发明提供的荧光激发及探测系统，所述荧光激发及探测系统的激发光斑半径在3 $\mu\text{m}$ ~14 $\mu\text{m}$ 之间，匹配特异性标记的细胞样品的平均直径，用于激发细胞产生荧光以便光电探测器观察，所述激光器包括氩离子激光器、氦离子激光器或染料激光器。

[0019] 本发明提供的显微成像和图像处理系统，所述显微成像和图像处理系统对所述微流通道中的细胞进行图像拍摄和处理，所述显微成像设备具有多个可选择的光圈，同时具

有定时定焦拍摄的功能,能得到成像质量高的细胞图像;使用图像处理设备对所拍摄的图像进行处理,图像中有细胞的表示1,无细胞的表示0,剔除其中不含细胞的图像,保证一个细胞一张照片,对所述照片进行分析得到细胞的健康状态。同时,本发明可以利用软件对获取细胞图像的颜色、边缘轮廓、体积、以及根据数据库对该细胞进行识别等工作。

[0020] 本发明所提供的一种分类处理系统,所述分类处理系统可以根据细胞的健康状态对不同形态特征的细胞充不同的电,将充电后的细胞送入偏置电路,不同状态的细胞由于带电极性不同会偏向不同的极板,由所述收集装置进行收集,最后对健康状态差的细胞做进一步分析。

[0021] 本发明至少具备以下独特而显著的优点:

[0022] (1) 本发明提出的一种细胞定向发射器,由于其侧表面的倏逝场不同,细胞会从光纤侧面的上端推离到下端,并从下端“弹射”出去,由于“弹射”轨迹线性好和时序相同,因此可以结合微流通道实现细胞的完美定向排列,有利于细胞荧光分析和定焦成像。

[0023] (2) 本发明提出的定向排列系统,依靠光镊的动力源对细胞进行时域定向排列,相对于流式细胞仪以及其他进行细胞排列的仪器设备所输出的细胞,本发明定向排列系统对细胞的排列稳定性更好,具有更优的同步性、运动轨迹直线性、等间隔的特性。

[0024] (3) 本发明提出的一种多功能细胞分析系统,利用光镊原理结合细胞荧光特性分析和显微成像设备,可应用于细胞荧光特性分析、形态分析、特殊细胞计数以及疾病诊断。

#### (四)附图说明

[0025] 图1是细胞定向发射器的结构示意图。

[0026] 图2是一种多功能细胞分析系统的结构示意图。

[0027] 图3是液流控制系统的结构示意图。

[0028] 图4是定向排列系统的结构示意图。

[0029] 图5是荧光激发及探测系统的结构示意图。

[0030] 图6是显微成像与图像处理系统的结构示意图。

[0031] 图7是分类处理系统的结构示意图。

[0032] 图8是根据本发明对红细胞进行形态分析的示意图。

[0033] (五)具体实施案例

[0034] 下面结合附图和具体的实施例进一步阐述本发明。

[0035] 本发明提供了一种细胞定向发射器,所述细胞定向发射器为弯曲的光纤光镊工具。

[0036] 如图1所示,所述细胞定向发射器的曲率半径 $r$ 在 $80\sim 100\mu\text{m}$ 之间,所述光纤光镊一端直径 $D_1=125\mu\text{m}$ ,一端直径 $D_2=5\mu\text{m}$ ,且直径大的一端通过单模光纤与激光源相连,直径小的一端进行细胞定向发射。

[0037] 如图2所示的是一种多功能细胞分析系统的示意图,所述多功能细胞分析系统包括液流控制系统1、定向排列系统2、荧光激发及探测系统3、显微成像及图像处理系统4以及分类处理系统5。

[0038] 如图3所示,本发明提供的液流控制系统包括鞘液输入通道1-1、细胞样品输入通道1-2、液流混合室1-3以及液流输出通道1-4;所述鞘液输入通道1-1是指输入鞘液的端口,

所述细胞样品输入通道1-2是指输入细胞样品的端口,所述液流混合室1-3是指鞘液与细胞样品混合的空间,所述液流输出端口1-4是指混合液体流出所述液流控制系统的端口。

[0039] 如图4所示,本发明提供的定向排列系统包括细胞定向发射器2-1和微流通道2-2;所述细胞定向发射器2-1位于所述液流控制系统的液流输出端口的正下方,用于将细胞发射至所述微流通道2-2;所述微流通道2-2位于所述细胞定向发射器2-1的右侧,用于收集和定向排列所述细胞定向发射器2-1推送来的细胞。

