



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103725599 B

(45) 授权公告日 2015. 05. 27

(21) 申请号 201410016566. 3

CN 201046965 Y, 2008. 04. 16,

(22) 申请日 2014. 01. 14

崔浣华等. 聚碳酸酯径迹微孔滤膜的制备和应用. 《核技术》. 1982, (第1期),

(73) 专利权人 刘韬

吴日升. 核孔滤膜输液终端过滤器. 《核技术》. 1985,

地址 410000 湖南省长沙市天心区湘府西路  
229 号文苑东 4 栋 402 房

审查员 刘宝

(72) 发明人 刘韬

(74) 专利代理机构 北京丰宏知识产权代理有限公司 11372

代理人 吴大建 郑隽

(51) Int. Cl.

C12M 1/12(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1231212 A, 1999. 10. 13,

CN 102796662 A, 2012. 11. 28,

CN 103243026 A, 2013. 08. 14,

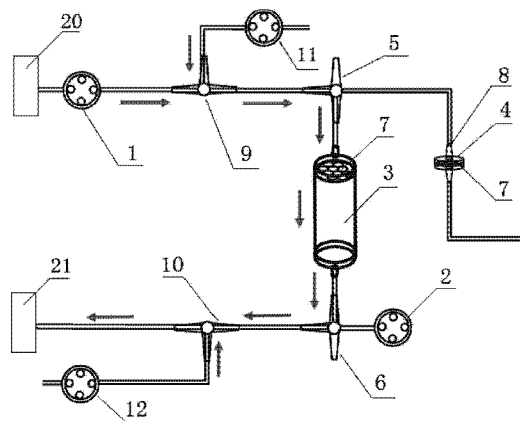
权利要求书1页 说明书4页 附图5页

(54) 发明名称

一种流体膜过滤细胞分离装置

(57) 摘要

本发明提供了一种流体膜过滤细胞分选装置,包括第一驱动泵、第二驱动泵、分离柱、检测柱和若干个三通阀,分离柱一端通过第一三通阀与第一驱动泵相连,另一端通过第二三通阀与第二驱动泵相连,检测柱与第一三通阀的第三个通道口相连;分离柱内包含并联的至少五根子过滤柱,子过滤柱包括固定支架和依附在固定支架底端及四周的聚碳酸酯或聚酯材质的径迹蚀刻膜,径迹蚀刻膜孔径为 5-25um;检测柱活动密封连接的两部分之间的内空处设置一层径迹蚀刻膜,径迹蚀刻膜孔径为 5-25um。本装置采用循环方式进行过滤,不需要加入影响细胞活性和溶液性质的化学介质,可分离滤过超过 5000 毫升以上活体细胞混悬液,大为提高分离效率和活体成活率。



1. 一种流体膜过滤细胞分离装置,其特征在于,包括第一驱动泵(1)、第二驱动泵(2)、分离柱(3)、检测柱(4)和若干个三通阀和副驱动泵,所述副驱动泵包括第一副泵(11)和第二副泵(12);

所述分离柱的一端通过第一三通阀(5)与第一驱动泵(1)相连,另一端通过第二三通阀(6)与第二驱动泵(2)相连,所述检测柱(4)与第一三通阀(5)的第三个通道口相连;

所述分离柱(3)内包含并联的至少五根子过滤柱,所述子过滤柱包括固定支架和依附在固定支架底端及侧面四周的聚碳酸酯或聚酯材质的径迹蚀刻膜(7),径迹蚀刻膜孔径为5-25  $\mu\text{m}$ ;

所述检测柱(4)包含活动连接的上下两部分,两部分的外侧均设置与管道相适应的液体通道口(8),密封的两部分之间的内空处设置一层聚碳酸酯或聚酯材质的径迹蚀刻膜(7),径迹蚀刻膜的孔径为5-25  $\mu\text{m}$ ;

且在第一驱动泵(1)与第一三通阀(5)之间设置第三三通阀(9),所述第三三通阀的另一通道与驱动抗凝生理盐水的第一副泵(11)连接,和在第二三通阀(6)与出样口(21)之间设置第四三通阀(10),所述第四三通阀与驱动抗凝拮抗剂的第二副泵(12)连接;

所述装置利用三通阀、分离柱和检测柱构成两条运行通路;其中,第一条通路为大样本量的细胞混悬液从细胞液体容器(18)经进样口(20)、第一驱动泵(1)、第一三通阀(5)进入分离柱(3)而后从另一端流出,进行过滤后再通过出样口(21)回到细胞液体容器(18),通过细胞液体容器-泵-分离柱的不断循环来进行分离,达到高效分离特定大体积细胞的目的;第二条通路为调节第一三通阀(5)和第二三通阀(6),关闭进样口(20)和分离柱(3)的连接通道,流体从第二驱动泵(2)反向流过分离柱(3)而后从另一端流出,进入检测柱(4),该通路对分离柱(3)上截留下来的特定大体积细胞进一步进行富集,将其集中在检测柱(4)的过滤膜上,以便对膜上细胞进行各项下游操作检测,废液从检测柱(4)的另一端流出。

