

1166/93

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

33048

1993

Képviselő:
DANUBIA Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
Budapest

A"

NSZOG

65550

C12M 1/54

G01N 33/49, 33/50

ELJÁRÁS ÉS BERENDEZÉS SEJTEK CSOPORTJÁNAK VIZSGÁLATÁRA

COULTER CORPORATION,

Miami

Florida

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

Feltalálók:

RUSSELL, Thomas

Miami

Florida

HUDSON, James Carey

Miami

Florida

COULTER, Wallace H.

Miami Spring

Florida

RODRIGUEZ, Carlos M.

Miami

Florida

HAJEK, Constance Mary

Miami Lakes

Florida

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A bejelentés napja: 1991. 11. 22.

Elsőbbsége: 1990. 11. 23. (617,075)

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

Nemzetközi közzététel: WO 92/09682 (1992. 06. 11.)

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US91/08590

A találmány tárgya eljárás és berendezés sejtek csoportjának vizsgálatára. A találmány szerinti eljárás megvalósítása során legalább egy vizsgálandó sejtcsoportot legalább egy más sejtcsoportok által elfedett tulajdonságú sejtpopulációt tartalmazó mintában vizsgálatnak vetjük alá, míg a javasolt berendezés legalább egy vizsgálandó
5 sejtcsoportnak legalább egy más sejtcsoportok által elfedett tulajdonságú sejtpopulációt tartalmazó mintában való vizsgálatára alkalmas elemzőt tartalmaz. A találmány értelmében fényszórás vizsgálatával és adott esetben ezt elektronikus érzékelő eljárással kiegészítve sejtek egy meghatározott csoportjának jellemzőit állapítjuk meg. A találmány lényegében egy sejtpopulációban jelen levő, de azonosításra váró egy vagy
10 több sejtcsoport elemzését tűzi ki célul, amikoris monoklonáris antitestekkel összekapcsolódó mikrogömböket használunk fel abból a célból, hogy a sejtek adott csoportjainak érzékelt karakterisztikáit megváltoztassuk és a változtatás eredménye alapján a sejtpopulációban egy kijelölt sejtcsoport elemeinek sejtjeit megkülönböztethessük.

A találmány olyan automatizált elemző berendezésre és automatizálható
15 elemző eljárásokra vonatkozik, amelyekkel biológiai sejtek vagy sejtyszerű képződmények követhetők, a sejtpopulációt alkotó elemek megszámlálhatók és kutatási, diagnosztikai, gyógyászati vagy ipari célokra a sejtek egy adott karakterisztikája megmérhető. Az automatizált elemző berendezések és a találmány szerinti eljárást megvalósító megoldások lehetővé teszik sejtek és sejt képződmények többoldalú osztályozását
20 a sejtek és a sejt szerű képződmények funkcionális fenotípusának meghatározását, a leukémiás, a limfómás és a szilárd sejtek osztályozását, mivel az optikai és adott esetben az elektronikai vizsgálati eljárások sajátos kombinációja révén a biológiai molekulák, közöttük az antitestek jellegzetességei meghatározhatók, a sejtek és a sejt szerű képződmények kiválaszthatók (szűrhetők) és szelektív módon megszámlál-
25 hatók.

Az emberi szervezetből, mégpedig a perifériás vérből vett minta szokásos rutinvizsgálata során a teljes vérsejtelemzést automatizált módszerekkel lehet elvégezni, amihez például a Coulter Electronics, Inc. (Hialeah, Florida, USA) cég Coulter Counter Model A elnevezés alatt automatizált vérsejtszámlálót fejletstett ki. A készülék maga a részecskék elektronikus érzékelésére kidolgozott és a Wallace H. Coulter
30 nevére 1953. október 20-án engedélyezett US-A 2,656,508 Isz. US szabadalom leírásában először ismertetett eljárásra épül, amely eljárás mellett az említett szabadalom az azt hasznosító berendezést is bemutat. Az érzékelés alapelvét a későbbiekben továbbfejlesztették és ennek eredményeként egyre bonyolultabb felépítésű berendezéseket dolgoztak ki. Ilyenek például a Coulter Counter Model S elnevezésű készülékek,
35 amelyek a teljes vérsejtelemzés paramétereinek meghatározása mellett képesek az abszolút sejtszámot megmérni, a lemezkék számát és a morfológiát megállapítani,

követni a vörösvérsejtek morfológiáját, és megfelelő számítógépes programok alapján a normálisnak tekinthető és az attól eltérő perifériás vérminták elemzési eredményeit kijelzik.

A részecskék érzékelésére kidolgozott Coulter-féle elektronikus eljárás lényege olyan nyíláshoz rendelt érzékelő áramkör felhasználása, amelynél a nyílás egyenáramú tápforrásra van kapcsolva. Az érzékelésnek ez a lehetősége igen egyszerűen ültethető át a gyakorlatba, a módszer maga rendkívül rugalmas és megbízható, amit az is bizonyít, hogy a Coulter cég által gyártott Coulter Counter típusú automatikus elemző készülékeket a különböző klinikák és kórházak laboratóriumaiban mind az Egyesült Államokban, mind a világ számos országában széles körben használják. A nyílásérzékelésnek az előbb említett szabadalom leírásában bemutatott módszerét a Wallace Coulter és Walter Hogg nevére 1970-ben engedélyezett US-A 3,502,974 Isz. US szabadalom leírása szerint továbbfejlesztették, mégpedig az áramkör minőségi jellemzőinek javításával. Az addigra már elfogadott egyenáramú érzékelő nyílás mellett ez a szabadalom nagyfrekvenciás áram alkalmazását is javasolja, aminek révén a vizsgált sejtek egy további paraméterének értéke határozható meg és ezzel a sejtosztályozás megbízhatósága javul. A nagyfrekvenciás áram hatására olyan impulzusok képződnek, amelyek a vérsejtek anyagának vezetőképességére és a vérsejtek térfogatának nagyságára jellemzők. A különböző áramjeleket különböző nyílásokra vezetik és az egyenáramú érzékelő nyílásnál mért hagyományos egyenáramú jelamplitúdó a sejt térfogatának indikációjaként szolgál. A nagyfrekvenciás áramot rádiófrekvenciás tartományba eső frekvenciával gerjesztik és a két jelet egymással váltakozóan állítják elő, nagy sebességű osztóáramkört alkalmaznak ahhoz, hogy olyan hányadost nyerjenek, amely a sejt térfogatának és belső ellenállásának arányát hordozza és amit a szakirodalom opacitásnak nevez. Az említett feltalálók ezt a gondolatot az US-A 3,502,973 Isz., 1970-ben engedélyezett US szabadalomban szintén kifejtették. Az opacitás a sejtek osztályozására kidolgozott rendszerek igen fontos paramétere. Az opacitás megállapítására egyetlen nyílás is elegendő lehet, de adott esetben két, egymástól elválasztott nyílást használnak.

A különböző sejtpopulációk osztályozás útján történő elemzését az adatgyűjtés előzi meg, amikor is az előállítás ütemét figyelembe véve a jeleket páronként egymáshoz rendelik és tárolják. Az egyik mérés eredményeként a részecskék térfogatára, a másiktól pedig a sejtek belső ellenállóképességére és/vagy opacitására kapnak adatot. A két adatsort általában kétdimenziós grafikonon ábrázolják. Ilyen grafikont mutat be például a Melamed Melaney és Medelsohn által szerkesztett Flow Cytometry and Sorting című könyv 371. oldala (John Wiley and Sons, New York, N.Y., 1979).

A Coulter-féle elektronikus szemcse-, illetve sejterzékelési módszert eredeti rendeltetése szerint vörösvérsejtek számlálására fejlesztették ki és azt többé-kevésbé bonyolult lépéseken keresztül használták ki a vér és a vörösvérsejtek további paramétereinek meghatározására. Ha az emberi testből vett perifériás vérmintából a vörösvérsejteket eltávolítják, a fehérvérsejtek populációjának paraméterei jól mérhetővé válnak, amihez azonban akkor kell hozzákezdeni, amikor a vörösvérsejtek eltávolítása miatt a visszamaradó fehérvérsejtek tulajdonságai lényegében még nem változtak meg és a fehérvérsejtek populációjának jellemzői alapvetően változatlanok maradtak. A vizsgálatok céljaira a vörösvérsejteket lizáló reagenseket fejlesztettek ki, amelyek ugyan hasznosak és széles körben felhasználhatók, mégsem teljes mértékben kielégítőek, mivel jelenlétük, illetve felhasználásuk a fehérvérsejteken későbbiekben végzendő vizsgálatok eredményeit befolyásolja.

A leukocyták mérésére kizárólag az egyenáramú módszereket, illetve a különböző szög alatti megvilágítás esetén fellépő fényszórás jelenségeit hasznosító átfolyós elemzés korábbi lehetőségei révén kiderült, hogy a leukocytáknak három alapvető csoportja van, mégpedig a lymphocytáknak, monocytáknak, granulocytáknak megfelelő csoportok, és ez utóbbi a neutrophil leukocyták, a lúggal festődő (basophil) sejtek és az eozinnal festődő (eozinophil) sejtek populációit tartalmazza. Az eosinophil sejtek populációjának koncentrációjára vonatkozóan néhány minta alapján már lehet durva, de mégis jól hasznosítható becslést adni. Az ötödik alapvető populáció, mégpedig a basophil sejtekből álló populáció viszonylag kicsi és ezért ezzel a módszerrel nem vizsgálható.

Az emberi testből vett perifériás vérmintákból készített kenetek vizsgálata alapján megállapított anomáliák további elemzése szempontjából igen fontosak az immunológiai vizsgálatok. Ez esetben nagyon lényeges, hogy a leukémia aktuális altípusát meghatározzassuk, mivel ennek alapján a betegség gyógyításának, illetve kezelésének módszere biztonságosabban választható meg és az adott beteg vonatkozásában a lehető legpontosabb prognózist lehet felállítani. Az akut leukémia néhány változatánál a perifériás vérmintában a magvas vörösvértestek rendkívül magas száma figyelhető meg. Ezek a fejletlen sejtyszerű képződmények nehezen osztályozhatók, lehetnek lymphocyta vagy granulocyta jellegűek, a differenciálásra alkalmas jegyek sok esetben teljes mértékben hiányoznak. Ha a magvas vörösvértestek alpopulációja, amely különösen gyorsan képes szétterjedni, a T11 receptor hordozójaként tűnik fel, a leukémiát akut lymphoblastos leukémiaként, T-sejt típusú fehérvérűségként lehet osztályozni. Az akut lymphoblastos leukémia T-sejtektől származó változata sokkal rosszabb gyógyulási esélyt ad, mint a B-sejtektől származó változat. A fehérvérűségnek ezeket a változatait még tovább a differenciáltság különböző szintje szerint lehet

csoportosítani, erre azonban általánosan elfogadott kritériumokat mindeddig nem állapítottak meg. A I és a II csoportba tartozó betegségeknek olyan antigénekkal találkozhatunk, amelyek a korai thymusos prekursor sejteknél fordulnak elő, ezzel szemben a III csoportban expresszált antigének a kifejlett T-típusú sejteknél megtalálható felületi antigénekhez hasonlóak. A leukémiás sejteken expresszált felületi antigének jelenlétére vonatkozó információk igen hasznosak a gyógyulás esélyeinek meghatározása és a megfelelő kezelési mód kiválasztása szempontjából.

Az immunológiai kísérleteket a kutatások első időszakában optikai mikroszkóp felhasználásával végezték, amelyek segítségével a lymphocyták egy adott tulajdonságú osztályát próbálták meghatározni. Coombs és társai 1970-ben figyelték meg, hogy az emberi lymphocyták és a juhok vörösvérsejtjei között rozettaszerű képződmény alakul ki. A későbbi vizsgálatok azt bizonyították, hogy a thymusos eredetű lymphocyták (T-típusú sejtek) mindegyike vagy legalábbis legnagyobb része megfelelő feltételek között szintén a rozetta alakú képződmény kialakulását mutatja. Ezekben a vizsgálatokban a Ficoll-féle izolált lymphocytákat használták és ezek segítségével hosszú időn keresztül a csoportok azonosítását rutinszerűen végezték, mégpedig fénymikroszkóp felhasználásával, szétválasztott lymphocytákon.

A lymphocyták részcsoportjait a korszerű diagnosztikai technikák szerint rendszeresen fluoreszcens megjelölés útján határozzák meg, amikor is sejtek egy mintájában a kiválasztott sejteket fluoreszcens fényben észlelhető monoklonális antitestekkel jelölik meg. A fluoreszcens fényben észlelhető monoklonális antitestek a vizsgálandó antigénhez kapcsolódnak, a sejteknek az antigént expresszáló felületén. A mintát ezután fluoreszcens mikroszkóp látómezőjében elemzik vagy erre a célra igen bonyolult felépítésű átfolyósos cytometriás készüléket alkalmaznak. Az átfolyósos cytometriás készülék esetében problémát jelent, hogy a minta előkészítéséhez, az adatok összegyűjtéséhez és a nyert mérési eredmények elemzéséhez különlegesen képzett szakosodott műszaki szakemberre van szükség. Az átfolyósos cytometriás készülék lézert és bonyolult szerkezetű optikai elrendezést tartalmaz, hozzá nagyteljesítményű számítógép, elektromos tápellátó és folyadékáramoltató rendszer tartozik. Az átfolyósos cytometriás készülék részrendszereit gondosan karban kell tartani és rendszeresen, még hozzá viszonylag gyakran hitelesíteni kell. Az átfolyósos cytometriás készülékek alapvető rendeltetése a lymphocyták csoportjainak meghatározása, az erre szolgáló eljárás azonban abból a szempontból hátrányos, hogy maga a készülék igen költséges és megbízható üzemeltetése magasan képzett személyzetet kíván.

Egy másik lehetőség szerint a lymphocyták részcsoportjait egyéb automatizált készülékekkel és automatizálható eljárásokkal szintén meg lehet határozni. A Coulter

Electronics cég az 1990. szeptember 20-án kelt 587,646 alapszámú folytatólagos bejelentéssel javított, 1987. március 13-án 025,345 alapszámon az USA szabadalmi hivatalánál benyújtott bejelentésével helyezte oltalom alá sejtek vagy sejszerű képződmények szűrését biztosító automatikus elemzőt és módszert bemutató találmányát, amelynél egy vagy több adott karakterisztikát expresszálo populációk számbavételével végzik a vizsgálatot. Az erre a bejelentésre alapozott PCT-bejelentést WO 88/07199 számon 1988. szeptember 22-én tették közzé. Az eljárás alapját az elektronikus érzékelő nyílások felhasználása jelenti, a kiválasztott biológiai molekulák alapján pedig lehetőség nyílik a sejtek vagy a sejszerű képződmények populációinak elemzésére és/vagy számlálására, továbbá a mikroszkópikus részecskeelemzés lefolytatására. Az automatikus analizáló készüléket különleges lizáló reagenssel együtt használják, vagy egy másik lehetőség szerint különböző összetételű támaszokon vagy mikroszkópikus mikrogömbökön antitesteket kötnek meg és ez biztosítja a szelektivitást.

15 Az előbb vázolt megoldás továbbfejlesztéseként lehetővé vált olyan eljárás kidolgozása, amely a teljes vérminta közvetlen vizsgálatából biztosítja a kiválasztott részcsoporthoz meghatározását. A jelen találmány bejelentőjének ezt az 1988. december 16-án 285,856 alapszámon benyújtott, "Eljárás és berendezés kiválasztott jellemzőket expresszálo populációkat tartalmazó sejtek és sejszerű képződmények szűrésére" című US bejelentésére alapozott PCT-bejelentést 1990. december 7-én WO 90/07259 számon tették közzé.

Egy még újabb továbbfejlesztési eredmény szerint, amit a jelen találmány bejelentőjének 1989. április 14-én benyújtott 339,156 alapszámú US szabadalmi bejelentésre alapozott, "Eljárás és berendezés kiválasztott jellemzőket expresszálo populációkat tartalmazó sejtek és sejszerű képződmények szűrésére legalább egy érzékelési paraméter kihasználásával" című, 1990. november 1-jén WO 90/13013 számon közzétett PCT-bejelentés mutat be, a fehérvérsejtek ötrészes vagy még több részből álló megkülönböztető jellemzőit vizsgálják, a lymphocyták részcsoportjait és egymást fedő meghatározásokat végeznek teljes vérminta alapján, illetve vörösvérsejteket és/vagy fehérvérsejtekből álló sejtpopulációkat tartalmazó mintán, amelyeket úgy állítanak elő, hogy egy vagy több optikai vagy elektronikai paraméter alapján a sejtpopulációk egy részét és/vagy a sejtek egyes részcsoportjait eltávolítják.

Egy még további megoldásban, amit a jelen találmány bejelentőjének 1990. május 17-én benyújtott 07/525,231 alapszámú US szabadalmi bejelentésre alapozott, "Eljárás és berendezés elfedett vagy részben elfedett tulajdonságú sejtek szűrésére" című, 1991. november 28-án WO 91/18086 számon közzétett PCT-bejelentés mutat be, azt javasolják, hogy az azonosítatlan sejtek elemzése céljából specifikus

monoklonális antitesteket megkötvé tartalmazó mikrogömböket hasznosítsanak, aminek eredményeként az azonosítatlan sejtek egy adott érzékelési karakterisztikája a sejtpopuláció által eredetileg elfoglalt területről egy másik területre tolható át.

5 Az 1987. március 13-án bejelentett 025,442 alapszámú, majd 1987. december 4-én 129,954 alapszámon módosított és kiegészített US bejelentésben, amelyet a rá alapozott PCT-eljárásban 1988. szeptember 22-én WO 88/07198 szám alatt, "Többrészes differenciális elemző készülék fényszórási technikák felhasználására" címen tettek közzé, a jelen találmány bejelentője javított jellemzőket mutató hematológiai analitikus készüléket és analitikai eljárásokat mutatott be. A bejelentés
10 fényszórási technikára épülő és többrészes differenciális elemzést végző eljárásokat, illetve műszereket ismertet. A hematológiai készülék a fényszórás és az elektronikus érzékelés alapján a fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció leukocytáira (L) több tényezőt figyelembe vevő differenciálást tesz lehetővé. Ez a hematológiai készülék azonban a leukocyták részcsoportjainak differenciálására nem alkalmas, mivel a L leukocytákból
15 álló sejtpopulációban ezek a részcsoportok azonosítatlanul maradnak.

A fentiekben vázolt és a vérminták elemzésére szolgáló eljárások számos kívánnivalót hagynak maguk után, mivel több sejtpopuláció tulajdonságai fedettek maradnak, azonosításuk nehézségekbe ütközik. Ezért igény mutatkozik az ismert eljárások és automatikus elemző berendezések továbbfejlesztésére.

20 Találmányunk célja ennek az igénynek a kielégítése.

A találmány alapját többrétű felismerés jelenti. Ennek elemeit a következőkben foglaljuk össze.

A mikroszkópikus részecskéknek a sejtpopulációban levő sejtekben levő sejtekhez való szelektív hozzárendelése lehetővé teszi, hogy a sejtpopulációk közül
25 legalább egynek az eredeti elhelyezkedéséért felelős paraméter(ek)e)t módosítsák. Ha a mikroszkópikus részecskék közül a sejtekhez többet rendelünk hozzá, akkor a vizsgálandó sejtpopulációban ezzel a kiegészítéssel a térfogat és/vagy az opacitás mért értékeiben változást idézünk elő, aminek eredményeként a sejtpopulációt képviselő mérési diagramban a megfelelő adatokat hordozó mezők eltolódnak.

30 Az ismert hatású antitesteket a mikroszkópikus részecskék bevonatának kialakításához fel lehet használni. A bevonat jelenléte miatt a részecske képessé válik arra, hogy egyes cellákhoz szelektív módon kapcsolódjon, még hozzá azokhoz, amelyek az antitesttel szemben specifikus antigének expresszáására alkalmasak. A bevont vagy esetleg jelöltnek nevezett sejtek ezért a mikroszkópikus részecskék és az
35 adott sejt kombinációi, amelyek lényegében új egységként jelentkeznek. Opacitási, térfogati vagy mindkét jellemzőre vonatkozó paramétereik alkalmasak arra, hogy a sejteknek és a részecskéknek a kapott jelekre kifejtett hatását képviseljék. Ha az

összetevők karakterisztikái eltérnek, ez az új egység a fényszórással végzett mérések eredményeit összefoglaló diagramon új pozícióba kerül át, mégpedig a rá gyakorolt befolyásoló hatásnak megfelelően. Az új pozíció az előzővel szemben, amely csak magára a módosítatlan sejtre volt érvényes, lehetővé teszi, hogy az új egységet vagy az új egységekből álló csoportokat osztályozhassuk. Ha a sejtekhez kapcsolódó részecskék mágneses jellegűek, akkor a jelenlegi gyakorlatnak megfelelően természetesen adódik az a lehetőség, hogy az új egységeket mágneses térbe helyezve, a mágneses jellemzők felhasználásával gyűjtsék be. Gyors keverés esetén elérhető az a teljesen váratlan eredmény, hogy az adott jelölt sejtpopuláció szinte teljes mértékben kiszűrhetővé válik, anélkül, hogy a vizsgálandó sejtek tulajdonságaiban bármiféle lényeges változás következne be.