[0040] 如图5所示,本发明提供的荧光激发及探测系统包括荧光激发装置3-1和光电探测器3-2;所述荧光激发装置3-1用于产生激光以激发所述微流通道中的细胞产生荧光;所述光电探测器3-2用于探测微流通道中的被激发的细胞的光谱,进行细胞定性分析;

[0041] 如图6所示,本发明提供的显微成像和图像处理系统包括显微成像设备4-1和图像处理设备4-2;所述显微成像设备4-1对检测区域内的细胞进行低速成像;所述图像处理设备4-2用于对所述显微成像设备4-1所拍摄的图像进行处理;

[0042] 如图7所示,本发明提供的分类处理系统包括充电电路模块5-1、偏置电路模块5-2以及收集装置;所述充电电路模块5-1用于对选定的细胞进行充电;所述偏置电路模块5-2用于对选定的细胞进行偏置;所述收集装置5-3用于收集从所述偏置电路模块5-2筛选出来的细胞。

[0043] 实施例1:

[0044] 根据本发明进行红细胞形态分析的应用例。

[0045] 如图8所示的是多功能细胞分析系统结构图,液流控制系统1控制红细胞样品输入通道1-2输入细胞样品,控制鞘液输入通道1-1输入鞘液,沿着腔壁的四周流向液流混合室1-3中对红细胞样品进行包围,然后从液流输出端口1-4进行稳定性不高的输出。混合液流流向定向排列系统2的细胞定向发射器2-1的侧上方,由于所述细胞定向发射器2-1存在差异化的梯度光场,使得混合液流中的红细胞从细胞定向发射器2-1的侧上方移动到侧下方的发射区域,在发射区域按照一定角度和距离发射,右侧的尾流通道2-2会对发射过来的红细胞进行收集。微流通道2-2下方的荧光激发及探测系统3中的荧光激发装置3-1会激发混合液流中的红细胞产生荧光,然后采用光电探测器3-2得到红细胞的光谱,从而进行定性分析。同时,微流通道2-2上方的显微成像与图像处理系统4中的显微成像设备4-1会对微流通道中已进行荧光激发的红细胞进行低速成像,拍摄得到的图像传送到图像处理设备4-2进行红细胞形态分析及处理。拍摄完的红细胞送分类处理系统5,其中健康状态好的红细胞经充电电路模块5-1充正电,健康状态差的红细胞充负电,充电完毕后进入偏置电路模块5-2,健康状态好的红细胞偏向下极板,进入收集装置5-3,健康状态差的红细胞偏向上极板后进入收集装置5-3,最后对健康状态差的红细胞做进一步的分析处理。

[0046] 显微成像设备4-1所拍摄得到的图像,有细胞的图像表示为1,没有细胞的表示为0,经图像处理设备4-2处理后保留有细胞的图像,分析其形态及组化特点,与正常红细胞的形态进行比对,从而区分红细胞的发育阶段和正常细胞的相似程度,其相似程度达到70%以上的细胞标记为正常细胞,低于70%的细胞标记为非正常细胞。

[0047] 实施例2:

[0048] 根据本发明进行细胞计数的应用例。

[0049] 将某种特定培养液中的细胞从细胞样品输入通道输入,鞘液从鞘液输入通道进入

腔壁,沿着四周流入液流混合室对培养液细胞进行包围。经细胞定向发射器发射到微流通道进行荧光激发,其中死细胞发红色荧光,活细胞发绿色荧光,随后进行显微成像,在一分钟内使用图像处理设备活细胞与死细胞的个数,获得死细胞与活细胞的比值,从而得到该培养液中的细胞的存活率。