2. 根据权利要求1所述的装置,其特征在于,驱动泵为蠕动泵。

3. 根据权利要求1所述的装置,其特征在于,所述第一副泵或者第二副泵为蠕动泵或推动式输液泵。

4. 根据权利要求1至3任一项所述的装置,其特征在于,所述装置还包括压力感受器,位于第一驱动泵和分离柱之间。

5. 根据权利要求1至3任一项所述的装置,其特征在于,径迹蚀刻膜的孔径为8-10  $\mu\text{m}$ 。

6. 根据权利要求1至3任一项所述的装置,其特征在于,所述检测柱由增塑聚氯乙烯制成。

7. 根据权利要求1至3任一项所述的装置,其特征在于,所述装置还包括管路加热装置。

## 一种流体膜过滤细胞分离装置

### 技术领域

[0001] 本发明涉及细胞悬浮液分离提纯领域,特别地,涉及一种流体膜过滤装置。

### 背景技术

[0002] 目前在对细胞分选方面多采用密度梯度离心法进行,是用一定的介质在离心管内形成一连续或不连续的密度梯度,将细胞混悬液或匀浆置于介质的顶部,通过重力或离心力场的作用使细胞分选。其缺点在于:1. 由于离心机的限制,无法同时对大批量的细胞混悬液进行离心从而分离细胞,效率低下;2. 加入的介质会影响细胞活性以及溶液性质,去除介质操作耗时、费力;3. 操作繁琐、对介质配置要求高。

### 发明内容

[0003] 本发明目的在于提供一种流体膜过滤装置,以解决密度梯度离心法无法对大批量细胞混悬液离心,且操作繁琐的技术问题。

[0004] 为实现上述目的,本发明提供了一种流体膜过滤细胞分选装置,包括第一驱动泵、第二驱动泵、分离柱、检测柱和若干个三通阀和副驱动泵,

[0005] 所述分离柱的一端通过第一三通阀与第一驱动泵相连,另一端通过第二三通阀与第二驱动泵相连,所述检测柱与第一三通阀的第三个通道口相连;

[0006] 所述分离柱内包含并联的至少五根子过滤柱,所述子过滤柱包括固定支架和依附在固定支架底端及侧面四周的聚碳酸酯或聚酯材质的径迹蚀刻膜,径迹蚀刻膜孔径为5-25 $\mu\text{m}$ ;

[0007] 所述检测柱包含活动连接的上下两部分,两部分的外侧均设置与管道相适应的液体通道口,密封的两部分之间的内空处设置一层聚碳酸酯或聚酯材质的径迹蚀刻膜,径迹蚀刻膜的孔径为5-25 $\mu\text{m}$ 。

[0008] 优选地,驱动泵为蠕动泵。

[0009] 优选地,在第一驱动泵与第一三通阀之间设置第三三通阀,所述第三三通阀的另一通道与驱动抗凝生理盐水的第一副泵连接。

[0010] 优选地,在第二三通阀与出样口之间设置第四三通阀,所述第四三通阀与驱动抗凝拮抗剂的第二副泵连接。

[0011] 优选地,所述第一副泵或者第二副泵为蠕动泵或推动式输液泵。

[0012] 优选地,所述装置还包括压力感受器,位于第一驱动泵和分离柱之间。

[0013] 优选地,径迹蚀刻膜的孔径为8-10 $\mu\text{m}$ 。

[0014] 优选地,所述检测柱由增塑聚氯乙烯制成。

[0015] 优选地,所述检测柱内空处的径迹蚀刻膜的直径为8-10mm。

[0016] 优选地,所述装置还包括管路加热装置。

[0017] 本发明流体膜过滤分离系统基本原理为:利用连接管道,在驱动泵提供的驱动力作用下,将细胞混悬液引入该系统通过膜过滤柱对特定大细胞进行富集,溶液和小体积细

胞可以正常通过,目标细胞被截留柱,过滤完成的溶液再通过连接管道回到细胞混悬液中。

[0018] 通过分离柱立体式、循环式的膜分离结构,本发明装置具有以下有益效果:

[0019] 1、分离活体动物血液中的细胞:参见图 8,本发明采用循环方式进行过滤,即从该系统入口进入的液体过滤完毕后,将从系统出口回到原来的溶液当中去,这样形成一个循环回路,在不间断的循环过程中对细胞混悬液中的特定大体积细胞进行截留,而让小体积细胞通过滤膜回到溶液中。所带来的好处是本系统外的细胞混悬液总体积保持不变,其中的小体积细胞数目保持不变。

[0020] 因此,将本装置的进样口和动物的动脉相连,出样口和动物的静脉端相连,在动力泵的帮助下,血液样品可以从动脉引出,经过分离柱上合适孔径的膜分离出感兴趣的目标细胞,其他成分由静脉输回。这样就可以在保证动物存活的情况下,尽可能多的处理血液样品,分离到更多感兴趣的细胞。和传统方法相比,极大的提高了分离效率和分离灵敏度,同时确保动物的存活。这样在同一只动物上可以进行多次,多个时间点的细胞分离,目前的细胞分选方式均不可能达到。

[0021] 2、分离效率提高:以直径为 6 厘米,长 11 厘米的 C-ISET 分离柱为例,其里面可装置 11 根直径为 1 厘米,长 10 厘米的并列的子柱。此种规格的有效过滤面积是 354 平方厘米。而常规的直径为 6 厘米过滤装置,其有效过滤面积仅为 28.26 平方厘米。本发明分离柱有效过滤面积为传统过滤面积的 1252%,相对原来提高了 11.52 倍。这就意味在在单位时间内处理样品的能力要提高 11.52 倍,对同一体积的样品处理时间减少 11.52 倍。

[0022] 3、立体式过滤降低过滤膜表面压力:细胞是非常柔弱的,并且细胞变形性较强,因此在细胞分选中,特别是活体细胞分选中,采用低压过滤保持细胞活性是十分重要的。采用径迹蚀刻膜包裹分离柱支架下端和侧面的立体式过滤方式,其膜上压力比平面式减少了 9-12 倍,可以有效保护细胞完整性。