A vizsgálandó perifériás vérmintákból nagyobb nehézség nélkül csak három egymástól elváló sejtpopulációt lehet azonosítani és megszámlálni. Erre a célra az egyenáramú mezőben kialakuló jellegzetes és egyedi tulajdonságaik alkalmasak, az opacitási paraméterek is fontosak. A javított lizáló rendszerek felhasználása további előnyt jelent, mivel ezzel az előzőeken túlmenően egyéb sejtpopulációk is észlelhetők, illetve számlálhatók. Az egyébnek nevezett sejtpopulációk a három egymástól elváló sejtpopuláció alcsoportjait jelentik, mégpedig a lymphocyták, a monocyták és a granulocyták alcsoportjait. A találmány értelmében olyan megoldást javasolunk, amelynek révén a három alapvető sejtpopulációból az említett alpopulációkat ki lehet választani.

A találmány feladata olyan eljárás és berendezés kidolgozása, amely egy adott sejtpopulációban levő azonosítatlan egy vagy több sejtcsoport kijelölésére, például fehérvérsejtekből álló populációban egy vagy több részecssoport biztos meghatározására alkalmas. A vizsgálandó sejtcsoportot felismerésünk szerint mikrogömbös eljárással lehet számbavenni, ahol a mikrogömbök monoklonális antitesteket hordoznak és ezek alkalmasak az egyes sejtcsoportok érzékelési karakterisztikáinak módosítására, amin keresztül a vizsgált sejtcsoport az azt elfedő azonosítatlan sejtpopulációból kiválasztható.

A találmány értelmében teljes vérminta vagy egy része választható, illetve szűrhető ki úgy, hogy ezzel lehetővé váljon a fehérvérsejtek keresett részének elemzése. A minta egy részét az eljárás megvalósítása során a fehérvérsejtek vizsgálandó csoportjával szemben specifikus monoklonális antitesteket hordozó mikrogömbökkel keverjük ki, a kikeverés feltételeit úgy választjuk meg, hogy a mikrogömbök a vizsgálandó sejtekkel összekapcsolódjanak, vagyis az utóbbiak érzékelési karakterisztikáját megváltoztassák, eltolják. A fehérvérsejteket tartalmazó mintának a vizsgált részét ezt követően legalább két paraméter értékét vizsgálva elemezzük, a két paraméter közül

az egyik a fényérzékeléssel kapcsolatos, majd a fehérvérsejtek vizsgált csoportjának karakterisztikájában bekövetkező változásokat észleljük. A megfelelő lépéseket végrehajtva a vizsgált sejtek karakterisztikája elegendő mértékben változik, illetve tolódik el ahhoz, hogy ezek a sejtek észlelhetővé váljanak. Ezzel a módszerrel egymást átfedő jellemzőket mutató sejtpopulációk ugyancsak vizsgálhatók.

Egy másik lehetőség szerint először a minta egy részét vizsgáljuk, azután abból a sejtek egy részét eltávolítjuk és ezzel hozzáférést biztosítunk a vizsgálandó sejtekhez, mégpedig abban a mérési és/vagy érzékelési tartományban, amelyet egyébként az eltávolított sejtek elfednének. A mintának a kijelölt részét ezt követően újból mérésnek, illetve érzékelésnek vetjük alá és az így kapott eredményeket az előzőekkel összehasonlítva vonhatunk le a vizsgált sejtcsoportra vonatkozó következtetéseket. A teljes vérmintában a vizsgált sejtek csoportja kialakítható például a kifejtetlen sejtekből vagy a fehérvérsejtek teljes sejtpopulációjában levő olyan sejtekből, amelyeket egyébként a fehérvérsejtek populációja elfedne.

A kitűzött feladat megoldásaként sejtek csoportjának vizsgálatára szolgáló eljárást és berendezést dolgoztunk ki. A javasolt eljárásban legalább egy vizsgálandó sejtcsoportot, különösen teljes vérmintából kiválasztott fehérvérsejtekből álló sejtpopulációt vagy annak legalább egy részpopulációját, mint legalább egy más sejtcsoportok által elfedett tulajdonságú sejtpopulációt tartalmazó mintát elemzésnek vetünk alá. A találmány értelmében a minta legalább egy részében a vizsgálandó sejtcsoportot a benne levő sejtek egy legalább egy részének érzékelési karakterisztikáját megváltoztató behatásnak vetjük alá oly módon, hogy a kiválasztott sejtcsoportba eső sejtek legalább egy sajátos molekulájával szemben specifikus reagenst megkötő, a vizsgálandó sejtcsoportba tartozó sejteknél sokkal kisebb méretű mikrogömbökkel az elfedett tulajdonságú sejtpopulációt érintkeztetve a vizsgálandó sejtcsoporttól az utóbbit karakterisztika szerint elválasztjuk, a mikrogömböket a minta legalább egy részével összekeverjük, ezzel a vizsgálandó sejtcsoportnak a mintában levő sejtjeivel a mikrogömböket összekapcsoljuk és a mikrogömbökkel kapcsolódó sejtpopulációba tartozó vizsgálandó sejtek legalább egy érzékelési karakterisztikáját megváltoztatjuk vagy eltoljuk, a sejteket lényegében egyszerre legalább egy érzékelési zónán engedjük át, a minta vizsgált részében az egyedi sejteket legalább két paraméter és közöttük fényszórási jellemzőik alapján érzékeljük, illetve számláljuk, majd a legalább két érzékelési paraméter alapján a sejtek legalább kétdimenziós karakterisztikáját felvázoljuk és ennek alapján a kiválasztott sejtcsoportra vonatkozó következtetéseket teszünk.

Különösen előnyös a találmány szerinti eljárásnak az a megvalósítási módja, amelynél érzékelési paraméterként legalább egy fényszórásra épülő optikai paramétert és legalább egy elektronikai paramétert választunk, amit célszerűen úgy hajtunk

vége, hogy a sejtek érzékelésénél fényszórást és legalább két elektronikusan érzékelhető paramétert vizsgálunk. Az említett három érzékelési paraméter alapján kedvező kiértékelési feltételek jönnek létre, mivel legalább kétdimenziós karakterisztikát lehet felállítani és ebből a vizsgálandó sejtcsoport százalékos részaránya az adott jelenség létrehozásában megállapítható.

A vérminták elemzésénél különösen célszerű a a találmány szerinti eljárásnak az a megvalósítási módja, amelynél a reagenseket és antitesteket a vizsgálandó sejtcsoport sejteinél monoklonális antitestek formájában visszük be és ezzel a molekulákat specifikusan módosítjuk.

A találmány célját igen jól szolgálja az a megvalósítási mód, amelynél a mintát teljes vérmintaként hozzuk létre, ebben a fehérvérsejtek legalább egy elfedett tulajdonságú csoportját vizsgáljuk és a vizsgálandó sejtcsoportot a fehérvérsejtek egy adott sejtpopulációjaként határozzuk meg. Ez esetben célszerű, ha az érzékelési karakterisztikát a fehérvérsejtek sejtpopulációjának adott részével szemben specifikus molekulára specifikus reagenssel megkötött mikrogömbök beadagolásával módosítjuk, amihez a mikrogömböket a minta kiválasztott részével összekeverjük, a fehérvérsejtek kiválasztott populációját a mikrogömbökkel összekötjük és ennek révén a fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció adott részének legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltoljuk. Az előbb vázolt lehetőséget alkotó módon fejleszthetjük tovább azzal, ha a reagenseket monoklonális antitestek formájában, a specifikus molekulákat a fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció vizsgált részével szembeni antigének formájában biztosítjuk.

A monoklonális antitestek, illetve az antigének alkalmazása során igen előnyös a találmány szerinti eljárásnak az a megvalósítási módja, amikor a fehérvérsejtek sejtpopulációjából egy adott első rész karakterisztikáját az adott első részbe tartozó fehérvérsejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel összekötött mikrogömbök beadagolásával módosítjuk és a mikrogömböket a mintával összekeverjük, amivel a mikrogömböket a fehérvérsejtek adott első részével összekapcsoljuk és ennek az adott első résznek az érzékelési karakterisztikáját eltoljuk. A vizsgálati eredmények megbízhatóságát javítja, ha a fehérvérsejtek sejtpopulációjából egy adott második rész karakterisztikáját a minta egy második adagjában az adott második részbe tartozó fehérvérsejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel összekötött mikrogömbök beadagolásával módosítjuk és a mikrogömböket a mintával összekeverjük, amivel a mikrogömböket a fehérvérsejtek adott második részével összekapcsoljuk és ennek az adott második résznek az érzékelési karakterisztikáját eltoljuk.

Ez utóbbi esetben különösen előnyös a találmány szerinti eljárásnak az a megvalósítási módja, amelynél a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az adott első és

második rész karakterisztikáját a minta egy harmadik adagjában mikrogömbök két sorozatával módosítjuk, amihez a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az adott első résszel szemben specifikus antitestekkel összekapcsolt mikrogömböket, valamint a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az adott második résszel szemben specifikus monoklonális antitestekkel összekapcsolt mikrogömböket használunk, a mikrogömböket a mintával összekeverjük, ezzel a sejtpopulációból az első és a második adott részt megköttük, legalább egy-egy érzékelési karakterisztikát mind az adott első, mind az adott második résznél módosítunk, a minta első adagjában, a minta második és harmadik adagjában végzett vizsgálatok eredményeit összehasonlítjuk és ezzel a fehérvérsejtek adott első és második részére kapott átfedési százalékos arányokat meghatározzuk.

A hematológiai vizsgálatok esetében sokrétűen alkalmazható a találmány szerinti eljárásnak az a megvalósítási módja, amelynél a fehérvérsejtek CD2, CD4, illetve CD8 jelű sejteinek karakterisztikáit a fehérvérsejtek CD2, CD4, illetve CD8 jelű sejtek populációjával szemben specifikus monoklonális antitesteket megköttve tartalmazó mikrogömbökkel módosítjuk, miután a mikrogömböket a mintával összekevertük és a CD2, CD4, illetve CD8 jelű sejteket megköttöttük, amivel a CD2, CD4, illetve CD8 jelű sejteket tartalmazó rész legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltoljuk.

A vizsgálati eredmények felhasználhatóságát és kiértékelhetőségét javítja, ha a találmány szerinti eljárást célszerűen úgy valósítjuk meg, hogy a fehérvérsejtek sejtpopulációjából a CD4 és CD8 jelű, vagy CD2 és CD8 jelű, illetve CD2 és CD4 jelű sejteket tartalmazó első és második rész karakterisztikáját a minta egy harmadik adagjában mikrogömbök két sorozatával módosítjuk, amihez a fehérvérsejtek sejtpopulációjából rendre a CD4 és CD8 jelű, vagy CD2 és CD8 jelű, illetve CD2 és CD4 jelű sejteket tartalmazó első és második résszel szemben specifikus antitestekkel összekapcsolt mikrogömböket használunk, a mikrogömböket a mintával összekeverjük, ezzel a sejtpopulációból a CD4 és CD8 jelű, vagy CD2 és CD8 jelű, illetve CD2 és CD4 jelű sejteket tartalmazó első és második részt a mikrogömbökkel összeköttük, legalább egy-egy érzékelési karakterisztikát mind az adott első, mind az adott második résznél módosítunk, a minta első adagjában, a minta második és harmadik adagjában végzett vizsgálatok eredményeit összehasonlítjuk és ezzel a fehérvérsejtek adott első és második részére kapott átfedési százalékos arányokat meghatározzuk.

A fehérvérsejtekre vonatkozó vizsgálati eredmények értékelhetőségét javítja, ha a találmány szerinti eljárásban célszerűen a vörösvérsejteket tartalmazó teljes vérmintából a vörösvérsejtek populációját előzetesen eltávolítjuk és eközben a fehérvérsejtek populációját alkotó sejtek minőségi és mennyiségi jellemzőit lényegében változatlanul hagyjuk.

Ugyancsak az érzékeléssel, illetve számbavétellel kapott eredmények felhasználhatóságát és megbízhatóságát javíthatjuk a találmány szerinti eljárásnak azzal a megvalósítási módjával, amelynél a minta egy első adagját az érzékelési karakterisztika módosítása előtt előzetes érzékelési műveletnek és előzetes számlálásnak vetjük alá, majd a módosított karakterisztika szerinti vizsgálat után a kapott eredményeket az előzetes érzékelési művelet és az előzetes számlálás eredményeivel összehasonlítjuk.

A kitűzött feladat megoldásaként létrehozott, és alapvetően a fentiekben vázolt eljárás megvalósítására szolgáló berendezés legalább egy vizsgálandó sejtcsoportnak legalább egy más sejtcsoportok által elfedett tulajdonságú sejtpopulációt tartalmazó mintában való vizsgálatára alkalmas elemzőt tartalmaz, és a találmány értelmében a minta legalább egy részében a vizsgálandó sejtcsoportot a benne levő sejtek egy legalább egy részének érzékelési karakterisztikáját megváltoztató behatásnak alávető olyan első eszközzel van ellátva, amelyben a kiválasztott sejtcsoportba eső sejtek legalább egy sajátos molekulájával szemben specifikus reagenst megkötő, a vizsgálandó sejtcsoportba tartozó sejteknél sokkal kisebb méretű mikrogömbökkel az elfedett tulajdonságú sejtpopuláció érintkezik, továbbá a vizsgálandó sejtcsoporttól az elfedett tulajdonságú sejtpopuláció karakterisztika szerinti elválasztásához a mikrogömböket a minta legalább egy részével összekeverő tér van kiképezve, amelyhez előnyösen keverő kapcsolódik és amelyben a vizsgálandó sejtcsoportnak a mintában levő sejtjei a mikrogömbökkel összekapcsolódva vannak elrendezve és a mikrogömbökkel kapcsolódó sejtpopulációba tartozó vizsgálandó sejtek legalább egy megváltoztatott vagy eltolt érzékelési karakterisztikával vannak jelen, továbbá a sejteknek lényegében egyszerre legalább egy érzékelési zónán való átszállítására alkalmas második eszközzel van ellátva, amely a minta vizsgált részében az egyedi sejteknek legalább két paraméter és közöttük fényszórási jellemzőik, valamint célszerűen legalább egy elektronikai úton mérhető paraméter alapján való érzékelését, illetve számbavételét biztosító érzékelővel van kialakítva, és harmadik eszköze van, amely a legalább két megállapított érzékelési paraméter alapján a sejtek legalább kétdimenziós karakterisztikájának felvázolására és ennek alapján a kiválasztott sejtcsoportra vonatkozó következtetések levonására, különösen a vizsgálandó sejtcsoport által az adott jelenség létrehozásában képviselt százalékos részarány megállapítására alkalmasan van kialakítva.

Különösen előnyös a találmány szerinti berendezésnek az a kiviteli alakja, amelynél az első eszköz a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az adott első és második rész karakterisztikáját a minta egy harmadik adagjában mikrogömbök két sorozatával történő módosítására alkalmasan van kiképezve, ahol a mikrogömbök sorozatai egy-

részt a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az adott első résszel szemben specifikus, másrészt a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az adott második résszel szemben specifikus monoklonális antitestekkel összekapcsolt mikrogömbökből vannak kialakítva, továbbá az első eszközben a mikrogömböket és a mintát egymással homogenizáló, a
5 sejtpopulációból az első és a második adott résznek a mikrogömbök megfelelő sorozataival való összekötését biztosító keverő van elrendezve, ahol mind az adott első, mind az adott második rész legalább egy-egy módosított érzékelési karakterisztikával van jelen, a harmadik eszköz a minta első adagjában, továbbá a minta második és harmadik adagjában végzett vizsgálatok eredményeinek összehasonlítására és ezzel
10 a fehérvérsejtek adott első és második részére kapott átfedési százalékos arányok meghatározására alkalmasan van kiképezve.

Ugyancsak a találmány elé kitűzött feladat megoldására dolgoztunk ki sejtek csoportjának vizsgálatára szolgáló eljárást, amelyben legalább egy vizsgálandó sejtcsoportot legalább egy más sejtcsoportok által elfedett tulajdonságú sejtpopulációt
15 tartalmazó mintából elemzésnek vetünk alá, amihez a mintából legalább egy első és legalább egy második részmintát választunk ki, és a találmány szerint az első részmintában levő sejteket lényegében egyszerre legalább egy érzékelési zónán engedjük át, az első részmintában az egyedi sejteket legalább két paraméter és közöttük fény-
szórási jellemzőik alapján érzékeljük, illetve számbavesszük, a minta második rész-
20 mintájában elfedett tulajdonságú sejtekből álló sejtpopulációt választunk ki, illetve a második részmintában levő elfedett tulajdonságú sejteket érzékelési karakterisztikájukat megváltoztató behatásnak vetjük alá oly módon, hogy a második részmintában levő sejteket a bennük levő sejtek legalább egy sajátos molekulájával szemben specifikus reagenst megkötő, az elfedett tulajdonságú sejtpopulációba tartozó sejtek-
25 nél célszerűen sokkal kisebb méretű mikrogömbökkel az elfedett tulajdonságú sejtpopulációt összekeverjük, ezzel az elfedett tulajdonságú sejteket és a mikrogömböket összekapcsoljuk, a második részmintába tartozó sejteket lényegében egyszerre legalább egy érzékelési zónán engedjük át, a második részmintában levő egyedi sejteket legalább két paraméter és közöttük fény-
szórási jellemzőik alapján érzékeljük, illetve számbavesszük, majd a két érzékelés, illetve számbavétel eredményei alapján az el-
30 fedett tulajdonságú sejteket tartalmazó sejtpopulációnak a mérési eredményhez való százalékos hozzájárulását meghatározzuk.

Igen célszerű a találmány szerinti eljárásnak az a megvalósítási módja, amely-
nél az elfedett tulajdonságú sejteknek a mikrogömbökkel való összekötése után az
35 így kapott képződményeket a mikrogömbökkel együtt eltávolítjuk és ezzel a második részmintát méréshez előkészítjük.

A hematológiai vizsgálatok szempontjából előnyös a találmány szerinti eljárásnak az a megvalósítási módja, amelynél neutrophil leukocytákkal szemben specifikus monoklonális antitesttel összekapcsolt mikrogömböket készítünk elő, a mikrogömböket a második részmintával összekeverjük, a neutrophil leukocytákból álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoljuk, ezzel legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltoljuk, miközben érzékeléssel a fehérvérsejtek kifejeletlen sejtpopulációját vizsgáljuk.

Az eltávolítás hatékonysága és ezzel az érzékelés biztonsága javítható, ha a mikrogömböket mágneses tulajdonságú anyagból készítjük elő, mágneses teret gerjesztünk, majd a második mintát a mágneses térbe helyezzük és a mágneses tér hatásával belőle a neutrophil leukocytákból álló, a mikrogömbökhöz kapcsolódó sejtpopulációt a második rész minta maradványával együtt eltávolítjuk.

Egy másik igen előnyös lehetőség szerint a javasolt eljárást úgy valósítjuk meg, hogy CD2, CD4, illetve CD8 jelű sejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel összekapcsolt mikrogömböket készítünk elő, a mikrogömböket a második részmintával összekeverjük, a CD2, CD4, illetve CD8 jelű sejtekből álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoljuk, majd a mikrogömböket a velük kapcsolódó CD2, CD4, illetve CD8 jelű sejtekkel együtt a második részmintából eltávolítjuk. Az eltávolítás hatékonysága tovább javítható, ha a mikrogömböket mágneses tulajdonságú anyagból készítjük elő és mágneses teret gerjesztünk, amelybe a második mintát behelyezzük.