[0050] 以上实施例为该发明专利的补充和拓展,可知以上实施例并不用于限制与限定本发明专利。



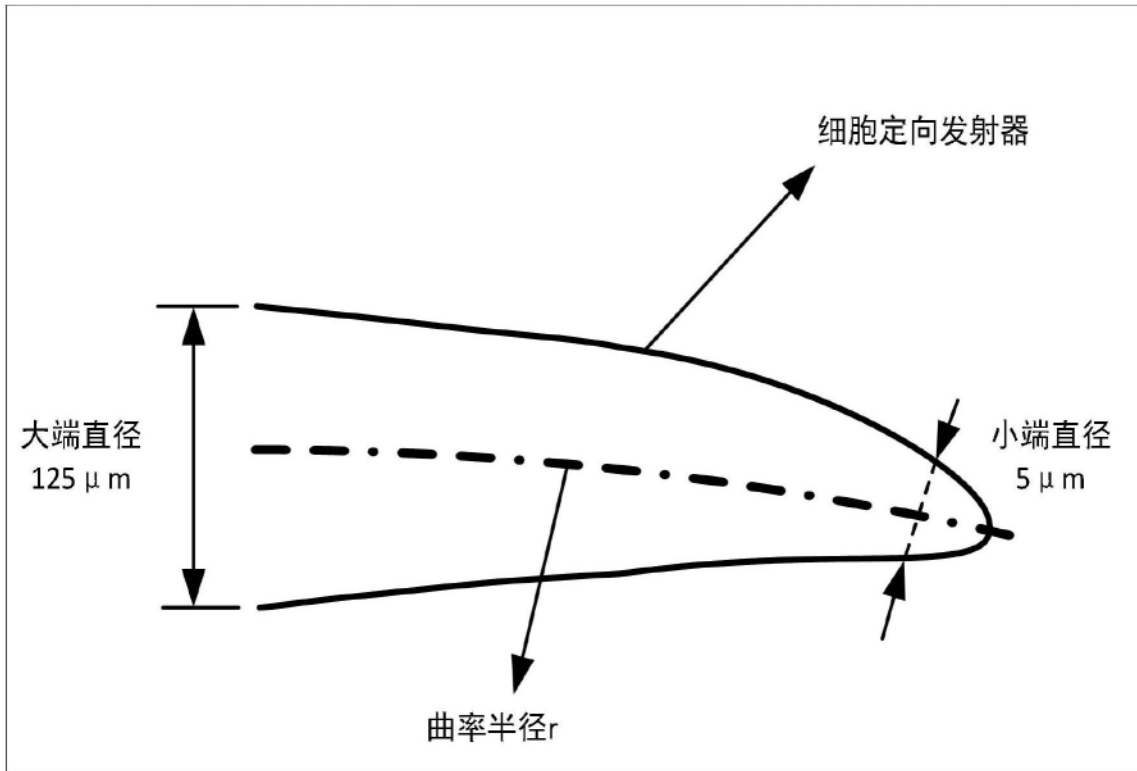


图1



图2

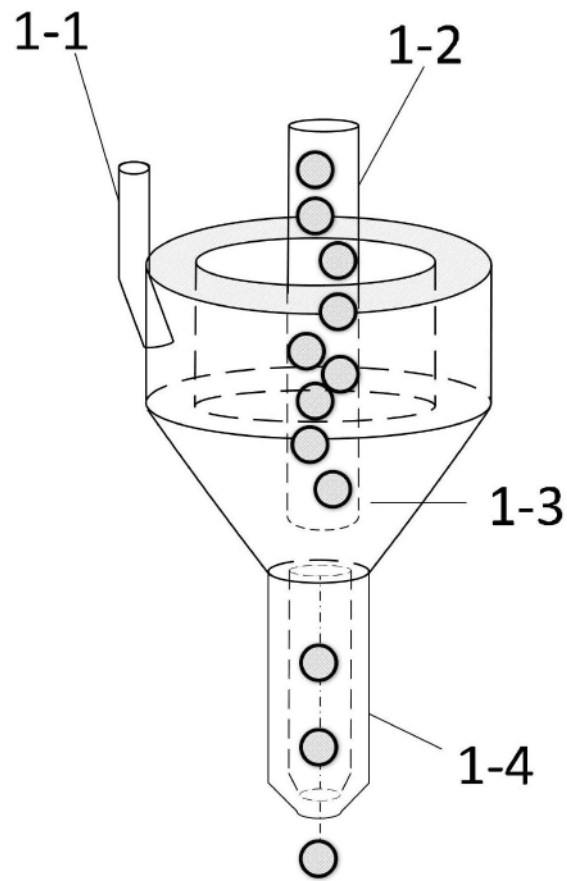