[0023] 4、无需加入介质:本装置所采用的是物理方式对细胞进行过滤,不需要加入影响细胞活性和溶液性质的化学物质,这样在过滤之后不会破坏目标细胞以及非目标细胞的形态及活性,并且不破坏原有溶液的性质。

[0024] 5、大样本量:本发明流体膜过滤装置的循环回路,一次操作可以滤过超过 5000 毫升的细胞混悬液,特别适合于对大样本量的细胞混悬液进行过滤。

[0025] 除了上面所描述的目的、特征和优点之外,本发明还有其它的目的、特征和优点。下面将参照图,对本发明作进一步详细的说明。

## 附图说明

[0026] 构成本申请的一部分的附图用来提供对本发明的进一步理解,本发明的示意性实施例及其说明用于解释本发明,并不构成对本发明的不当限定。在附图中:

[0027] 图 1 是本发明优选实施例的分离通路结构示意图;

[0028] 图 2 是本发明优选实施例的检测通路结构示意图;

[0029] 图 3 是本发明优选实施例的分离柱的端口盖板结构示意图;

[0030] 图 4 是本发明优选实施例的分离柱的结构示意图;

[0031] 图 5 是本发明优选实施例的分离柱的整体结构示意图;

[0032] 图 6 是本发明优选实施例检测柱的结构示意图;

[0033] 图 7 是本发明优选实施例的外观结构示意图；

[0034] 图 8 是本发明优选实施例的整体循环结构示意图；

[0035] 图 9 是本发明优选实施例与常规试验结果的数据对比图；

[0036] 1、第一驱动泵,2、第二驱动泵,3、分离柱,4、检测柱,5、第一三通阀,6、第二三通阀,7、径迹蚀刻膜,8、液体通道口,9、第三三通阀,10、第四三通阀,11、第一副泵,12、第二副泵;13、固定支架,14、支撑板,15、端口盖板,16、显示屏,17、管路加热装置,18、细胞液体容器,19、子过滤柱,20、进样口,21、出样口。

## 具体实施方式

[0037] 以下结合附图对本发明的实施例进行详细说明,但是本发明可以根据权利要求限定和覆盖的多种不同方式实施。

[0038] 本发明公开了一种流体膜过滤装置,包括第一驱动泵 1、第二驱动泵 2、分离柱 3、检测柱 4 和若干个三通阀和副驱动泵。驱动泵可选择蠕动泵,使流体的流动较为平稳。

[0039] 所述分离柱 3 的一端通过第一三通阀 5 与第一驱动泵 1 相连,另一端通过第二三通阀 6 与第二驱动泵 2 相连,所述检测柱 4 与第一三通阀 5 的第三个通道口相连。在第一三通阀 5 转动到不同位置的情况下,分离柱 3 可分别与第一驱动泵 1、检测柱 4 中的任意一个相通。

[0040] 所述分离柱 3 内包含并联的至少五根子过滤柱,所述子过滤柱包括固定支架 13 和依附在固定支架 13 底端和侧面四周的径迹蚀刻膜 7,以立体式的包裹方式无死角地分选细胞,效率更优。当细胞悬浮液流经分离柱 3 时,孔径大于 5-25 $\mu\text{m}$  的细胞则会被径迹蚀刻膜 7 拦截滞留在子分离柱内部,小细胞则可自由通过。

[0041] 径迹蚀刻膜 7 的孔径可为 5-25 $\mu\text{m}$ ,优选为 8-10 $\mu\text{m}$ 。

[0042] 径迹蚀刻膜 7 可以是聚碳酸酯或聚酯材质制成,都不影响本实施例的实现。径迹蚀刻膜采用同位素径迹蚀刻技术,使得膜表面光滑,孔分布均匀,孔径非常一致和光滑,是分离生物细胞的理想材料。

[0043] 参见图 3、图 4 和图 5,分离柱还可包括两端的端口盖板 15、端口盖板 15 内的支撑板 14 以及子过滤柱,子过滤柱位于两端支撑板 14 之间,由若干固定支架 13 构成。上述各个部件都可分开拆解下来,灵活使用;也可根据不同需求设置不同数量的子过滤柱 19;支撑板 14 上可设置有若干圆孔,用于卡住固定支架 13 以使其结构稳固;端口盖板 15 上设置与管道相适应的液体通道口 8,方便悬浮液流过。

[0044] 当圆柱形过滤子柱的底面直径为 8mm,长 10cm 时,10 根子过滤柱并联起来,外面使用聚碳酸酯材质的外壳密封包围,过滤柱的总过滤面积为 256 $\text{cm}^2$ 。这种设计一方面可以增加过滤面积,另一方面可以使得过滤膜承受更大的压力。

[0045] 参见图 6,检测柱 4 可由增塑聚氯乙烯材料制造,包含活动连接的上下两部分,两部分的外侧均设置与管道相适应的液体通道口 8,密封的两部分之间的内空处设置若干层径迹蚀刻膜 7,径迹蚀刻膜的孔径为 5-25 $\mu\text{m}$ ,优选为 8-10 $\mu\text{m}$ 。当细胞悬浮液通过液体通道口 8 流经检测柱 4 时,孔径大于 5-25 $\mu\text{m}$  的细胞则会被径迹蚀刻膜 7 拦截滞留。