Szintén a találmány elé kitűzött feladat megoldását szolgálja az a berendezés, amely legalább egy vizsgálandó sejtcsoportnak legalább egy más sejtcsoportok által elfedett tulajdonságú sejtpopulációt tartalmazó, első és második részmintára osztott mintában való vizsgálatára alkalmas elemzőt tartalmaz, és amely a találmány értelmében az első részmintát és a benne levő sejteket lényegében egyszerre átengedő legalább egy érzékelési zónával kialakított első érzékelő eszközt tartalmaz, amely az első részmintában levő egyedi sejtek legalább két paraméter és közöttük fényszórási jellemzőik, valamint célszerűen egy elektronikailag mérhető paraméter alapján történő érzékelésére, illetve számbavételére alkalmasan van kiképezve, továbbá a minta második részmintájában elfedett tulajdonságú sejtekből álló sejtpopuláció kiválasztására alkalmas, adott esetben mágneses tér gerjesztésére előkészített első eszközzel van kiképezve, amelyben a második részmintában levő elfedett tulajdonságú sejteket érzékelési karakterisztikájukat megváltoztató behatásnak vetjük alá oly módon, hogy a második részmintában levő sejteket a bennük levő sejtek legalább egy sajátos molekulájával szemben specifikus reagenst megkötő, az elfedett tulajdonságú sejtpopulációba tartozó sejteknél célszerűen sokkal kisebb méretű, adott esetben mágneses

tulajdonságokkal rendelkező mikrogömbökkel az elfedett tulajdonságú sejtpopulációt összekeverjük, ezzel az elfedett tulajdonságú sejteket és a mikrogömböket összekapcsoljuk, valamint a minta második részmintájába tartozó sejteket lényegében egyszerre átengedő legalább egy érzékelési zónával kialakított második érzékelő eszközt tartalmaz, amely a második részmintában levő egyedi sejtek legalább két paraméter és közöttük fényszórási jellemzőik és ez esetben is célszerűen legalább egy elektronikai paraméter alapján való érzékelésére, illetve számbavételére alkalmasan van kiképezve, továbbá a két érzékelés, illetve számbavétel eredményei alapján az elfedett tulajdonságú sejteket tartalmazó sejtpopulációnak a mérési eredményhez való százalékos hozzájárulását meghatározó második eszközzel van ellátva.

A hematológiai vizsgálatok szempontjából különösen előnyös, ha a találmány szerinti berendezésben az első eszköz a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az elfedett tulajdonságú sejtek egy adott érzékelési karakterisztikáját módosító, illetve eltoló, a második részmintában az elfedett tulajdonságú sejtekből álló populációban levő sejtekkel szemben specifikus reagenssel összekötött mikrogömbök előállítására és beadagolására alkalmas részegységgel van ellátva, ahol a részegységhez a mikrogömböket a második részmintával homogenizáló keverő tartozik.

Az egyszerű nyílásos érzékelési technikákat és az egy vagy több biológiai részecskét hasznosító megjelölési módszereket alkalmazva lehetővé válik az adott sejtpopulációt képviselő csoport helyére egyedi és új pozíció kijelölése. A sejtpopulációknak ez az elmozdulása szelektív jellegű, jól reprodukálható, alkalmas a sejtpopulációknak az említett három alapvető sejtpopulációtól elkülönült osztályozására.

Az egyenáramú vizsgálati módszerek és az opacitás érzékelésére épülő technikák eredeti és sajátos kombinációját, amit a fentiekben ismertettünk, tovább lehet finomítani, ha a mikroszkópikus részecskéket a kiválasztott egyedi sejtekhez kapcsoljuk. A szelektivitás a részecskék jellege alapján adódik, illetve a biológiai molekulák specifikusságából, ide értve az antitesteket. A biológiai molekulákat a részecskék felületének bevonatában helyezik el. A sejtpopulációk egyedül, a felületi részecskékkel történő megjelölés nélkül a diagramokon ugyanazt a helyet foglalhatják el, mint az egyéb sejtpopulációk, illetve azok részei és ennek következtében a megkülönböztetés igen nehézkes lehet. Ha a sejtpopulációt olyan részecskékkel egészítjük ki, amelyek szelektív módon képesek a sejtek egy adott csoportjával összekapcsolódni és ezzel az adott csoport azonosítása, megszámlálása válik lehetővé, akkor a sejtpopuláció vizsgálata hatékonyan elvégezhető. A szelektív jellegű részecskéktől elegendő mennyiségben, de szelektív módon a vizsgált elkülönült sejtpopulációhoz adva a jellemző ábrákon a lokalizáció megváltozása figyelhető meg, mégpedig a tö-

meg, a térfogat és az opacitás sejtenként változó egyedi kombinációjának eredményeként.

A találmány szerinti eljárás és berendezés az immunológiai reakciók széles osztályában hasznosítható, különös tekintettel a reagenseket, a sejteket vagy a sejt-szerű képződményeket változtató immunológiai reakciókra. A találmány felhasználható sejt-szerű képződményekből kialakított szuszpenziók elemzésére, például egyes baktériumok és vírusok jelenlétének érzékelésére. A találmány értelmében a sejtek között nem teszünk lényeges különbséget, azok lehetnek állati vagy növényi sejtek, ide értve a baktériumokat, a gombákat, amelyek egyenként vagy aggregátumokban is meghatározhatók. A sejteket úgy tekintjük, mint az élő anyag olyan legkisebb struktúrális aggregátumát, amely a környezettől bizonyos mértékben független viselkedésre képes. Így például sejteknek tekintjük az emberi perifériás vérből származó vörösvérsejtek és fehérvérsejtek sejtpopulációit, a szövetekből vagy perifériás vérmintákból származó rákos vagy más abnormális sejtek halmazait. A sejt-szerű képződmények közé soroljuk mindenek előtt a baktériumokat és a vírusokat. Az így értelmezett sejteket és a sejt-szerű képződményeket megfelelő módon jelölni, jelezni lehet, várható, hogy optikai úton azonosíthatók legyenek és ez képezi a találmány szerinti eljárás és berendezés alapját, amit különösen emberi perifériás vérsejtek vizsgálatára javasolunk alkalmazni.

Bár a továbbiakban a reagens fogalmát a fenti megoldásokhoz hasonlóan a lizáló szerek és a monoklonális antitestek megjelölésére használjuk, reagensnek tekintjük azokat a különböző szereket, amelyek egy vagy több specifikus molekulával képesek reakcióba lépni, alkalmasak annak detektálására, és amelyek a sejt vagy a sejt-szerű képződmény felületén kötődnek. Néhány példát adunk meg:

<u>Reagens</u>	<u>Specifikus molekula</u>
antitest	antigén
gyógyszer	gyógyszerreceptor
hormon	hormonreceptor
növekedési faktor	faktorreceptor.

A reagensek a sejteken egy vagy több specifikus molekulával kapcsolódnak, azzal összekötődnek. A reagensek a kémiai reakciókban mindenkor részt vesznek, de ennek során kémiai változás bennük nem feltétlenül zajlik le.

A találmány tárgyát a továbbiakban példakénti kiviteli alakok, illetve megvalósítási módok kapcsán, a csatolt rajzra hivatkozással ismertetjük részletesen. A rajzon az

1. ábra: a találmány szerinti eljárást megvalósító elemző, sejtkiszűrő elrendezés egy előnyös megvalósítási módjának vázlatos blokkdiagramja, a

2. ábra: a találmány szerinti eljárást megvalósító elemző, sejtkiszűrő elrendezés egy másik előnyös megvalósítási módjának vázlatos blokkdiagramja, a
3. ábra: a találmány szerinti berendezés felépítésének vázlatos bemutatása, a
- 4A. ábra: a találmány szerinti eljárás egyik változatának fehérvérsejtek egy alcsoportjának elkülönítésére való alkalmazásával nyert, a hagyományoshoz viszonyítva módosított szórási diagram, a
- 5
- 4B. ábra: a találmány szerinti eljárás egy másik változatának fehérvérsejtek egy alcsoportjának elkülönítésére való alkalmazásával nyert, a hagyományoshoz viszonyítva módosított szórási diagram, a
- 10
- 4C. ábra: a találmány szerinti eljárás egy további változatának fehérvérsejtek egy alcsoportjának elkülönítésére való alkalmazásával nyert, a hagyományoshoz viszonyítva módosított szórási diagram, az
- 5A. ábra: fehérvérsejtek első vizsgált részcsoportjára a találmány szerinti eljárás felhasználásával nyert szórási diagram, az
- 15
- 5B. ábra: fehérvérsejtek második vizsgált részcsoportjára a találmány szerinti eljárás felhasználásával nyert szórási diagram, az
- 5C. ábra: fehérvérsejtek harmadik vizsgált részcsoportjára a találmány szerinti eljárás felhasználásával nyert szórási diagram, az
- 5D. ábra: fehérvérsejtek negyedik vizsgált részcsoportjára a találmány szerinti eljárás felhasználásával nyert szórási diagram, a
- 20
- 6A. ábra: fehérvérsejtek ötödik vizsgált részcsoportjára a találmány szerinti eljárás felhasználásával nyert szórási diagram, a
- 6B. ábra: fehérvérsejtek hatodik vizsgált részcsoportjára a találmány szerinti eljárás felhasználásával nyert szórási diagram, a
- 25
- 6C. ábra: fehérvérsejtek hetedik vizsgált részcsoportjára a találmány szerinti eljárás felhasználásával nyert szórási diagram, a
- 6D. ábra: fehérvérsejtek nyolcadik vizsgált részcsoportjára a találmány szerinti eljárás felhasználásával nyert szórási diagram, a
- 7A. ábra: fehérvérsejtek kilencedik vizsgált részcsoportjára a találmány szerinti eljárás felhasználásával nyert szórási diagram, a
- 30
- 7B. ábra: fehérvérsejtek tizedik vizsgált részcsoportjára a találmány szerinti eljárás felhasználásával nyert szórási diagram, a
- 7C. ábra: fehérvérsejtek tizenegyedik vizsgált részcsoportjára a találmány szerinti eljárás felhasználásával nyert szórási diagram, a
- 35
- 7D. ábra: fehérvérsejtek tizenkettedik vizsgált részcsoportjára a találmány szerinti eljárás felhasználásával nyert szórási diagram, a

8. ábra: sejtek egymást fedő jellemzőket mutató részcsoportjainak vizsgálatára szolgáló, a találmány szerinti eljárást megvalósító szűrő-elemző berendezés egy további célszerű kiviteli alakjának blokkvázlata, a
- 5 9A. ábra: a találmány szerinti eljárás egy célszerű megvalósításával fehérvérsejtek vizsgálándó és egymást fedő jellemzőket mutató részcsoportjainak elemzésével kapott szórási diagram, a
- 9B. ábra: a találmány szerinti eljárás egy további célszerű megvalósításával fehérvérsejtek vizsgálándó és egymást fedő jellemzőket mutató részcsoportjainak elemzésével kapott szórási diagram, a
- 10 9C. ábra: a találmány szerinti eljárás egy még további célszerű megvalósításával fehérvérsejtek vizsgálándó és egymást fedő jellemzőket mutató részcsoportjainak elemzésével kapott szórási diagram, a
- 9D. ábra: a találmány szerinti eljárás egy újabb célszerű megvalósításával fehérvérsejtek vizsgálándó és egymást fedő jellemzőket mutató részcsoportjainak elemzésével kapott szórási diagram, a
- 15 9E. ábra: a találmány szerinti eljárás egy még újabb célszerű megvalósításával fehérvérsejtek vizsgálándó és egymást fedő jellemzőket mutató részcsoportjainak elemzésével kapott szórási diagram, a
- 9F. ábra: a találmány szerinti eljárás egy előnyös megvalósításával fehérvérsejtek vizsgálándó és egymást fedő jellemzőket mutató részcsoportjainak elemzésével kapott szórási diagram, a
- 20 10. ábra: azonosítatlan sejtek meghatározására szolgáló, a találmány szerinti elvek alapján felépített elemző-szűrő berendezés egy előnyös megvalósításának vázlatos blokkdiagramja, a
- 25 11. ábra: azonosítatlan sejtek meghatározására szolgáló, a találmány szerinti elvek alapján felépített elemző-szűrő berendezés egy másik előnyös megvalósításának vázlatos blokkdiagramja, a
- 12A. ábra: a találmány szerinti eljárás megvalósításával fényérzékelés kihasználása alapján normál perifériás vérre nyert szórási diagram egy lehetséges alakja, a
- 30 12B. ábra: a találmány szerinti eljárás megvalósításával fényérzékelés kihasználása alapján normál perifériás vérre nyert szórási diagram egy másik lehetséges alakja, a
- 13A ábra: csak elektronikus érzékelés alapján normál perifériás vérre nyert szórási diagram egy lehetséges alakja, a
- 35 13B. ábra: csak elektronikus érzékelés alapján normál perifériás vérre nyert szórási diagram egy másik lehetséges alakja, a

- 14A. ábra: a találmány szerinti eljárás megvalósításával fényérzékelés kihasználása alapján normálistól eltérő perifériás vérre nyert szórási diagram egy lehetséges alakja, a
- 5 14B. ábra: a találmány szerinti eljárás megvalósításával fényérzékelés kihasználása alapján normálistól eltérő perifériás vérre nyert szórási diagram egy másik lehetséges alakja, a
- 15A. ábra: csak elektronikus érzékelés alapján normálistól eltérő perifériás vérre nyert szórási diagram egy lehetséges alakja, a
- 15B. ábra: csak elektronikus érzékelés alapján normálistól eltérő perifériás vérre nyert szórási diagram egy másik lehetséges alakja, a
- 10 16A. ábra: a találmány szerinti eljárás egy megvalósítási lehetősége alapján fehérvérsejtek egy adott részcsoportjára végzett mérésekből kapott szórási diagram, a
- 16B. ábra: a találmány szerinti eljárás egy megvalósítási lehetősége alapján fehérvérsejtek egy másik részcsoportjára végzett mérésekből kapott szórási diagram, a
- 15 16C. ábra: a találmány szerinti eljárás egy megvalósítási lehetősége alapján fehérvérsejtek egy további részcsoportjára végzett mérésekből kapott szórási diagram, a
- 20 16D. ábra: a találmány szerinti eljárás egy megvalósítási lehetősége alapján fehérvérsejtek egy még további részcsoportjára végzett mérésekből kapott szórási diagram, a
- 17A. ábra: a minták egy adott off-line előkészítési technikája mellett a mérésekkel kapott szórási diagram, a
- 25 17B. ábra: a minták egy másik off-line előkészítési technikája mellett a mérésekkel kapott szórási diagram, a
- 17C. ábra: a minták egy további off-line előkészítési technikája mellett a mérésekkel kapott szórási diagram, a
- 17D. ábra: a minták egy még további off-line előkészítési technikája mellett a mérésekkel kapott szórási diagram, a
- 30 18A. ábra: a találmány szerinti eljárás egy megvalósítási módja alapján öregített perifériás vérminták felhasználásával a mérésekkel kapott szórási diagram, a
- 18B. ábra: a találmány szerinti eljárás egy másik megvalósítási módja alapján öregített perifériás vérminták felhasználásával a mérésekkel kapott szórási diagram, a
- 35

- 18C. **ábra:** a találmány szerinti eljárás egy további megvalósítási módja alapján öregített perifériás vérminták felhasználásával a mérésekkel kapott szórási diagram, a
- 5 18D. **ábra:** a találmány szerinti eljárás egy még további megvalósítási módja alapján öregített perifériás vérminták felhasználásával a mérésekkel kapott szórási diagram, a
- 19A. **ábra:** fehérvérsejtek egy adott csoportjára a találmány szerinti eljárás megvalósításával egy adott első érzékelési paraméter kihasználása mellett kapott mérési eredményeket bemutató szórási diagram, a
- 10 19B. **ábra:** fehérvérsejtek egy másik csoportjára a találmány szerinti eljárás megvalósításával egy adott első érzékelési paraméter kihasználása mellett kapott mérési eredményeket bemutató szórási diagram, a
- 19C. **ábra:** fehérvérsejtek egy további csoportjára a találmány szerinti eljárás megvalósításával egy adott első érzékelési paraméter kihasználása mellett kapott
- 15 mérési eredményeket bemutató szórási diagram, a
- 19D. **ábra:** fehérvérsejtek egy még további csoportjára a találmány szerinti eljárás megvalósításával egy adott első érzékelési paraméter kihasználása mellett kapott mérési eredményeket bemutató szórási diagram, a
- 20A. **ábra:** fehérvérsejtek egy adott csoportjára a találmány szerinti eljárás megvalósításával egy adott második érzékelési paraméter kihasználása mellett kapott
- 20 mérési eredményeket bemutató szórási diagram, a
- 20B. **ábra:** fehérvérsejtek egy másik csoportjára a találmány szerinti eljárás megvalósításával egy adott második érzékelési paraméter kihasználása mellett kapott mérési eredményeket bemutató szórási diagram, a
- 25 20C. **ábra:** fehérvérsejtek egy további csoportjára a találmány szerinti eljárás megvalósításával egy adott második érzékelési paraméter kihasználása mellett kapott mérési eredményeket bemutató szórási diagram, a
- 20D. **ábra:** fehérvérsejtek egy még további csoportjára a találmány szerinti eljárás megvalósításával egy adott második érzékelési paraméter kihasználása
- 30 mellett kapott mérési eredményeket bemutató szórási diagram.

A találmány szerinti eljárás egy példakénti megvalósítási módjának folyamat-ábráját az 1. ábra mutatja. Ez az eljárás 10 analízáló elrendezéssel valósítható meg, célja adott tulajdonságú sejtek kiszűrése. A 10 analízáló elrendezésbe 12 mintát viszünk be, amely legalább sejtek egy első halmazát vagy populációját tartalmazza

35 (ennek részleteit az ábra nem mutatja). A vizsgált sejtpopulációban feltételezés szerint egy analizálandó sejtcsoport van jelen, ami sejtek egy adott tulajdonság szerinti

halmazát vagy sorozatát jelenti és ennek elemzésére irányul a találmány szerinti eljárás. A 12 minta célszerűen olyan puffert is tartalmazhat, amely a sejteket hordozza.

A 12 mintát vagy legalább annak egy részét 14 vezetéken keresztül továbbítjuk és közben 18 vezetéken szállított legalább egy 16 reagenssel egyesítjük. Az egyesítés hatására a vizsgálandó sejtek legalább egy érzékelésre alkalmas jellemzőjét módosítjuk, vagy a jellemző értékeit hordozó karakterisztikát eltoljuk, mégpedig 20 kezelő állomáson. A vizsgálandó sejtcsoport sejtjeinek érzékelt karakterisztikáját ezzel módosítjuk vagy elegendő mértékben eltoljuk ahhoz, hogy a vizsgálandó sejtek karakterisztikája élesen elváljék az őket elfedő sejtpopuláció érzékelési karakterisztikájától.

A 16 reagens mikrogömbökkel alakítható ki, adott esetben ilyen mikrogömbökből áll. A mikrogömbök felületéhez a vizsgálandó sejtcsoporttal szemben specifikus jellemzőket mutató antitest van megkötve. A 16 reagens és a 12 minta összekeverésével az a cél, hogy a mikrogömbök és a vizsgálandó sejtcsoport közötti kapcsolat létrejöjjön, az a lehető legteljesebb mértékben kialakuljon. A vizsgálandó sejtcsoportban minden sejthez egy vagy több mikrogömb kapcsolódik, a sejteket általában több mikrogömb borítja be, aminek hatására a vizsgált sejtcsoport minden sejtjének érzékeléssel megállapítható eredő karakterisztikája módosul vagy eltolódik. A 12 mintát ezután a 20 kezelő állomásról 24 vezetéken át 22 elemzőbe vezetjük. A 20 elemző feladata a 12 mintában levő sejtek érzékelése és számuk megállapítása. Ezen kívül más feladatokat is elláthat. A 22 elemző legalább két érzékelési paraméterre van előkészítve, és a legalább két paraméter közül legalább egy fény szórására épülő optikai paramétert jelent, amiről a továbbiakban még szó lesz.

A találmány szerinti eljárás egy másik megvalósítási módját a 2. ábra folyamatábrája alapján követjük végig. Ebben az esetben 30 analizáló elrendezést használunk, amelyben 32 biológiai mintát teszünk vizsgálat tárgyává. A 32 biológiai minta életképes biológiai sejtek legalább egy sorozatát tartalmazza, amilyen sejtek például a perifériás vérmintákban vannak, vagy azokból nyerhetők. A minta összetételére a rajz nem utal. A 32 biológiai minta sejtjei olyan biológiai jellegű reakciókba vihetők, amelyek a mennyiségi és/vagy minőségi meghatározás, illetve az ilyen meghatározást lehetővé tevő elemzés feltételeit biztosítják. A 32 biológiai minta az adott esetben legalább egy fehérvérsejt-populációt tartalmaz, és ez a sejtpopuláció olyan sejtek egy halmazát fedi el, amely a vizsgálandó fehérvérsejtek között van. A 32 biológiai minta szintén készülhet pufferrel, amelybe a sejteket adagoljuk.