图3

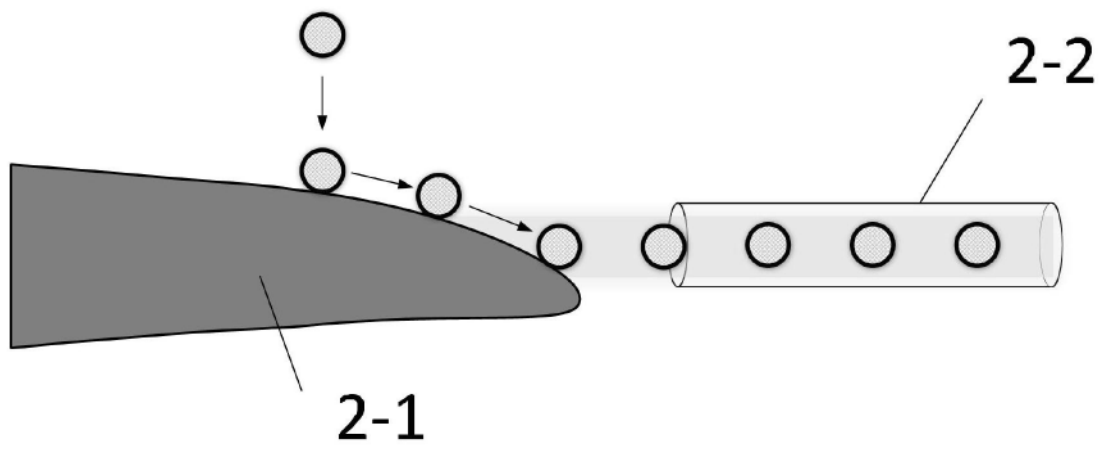


图4

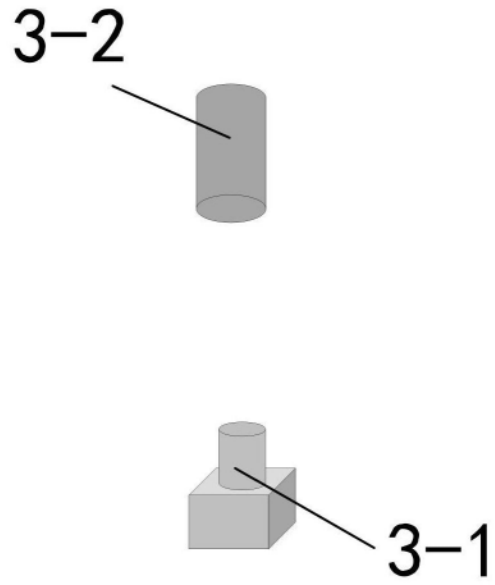


图5