[0046] 参见图 1 和图 2,本发明装置利用三通阀、分离柱和检测柱,构成了两条运行通路。第一条通路如图 1 所示,大样本量的细胞混悬液从细胞液体容器 18 经进样口 20、第一驱动

泵 1、第一三通阀 5 进入分离柱 3 而后从另一端流出,进行过滤后再通过出样口 21 回到细胞液体容器 18,达到高效分离特定大体积细胞的目的。由于是通过细胞液体容器-泵-分离柱的不断循环来进行分离,可在分离过程中保证流体膜过滤系统外的细胞混悬液总体积保持不变,其中的小体积细胞数目保持不变。

[0047] 例如,以活体动物为特定的细胞液体容器时,可将血液从动脉中通过泵引出,经分离柱过滤后输至静脉里,分离出特定细胞,而对活体动物健康无影响。

[0048] 第二条通路如图 2 所示,调节三通阀,关闭进样口 20 和分离柱 3 的连接通道,流体从第二驱动泵 2 反向流过分离柱 3 而后从另一端流出,进入检测柱 4,该通路对分离柱 3 上截留下来的特定大体积细胞进一步进行富集,将其集中在检测柱 4 的过滤膜上,这样方便对膜上细胞进行各项下游操作检测。废液从检测柱 4 的另一端流出。

[0049] 另外,可在第一驱动泵 1 与第一三通阀 5 之间设置第三三通阀 9,所述第三三通阀 9 的另一通道与驱动抗凝生理盐水的第一副泵 11 连接;可根据需要,将抗凝生理盐水加入至循环系统中。

[0050] 在第二三通阀 6 与出样口之间设置第四三通阀 10,所述第四三通阀 10 与驱动抗凝拮抗剂

[0051] 的第二副泵 12 连接;可根据需要,将抗凝拮抗剂加入至循环系统中。

[0052] 参见图 7,本发明装置由触摸显示屏 16、主蠕动泵、压力感受器、副蠕动泵、推动式输液泵、过滤柱固定支架、空气排出装置、管路加热装置和底座支架、连接管道等部件构成的一体机,具有结构紧凑,功能全面,信息采样及时的特点。其中,触摸显示屏 16 为各个部件运转情况显示的终端,和机器主板相连,显示压力、流量、转速、温度、时间等关键信息;带手触摸功能可以在屏幕上控制其他各部件的运行。主蠕动泵为主要的动力提供装置,通过转盘内的钢柱和管道壁相接触,挤压管道壁从而提供动力。压力感受器用于检测管路中的压力变化情况,检测整个系统是否运行通畅。推动式输液泵可以持续向连接管道中提供保证流体平滑流动,不产生固体杂质所需的药物。过滤柱固定支架用于固定膜过滤柱。空气排出装置可以使得管路中的空气排出,防止空气进入连接管道中。管路加热装置 17 可以加热管路中的流体,使其保持在 37 度的细胞存活最适宜温度。管路加热装置 17 可以与管道的任意一处相连,如进样口、第一三通阀、第二三通阀、细胞液体容器、出样口等处。

[0053] 参见图 9,利用本发明装置和常规分离装置在体外实验中回收效果比较。其中,实心点表示本发明装置,空心点表示常规分离装置。可以看到,在同样的实验条件下(5000 毫升生理盐水中,加入 1000 个细胞,过滤横截面积 28.26,流速 250 毫升/分钟),本发明装置所分选到的完整、无破损的 A549、LLC、H520、H1299 四种细胞的数目分别为  $988.33 \pm 148.17$ 、 $862.67 \pm 103.65$ 、 $1048 \pm 79.3$ 、 $855 \pm 91.39$ ,而常规分离装置基本为 0。

[0054] 以上所述仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明,对于本领域的技术人员来说,本发明可以有各种更改和变化。凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