A továbbiakkal összhangban úgy tekintjük, hogy a fehérvérsejtek egy adott populációja olyan sejtpopulációt jelent, amelyhez specifikus monoklonális antitestek kapcsolódni képesek. A monoklonális antitestek nomenklatúráját az utóbbi időkben az Egészségügyi Világszervezet (WHO), illetve a Nemzetközi Immunológiai Társaság

határozta meg. Az elfogadott értelmezés szerint a monoklonális antitesteket olyan klaszter elrendezéssel (CD) határozzuk meg, amely arra utal, hogy a sejtek vagy a sejtek egy csoportja milyen specifikus jelleget mutat és milyen monoklonális antitestek specifikusak az adott CD csoportra. Így például néhány olyan meghatározást sorolunk fel, amelyek jellegzetesek. A következő példákban egyáltalában nem kizáró jelleggel a CD2, CD4, CD8 jelű CD csoportokat vizsgáljuk. A vizsgált csoportokra ismeretes CD nomenklatúrákat, azok specifikus jellegét és a kereskedelmi hozzáférhetőséget jelentő forrást az 1. táblázatban soroljuk fel.

1. TÁBLÁZAT

10	Megkülönböztetési csoport	Antitest (kereskedelmi forrás) ^b	Megkülönböztető jelleg
	CD2 (gp 50) ^a	T11 (Coulter) OKT11 (Ortho); Leu5a (BD)	E Rossette receptor
	CD4 (gp56)	T4 (Coulter) OKT4 _a (Ortho); Leu3a (BD)	T segítő/indukáló
15	CD8 (gp32-33)	T8 (Coulter) OKT8 (Ortho); Leu2a (BD)	cytotoxikus/T szupresszor

Megjegyzések:

- ^a gp – glikoprotein, molekulatömege kilodaltonban
- 20 ^b Coulter – Coulter Corporation (Hialeah, Florida) Immunológiai Részleg
- BD – Becton–Dickinson-féle immunocytometriás rendszerek
- Ortho – Ortho (Raritan, New Jersey) diagnosztikai rendszerek

A 32 biológiai mintát 36 reagenssel keverjük össze, vagy legalábbis a 32 biológiai minta 34 vezetéken át szállított egy részét 38 vezetéssel továbbított legalább egy 36 reagenssel hozzuk kapcsolatba. A keverékből ezt követően a vörösvérsejteket eltávolítjuk, amit 40 állomáson végzünk el. A vörösvérsejteket a 40 állomáson számos különböző módon lehet a mintából elkülöníteni. Egyik ilyen megoldás az, hogy a 36 reagensben lizáló szert alkalmazunk, amellyel a vörösvérsejteket lizáljuk. Erre a célra szolgáló lizáló szert és vele alkalmazható kvencselő adalékanyagot például az 1987. március 13-án 025,303 alapszámon benyújtott, majd 1987. december 10-én 130,911 alapszámon kiegészített USA szabadalmi bejelentés mutat be, amelynek címe: "Eljárás és reagens rendszer teljes vérmintából leukocyta elválasztására, azonosítására és/vagy elemzésére". Az erre a bejelentésre alapozott PCT-bejelentést 1988. szeptember 22-én WO 88/07187 számon tették közzé. A 36 reagenst egyik lehetőség szerint mágneses jellemzőket mutató anyagból álló mikrogömbökként készítjük el, egy

35 másik lehetőség szerint az ilyen tulajdonságú mikrogömböket kiegészítő jelleggel

- használunk. Bármilyen típusú is a mikrogömb, a lényeg az, hogy felületéhez (a rajzon ezt nem mutatjuk be) a vörösvérsejtekkel szemben specifikus jellegű antitesteket kapcsolunk. Erre vonatkozóan például az US-A 4,752,563 Isz. US szabadalmi leírás ad kitanítást, amely emberi perifériás vérmintákban levő leukocyták feltárására szolgáló
- 5 monoklonális antitestet és a monoklonális antitest felhasználására épülő feltérési eljárást mutat be. A 36 reagens olyan puffert is tartalmazhat, amely a minta eredeti pufféréhez kapcsolódik vagy azt helyettesíti. A 36 reagens ezen túlmenően vörösvérsejtekkel szemben hatásos lizáló szerből, illetve vörösvérsejtekkel szemben specifikus mikrogömbökből készült kombináció lehet.
- 10 A 32 biológiai mintával létrehozott keverékből tehát a vörösvérsejteket teljes mértékben el lehet távolítani. A vörösvérsejtektől megszabadított keveréket 42 tulajdonságokat változtató egységbe vezetjük. A 10 analizáló elrendezéshez hasonlóan ennél a megoldásnál is a fehérvérsejtek vizsgált alcsoportjában legalább egy olyan sejtkarakterisztikát változtatunk meg, amelynek menete a 42 tulajdonságokat változtató
- 15 egységben jól észlelhető és így a vörösvérsejtek vizsgált populációjából az érzékelési karakterisztika felvétele alapján az előzőleg rejtve maradt sejtpopuláció észlelhetővé válik.
- A 36 reagens elkészíthető többféle mikrogömbből, amelyekhez a fehérvérsejtek vizsgálandó populációjával szemben specifikus antitestek kapcsolódnak. A 36 reagens és a 32 biológiai minta kiválasztott részét általában azért keverjük össze egymással, hogy a mikrogömböknek a fehérvérsejtek vizsgálandó sejtpopulációjához való kapcsolódását biztosító reakciókat elősegítsük. A mikrogömbökből általában a vizsgálandó fehérvérsejtek sejtpopulációjához nagyobb számú kapcsolódik, lényegében minden sejtet ezek a mikrogömbök beborítanak, ennek eredményeként a vizsgált
- 20 sejtpopulációt alkotó sejtek érzékelési karakterisztikája megváltozik vagy eltolódik.
- A felhasználásra kerülő mikrogömbök általában mágneses jellegűek, egyéb lényeges megszorítást velük szemben nem alkalmazunk, készülhetnek például polisztirolból, amikor is 0,7 μm átmérőjű mágneses tulajdonságokat mutató gömböket alkotnak, részarányuk a szárazanyagra vetítve mintegy 10 tömeg%. A vizsgálatokat például a Bangs Laboratories (Carmel, Indiana) cég által gyártott mikrogömbökkel végezhetjük. Ha a mikrogömböktől nem kívánjuk meg a mágneses jellemzőket, akkor felépítésük az előzőtől eltérő lehet. Ilyen terméket ajánl például az Interfacial Dynamics cég (Portland, Oregon), amely azt IDC jelölés alatt hozza forgalomba. Ezek a mikrogömbök felületaktív összetevőktől mentes szulfatált polisztirolos latex anyagú
- 30 képződmények, amelyek átmérője 2,17 μm , a vizsgálatok során részarányuk a szárazanyagtartalomhoz képest mintegy 8 tömeg%. Ezeket a mikrogömböket csak példaként említettük meg, hiszen a hagyományos kereskedelmi forrásokból besze-
- 35

rezhető mikrogömbök bármely típusa a találmány szerinti eljárás megvalósításához felhasználható.

A jellemzők (karakterisztika) eltolása szempontjából célszerű, ha olyan mikrogömböket alkalmazunk, amelyek átmérője sokkal kisebb, mint a sejtek átmérője, mivel az egyes sejtekhez több mikrogömböt kell csatlakoztatni. A klinikai gyakorlat tapasztalatai szerint a mintegy 0,65 μm és mintegy 3,0 μm közötti átmérőjű mikrogömbök különösen alkalmasak a találmány szerinti eljárás megvalósítására, a vizsgálati berendezésben ugyanis jelenlétük lényegében nem észlelhető, ezért hamis számlálás úgy nem fordulhat elő, hogy a berendezés a szabad mikrogömböket sejtnak tekinti. Ezen kívül a nagyobb mikrogömbök felhasználásának az a hátránya, hogy az érzékelő berendezés nyílásait lefedhetik vagy eltömíthetik, hiszen több sejt kapcsolódhat ott össze, aminek következménye mikrogömbökből és sejtekből álló nagyobb tömegű képződmények létrejötte. A nem mágneses jellegű mikrogömbök általában olcsóbbak a kisebb méretűeknél, ezért jól használhatók a tulajdonságokat jellemző paraméterek értékeit összefoglaló karakterisztikák eltolására, míg a mágneses mikrogömbök abból a szempontból kedvezőbbek, hogy a kialakult eltolódás megfigyelését, érzékelését könnyítik meg.

Ha a sejteket mágneses jellemzők alapján kívánjuk kiválasztani, csak a mágneses tulajdonságú mikrogömbök használhatók. A jelen találmány az ismert megoldásokhoz képest abban a vonatkozásban hoz lényeges előrehaladást, hogy a mikrogömbök méretei az eljárás szempontjából másodlagos jelentőségűek, mivel a sejteket velük együtt a mintából még az érzékelés előtt el kell választani. A mikrogömbök képesek azt a megfelelő eszközt alkotni, amellyel adott tulajdonságú sejtek mágneses térben könnyen és gyorsan kiválaszthatók. Ennél az alkalmazásnál különösen a mintegy 0,65 μm és mintegy 4,5 μm közötti átmérőjű mikrogömbök bizonyultak célszerűeknek. Mivel azonban csak sejteket kell a mintából kiválasztani, a mikrogömbök akár 10 μm -nél nagyobb átmérő mellett is használhatók lehetnek. A mikrogömbökhöz adott esetben több sejt is csatlakoztatható, de mivel a számlálásra az eljárásnak ebben a lépésében nem kerül sor, a mikrogömbökkel kapcsolódó sejtek száma nem befolyásolja a berendezéssel kapott adatok megbízhatóságát.

A 32 biológiai mintát ezután 44 elemző készülékbe visszük be, amely például a 22 elemzővel azonos felépítésű lehet, ennek is feladata az, hogy a 32 biológiai minta feldolgozott részében levő sejtek számát megállapítsa, a sejtek érzékelését biztosítsa.

A 3. ábra kapcsán a találmány szerinti analizáló berendezés egy még további előnyös kiviteli alakját ismertetjük most, amely ugyancsak a 10 és a 30 analizáló elrendezések működési elvét követi.

A 3. ábra olyan 50 analizáló elrendezést mutat, amely a fentiekben vázolt alapgondolatoknak megfelelően rendkívül sokféle alakban valósítható meg. A lehetőségek száma lényegében korlátlan, ezek kiaknázása során a találmány szerinti alapelveket kell követni. Az 50 analizáló elrendezést a 3. ábrán elsősorban funkcionális részleteiben ábrázoljuk, az elrendezés feladatát megoldó tényleges berendezés számos különböző módon építhető fel.

Az 50 analizáló elrendezés bemeneti egységét 52 vízsugárszivattyú képezi, amely a vizsgálandó minta, például a 12 vagy 32 biológiai minta beadagolására szolgál. Ebből a célból az 52 vízsugárszivattyú 53 vezetéken át 54 mintavevő szelepre kapcsolódik, amely 55 mintavevővel van összekötve. Az 54 mintavevő szelep egy kiemeneten át 56 oldószerszivattyúra kapcsolódik, amely oldószert vagy pufferoldatot fogad be és 58 vezetéken át van a két egység összekötve. Az 54 mintavevő szelep és az 52 vízsugárszivattyú a 12 vagy 32 biológiai minta beszívását teszi lehetővé, szükség szerint a 12 vagy 32 biológiai mintát az 56 oldószerszivattyún át beadagolt oldószert vagy puffer egészíti ki.

Az így kapott keveréket, vagy adott esetben magát a mintát 60 vezetéken át 66 keverő berendezésbe adagoljuk. A 66 keverő berendezésben 68 keverő kamra van kiképezve, amelybe mind a mintát, mind pedig a reagenst a kívánt mennyiségben bevisszük. A vörösvérsejteket például a 68 keverő kamrában 62 szivattyú által 64 vezetéken át továbbított lizáló szerrel kezelhetjük, majd a reakció lezajlása után 70 adagolóból 72 vezetéken át kvencselő vagy fixáló szert juttatunk a keverékhez. A reakció során a lizáló szert vagy a kvencselő szert és a mintát a 68 keverő kamrában homogenizáló mozgásban tarthatjuk, amit 74 keverő tesz lehetővé.

A 66 keverő berendezés felépítése a találmány szempontjából másodlagos jelentőségű, de különösen ajánlott annak az elrendezésnek a felhasználása, amelyet az 1987. március 13-án 025,337 alapszámon bejelentett, majd 1991. május 1-jén 517,309 alapszámon kiegészített USA szabadalmi bejelentés mutat be (ennek címe: "Eljárás és berendezés kis térfogatú anyagok biológiai reakciókat elősegítő gyors keverésére"). Az alapbejelentésre alapozott PCT-bejelentést 1988. szeptember 22-én WO 88/06918 számon tették közzé. A 66 keverő berendezés felhasználásával a biológiai mintában lezajló reakció sebessége jelentősen megnövelhető, mégpedig olyan feltételek között, amelyek mellett a vizsgálandó sejtek tulajdonságai nem vagy csak alig változnak, tehát a hőmérséklet emelkedésével járó degradációs folyamatok elkerülhetők. A reakciókat ezen túlmenően viszonylag rövid idő alatt lehet lefolytatni, egyes esetekben a reakciók időtartamát sikerült 2 perc alá lecsökkenteni. Ez lehetővé teszi, hogy az 50 analizáló elrendezés automatizálható legyen, benne nagy térfogatokat lehessen kialakítani.

A kvencselő szerrel kezelt mintát a lizáló szerrel eltávolított vörösvérsejtekkel együtt 76 vezetéken át 78 elemzőbe juttatjuk, amely a 22 elemzőhöz vagy a 44 elemző készülékhez hasonló felépítésű. A minta vizsgált részét, amely ez esetben már az elemzendő fehérvérsejteket tartalmazza, a 78 elemzőben tesszük vizsgálat tárgyává, ahol először referenciaeredményeket állapítunk meg, mégpedig úgy, hogy a minta jellemzőit nem változtatjuk meg, vagyis sem módosított, sem eltolt karakterisztikájú mintát nem készítünk. Az így kapott eredmények a későbbi összehasonlítások számára referenciaként szolgálnak. A 78 elemző sokféle típusú lehet, így például az US-A 2,656,508 számon engedélyezett, már említett US szabadalomban leírt alapelveket követő készüléket hasznosítunk, amelyeket egyebek között a Coulter Electronics, Inc. cég valósított meg kereskedelmi forgalomba kerülő vérsejtszámláló készülékeiben.

A 78 elemző több részegységből épül fel. Bemenetén 80 áramláscella van kiképezve, amelyben legalább egy optikai és célszerűen legalább egy elektronikai érzékelő elrendezés van kialakítva. A 80 áramláscella készülhet minden olyan anyagból, amely a fényt átereszt, vagyis optikailag transzparens. A biológiai minták szempontjából célszerű, ha anyaga olvasztott szilícium-dioxid vagy kvarc. A 80 áramláscella olyan szűkített keresztmetszetű 82 nyílással van kiképezve, amelyben a rajta áthaladó minta hidrodinamikailag rendezettnak tekinthető áramlásba jön, ami a vizsgálatok során jól ismert módon a mérésekhez kedvező feltételeket teremt. A 80 áramláscellában optikailag sima felület van kiképezve, amelynek feladata elektromágneses fényenergiát hordozó 84 nyaláb formázása, miközben maga a 84 nyaláb 86 lézeres fényforrásból származik és ennek fényét 88 lencseelrendezéssel a 82 nyílásnál megjelenő pontszerű foltta képezzük le. A 82 nyíláson áthaladó egyedi sejtek a fényt szórják. Ez a 84 nyaláb térbeli eloszlásában változást okoz, amit önmagában jól ismert módon 90 detektoros elrendezéssel észlelünk. Az ilyen detektoros elrendezések példája lehet a már említett 025,442 és 129,954 alapszámú US szabadalmi bejelentésekben, illetve a nekik megfelelő WO 88/07198 számon közzétett PCT-bejelentésben bemutatott VCS jelű érzékelő készülék.

A 80 áramláscellához elektronikus érzékelő áramkörök rendszere is tartozik. A 80 áramláscellának 91 első térbeli tartománya van, amelyben a 80 áramláscellában levő folyadékkal érintkező 92 első elektród van elrendezve.

A 91 első térbeli tartomány és a benne levő 92 első elektród a 82 nyíláson át 96 második térbeli tartománnyal közlekedik, amelyben 98 második elektród van elrendezve. A 92 első és a 98 második elektród 100 és 102 koncentrikus vezetéken át 104 érzékelőre van vezetve, amely áramköri felépítésében egyidejűleg rádiófrekvenciás és egyenáramú jelforrást fogad be. A 104 érzékelő áramkörei a 92 első és a 98 második

elektrod közötti térbe mind egyenáramú, mind kisfrekvenciájú jelet vagy áramot képesek bejuttatni, de adott esetben átkapcsolhatók nagyfrekvenciás jel előállítására is.

A kisfrekvenciájú jel felhasználásával a 82 nyíláson áthaladó sejt által előidézett jelimpulzus amplitúdójának érzékelése válik lehetővé. A nagyfrekvenciás jel viszont az adott térfogatban a 82 nyílásban haladó anyag elektromos opacitásának megállapítására hasznosítható.

A sejtek elektromos opacitásának mérésére vonatkozóan az US-A 3,502,974 Isz. US szabadalmi leírás tartalmaz részletes kitanítást. Ugyanezt a témát a Coulter Electronics, Inc. termékeit bemutató publikációk részletesen kifejtik, de több szabadalom is ad útmutatást. Így a találmány szerinti feladat megoldásában különösen hasznos az az áramkör, amelyet az US-A 4,791,355 Isz. US szabadalmi leírás (címe: "Részecskeelemző elrendezés részecske ellenállásának és reaktanciájának mérésére") mutat be.

A 104 érzékelő által az érzékelt sejtek megjelenésének következtében generált jelek 106 egyenáramú vezetéken keresztül, illetve 108 rádiófrekvenciás jelvezetéken át 110 komparátorba jutnak. A 110 komparátor a minta különböző vizsgált részeiből származó jelek tárolására alkalmasan lehet kiképezve, vagyis a minta különböző részeire vonatkozó adatok összehasonlíthatók. A 110 komparátor optikai érzékelő bemenettel is ellátható, amely az optikai elemekből álló 90 detektoros elrendezéssel kapcsolódó 112 vezeték kimenetét fogadja.

A 78 elemző áramoltató burkolattal is ellátható, amelynek segítségével a 80 áramláscellában a sejtek mozgása fókuszálható. Az áramoltató burkolat 114 fluidumos rendszerrel alakítható ki, amely 116 és 118 vezetékeken át kapcsolódik a 80 áramláscellával. A mintát tartalmazó reakciókeveréket a 80 áramláscellába 120 bevezető csövön át juttatjuk, míg a 80 áramláscellából 122 kilépő csővel 124 hulladéktartályba vezethető.

A keverék első részét a 78 elemző vizsgálja, ezután a 66 keverő elrendezés kitisztítható vagy 126 vezetéken át elárasztható és a tisztító folyadékot 128 vezetéken távolítjuk el a hulladéktartályból. Ezután a 68 elemző kamrába a minta egy következő adagját visszük be és itt a sejtek módosított vagy eltolt karakterisztikáját állapítjuk meg. A minta módosítandó részét egy másik lehetőség szerint a 68 elemző kamrába visszük anélkül, hogy a minta módosítatlan vagy standard részéből mérési eredményeket nyernénk. Ekkor a fehérvérsejteket vagy más vizsgált sejtcsoportot a megfelelő mikrogömbök, például fehérvérsejtekkel kapcsolódni képes mikrogömbök hozzáadásával módosítjuk, erre 130 részegység szolgál, amely 132 vezetékekkel 134 szelepre kapcsolódik, ahonnan 136 vezeték a 68 elemző kamrával teremt kapcsolatot és itt a minta a mikrogömbökkel összekeverhető.