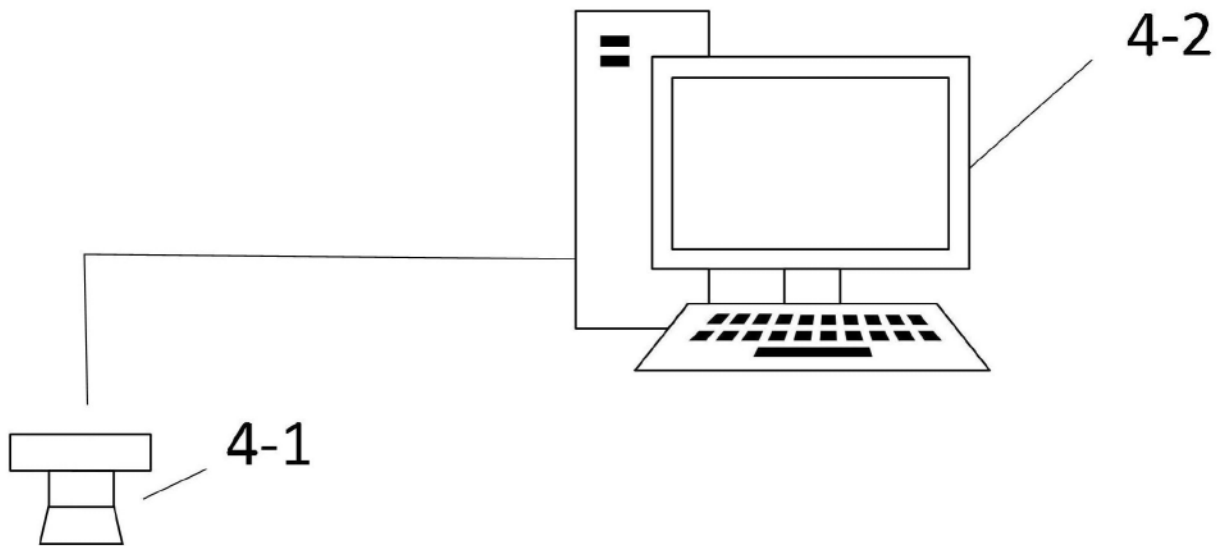


图6

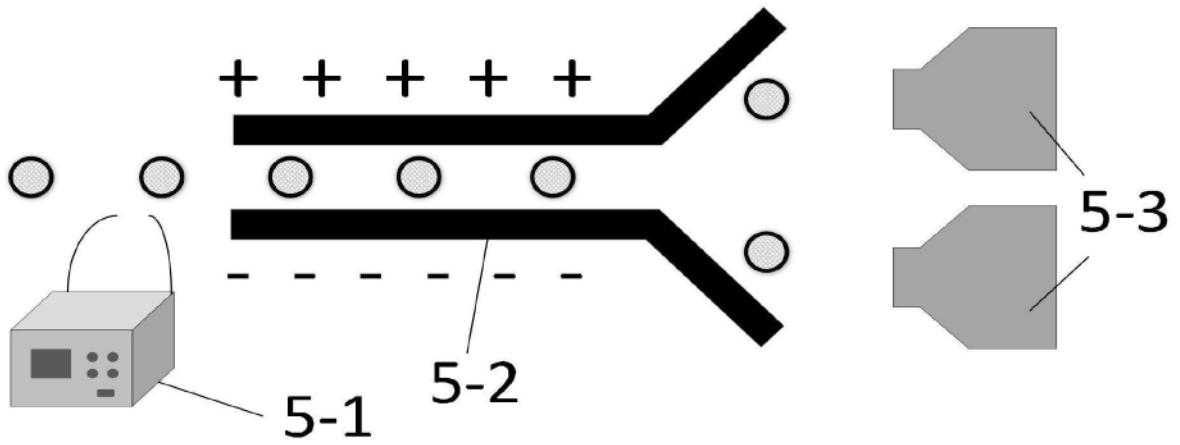


图7

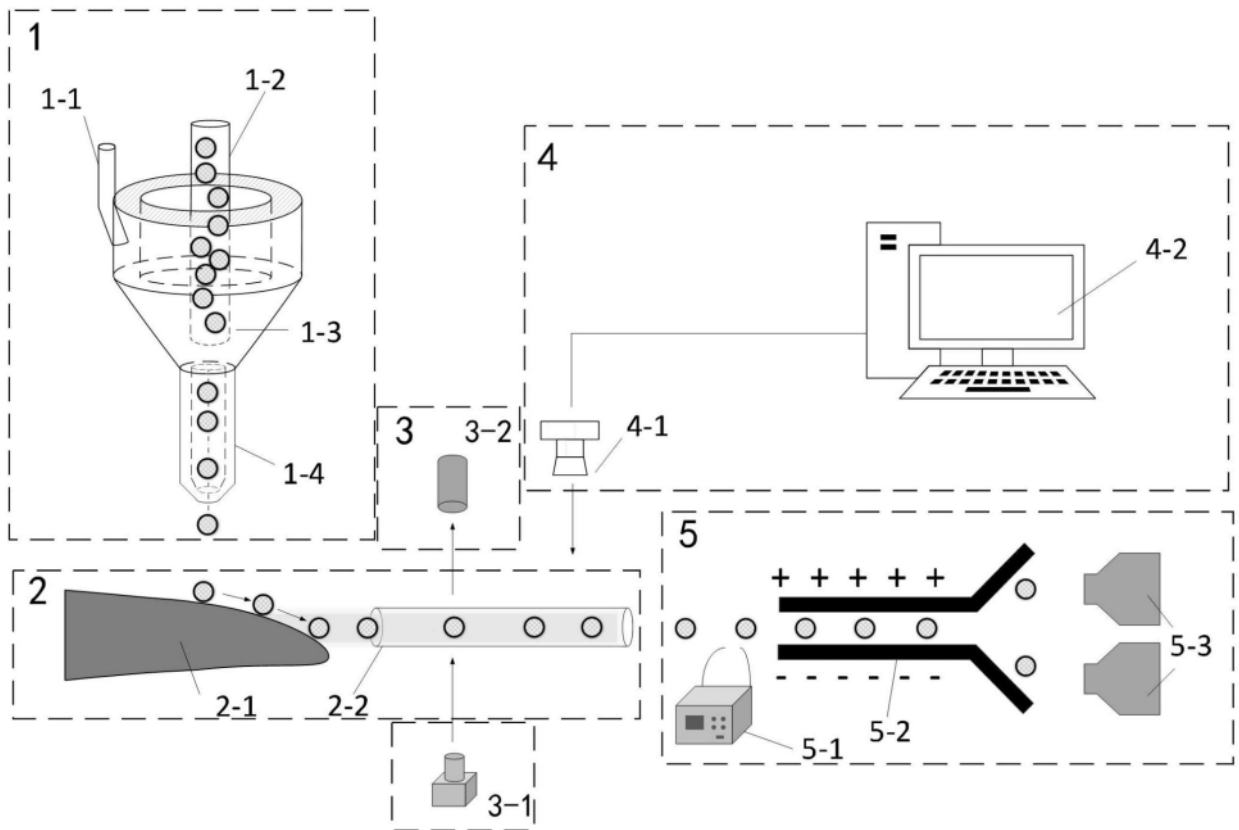


图8