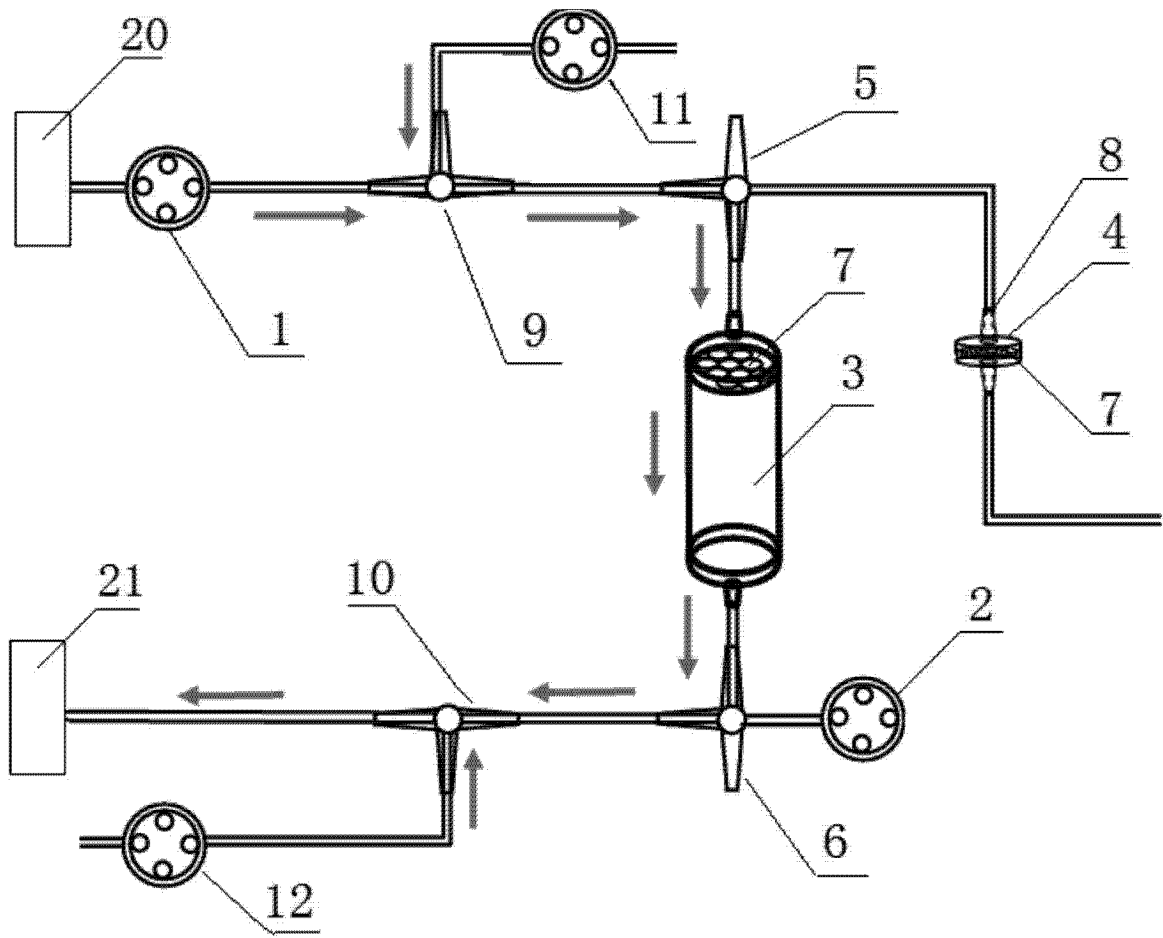


图 1

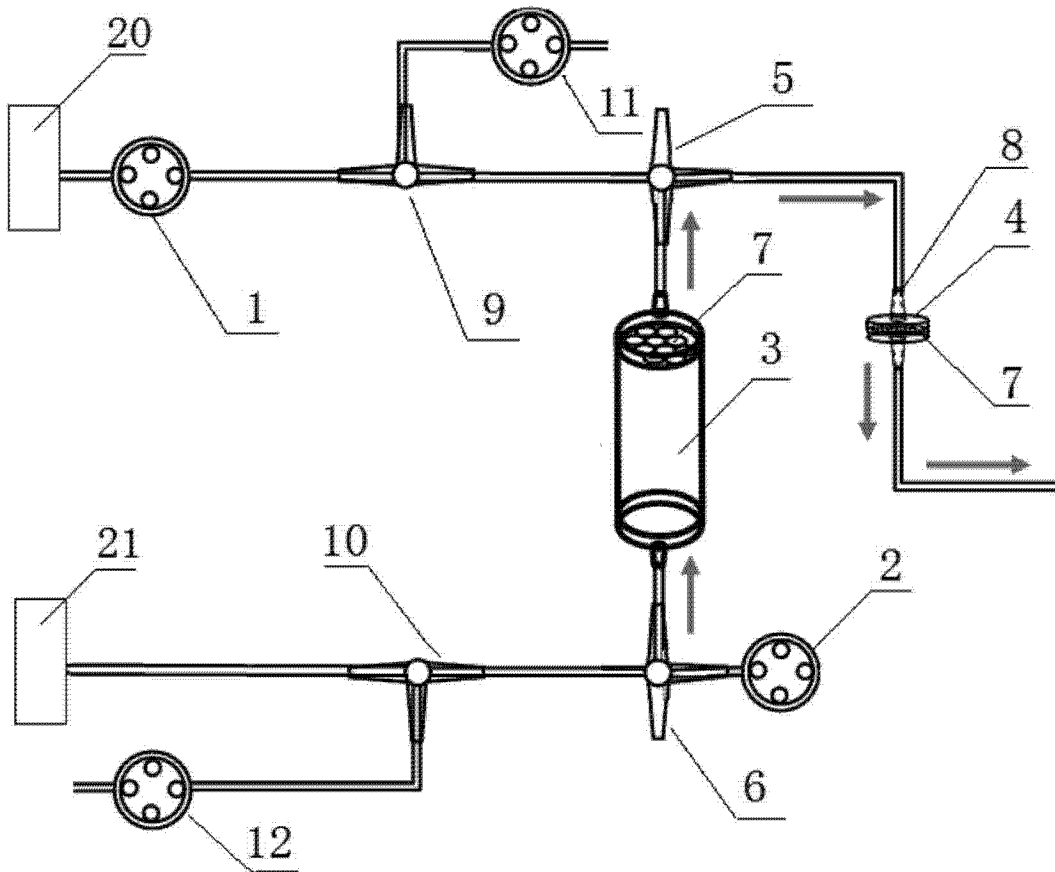


图 2