A fehérvérsejtekkel kapcsolódni képes mikrogömböket ezután a vizsgált vérminta egy második adagjával a 74 keverővel homogenizáljuk. A tulajdonságok eltolása céljából a fehérvérsejtekkel kapcsolódni képes mikrogömböket és a megkötött mikrogömböket tartalmazó reakciókeveréket a 76 vezetéken át a 22 elemzőhöz, illetve a 5 44 elemző készülékhez hasonló felépítésű 78 elemzőbe tápláljuk, ahol a minta második részét az elsőhöz hasonló módon elemezzük, majd az eredményeket a 110 komparátor segítségével dolgozzuk fel. Ennek során a minta második részében levő fehérvérsejtek egy adagjában a sejtek érzékelési karakterisztikáit megváltoztatjuk, például a sejtek opacitását módosítjuk a fehérvérsejtekkel kapcsolódni képes mikro- 10 gömbök segítségével, aminek révén az érzékelési karakterisztika megváltozik, elemezhető adatokat kapunk.

Ha a fehérvérsejtekkel kapcsolódni képes mikrogömböket mágneses tulajdonságú anyagból készítjük, aminek előnyeire a továbbiakban még visszatérünk, a fehérvérsejteket tartalmazó sejtpopuláció a mikrogömbökkel együtt mágneses tér gerjesztésével eltávolítható, illetve a mágneses tér kihasználható arra, hogy a keverési fo- 15 lyamatot elősegítsük. Ekkor 138 mágnest alkalmazunk. A keverést biztosító mágneses tér elektromágneses eszközökkel ugyanúgy, mint a 138 mágnessel létrehozható, a 68 keverő kamrához képest mozgó mágneses tér pedig alkalmas arra, hogy a mágneses hatással megfogott fehérvérsejteket, illetve azok egy részét befogjuk. A befogott fehérvérsejtek nélkül létrejövő mintát ezt követően a 76 vezetéken át a 78 elem- 20 zőbe adagoljuk, amit az előzőekben ismertetett módon hajtunk végre és ez utóbbiban az elemzést elvégezzük.

Ezután az 50 analizáló elrendezést a következő minta vagy a minta következő részének fogadására és így a következő elemzés elvégzésére alkalmassá tesszük. 25 Az 55 mintavevő 140 öblítő elrendezéssel tisztítható, a hagyományos módon mind a 68 keverő kamra, mind pedig a vele kapcsolódó vezetékek folyadékkal eláraszthatók. Az egymást követő keverékek elemzése gyorsan és automatizált módon végezhető. A két minta elemzése közötti időtartam általában 1 perc vagy ennél is rövidebb.

Az 50 analizáló elrendezés működtetése során a minta kiválasztott részét elő- 30 nyösen először a 68 keverő kamrában nem mágneses, fehérvérsejtekhez kapcsolódó mikrogömbökkel keverjük össze, amelyeket a 130 részegységből veszünk fel és amelyek a fehérvérsejtek valamelyik alcsoportjával kapcsolódnak össze. A keveréket a vörösvérsejtekre ható lizáló szerrel ugyancsak kiegészítjük. Az így létrejött reaktív keveréket a 70 adagolóból felvett kvencselő szerrel egészítjük ki, majd a 68 keverő 35 kamrában 76 vezetéken át a fehérvérsejteket tartalmazó mintát a 78 elemző elrendezésbe vezetjük.

A lizáló szer alkalmazásával szemben alternatívaként adódik az a lehetőség, hogy a 12 vagy 32 biológiai mintát a 66 keverő elrendezésbe adagoljuk és lizáló szer nélkül a vörösvérsejteket eltávolítjuk. Ez esetben a vörösvérsejtekkel szemben specifikus antitestekkel kiegészített és 142 adagoló egységből felvett mikrogömböket
 5 hasznosítunk, amelyek 144 vezetéken át jutnak a 134 szelepbe és onnan a 136 vezetékek juttatja őket a 68 keverő kamrába. Ezzel a megoldással lehetővé válik a vörösvérsejtek mágneses eltávolítása. Ha nincs szükség lizáló szerre, a megkötött vörösvérsejteket 140 mágnes segítségével választjuk el a keverékből, miután azt az előzőekben a fehérvérsejtekkel kapcsolatosan megvalósított mágneses keveréshez hasonlóan kevertük.
 10

Egy további lehetőség szerint a reakció sebességét úgy növeljük, hogy a mintát tartalmazó reakciókeveréket mind a vörösvérsejtekkel szembeni lizáló szerrel, mind a vörösvérsejtekkel szemben specifikus mágneses gömböcskékkel kiegészítjük. A reakciókeveréket ezután homogenizáljuk, a lizáló szert kvencseljük és a megkötött
 15 vörösvérsejteket mágneses erőhatás révén eltávolítjuk, és ezt követően az előzőekben ismertetett eljárást követve a fehérvérsejtek tulajdonságait elemezzük.

Bár a találmány szerinti megoldást az előzőekben olyan minta felhasználásával írtuk le, amely lényegében változatlan, természetes állapotban van, vagyis például a 66 keverő elrendezésbe levett teljes vérmintát viszünk, a minta előzetesen off-line
 20 módon előkészíthető vagy ahol szükséges részleges előkészítésnek vethető alá. A mintából például egy előző lépésben eltávolíthatjuk a vörösvérsejteket. A különböző rendszerek, közöttük az előzőekben már ismertetett VCS jelű érzékelő rendszer hasznosítható erre a célra, ebben az esetben a mikrogömböket off-line módon, vagy az előkészítés során visszük be a mintába, amikor az érzékelt sejtkarakterisztikában
 25 már változásokat okoztunk és ezt követően az elemzés hátralevő részének elvégzése céljából a mintát a rendszerbe lehet vinni. A következőkben egyebek között a VCS jelű érzékelő rendszer felhasználására is épülő néhány specifikus példát mutatunk be.

A 4A., 4B. és 4C. ábrán a VCS jelű érzékelő rendszerben kapott standard szórási diagramot mutatjuk be, mégpedig egyenáram és közepes fényszórás közötti
 30 összefüggés formájában, amikor is fehérvérsejtek négy sejtpopulációját vizsgáljuk, mégpedig a monocytákat (M), a leukocytákat (L), a neutrophil leukocytákat (N) és az eosinophil sejteket (E), ahol a 4A. ábrán a mikrogömbök nélküli állapotra vonatkozó adatokat rögzíti. A szórási diagram reprezentatívnak tekinthető normál teljes vérmin-tán nyert értékekből áll össze. A basophil (B) sejteket a leukocyták a szórási diagram-ban elfedik. Bár a basophil sejtek részben a leukocyták által elfoglalt területen helyez-
 35 kednek el, a fehérvérsejtek populációját tekintve százalékos részarányuk annyira kicsi, hogy a számítási eredményeket nem képesek befolyásolni. A basophil sejtek ha-

tása azonban a találmány értelmében megfelelő módon, ha erre szükség van, megállapítható.

Ha a mintához mikrogömböket adagolunk, a mikrogömbök által szórt fény eredményeként az érzékelési karakterisztika megváltozik és ilyenkor a fehérvérsejteknek csak két sejtpopulációja különböztethető meg, mégpedig a 4B. ábrán látható módon leukocytákat tartalmazó 146 csoport és monocytákból keletkezett 148 csoport formájában, ahol az utóbbit alkotó összetevők között a neutrophil leukocyták és az eosinophil sejtek szintén jelen vannak. Az átlagos fényszórási nyereséget csökkentve (x-tengely) a 146 és 148 csoportok, tehát az azokat alkotó populációk jellemzői a DC- vagy y-tengely mentén eltolódnak, a szórási diagramban a DC-tengelytől jobbra eső terület lényegében üressé válik.

Tekintsük a 4B. ábra szerinti adatokat ellenőrző vagy standard eredményeknek. Ezek hasznosítására a nem mágneses anyagú, monoklonális antitestekkel kapcsolódó mikrogömböket, ahol a monoklonális antitestek például a leukocyták egy alcsoportjával, például a T4 alcsoporttal szemben specifikusak, összekeverjük, mégpedig vagy a mintával vagy a minta egy második részletével, aminek eredményeként a diagramnak az előzők szerint szabaddá váló részén a 4C. ábrán láthatóan olyan közvetlen alcsoportra utaló 150 csoportosulás jön létre, amelyet megváltozott paraméterek jellemeznek.

A 4A., 4B. és 4C. ábrákon bemutatott adatokat az átlagos fényszórás mint fényszórási paraméter alapján állapítottuk meg, ahol a fényszórásra vonatkozó információk tetszőleges szög alatti megvilágítással nyerhetők. A VCS jelű ellenőrző elrendezésére vonatkozó, WO 88/07198 számú nemzetközi közzétételi irat kitanításával összhangban a jelen vizsgálatok céljaira a közepes fényszórást úgy definiáljuk, mint 10° és 70° közötti szöghelyzetben nyert fényszórási információt. Az átlagossal szemben a rotációs fényszórást úgy tekintjük, mint olyan függvényt, amelyben egy közepértéknek megfelelő szög alatti fényszórás logaritmusának és egy állandónak összegét az egyenáram és egy állandó összegével osztjuk, majd ebből az impulzusok csúcsára vonatkozó információt nyerünk. A rotációs fényszórás függvénye alkalmas arra, hogy valamilyen mellékesnek tekinthető összetevőt eltávolítsunk és alapvetően a belső struktúrát tükröző mérési eredményt nyerjünk. A rotációs fényszórás megállapításának egy másik módszere az, hogy a közepértéknek megfelelő szög alatti fényszórással nyert adat logaritmusát az egyenáramú jel logaritmusával osztjuk. A fényszórásra vonatkozó információt 90° -os vagy nagyszögű fényszórási információnak nevezzük, ha a lézer tengelyéhez képest 90° -os középpontosítást alkalmazunk. A lézer tengelyéhez viszonyítva mintegy 0° körüli helyzetben az előre mutató irányban kapott fényszórási információ szintén fontos jellemző. A szórási diagramban reprezentált

adatokat különböző paraméterek szerint ábrázoljuk és így a vizsgálat céljából kitűzött különböző paraméterekre a lehető legjobb reprezentációt nyerjük.

A fenti eljárást mind off-line, mind on-line rendszerben hasznosíthatjuk. A szokásos VCS jelű ellenőrző elrendezést használva az eljárás első, második és harmadik lépését off-line módon hajtjuk végre, mivel a VCS jelű ellenőrző elrendezés jelenleg elterjedt változataiban nincsen olyan részegység, amellyel a mikrogömbök a mintához adagolhatók, majd az összetevők összekeverhetők. A teljesen automatizálható 50 analízáló elrendezés az összes lépést automatikusan on-line módon hajtja végre. Az off-line módon elvégzett eljárás legfontosabb lépései a következők:

- 10 1) Mintegy 150 µl (vagy nagyobb mennyiségű) teljes vérmintát veszünk le.
- 2) A mintához leukocyták egy csoportjával szemben specifikus monoklonális antitesteket (külön keverő edényekben T4, T8 vagy T11 antitesteket) megkötve tartalmazó 2 µm méretű nem mágneses mikrogömbökből mintegy 15 µl-t adagolunk, vagy fehérvérsejtekkel, illetve fehérvérsejtek valamely alcsoportjával szemben semmi-
- 15 féle specifikus jelleget nem mutató MSIG jelű, egérből származó monoklonális immunoglobinnal 15 µl-t adagolunk, és ezzel ellenőrző vagy háttér jellegű standard mintát készítünk.
- 3) A mintát mintegy 2 percen át keverjük, ezután szükség szerint pihentetjük, akár 1 órán keresztül.
- 20 4) A kevert mintát az automatikus VCS jelű ellenőrző elrendezésbe visszük.
- 5) A VCS jelű ellenőrző elrendezésben lizálunk, kvencselünk és elvégezzük az elemzést.
- Az 5A., 5B., 5C. és 5D., a 6A., 6B., 6C. és 6D., valamint a 7A., 7B., 7C. és 7D. ábrák a VCS jelű ellenőrző elrendezésben a találmány szerinti eljárás megvalósításával nyert, a 4A., 4B. és 4C. ábra szerinti lépések követésével kapott aktuális eredményekből összeállított szórási diagramokat mutatják. A 4A. ábra olyan normál diagram, amely szokásos nyereségi szint mellett a mikrogömbök nélküli helyzetre vonatkozik. A 4B. ábra esetében viszont az x-tengely mentén csökkentett nyereséget beállítva a mikrogömbök jelenlétével nyert eredményeket mutatjuk be, két sejtcsoportra és a
- 30 vizsgált sejtcsoport részére kialakított szabad térre vonatkozóan kapott eredményekkel. A hagyományos VCS jelű és x-tengely mentén kapott érzékelési paraméternek ez a módosítása a sejtcsoport x-tengely irányú jellemzőit eltolja, ezzel hely marad a fehérvérsejtek vizsgált részcs csoportjára eltolatott karakterisztika alapján nyerhető szórási diagram részére. A mérési adatokat ugyan a VCS jelű ellenőrző elrendezés felhasználásával nyertük, a találmány szerinti megoldásba minden olyan elrendezés beletartozik, amely a 4B. ábra szerinti konfigurációt követő adathalmaz előállítására alkalmas és amely így a további mérések esetén standard szerepet ellátó mérési eredményeket
- 35

ad. A jelen találmány szerinti elrendezések egy másik példáját úgy is ki lehet alakítani, hogy ezzel a 4A. vagy 4B. ábrán látható érzékelési konfigurációk jöjjenek létre.

Az 5A. ábrán ellenőrző vagy változtatás nélküli szórási diagram mutatja be azokat az eredményeket, amelyeket a sejtekkel nem kötődő ellenőrző mikrogömbök jelenlétében nyertünk. A leukocyták 152 csoportot foglalnak el, míg a monocyták, a neutrophil leukocyták és az eosinophil sejtek 154 csoportban gyűlnek össze. A fentiekkel összhangban nem feltétlenül van szükség az ellenőrző kép felvételére, mivel mint az az 5B., 5C. és 5D. ábrán látszik, a fehérvérsejtek vizsgálandó alcsoportja közvetlenül is lokalizálható és nem feltétlenül van szükség arra, hogy a referenciának tekintett értékekre támaszkodva visszamenő összehasonlításokat végezzünk. Az egérből nyert MSiG jelű monoklonális immunoglobinnal kialakított ellenőrző mikrogömböket azért használjuk, hogy a szórási diagramban nyert eredmények interferenciától mentesek legyenek.

A fehérvérsejtek egy első vizsgált csoportjánál a CD4 jelű sejtek karakterisztikáját az 5B. ábra szerint úgy toljuk el, hogy T4 jelű mikrogömbökkel kapcsoljuk össze. Az eltolt tulajdonságú csoport nélküli leukocyták 156 csoportban gyűlnek össze, míg a monocyták, a neutrophil leukocyták és az eosinophil sejtek 158 csoportban találhatók. A CD4 jelű sejtek eltolt karakterisztikái ezután új, 160 csoportban észlelhetőek és így az 5A. ábra eredményeivel közvetlen összehasonlítás nyerhető, illetve a CD4 jelű sejtek közvetlenül a leukocyták teljes számában képviselt részarányaként jelenlevő összetevőkkel azonosíthatók. A konkrét példában a CD4 jelű sejtek százalékos aránya mintegy 59,6 %. Ugyanezt a mintát a következőkben hagyományos felépítésű átfolyásos cytometriás készülékben ugyancsak elemeztük és az összehasonlítás céljából elvégzett mérések szerint az adódott, hogy az említett százalékos arány 60,6 %.

Az 5C. ábrán a CD8 jelű sejtek elemzési eredményei láthatók. A CD8 jelű sejtek jellemzőit úgy toljuk el, hogy hozzájuk T8 mikrogömböket kapcsolunk. A leukocytákra 162 csoport adódik, míg a monocyták, a neutrophil leukocyták és eosinophil sejtek a 164 csoportban halmozódnak fel. A CD8 jelű sejtek eltolt érzékelési karakterisztikáihoz külön 166 csoport tartozik, amelyből a CD8 sejtek százalékos részaránya állapítható meg. A CD8 jelű sejtek részarányára itt 14,4 % adódott. Az átfolyásos cytometriás összehasonlító vizsgálat tanúsága szerint ez a százalékos részarány mintegy 14,0 %.

Az 5D. ábrán a CD2 jelű sejtekre vonatkozó vizsgálati eredményeket összegezzük. A CD2 jelű sejtek tulajdonságait úgy toljuk el, hogy T11 jelű mikrogömbökkel hozzuk kapcsolatba őket, aminek eredményeként külön 168 csoport alakul ki, ahol a CD2 jelű sejtek vannak jelen. A CD2 jelű sejtek részarányára mintegy 81,9 % adódott,

amit átfolyásos cytometriás vizsgálattal ellenőriztünk s ez utóbbi ugyanerre a paraméterre 77,2 %-os értéket eredményezett.

Egy további elemzett mintára vonatkozó szórási diagramokat a 6A., 6B., 6D. és 6C. ábra mutat be. Ez esetben is az első, a 6A. ábra a tulajdonságok eltolása nélkül felvett, ellenőrzési célokat szolgáló szórási diagram, amelyben a leukocyták 170, a monocyta, a neutrophil leukocyták és az eosinophil sejtek 172 csoportot alkotnak.

A CD4 jelű sejtekre vonatkozó eredményeket a 6B. ábrán 174 csoport jelzi. A CD4 sejtek részarányára mintegy 46,3 %-ot kaptunk, míg az átfolyásos cytometriás mérésekkel végzett összehasonlítás szerint ez a százalékos részarány 46,9 %.

A CD8 jelű sejteknél bekövetkező tulajdonságváltozás a 6C. ábrán látható 176 csoportból adódik. A CD8 jelű sejtek százalékos részarányára 24,5 % adódott, míg az átfolyásos cytometriás vizsgálattal végzett ellenőrző mérések ugyanerre a paraméterre 20,8 %-ot adtak.

A CD2 jelű sejteknél a tulajdonságok eltolásával kapott változásnak a 6D. ábra szerinti 178 csoport felel meg. A CD2 jelű sejtek százalékos részarányára mintegy 71,8 % adódott.

Egy harmadik minta elemzési eredményeit a 7A., 7B., 7C. és 7D. ábra foglalja össze. Ez esetben is az első, a 7A. ábra a tulajdonságok eltolása nélkül felvett, ellenőrzési célokat szolgáló szórási diagram, amelyben a leukocyták 180, a monocyta, a neutrophil leukocyták és az eosinophil sejtek 182 csoportot alkotnak.

A CD4 jelű sejtekre vonatkozó eredményeket a 7B. ábrán 184 csoport jelzi. A CD4 sejtek részarányára mintegy 40,3 %-ot kaptunk, míg az átfolyásos cytometriás mérésekkel végzett összehasonlítás szerint ez a százalékos részarány 38,1 %.

A CD8 jelű sejteknél bekövetkező tulajdonságváltozás a 7C. ábrán látható 186 csoportból adódik. A CD8 jelű sejtek százalékos részarányára 33,6 % adódott, míg az átfolyásos cytometriás vizsgálattal végzett ellenőrző mérések ugyanerre a paraméterre 32,1 %-ot adtak.

A CD2 jelű sejteknél a tulajdonságok eltolásával kapott változásnak a 7D. ábra szerinti 188 csoport felel meg. A CD2 jelű sejtek százalékos részarányára mintegy 79,7 % adódott, míg az átfolyásos cytometriás vizsgálattal végzett ellenőrző mérések szerint ugyanerre a paraméterre 75,4 % adódott.

A találmány szerinti analízáló elrendezés egy további előnyös kiviteli alakjának blokkdiagramját a 8. ábrán mutatjuk be. Ezen olyan 190 sejtszűrő analízáló elrendezés elvi elrendezése látható, amelynek feladata vizsgálandó sejtcsoportok százalékos átfedésének meghatározása és ezt a továbbiakban fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk viszonylatában írjuk le, amelyeket teljes vérmintából vagy annak egy részéből nyertünk.

A 190 sejtszűrő analizáló elrendezésbe olyan 192 biológiai mintát adagolunk, amelyben legalább egy fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció van jelen és ez utóbbiban legalább két vizsgálandó részpopuláció van. A 192 biológiai mintát, vagy legalábbis annak egy részét 194 vezetéken át juttatjuk olyan berendezésbe, ahol 198 vezetéken keresztül áramoltatott 196 reagenssel kapcsolódik össze. A következő lépésben 200 állomáson az így kapott mintából a vörösvérsejteket eltávolítjuk. Erre a célra az előző-
 5 ekben leírt bármely eljárás hasznosítható.