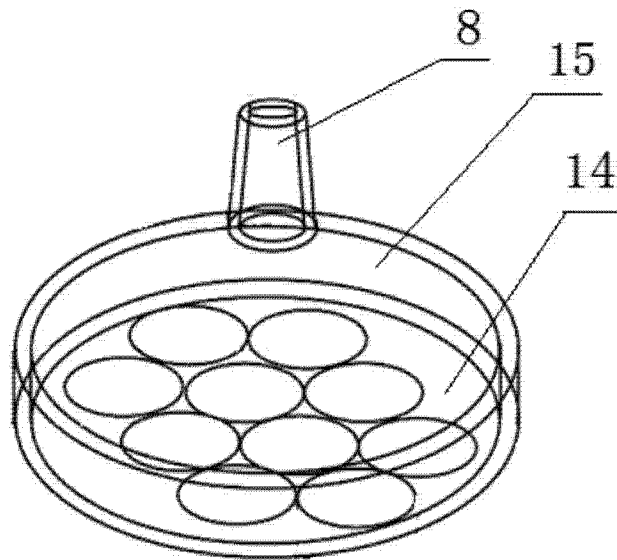


图 3



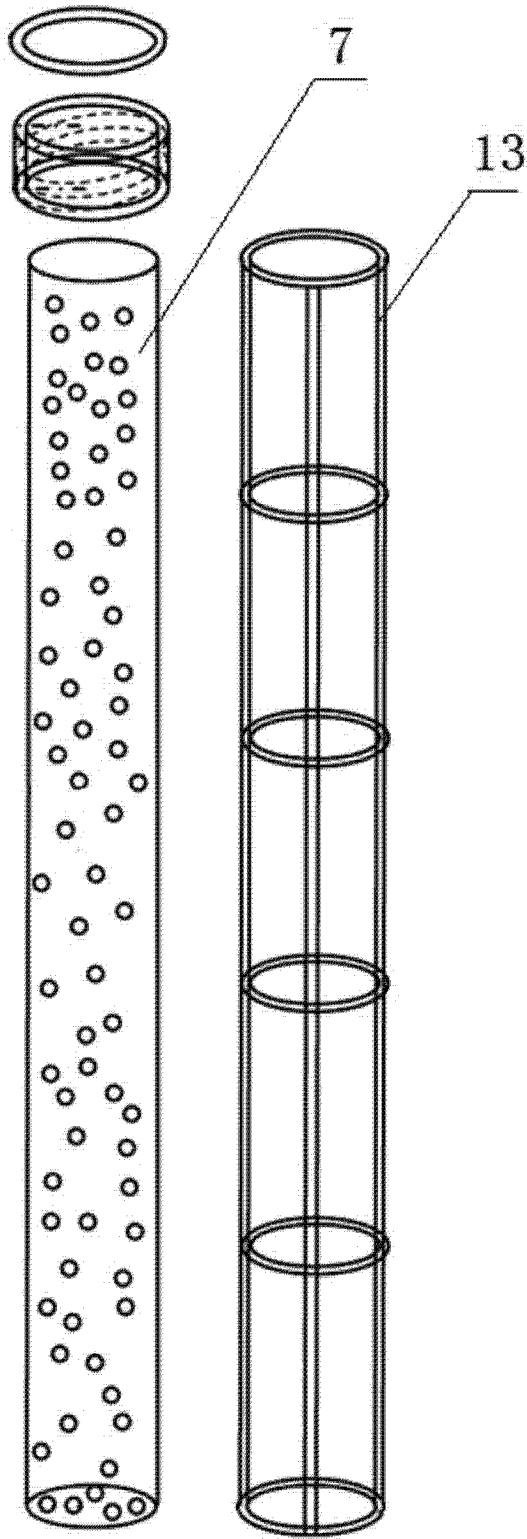


图 4

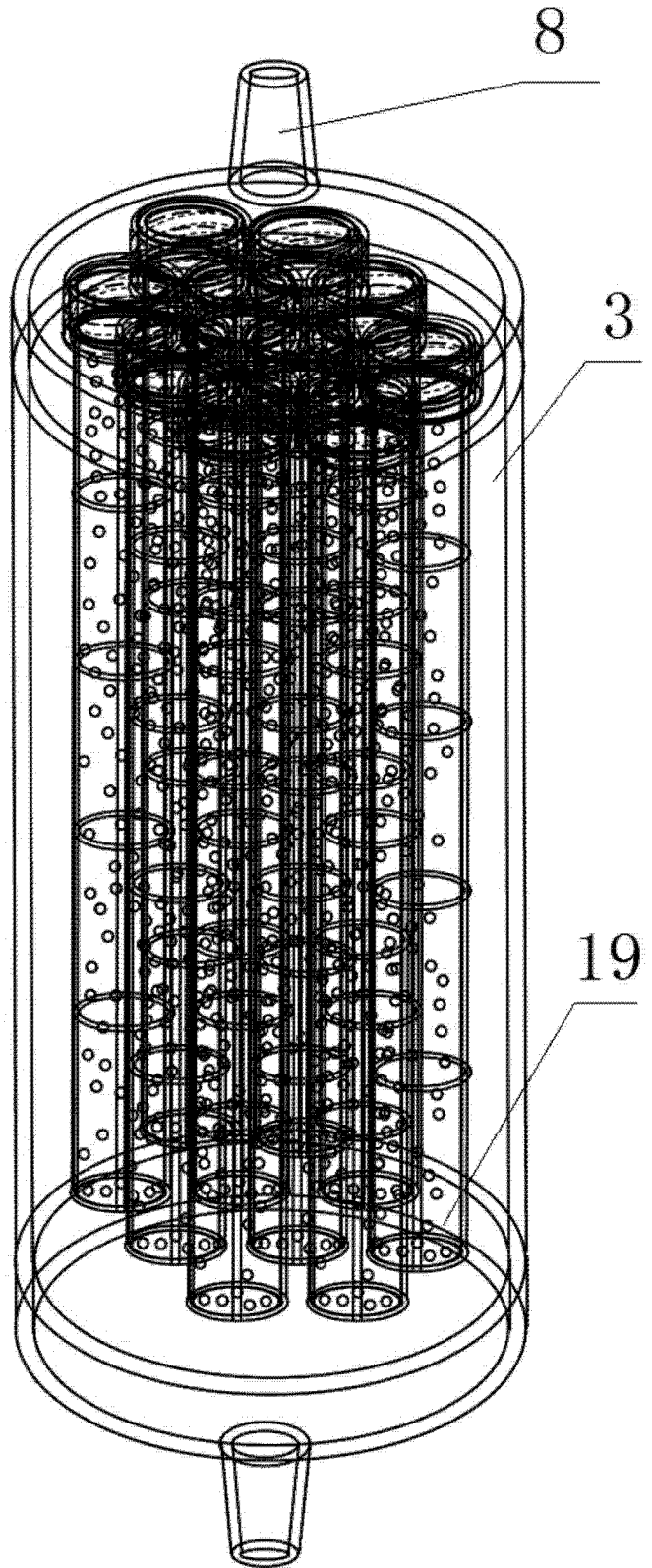


图 5

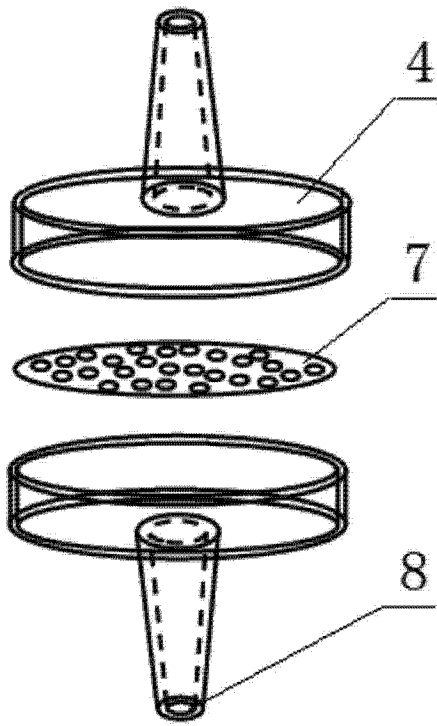


图 6

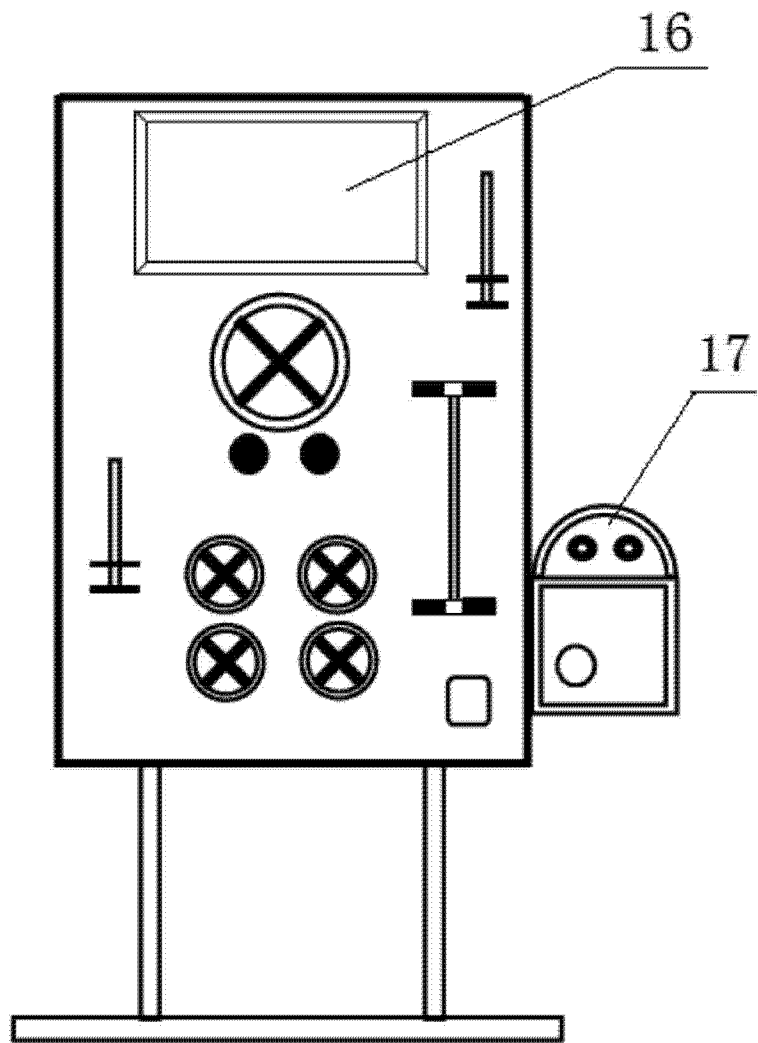