A vörösvérsejtek eltávolítása után a visszamaradó keveréket több részre osztva több vezetékre juttatjuk. A keverék első részét 202 első vezeték közvetlenül
 10 204 elemző 206 beömlő vezetékébe adagolja. Mint a 22 elemzőnél, illetve a 44 elemző elrendezésénél ez esetben is a sejtek karakterisztikáit legalább két paraméter alapján érzékeljük és az egyik paraméter mindenképpen a fénnel szembeni viselkedésre vonatkozik.

A minta egy második részét 208 második vezeték 210 "X" sejtek karakterisztikáját eltoló állomásba adagolja. Ez esetben az "X" jelű sejtek a fehérvérsejtek egy első vizsgált részét képezik, amelyben legalább egy sejt karakterisztikát módosítunk vagy eltávolítunk és így a vizsgált sejtpopuláció érzékelési karakterisztikáját az vizsgált sejtcsoportot elfedő, fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció érzékelési karakterisztikájától eltávolítjuk. Az érzékelt sejt karakterisztikát úgy toljuk el, hogy a vizsgált sejtcsoportra
 20 a fehérvérsejtek adott populációjában specifikus antitesttel kiegészített, nem mágneses anyagú mikrogömböket használunk, mint erről az előzőekben már szó volt. A minta adott részét ezután a 204 elemzőbe juttatjuk és a 204 elemzővel végzett érések után az eredményeket szükség szerint 212 komparátorban rögzítjük, amely a 204 elemzővel 214 vezetéken át kapcsolódik.

Az előzőekben leírt módon a minta egy harmadik részét 218 harmadik vezetéken keresztül 216 "Y" sejtek karakterisztikáját eltoló állomásba adagoljuk. Ezen az állomáson az "Y" sejtek egy érzékelési karakterisztikáját eltávolítjuk vagy módosítjuk, majd az így előkészített mintát a 204 elemzőbe adagoljuk, ahonnan az eredmények a 212 komparátorba jutnak. Ezzel a megoldással mind az "X", mind az "Y" sejtek százalékos részaránya közvetlenül meghatározható, de ugyanígy a 202 első vezetéken továbbított anyagból nyert adatokkal való összehasonlítás révén szintén megállapítható. Az előzőekhez hasonlóan itt sincs szükség az összehasonlításra minden esetben, a 202 első vezeték tehát adott esetben elhagyható. Ez azonban nem akadályozza azt, hogy szükség szerinti számban az "X" és az "Y" sejtekre átfedési eredményeket
 30 nyerjünk.
 35

Az átfedésre vonatkozó százalékos arányok meghatározása céljából 222 negyedik vezeték felhasználásával "X" + "Y" sejtek karakterisztikáját eltoló állomásba a

minta egy negyedik részét továbbítjuk. Az "átfedést" ez esetben úgy értelmezzük, hogy egyes sejtek, sejtpopulációk vagy sejtpopulációk alcsoportjai, vagy sejtyszerű képződmények legalább két vizsgálandó receptort vagy antigént tartalmaznak. A mintának ebben az adagjában az "X" jelű sejtekkel vagy a fehérvérsejtek egy vizsgál-
 5 landó első alcsoportjával szemben specifikus antitestet tartalmazó mikrogömböket, továbbá az "Y" jelű sejtekkel vagy a fehérvérsejtek egy vizsgálandó alcsoportjával szemben specifikus antitestet tartalmazó mikrogömböket egymással kombináljuk. A minta adott adagját ezután a 204 elemzőbe vezetjük és az ott nyert adatokat a 212 komparátorban tároljuk.

10 Az átfedési százalékos arányt úgy határozzuk meg, hogy az "X" és az "Y" jelű sejtekre vonatkozó százalékos eredményeket, amelyeket a 208 második és a 218 harmadik vezetéken továbbított anyagból állapítottunk meg, összeadjuk. Az így kapott összegből, vagyis az "X" és az "Y" jelű sejtek összesített százalékos részarányából a 222 negyedik vezetéken továbbított anyagból kapott eredményt levonjuk. Ha a két
 15 százalékos részarány lényegében azonos, az "X" és az "Y" jelű sejtek átfedése nem különösen jellemző. Ha különbség van, a különbség a sejteknek azt az átfedési szá-
 20 százalékát jelenti, amelynél az "X" és az "Y" jelű sejtek a velük szemben specifikus mikrogömbökkel összekapcsolódnak. Habár a 190 sejtiszűrő analízáló elrendezést az elő-
 zőkben több vezetéket tartalmazó változatában írtuk le, egy másik lehetőség az,
 hogy az elrendezésben több elemző fokozatot valósítunk meg, és ez esetben az 50
 20 analízáló elrendezéshez hasonlóan egyvezetékes megoldásokat alkalmazunk. Az 50 analízáló elrendezés esetében szintén lehetséges a többvezetékes megoldás, ilyen-
 kor a 208 második, 218 harmadik és 222 negyedik vezetékek megfelelő egységek-
 25 8. ábrán bemutatott, illetve az előzőekben vázolt lehetőség szerint megvalósított el-
 rendezésekkel nyert eredményeket például a 9A., 9B., 9C., 9D., 9E. és 9F. ábra mu-
 tatja be.

A 9A., 9B., 9C., 9D., 9E. és 9F. ábra fehérvérsejtek egymást átfedő vizsgál-
 landó csoportjainak meghatározása során a találmány szerinti eljárással nyert ered-
 30 ményeket bemutató szórási diagramok sorozata. A 9A. ábra szórási diagramja vizsgál-
 landó CD4 jelű sejtcsoport módosításával kapott szórási diagram. Mint az előzőekben
 az 5A., 5B., 5C., 5D., 6A., 6B., 6C., 6D. és 7A., 7B., 7C., 7D. ábrák kapcsán leírtuk, a
 CD 4 jelű sejtek tulajdonságainak eltolását úgy biztosítjuk, hogy például a 210 "X"
 sejtek karakterisztikáját eltoló állomáson velük T4 jelű mikrogömböket kapcsolunk
 35 össze. Az eltoló tulajdonságú csoport nélküli leukocyták 224 csoportot alkotnak, míg
 az eltoló jellemzőket mutató sejtek karakterisztikáiból új, 226 csoport jön létre. Ebben
 az esetben a CD4 jelű sejtek százalékos részarányára mintegy 34,7 % adódott.

Hasonló szórási diagramot mutat be a 9B. ábra, amelynél vizsgált CD8 jelű sejtcsoport módosításával kapott eredményeket mutatunk be. Ez esetben a 216 "Y" sejtek karakterisztikáját eltoló állomáson a tulajdonságokat módosítjuk, amikor is a visszamaradó leukocyták 228 csoportot alkotnak, míg a CD8 jelű sejtek eltoló érzéke-

5 lési sejtkarakterisztikáiból új 230 csoport alakul ki. A jelen példa azt mutatja, hogy a CD8 jelű sejtek százalékos részaránya mintegy 33,9 % volt.

A 9C. ábrán a CD4 és CD8 jelű sejtek egymást átfedő százalékos részarányai látszanak, mégpedig olyan szórási diagram alapján, amelyet a CD4 és CD8 jelű sejtek vizsgált csoportjainak tulajdonságait módosító egységben való áthaladás után kap-

10 tunk. Ilyen egység azonos felépítésű lehet például a 220 "X" + "Y" sejtek karakterisztikáját eltoló állomással. A visszamaradó leukocyták karakterisztikáiból 232 csoport jön létre, míg a CD4 és CD8 jelű sejtek eltoló sejtkarakterisztikái 234 csoportot eredményeznek. A CD4 és CD8 jelű sejtek összesített részarányára mintegy 70,5 % adódott, míg a különálló mérések szerint a CD4 jelű sejtek részaránya 34,7 %, a CD8 jelű sej-

15 tek részaránya 33,9 % volt, aminek összege 68,6 %. A két eredményt. tehát a 68,6 %-os és a 70,5 %-os részarányt a 212 komparátorban lehet összehasonlítani, a kettő lényegében azonos értéket jelent, tehát megállapítható, hogy a CD4 jelű és a CD8 jelű sejtek között nincs átfedés.

A 9D. ábra vizsgálandó CD2 jelű sejtek tulajdonságainak módosításával nyert

20 szórási diagramot mutat. Ez esetben a módosítás helye a 208 első vagy 218 második vezeték vagy egy különálló, a rajzon nem ábrázolt vezeték. A visszamaradó leukocyták alapján 236 csoport adódik, míg a CD2 jelű sejtek eltoló sejtkarakterisztikáiból új, 238 csoport jön létre. A CD2 jelű sejtek százalékos részarányára mintegy 85,8 % adódott.

25 A 9E. ábra arra az esetre vonatkozik, amikor a minta egyazon részében mind a CD4, mind a CD2 jelű sejtek jellemzőit módosítjuk. Ilyenkor a leukocyták visszamaradó része alapján 240 csoportot kapunk, míg a CD2 és CD4 jelű sejtek egymást fedő eltoló érzékelési sejtkarakterisztikáiból új 242 csoport alakul ki. A CD2 és CD4 jelű sejtek kombinált részarányára a mérések 88,1 %-os értéket mutattak. A CD2 és CD4

30 jelű sejtekre külön-külön rendre 85,8 és 34,7 %-os részarány adódott, ami a várakozásoknak megfelelően mintegy 120,5 %-ot eredményezett. Ha a 120,5 %-ból a 88,1 %-ot levonjuk, ezzel a CD2 és CD4 jelű sejtek egymással való átfedésére a várakozásoknak megfelelően mintegy 32,4 %-os értéket kapunk.

A 9F. ábra arra az esetre vonatkozik, amikor a minta egyazon részében mind

35 a CD8, mind a CD2 jelű sejtek jellemzőit módosítjuk. Ilyenkor a leukocyták visszamaradó része alapján 244 csoportot kapunk, míg a CD2 és CD8 jelű sejtek egymást fedő eltoló érzékelési sejtkarakterisztikáiból új 246 csoport alakul ki. A CD2 és CD8 jelű

sejtek kombinált részarányára a mérések 87,0 %-os értéket mutattak. A CD2 és CD8 jelű sejtekre külön-külön rendre 85,8 és 33,9 %-os részaráy adódott, ami a várakozásoknak megfelelően mintegy 119,7 %-ot eredményezett. Ha a 119,7 %-ból a 87,0 %-ot levonjuk, ezzel a CD2 és CD8 jelű sejtek egymással való átfedésére ismét a várakozásoknak megfelelően mintegy 32,7 %-os értéket kapunk.

A találmány szerinti analizáló berendezés egy további, elfedett tulajdonságú sejtek szűrésére alkalmas kiviteli alakjának tömbvázlatát a 10. ábra mutatja, amelyen 250 analizáló elrendezést mutatunk be. A 250 analizáló elrendezés 252 biológiai mintát fogad be, amely az ábrán nem bemutatott módon legalább egy olyan sejthal-
 10 mazt vagy populációt tartalmaz, amelyet vizsgálatnak kell alávetni. A feltételezések szerint ez a sejtpopuláció legalább egy vizsgálandó sejtcsoportot fed el, amely sejtek egy második csoportját alkotja és a berendezés feladata az erre vonatkozó elemzések elvégzése. A 252 biológiai minta szükség szerint pufferben elosztatott sejtekből is állhat.

A 252 biológiai mintát, vagy legalábbis annak egy részét 254 vezetéken keresztül 258 vezetékebe csatlakoztatjuk, amelyen 256 reagenst áramoltatunk. Az így kapott keverék egy részét 262 vezetéken át 260 elemzőbe adagoljuk, amely felépítésében hasonlíthat a 22 elemzőhöz és feladata a minta vizsgált részében levő sejtek érzékelése, továbbá számuk megállapítása. A 260 elemző által megállapított mérési
 15 eredményeket 266 vezetéken át 264 komparátorba juttatjuk.

A 252 minta egy további részét a 254 vezetéken, majd 270 vonalon át 268 sejtteltávolító állomásba adagoljuk. A sejtek eltávolítását a fentieknek megfelelő módon tulajdonságaik eltolásával, vagy külön megjelölésével hajtjuk végre. A tulajdonság eltolását például úgy érjük el, hogy az elfedett sejtpopulációban levő sejtekhez nem
 25 mágneses tulajdonságú mikrogömböket kapcsolunk, ezzel az érzékelési karakterisztikákat ezeknél a sejteknél módosítjuk, lehetővé téve, hogy a vizsgált elfedett tulajdonságú sejtpopuláció érzékelési karakterisztikáiban ezek az eltoló karakterisztikájú sejtek ne jelenjenek meg. Az eltolás lehetőségét az adja, hogy a sejtpopulációban levő sejteket mágneses tulajdonságú mikrogömbökkel kapcsoljuk össze és a mikrogömböket
 30 ezt követően a minta vizsgált részétől mágneses tér hatásával elválasztjuk.

Az eljárás következő lépésében a 268 sejtteltávolító állomásból a minta feldolgozott részét 272 vonalon át a 260 elemzőbe visszük, ahol méréseket végzünk és ezek eredményeit a 264 komparátorba juttatjuk. A minta két része alapján nyert mérési adatokat összehasonlítjuk és így határozzuk meg, hogy az elfedett tulajdonságú
 35 sejtcsoport milyen százalékos részarányt képvisel.

A 11. ábrán a találmány szerinti elveket megvalósító 280 sejtszűrő analizáló elrendezés egy másik megvalósítási módjának blokkvázlatát mutatjuk be. A 280 sejt-

szűrő analizáló elrendezés a 250 analizáló elrendezéshez hasonló felépítésű, 282 biológiai minta vizsgálatára szolgál. A 282 biológiai minta részleteit az ábra nem mutatja, de az életképes biológiai sejtek egy első csoportját tartalmazza, mint például teljes vérmintát vagy annak abból vett sejteket. A 282 biológiai mintát alkotó sejtek

5 kvantitatív és/vagy kvalitatív meghatározást vagy elemzést lehetővé tevő biológiai reakcióban vesznek részt. A 282 biológiai minta fehérvérsejtek legalább egy populációját tartalmazza és ez a sejtpopuláció egy vizsgálandó sejtcsoportot elfed, annak tulajdonságaihoz nem enged hozzáférést. A 282 biológiai minta a sejteken kívül puffert is tartalmaz, amely a sejteket hordozza. A 280 sejtiszűrő analizáló elrendezésben a 282

10 biológiai mintát vagy annak egy részét 284 vezetéken keresztül 288 vezetéken át továbbított 286 reagenssel hozzuk kapcsolatba. A 282 biológiai mintának a vizsgált részéből 290 leválasztó állomáson a vörösvérsejteket eltávolítjuk. A vörösvérsejtek eltávolítására az előzőekben ismertetett leválasztási módszerek bármelyike jól használható. A leválasztott vörösvérsejteket vagy egy részüket 292 vezetéken át 294 elemzőbe

15 juttatjuk, amely alkalmas a fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció érzékelésére és számlálására. A 294 elemzőben nyert adatokat 296 vezetéken át 298 komparátorba juttatjuk, vagyis itt is a 250 analizáló elrendezés szerinti felépítést valósítunk meg. A 290 leválasztó állomásban előállított minta egy másik részét 302 vezetéken át 300 leválasztó állomásra vezetjük, amely a neutrophil leukocyták eltávolítását végzi. A

20 neutrophil leukocytákat a keverékből egy paraméter, például opacitás változtatásával vagy eltolásával, adott esetben mágneses eltávolítási módszerrel választjuk le, amelyekről az előzőekben már szó volt. A találmány szerinti eljárás megvalósítása során kipróbáltuk a neutrophil leukocytákkal szemben specifikus antitesteket is, amelyek alkalmazásáról a "Neutrophil anyagokkal szemben specifikus monoklonális antitestek"

25 című US-A 4,931,395 lsz. US szabadalmi leírás ad kitanítást.

A keveréket, miután belőle a neutrophil leukocytákat eltávolítottuk vagy benne az utóbbiak jellemzőit megváltoztattuk, 304 vezetéken át a 294 elemzőbe adagoljuk. A 294 elemzőben végzett vizsgálatok eredményei ez esetben is a 298 komparátorban kerülnek feldolgozásra. A második mérés eredményeit a minta első részén végzett

30 mérések eredményeivel összehasonlítjuk és így módon határozzuk meg, hogy a neutrophil leukocyták tartományában maradt-e olyan sejt, amelyet előzőleg a jelen levő neutrophil leukocyták miatt nem lehetett megvizsgálni.

A vörösvérsejtek eltávolítása után VCS jelű ellenőrző elrendezésben a normál teljes vérből vett mintát megvizsgáltuk és ezzel a fényszórásra vonatkozóan a 12A.

35 ábra szerinti szórási diagramot nyertük. Ebben az egyes sejtpopulációkhoz, illetve sejtcsoportokhoz tartozóan a következő sejtípusok különböztethetők meg: a leukocyták 306, a monocyták 308, a neutrophil leukocyták 310 és az eosinophil sejtek

312 csoportban gyűlnek össze. Az érett neutrophil leukocyták eltolást vagy kiválasztást követő eltávolítása után a sejtpopulációt alkotó klaszterek lényegében három részre redukálódnak, vagyis a 12B. ábra szerinti 306 csoportra, amely a leukocytákat tartalmazza, az eosinophil sejteket tartalmazó 312 csoportra és a monocytákat tartalmazó 308 csoportra. Az érett neutrophil leukocyták sejtpopulációjára jellemző adatokat összefoglaló 314 csoport ez esetben üres marad.

Az eosinophil sejtek a kifejetlen sejtek tartományát lefedik, ha csak elektronikus érzékelési paramétereket vizsgálunk. Ezt a 13A., 13B. ábra mutatja. A kedvezőtlen mérési eredmények elkerülését az teszi lehetővé, hogy fényérzékeléssel kapcsolatos paramétert ugyancsak vizsgálunk. A 13A. ábra szerint egyenáramot és opacitást alkalmazunk érzékelési paraméterként, ez esetben a normál, ismert módon felvett szórási diagramban csak három csoport észlelhető, mégpedig 316, 318 és 320 csoport. Az első, a 316 csoport a leukocytákat, a második, a 318 csoport a monocytákat tartalmazza, míg a harmadik, a 320 csoportban mind az eosinophil sejtek, mind a neutrophil leukocyták jelen vannak. Ezért ha a neutrophil leukocytákat eltávolítjuk, mint ez a 13B. ábra szerint bekövetkezett, a 316 és 318 csoportok megmaradnak, intenzitásukat a neutrophil leukocyták leválasztása növeli, míg 322 csoport alakul ki az eosinophil sejtekre vonatkozó mérési eredményekből. A 322 csoport rejtve tartalmazza minden olyan további sejt jellemzőit, amelyeket a neutrophil leukocyták az eosinophil sejtek okozta fedés miatt nem tesznek hozzáférhetővé.

A 14A. és 14B. ábrán a normálistól eltérő összetételű minta vizsgálati eredményeit foglaljuk össze. A vizsgálatok szerint a mintában kifejetlen neutrophil leukocyták vannak, ilyenkor a fényszórási vizsgálatok kiválóan alkalmasak a mintában levő neutrophil leukocyták fejletlenségi szintjének megállapítására. A 14A. ábra szerint a minta vizsgálata alapján 324 csoportban a leukocyták, 326 csoportban a monocyták, 328 csoportban a neutrophil leukocyták és 330 csoportban az eosinophil sejtek jellemzőit kapjuk. A kifejetlen neutrophil leukocyták eltávolítása után, ugyanennél a mintánál a 14B. ábra szerinti szórási diagram kapható, amelynél a neutrophil leukocyták lényegében csak a 322 csoportot eredményezik, amely a kifejetlen neutrophil leukocyták adatait foglalja össze. Ez utóbbiakra lényegében "kifejetlenségi mutató" állapítható meg, amely a mintában levő neutrophil leukocyták fejlettségi szintjére jellemző. A 14A. és 14B. ábra szerinti adatokat figyelembe véve megállapítható, hogy a fehérvérsejtek teljes számára vonatkoztatva a kifejetlen neutrophil leukocyták mennyisége mintegy 36,3 %. Ez az adat számításból nyerhető. Ezután a mintán összehasonlítási célból manuális vizsgálatot végeztünk, aminek eredményeként az volt megállapítható, hogy a velősejtek, a pálcikamagvú fénérjesejtek és a metamyelocyták részaránya 37 % volt. A kifejetlen neutrophil leukocytákra vonatkozó

adatokat a 15A. és 15B. ábra szerinti és az eosinophil sejtekre vonatkozó adatok, ha csak az elektronikus érzékelés módszerét hasznosítanánk, elfednék.

A 280 sejtszűrési analízis elrendezését az előzőekben a neutrophil leukocyták eltávolítása kapcsán ismertettük. Ez azonban csak annyit jelent, hogy a 5 fehérvérsejtek más csoportjai is elemezhetők, mégpedig úgy, ahogy azt a 16A., 16B., 16C. és 16D. ábrák kapcsán ismertetjük. Ezeken az ábrákon olyan szórási diagramokat mutatunk be, amelyeket egyenáram és fényszórás alapján nyertünk. A 16A. ábra a 12A. ábrához hasonló összehasonlító képet mutat, ahol a leukocyták 340 csoportnak felelnek meg.

10 A 16B. ábra szerint a leukocyták 342 csoportnak felelnek meg, amely azt a helyzetet tükrözi, amikor az előzőekben a neutrophil leukocytákkal kapcsolatban leírt eltávolítási technikák felhasználásával a fehérvérsejtek CD2 jelű csoportjának mágneses mikrogömbökkel történő eltávolítása után visszamaradó leukocytákat vizsgáljuk. Az eltávolítás ez esetben a CD2 jelű sejtekkel szemben specifikus antitesteket hordozó mikrogömbökkel történt. A visszamaradó leukocytáknak megfelelő 342 csoport és 15 a 340 csoport összehasonlítása alapján az adódik, hogy a vizsgált mintában a CD2 jelű sejtek részaránya 89 %, míg az átfolyósos cytometriás elrendezéssel végzett vizsgálatok szerint ez az érték 93 %.

A CD4 jelű sejtek eltávolításával kapott eredményeket 344 csoport képviseli a 20 16C. ábrán. A CD4 jelű sejtek részaránya mintegy 58 % volt, míg az átfolyósos cytometriás vizsgálattal nyert mérési eredmények szerint ez 62 %.

A CD8 jelű sejtek eltávolításával kapott eredményeket 346 csoport képviseli a 16D. ábrán. A CD8 jelű sejtek részaránya mintegy 21 % volt, míg az átfolyósos cytometriás vizsgálattal nyert mérési eredmények szerint ez 20 %.

25 A találmány szerinti eljárást a fentiek szerint megvalósítva off-line vagy előkészítő lépések sorozatát lehet a mintakeverékek automatizált elemző készülékekkel történő sorozatvizsgálata előtt elvégezni. Az off-line jellegű megoldásoknál kitűnt, hogy a megfelelő eredmények csak úgy nyerhetők, ha bizonyos elővigyázatossági intézkedéseket betartunk. Ezeket a lépéseket és a hozzájuk tartozó elővigyázatossági 30 intézkedéseket a 17A., 17B., 17C. és 17D. ábra kapcsán mutatjuk be részletesen, amelyek adatai példakénti jellegűek és a CD4 jelű sejtek felhasználásával nyerhetők. Az ábrákon bemutatott eredményeket ugyanazon minta alapján kaptuk. A szórási diagramokat rádiófrekvenciás és fényszórásos vizsgálattal az egyenáramú vizsgálathoz hasonlítva kaptuk.

35 A 17A. ábra szerint sejtpopuláció módosítására vagy eltolására szolgáló ismert standard eljárással összehasonlító kép nyerhető. A teljes vérből vett mintegy 150 µl térfogatú mintát CD4 jelű sejtekkel szemben specifikus antitestekkel borított mikro-

gömbök 15 µl-es mennyiségével hoztuk kapcsolatba és haladéktalanul 2 percen át kevertük. Ennek eredményeként olyan CD4 jelű sejtekre vonatkozó 348 csoportot kaptunk, amely a megfelelő eltolást bizonyította és a CD4 jelű sejtek mintegy 40,3 %-os részarányát bizonyította.

5 A tapasztalat azt mutatja, hogy ebben az eljárásban több olyan lehetőség van, amelyet el kell kerülni, ha a sejtek tulajdonságainak megfelelő módosítását kívánjuk elérni. A mikrogömbök folyékony reagensben szuszpendált állapotban kerülnek felhasználásra. A mikrogömbökhöz elméletileg kapcsolódó antitestek egy része viszont jól bizonyíthatóan a mikrogömböktől elválíks és a szuszpendáló folyadékban szabadon
10 lebeg, vagy a reagenshez kapcsolódik. Az ily módon szabaddá váló antitest képes a sejt antigén részével összekapcsolódni és azt blokkolni, aminek eredményeként a mikrogömbök nem tudnak megkötődni. Ennek eredményeként a vizsgált sejteknek a kiválasztandó csoportja nem tudja tulajdonságait megváltoztatni, a mérési eredmények pontatlanokká válnak. Ez a probléma akkor nem jelentkezik, ha a mikrogömbö-
15 ket és a mintát egymással gyorsan keverjük össze. Másrészt viszont a mikrogömböket és a mintát egymással összekapcsolva és első keverés nélkül inkubálási folyamatot beindítva az az állapot következik be, hogy a szabad antitestek szétszóródnak, az antigénnel kapcsolódó részeket blokkolják.

 A 17B. ábra annak a vizsgálatnak az eredményeit mutatja be, amikor a CD4
20 jelű sejtekkel szembeni, a minta felületén úszó reagensből 15 µl-t kevertünk ki a mintával és a keveréket mintegy 15 percig inkubáltuk (állni hagytuk). Ezután adagoltuk csak a mikrogömböket, majd a keveréket 2 percen át homogenizáltuk. Az eredményeket a CD4 jelű sejtekre 350 csoport adja, amelyből a CD4 jelű sejtekre 34,4 %-os részarány adódik. Ez mintegy 6 %-os csökkenést jelent a 348 csoporthoz képest, és
25 azt jelzi, hogy a CD4 jelű sejtek közül számosat a keverék blokkol.

 A 17C. ábrában a CD4 jelű sejtekkel szembeni reagens felső rétegéből vett
15 µl-es adag és a minta egy adagjának összekeverésével nyert anyag vizsgálati
eredményeit mutatjuk be. A két anyagot egyesítésük után röviden örvényes áramlás-
ba hoztuk, majd 15 percen át inkubáltuk. Az örvényes áramlás eredményeként a sza-
30 bad antitestek gyors diszperziója következik be, mivel semmiféle eltolás nem volt megfigyelhető, miután a CD4 jelű sejtekkel szemben specifikus mikrogömböket a ke-
verékhez adtuk és azt 2 percen át az előzőekhez hasonlóan homogenizáltuk. A kapott
eredmények szerint a CD4 jelű sejtek hozzájárulása jelentéktelen, 0,5 % körüli, ami
annyit jelent, hogy a sejtek antigént fogadó részeit a szabad antitestek lényegében
35 teljes mértékben blokkolták.

 Azt is biztosítani akartuk, hogy csak a CD4 jelű sejtek antigént fogadó részeit blokkoljuk le, ezért a CD8 jelű sejtekkel szemben specifikus reagens felső rétegéből

15 ml-t a mintához adagoltunk, a keveréket örvényes áramlásba hoztuk, majd 15 per-
cen keresztül inkubáltuk. A CD4 jelű sejtekkel szemben specifikus mikrogömböket ezt
követően a mintával kombináltuk és 2 percen keresztül a keveréket homogenizáltuk.
A CD4 jelű sejtekre vonatkozó eredményeket 352 csoport foglalja össze, amely a
5 17D. ábra tanúsága szerint a CD4 jelű sejtek mintegy 40,0 %-os részarányának felel
meg. Ez azt bizonyítja, hogy a CD4 jelű sejtekkel szembeni antigéneket fogadó ré-
szeket a CD8 jelű sejtek nem blokkolták le.

Csoportos feldolgozást feltételezve összefoglalóan megállapíthatjuk, hogy a
minta vizsgált adagját és a mikrogömböket a két anyag egyesítése után közvetlenül
10 vagy legalábbis igen rövid időn belül el kell kezdeni keverni. Ha a keverés vagy kava-
rás nem következik be, a mikrogömbökből és a mintából mintegy 10 perces
inkubációs idő betartása mellett lehet csak megfelelő eredményeket nyerni. A javasolt
és optimális eredményeket eredményező eljárás az, ha a keverést az egyesítést
követően lényegében azonnal megkezdjük, mivel a megfelelő keverést követően az
15 anyag mintegy 1 óráig elraktározható, ezzel minőségének romlása nem következik
be.

A 17A., 17B., 17C. és 17D. ábrákkal analóg eljárásokra vonatkozó szórási di-
agramokat a 18A., 18B., 18C. és 18D. ábrákon mutatunk be. Ezek olyan mintákra vo-
natkoznak, amelyeket elemzés előtt mintegy 24 órával korábban vettek le. A 18A. áb-
20 ra fehérvérsejtek két sejtpopulációjára vonatkozik, amelyeket egymástól függetlenül
számláltunk meg, mégpedig nem megkötődő ellenőrző mikrogömbök hozzáadása
mellett. Ezzel leukocytákra 354 csoport, a monocytákra, a neutrophil leukocytákra és
az eosinophil sejtekre közösen 356 csoport adódott. A 18B. ábrában a fehérvérsejtek
első vizsgálandó alcsoportjára a CD4 jelű sejtekre vonatkozó eredményeket foglaljuk
25 össze, mégpedig olyan kezelést követően, amikor a vizsgálandó sejtekhez T4 jelű
mikrogömböket kapcsoltunk, ami után a CD4 jelű sejtekre vonatkozó adatok 358 cso-
portot eredményeztek és ebből százalékos arányukra 43,3 % adódott. A CD4 jelű
sejtek eltávolítása után visszamaradó leukocyták mérési eredményeit 360 csoport
foglalja össze. A CD4 jelű sejtek százalékos részaránya közvetlenül is meghatározha-
30 tó, de ugyanerre alkalmas az is, ha a 18A. ábra szerinti eredeti csoportokra visszatér-
rünk.

A 18C. és 18D. ábrán a fehérvérsejtek két további vizsgálandó csoportjára,
mégpedig a CD8 és CD2 jelű sejtekre vonatkozó eredmények láthatók. A CD8 jelű
sejtek 362 csoportot eredményeztek, a hozzájuk tartozó százalékos részarány 27,6 %
35 volt. Ebben az esetben a visszamaradó leukocytáknak 364 csoport felelt meg. A má-
sik vizsgálat szerint a CD2 jelű sejtek 366 csoportot hoztak létre, hozzájuk 65,9 %-os
részarány tartozott. Egyúttal a visszamaradó leukocytáknak 368 csoport felelt meg.

Ez az öregítést is figyelembe vevő elemzési eredmény azért fontos, mert igazolja, hogy a perifériás vérminták minősége idővel leromlik. Mindez igazolta azt is, hogy a találmány szerinti eljárás és berendezés még a régebben, 24 órával korábban levett minták vizsgálatára is alkalmas. Ajánlatos azonban, hogy a találmány szerinti eljárást és berendezést a lehető legkisebb késedelemmel használjuk fel a minták vizsgálatára.

A 19A., 19B., 19C., 19D. és 20A., 20B., 20C. ábrák olyan mintában a fehérvérsejtek egy-egy csoportjának tulajdonságait megváltoztató beavatozások eredményeit mutatják, amelynél a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációt először a teljes vérmintából izoláltuk. A 19A. ábra ellenőrző 370 mintát tartalmaz, amelyet a fehérvérsejtek minden leukocytát tartalmazó populációjából nyertünk, mégpedig az x-tengely irányában 90°-os fényszórás vizsgálatával és párhuzamos fénynyaláb szórásával az y-tengely irányában. A 19B., 19C. és 19D. ábrák esetében a CD2 jelű sejtekre vonatkozóan rendre 372, 374 és 376 csoportok adódtak, amelyeknél az előbbi sorrendben rendre a T11 jelű mikrogömbökből 5, 10 és 255 µg mennyiséget használtunk fel.

A 20A. ábra szerint 378 ellenőrző mintát vettünk fel. Ez esetben a CD2 jelű sejtekre a 20B. ábra szerinti 380 csoport adódott, míg a 20C. ábra a CD4 jelű sejtekre vonatkozik, amelynél az eredményeket 382 csoport foglalja össze. A 20D. ábra végül a CD8 jelű sejtekre vonatkozik, a mérési eredményeket 384 csoport reprezentálja.

A találmány szerinti analízáló berendezés alkalmas célszerűen a fehérvérsejtek abszolút számának megállapítására és ezzel a fehérvérsejtek populációinak abszolút nagyságának meghatározására. Ez igen fontos például az AIDS-ben szenvedő betegek kezelése szempontjából, hiszen a CD4 jelű sejtek száma kiváló útmutató arra vonatkozóan, hogy a beteget milyen gyógyszeres kezelésnek kell alávetni. Az abszolút számot úgy kapjuk, hogy a fehérvérsejteket egy adott térfogatban ismert módon megszámláljuk, amire a kereskedelmi forgalomban beszerezhető és egyebek között a Coulter Electronics, Inc. által gyártott hagyományos sejtszámláló készülékek ugyancsak alkalmazhatók.

A jelen találmány szerinti eljárást és berendezést felhasználhatjuk a mikrogömbök mágneses eltávolítására, ami célszerű lehet a minta kijelölt adagjának lizáló és kvencselő szerrel való kezelése előtt. A mikrogömbök eltávolítása akkor válik különösen fontossá, ha jelenlétük miatt a fényszórási ábrákban interferencia jelenségekkel lehet számolni. Ha például 1D3 jelű antitestekkel kapcsolódó mikrogömböket hasznosítunk, a következő eljárást lehet végrehajtani:

1) A teljes vérmintából 28 µl-es adagot 82 ml hígítószerrel és az 1D3 jelű antitestekkel kapcsolódó mikrogömb 40 µl-es adagjával egyesítjük;

2) a kapott anyagot 15 percen át keverjük;

- 3) a keveréket 1 ... 2 perc időtartamra mágneses tér hatásának tesszük ki;
- 4) a keverék felső rétegét eltávolítjuk;
- 5) mintegy 10 ... 12 percen át 300 µl lizáló szert adagolunk;
- 6) mintegy 6 ... 8 másodpercen át 120 µl kvencselő szert adagolunk; és
- 7) a mintát a találmány szerinti eljárást megvalósító rendszerbe visszük.

5

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás sejtek csoportjának vizsgálatára, amikor is legalább egy vizsgálandó sejtcsoportot legalább egy más sejtcsoportok által elfedett tulajdonságú sejtpopulációt tartalmazó mintából elemzésnek vetünk alá, *azzal jellemezve*, hogy a minta legalább egy részében a vizsgálandó sejtcsoportot a benne levő sejtek egy legalább egy részének érzékelési karakterisztikáját megváltoztató behatásnak vetjük alá oly módon, hogy a kiválasztott sejtcsoportba eső sejtek legalább egy sajátos molekulájával szemben specifikus reagenst megkötő, a vizsgálandó sejtcsoportba tartozó sejteknel sokkal kisebb méretű mikrogömbökkel az elfedett tulajdonságú sejtpopulációt érintkeztetve a vizsgálandó sejtcsoporttól az utóbbit karakterisztika szerint elválasztjuk, a mikrogömböket a minta legalább egy részével összekeverjük, ezzel a vizsgálandó sejtcsoportnak a mintában levő sejtjeivel a mikrogömböket összekapcsoljuk és a mikrogömbökkel kapcsolódó sejtpopulációba tartozó vizsgálandó sejtek legalább egy érzékelési karakterisztikáját megváltoztatjuk vagy eltoljuk, a sejteket lényegében egyszerűen legalább egy érzékelési zónán engedjük át, a minta vizsgált részében az egyedi sejteket legalább két paraméter és közöttük fényszórási jellemzőik alapján érzékeljük, illetve számláljuk, majd a legalább két érzékelési paraméter alapján a sejtek legalább kétdimenziós karakterisztikáját felvázoljuk és ennek alapján a kiválasztott sejtcsoportra vonatkozó következtetéseket teszünk.
2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy érzékelési paraméterként legalább egy fényszórásra épülő optikai paramétert és legalább egy elektronikai paramétert választunk.
3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a sejtek érzékelésénél fényszórást vizsgálunk és legalább két elektronikusan érzékelhető paramétert, az említett három érzékelési paraméter alapján legalább kétdimenziós karakterisztikát állítunk föl és ezzel a vizsgálandó sejtcsoport százalékos részarányát az adott jelenség létrehozásában megállapítjuk.
4. Az 1. – 3. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a reagenseket és antitesteket a vizsgálandó sejtcsoport sejtjeinél monoklonális antitestek formájában visszük be és ezzel a molekulákat specifikusan módosítjuk.
5. Az 1. – 4. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mintát teljes vérmintaként hozzuk létre, ebben a fehérvérsejtek legalább egy elfedett tulajdonságú csoportját vizsgáljuk és a vizsgálandó sejtcsoportot a fehérvérsejtek egy adott sejtpopulációjaként határozzuk meg.
6. Az 5. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az érzékelési karakterisztikát a fehérvérsejtek sejtpopulációjának adott részével szemben specifikus mo-

lekulára specifikus reagenssel megkötött mikrogömbök beadagolásával módosítjuk, amihez a mikrogömböket a minta kiválasztott részével összekeverjük, a fehérvérsejtek kiválasztott populációját a mikrogömbökkel összekötjük és ennek révén a fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció adott részének legalább egy érzékelési karakterisztikáját el-
5 toljuk.

7. Az 5. vagy 6. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a reagenseket monoklonális antitestek formájában, a specifikus molekulákat a fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció vizsgált részével szembeni antigének formájában biztosítjuk.

8. Az 5. – 7. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a
10 fehérvérsejtek sejtpopulációjából egy adott első rész karakterisztikáját az adott első részbe tartozó fehérvérsejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel összekötött mikrogömbök beadagolásával módosítjuk és a mikrogömböket a mintával összekeverjük, amivel a mikrogömböket a fehérvérsejtek adott első részével összekapcsoljuk és ennek az adott első résznek az érzékelési karakterisztikáját eltoljuk.

9. A 8. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek sejtpopulációjából egy adott második rész karakterisztikáját a minta egy második adagjában az adott második részbe tartozó fehérvérsejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel összekötött mikrogömbök beadagolásával módosítjuk és a mikrogömböket a mintával összekeverjük, amivel a mikrogömböket a fehérvérsejtek
15 adott második részével összekapcsoljuk és ennek az adott második résznek az érzékelési karakterisztikáját eltoljuk.

10. A 9. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az adott első és második rész karakterisztikáját a minta egy harmadik adagjában mikrogömbök két sorozatával módosítjuk, amihez a fehérvérsejtek
25 sejtpopulációjából az adott első résszel szemben specifikus antitestekkel összekapcsolt mikrogömböket, valamint a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az adott második résszel szemben specifikus monoklonális antitestekkel összekapcsolt mikrogömböket használunk, a mikrogömböket a mintával összekeverjük, ezzel a sejtpopulációból az első és a második adott részt megkötjük, legalább egy-egy érzékelési karakterisztikát
30 mind az adott első, mind az adott második résznél módosítunk, a minta első adagjában, a minta második és harmadik adagjában végzett vizsgálatok eredményeit összehasonlítjuk és ezzel a fehérvérsejtek adott első és második részére kapott átfedési százalékos arányokat meghatározzuk.

11. Az 5. – 10. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy
35 a fehérvérsejtek CD4 jelű sejtjeinek karakterisztikáit a fehérvérsejtek CD4 jelű sejtke populációjával szemben specifikus monoklonális antitesteket megkötve tartalmazó mikrogömbökkel módosítjuk, miután a mikrogömböket a mintával összekevertük és a

CD4 jelű sejteket megkötöttük, amivel a CD4 jelű sejteket tartalmazó rész legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltoljuk.

12. Az 5. – 11. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek CD8 jelű sejtjeinek karakterisztikáit a fehérvérsejtek CD8 jelű sejtek populációjával szemben specifikus monoklonális antitesteket megkötve tartalmazó mikrogömbökkel a minta egy második részében módosítjuk, miután a mikrogömböket a mintával összekevertük és a CD8 jelű sejteket megkötöttük, amivel a CD8 jelű sejteket tartalmazó rész legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltoljuk.