图 7

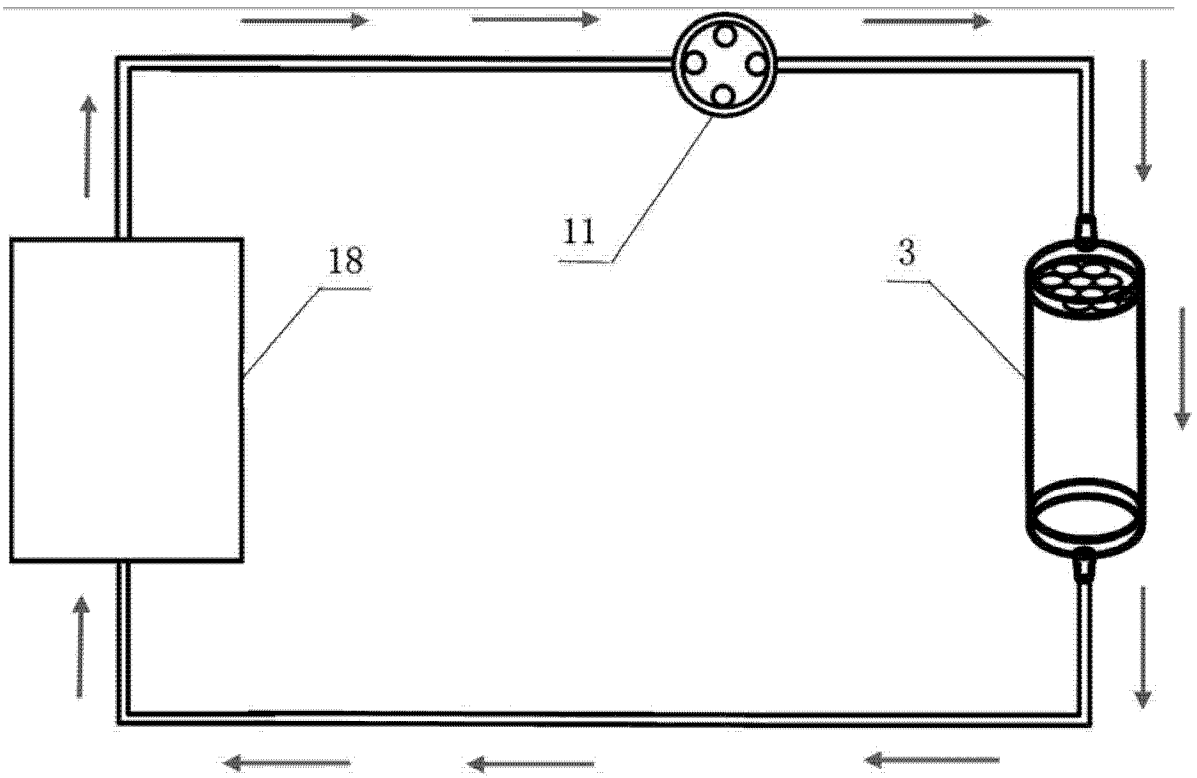


图 8

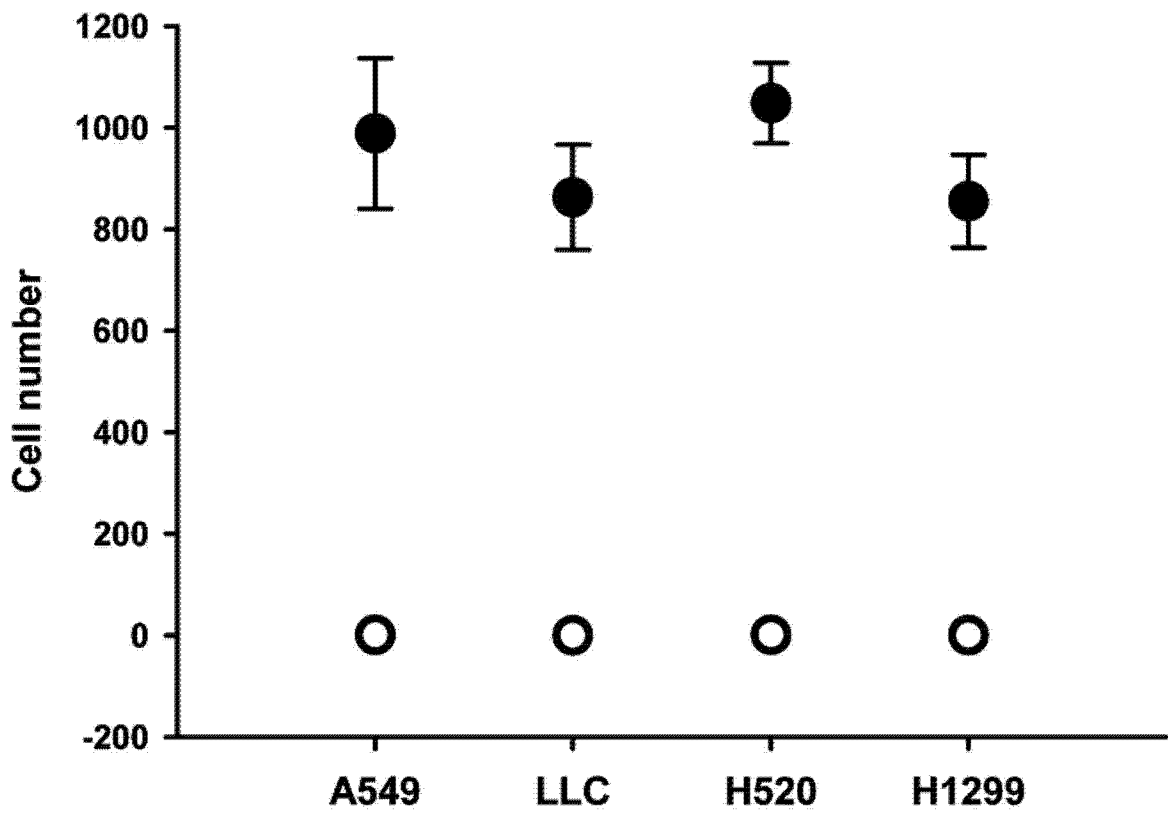


图 9