13. Az 5. – 12. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek sejtpopulációjából a CD4 jelű és a CD8 jelű sejteket tartalmazó első és második rész karakterisztikáját a minta egy harmadik adagjában mikrogömbök két sorozatával módosítjuk, amihez a fehérvérsejtek sejtpopulációjából rendre a CD4 jelű és a CD8 jelű sejteket tartalmazó első és második résszel szemben specifikus antitestekkel összekapcsolt mikrogömböket használunk, a mikrogömböket a mintával összekeverjük, ezzel a sejtpopulációból a CD4 jelű és a CD8 jelű sejteket tartalmazó első és második részt a mikrogömbökkel összekötjük, legalább egy-egy érzékelési karakterisztikát mind az adott első, mind az adott második résznél módosítunk, a minta első adagjában, a minta második és harmadik adagjában végzett vizsgálatok eredményeit összehasonlítjuk és ezzel a fehérvérsejtek adott első és második részére kapott átfedési százalékos arányokat meghatározzuk.

14. Az 5. – 11. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek CD2 jelű sejtjeinek karakterisztikáit a fehérvérsejtek CD2 jelű sejtek populációjával szemben specifikus monoklonális antitesteket megkötve tartalmazó mikrogömbökkel a minta egy második részében módosítjuk, miután a mikrogömböket a mintával összekevertük és a CD2 jelű sejteket megkötöttük, amivel a CD2 jelű sejteket tartalmazó rész legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltoljuk.

15. A 14. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek sejtpopulációjából a CD2 jelű és a CD4 jelű sejteket tartalmazó első és második rész karakterisztikáját a minta egy harmadik adagjában mikrogömbök két sorozatával módosítjuk, amihez a fehérvérsejtek sejtpopulációjából rendre a CD2 jelű és a CD4 jelű sejteket tartalmazó első és második résszel szemben specifikus antitestekkel összekapcsolt mikrogömböket használunk, a mikrogömböket a mintával összekeverjük, ezzel a sejtpopulációból a CD2 jelű és a CD4 jelű sejteket tartalmazó első és második részt a mikrogömbökkel összekötjük, legalább egy-egy érzékelési karakterisztikát mind az adott első, mind az adott második résznél módosítunk, a minta első adagjában, a minta második és harmadik adagjában végzett vizsgálatok eredményeit össze-

hasonlíttuk és ezzel a fehérvérsejtek adott első és második részére kapott átfedési százalékos arányokat meghatározzuk.

5 16. Az 5. – 10. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek CD8 jelű sejtjeinek karakterisztikáit a fehérvérsejtek CD8 jelű sejtek populációjával szemben specifikus monoklonális antitesteket megkötvé tartalmazó mikrogömbökkel módosítjuk, miután a mikrogömböket a mintával összekevertük és a CD8 jelű sejteket megköttöttük, amivel a CD8 jelű sejteket tartalmazó rész legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltöljük.

10 17. A 16. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek CD2 jelű sejtjeinek karakterisztikáit a fehérvérsejtek CD2 jelű sejtek populációjával szemben specifikus monoklonális antitesteket megkötvé tartalmazó mikrogömbökkel a minta egy második részében módosítjuk, miután a mikrogömböket a mintával összekevertük és a CD2 jelű sejteket megköttöttük, amivel a CD2 jelű sejteket tartalmazó rész legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltöljük.

15 18. A 17. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek sejtpopulációjából a CD2 jelű és a CD8 jelű sejteket tartalmazó első és második rész karakterisztikáját a minta egy harmadik adagjában mikrogömbök két sorozatával módosítjuk, amihez a fehérvérsejtek sejtpopulációjából rendre a CD2 jelű és a CD8 jelű sejteket tartalmazó első és második résszel szemben specifikus antitestekkel összekapcsolt mikrogömböket használunk, a mikrogömböket a mintával összekeverjük, ezzel a sejtpopulációból a CD2 jelű és a CD8 jelű sejteket tartalmazó első és második részt a mikrogömbökkel összekötjük, legalább egy-egy érzékelési karakterisztikát mind az adott első, mind az adott második résznél módosítunk, a minta első adagjában, a minta második és harmadik adagjában végzett vizsgálatok eredményeit összehasonlíttuk és ezzel a fehérvérsejtek adott első és második részére kapott átfedési
25 százalékos arányokat meghatározzuk.

30 19. Az 5. – 18. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy vörösvérsejteket tartalmazó teljes vérmintából a vörösvérsejtek populációját előzetesen eltávolítjuk és eközben a fehérvérsejtek populációját alkotó sejtek minőségi és mennyiségi jellemzőit lényegében változatlanul hagyjuk.

35 20. Az 1. – 19. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a minta egy első adagját az érzékelési karakterisztika módosítása előtt előzetes érzékelési műveletnek és előzetes számlálásnak vetjük alá, majd a módosított karakterisztika szerinti vizsgálat után a kapott eredményeket az előzetes érzékelési művelet és az előzetes számlálás eredményeivel összehasonlíttuk.

21. Berendezés sejtek csoportjának vizsgálatára, amely legalább egy vizsgálandó sejtcsoportnak legalább egy más sejtcsoportok által elfedett tulajdonságú sejt-

populációt tartalmazó mintában (12, 32, 192, 252, 282) való vizsgálatára alkalmas elemzőt (22, 44, 204, 260, 294) tartalmaz, *azzal jellemezve*, hogy a minta (12, 32, 192, 252, 282) legalább egy részében a vizsgálandó sejtcsoportot a benne levő sejtek egy legalább egy részének érzékelési karakterisztikáját megváltoztató behatásnak alávétő olyan első eszközzel van ellátva, amelyben a kiválasztott sejtcsoportba eső sejtek legalább egy sajátos molekulájával szemben specifikus reagenst (16, 36, 196, 256, 286) megkötő, a vizsgálandó sejtcsoportba tartozó sejteknél sokkal kisebb méretű mikrogömbökkel az elfedett tulajdonságú sejtpopuláció érintkezik, továbbá a vizsgálandó sejtcsoporttól az elfedett tulajdonságú sejtpopuláció karakterisztika szerinti elválasztásához a mikrogömböket a minta (12, 32, 192, 252, 282) legalább egy részével összekeverő tér van kiképezve, amelyben a vizsgálandó sejtcsoportnak a mintában (12, 32, 192, 252, 282) levő sejtjei a mikrogömbökkel összekapcsolódva vannak elrendezve és a mikrogömbökkel kapcsolódó sejtpopulációba tartozó vizsgálandó sejtek legalább egy megváltoztatott vagy eltolt érzékelési karakterisztikával vannak jelen, továbbá a sejteknek lényegében egyszerre legalább egy érzékelési zónán való átszállítására alkalmas második eszközzel van ellátva, amely a minta (12, 32, 192, 252, 282) vizsgált részében az egyedi sejteknek legalább két paraméter és közöttük fényszórási jellemzőik alapján való érzékelését, illetve számbavételét biztosító érzékelővel (104) van kialakítva, és harmadik eszköze van, amely a legalább két megállapított érzékelési paraméter alapján a sejtek legalább kétdimenziós karakterisztikájának felvázolására és ennek alapján a kiválasztott sejtcsoportra vonatkozó következtetések levonására alkalmasan van kiképezve.

22. A 21. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy a második eszközben legalább egy fényszórásra épülő optikai paraméter és legalább egy elektronikai paraméter követésére alkalmas érzékelő (104) van elrendezve.

23. A 21. vagy 22. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy a második eszköz a sejtek érzékelését fényszórási jellemző és legalább két elektronikusan érzékelhető paraméter alapján lehetővé tevő érzékelővel (104) van ellátva, továbbá a harmadik eszköz az említett legalább három érzékelési paraméter alapján legalább kétdimenziós karakterisztika felállítására és ezzel a vizsgálandó sejtcsoport által az adott jelenség létrehozásában képviselt százalékos részarány megállapítására alkalmasan van kialakítva.

24. A 21. – 23. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első eszközben a reagensek (16, 36, 196, 256, 286) és antitestek a vizsgálandó sejtcsoport sejtjeinél monoklonális, a molekulákat specifikusan módosító antitestek formájában vannak jelen.

25. A 21. – 24. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első eszközben a minta (12, 32, 192, 252, 282) a fehérvérsejtek legalább egy elfedett tulajdonságú csoportját hordozó teljes vérmintaként van elrendezve, amelyben a vizsgálandó sejtcsoport a fehérvérsejtek egy adott vizsgálandó sejtpopulációjaként van jelen.

26. A 25. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első eszköz az érzékelési karakterisztikát a fehérvérsejtek sejtpopulációjának adott részével szemben specifikus molekulára specifikus reagenssel (16, 36, 196, 256, 286) megkötött mikrogömbök egy adagját tartalmazza, hozzá a mikrogömböket a minta (12, 32, 192, 252, 282) kiválasztott részében homogenizáló keverő (66) tartozik, ahol a keverőben (66) a fehérvérsejtek kiválasztott populációja a mikrogömbökkel összekapcsolódva van jelen, továbbá a fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció adott részének legalább egy eltolt érzékelési karakterisztikája van.

27. A 25. vagy 26. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első eszközben a reagensek (16, 36, 196, 256, 286) monoklonális antitestek formájában, a specifikus molekulák a fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció vizsgált részével szembeni antigének formájában vannak jelen.

28. A 25. – 27. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek sejtpopulációjából egy adott első rész karakterisztikáját az adott első részbe tartozó fehérvérsejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel összekötött mikrogömbök beadagolásával módosító első eszközben a mikrogömböket és a mintát (12, 32, 192, 252, 282) egymással homogenizáló keverő (66) van, ahol a keverőben (66) a mikrogömbök a fehérvérsejtek adott első részével összekapcsolódva vannak jelen és az adott első résznek eltolt érzékelési karakterisztikája van.

29. A 28. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első eszköz a fehérvérsejtek sejtpopulációjából egy adott második rész karakterisztikáját a minta (12, 32, 192, 252, 282) egy második adagjában az adott második részbe tartozó fehérvérsejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel összekötött mikrogömbök beadagolásával történő módosítására alkalmasan van kiképezve, benne a mikrogömbök és a minta (12, 32, 192, 252, 282) homogenizálását biztosító keverő (66) van elrendezve, amelyben a mikrogömbök a fehérvérsejtek adott második részével összekapcsolva vannak jelen és ennek az adott második résznek eltolt érzékelési karakterisztikája van.

30. A 29. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első eszköz a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az adott első és második rész karakterisztikáját a minta (12, 32, 192, 252, 282) egy harmadik adagjában mikrogömbök két sorozatával történő módosítására alkalmasan van kiképezve, ahol a mikrogömbök sorozatai

egyrészt a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az adott első résszel szemben specifikus, másrészt a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az adott második résszel szemben specifikus monoklonális antitestekkel összekapcsolt mikrogömbökből vannak kialakítva, továbbá az első eszközben a mikrogömböket és a mintát (12, 32, 192, 252, 282) egymással homogenizáló, a sejtpopulációból az első és a második adott résznek a mikrogömbök megfelelő sorozataival való összekötését biztosító keverő (66) van elrendezve, ahol mind az adott első, mind az adott második rész legalább egy-egy módosított érzékelési karakterisztikával van jelen, a harmadik eszköz a minta (12, 32, 192, 252, 282) első adagjában, továbbá a minta (12, 32, 192, 252, 282) második és harmadik adagjában végzett vizsgálatok eredményeinek összehasonlítására és ezzel a fehérvérsejtek adott első és második részére kapott átfedési százalékos arányok meghatározására alkalmasan van kiképezve.

31. A 25. – 30. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek CD4 jelű sejtjeiből álló populáció karakterisztikáját a fehérvérsejtek CD4 jelű sejtekből álló populációjával szemben specifikus monoklonális antitesteket megkötve tartalmazó mikrogömbök beadagolásával módosító első eszközben a mikrogömböket és a mintát (12, 32, 192, 252, 282) egymással homogenizáló keverő (66) van elrendezve, ahol a keverőben (66) a CD4 jelű sejtek a mikrogömbökkel összekapcsolódva vannak jelen és a CD4 jelű sejteket tartalmazó résznek legalább egy eltolt érzékelési karakterisztikája van.

32. A 25. – 31. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első eszköz a fehérvérsejtek CD8 jelű sejtjeiből álló sejtpopuláció karakterisztikáját a fehérvérsejtek CD8 jelű sejtek populációjával szemben specifikus monoklonális antitesteket megkötve tartalmazó mikrogömbök beadagolásával történő módosítására alkalmasan van kiképezve, benne a keverő (66) a mikrogömbök és a minta (12, 32, 192, 252, 282) homogenizálására alkalmasan van kialakítva, továbbá a keverőben (66) a mikrogömbök a mintával (12, 32, 192, 252, 282) összekeverve és a CD8 jelű sejtekhez kapcsolódóan vannak jelen és a CD8 jelű sejteket tartalmazó résznek legalább egy eltolt érzékelési karakterisztikája van.

33. A 25. – 32. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első eszköz a fehérvérsejtek sejtpopulációjából a CD4 jelű és a CD8 jelű sejteket tartalmazó első és második rész karakterisztikáját a minta (12, 32, 192, 252, 282) egy harmadik adagjában mikrogömbök két sorozatával történő módosítására alkalmasan van kiképezve, ahol a mikrogömbök sorozatai egyrészt a fehérvérsejtek sejtpopulációjából egyrészt a CD4 jelű, másrészt a CD8 jelű sejteket tartalmazó résszel szemben specifikus antitestekkel összekapcsolt mikrogömbökből vannak kialakítva, továbbá az első eszközben a mikrogömböket és a mintát (12, 32, 192, 252,

282) egymással homogenizáló, a sejtpopulációból a CD4 jelű és a CD8 jelű sejteket tartalmazó első és második résznek a mikrogömbök megfelelő sorozataival való összekötését biztosító keverő (66) van elrendezve, ahol mind az első, mind a második rész legalább egy-egy módosított érzékelési karakterisztikával van jelen, a harmadik
 5 eszköz a minta (12, 32, 192, 252, 282) első adagjában, továbbá a minta (12, 32, 192, 252, 282) második és harmadik adagjában végzett vizsgálatok eredményeinek összehasonlítására és ezzel a fehérvérsejtek adott első és második részére kapott átfedési százalékos arányok meghatározására alkalmasan van kiképezve.

34. A 25. – 31. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*,
 10 hogy az első eszköz a fehérvérsejtek CD2 jelű sejtjeiből álló sejtpopuláció karakterisztikáját a fehérvérsejtek CD2 jelű sejtek populációjával szemben specifikus monoklonális antitesteket megkötve tartalmazó mikrogömbök beadagolásával történő módosítására alkalmasan van kiképezve, benne a keverő (66) a mikrogömbök és a
 15 minta (12, 32, 192, 252, 282) homogenizálására alkalmasan van kialakítva, továbbá a keverőben (66) a mikrogömbök a mintával (12, 32, 192, 252, 282) összekeverve és a CD2 jelű sejtekhez kapcsolódóan vannak jelen és a CD2 jelű sejteket tartalmazó résznek legalább egy eltolt érzékelési karakterisztikája van.

35. A 34. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első eszköz a fehérvérsejtek sejtpopulációjából a CD2 jelű és a CD4 jelű sejteket tartalmazó
 20 első és második rész karakterisztikáját a minta (12, 32, 192, 252, 282) egy harmadik adagjában mikrogömbök két sorozatával történő módosítására alkalmasan van kiképezve, ahol a mikrogömbök sorozatai egyrészt a fehérvérsejtek sejtpopulációjából egyrészt a CD2 jelű, másrészt a CD4 jelű sejteket tartalmazó résszel szemben specifikus antitestekkel összekapcsolt mikrogömbökből vannak kialakítva, továbbá az első
 25 eszközben a mikrogömböket és a mintát (12, 32, 192, 252, 282) egymással homogenizáló, a sejtpopulációból a CD2 jelű és a CD4 jelű sejteket tartalmazó első és második résznek a mikrogömbök megfelelő sorozataival való összekötését biztosító keverő (66) van elrendezve, ahol mind az első, mind a második rész legalább egy-egy módosított érzékelési karakterisztikával van jelen, a harmadik eszköz a minta (12, 32,
 30 192, 252, 282) első adagjában, továbbá a minta (12, 32, 192, 252, 282) második és harmadik adagjában végzett vizsgálatok eredményeinek összehasonlítására és ezzel a fehérvérsejtek adott első és második részére kapott átfedési százalékos arányok meghatározására alkalmasan van kiképezve.

36. A 25. – 30. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*,
 35 hogy a fehérvérsejtek CD8 jelű sejtjeiből álló populáció karakterisztikáját a fehérvérsejtek CD8 jelű sejtekből álló populációjával szemben specifikus monoklonális antitesteket megkötve tartalmazó mikrogömbök beadagolásával módosító első eszközben a

mikrogömböket és a mintát (12, 32, 192, 252, 282) egymással homogenizáló keverő (66) van elrendezve, ahol a keverőben (66) a CD8 jelű sejtek a mikrogömbökkel összekapcsolódva vannak jelen és a CD8 jelű sejteket tartalmazó résznek legalább egy eltolt érzékelési karakterisztikája van.

- 5 **37. A 26. igénypont szerinti berendezés, azzal jellemezve, hogy az első eszköz a fehérvérsejtek CD2 jelű sejteiből álló sejtpopuláció karakterisztikáját a fehérvérsejtek CD2 jelű sejtek populációjával szemben specifikus monoklonális antitesteket megkötvető tartalmazó mikrogömbök beadagolásával történő módosítására alkalmasan van kiképezve, benne a keverő (66) a mikrogömbök és a minta (12, 32, 192, 252, 282) homogenizálására alkalmasan van kialakítva, továbbá a keverőben (66) a mikrogömbök a mintával (12, 32, 192, 252, 282) összekeverve és a CD2 jelű sejtekhez kapcsolódóan vannak jelen és a CD2 jelű sejteket tartalmazó résznek legalább egy eltolt érzékelési karakterisztikája van.**

- 15 **38. A 37. igénypont szerinti berendezés, azzal jellemezve, hogy az első eszköz a fehérvérsejtek sejtpopulációjából a CD2 jelű és a CD8 jelű sejteket tartalmazó első és második rész karakterisztikáját a minta (12, 32, 192, 252, 282) egy harmadik adagjában mikrogömbök két sorozatával történő módosítására alkalmasan van kiképezve, ahol a mikrogömbök sorozatai egyrészt a fehérvérsejtek sejtpopulációjából egyrészt a CD2 jelű, másrészt a CD8 jelű sejteket tartalmazó résszel szemben specifikus antitestekkel összekapcsolt mikrogömbökből vannak kialakítva, továbbá az első eszközben a mikrogömböket és a mintát (12, 32, 192, 252, 282) egymással homogenizáló, a sejtpopulációból a CD2 jelű és a CD8 jelű sejteket tartalmazó első és második résznek a mikrogömbök megfelelő sorozataival való összekötését biztosító keverő (66) van elrendezve, ahol mind az első, mind a második rész legalább egy-egy módosított érzékelési karakterisztikával van jelen, a harmadik eszköz a minta (12, 32, 192, 252, 282) első adagjában, továbbá a minta (12, 32, 192, 252, 282) második és harmadik adagjában végzett vizsgálatok eredményeinek összehasonlítására és ezzel a fehérvérsejtek adott első és második részére kapott átfedési százalékos arányok meghatározására alkalmasan van kiképezve.**

- 30 **39. A 25. – 38. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, azzal jellemezve, hogy az első eszközben vörösvérsejteket tartalmazó teljes vérminta van elrendezve, hozzá a teljes vérmintából a vörösvérsejtek populációját előzetesen eltávolító és ekközben a fehérvérsejtek populációját alkotó sejtek minőségi és mennyiségi jellemzőit lényegében változtatlanul hagyó eszköz van rendelve.**

- 35 **40. A 21. – 39. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, azzal jellemezve, hogy az első eszközhöz a minta (12, 32, 192, 252, 282) egy első adagjának az érzékelési karakterisztika módosítása előtti előzetes érzékelését és előzetes számbavéte-**

lét végző kiegészítő eszköz tartozik, míg a harmadik eszközben a módosított karakterisztika szerinti vizsgálat után a kapott eredményeket az előzetes érzékelési művelet és az előzetes számbavétel eredményeivel összehasonlító részegység, különösen komparátor (110, 264, 298) van elrendezve.

5 41. Eljárás sejtek csoportjának vizsgálatára, amikor legalább egy vizsgálandó sejtcsoportot legalább egy más sejtcsoportok által elfedett tulajdonságú sejtpopulációt tartalmazó mintából elemzésnek vetünk alá, amihez a mintából legalább egy első és legalább egy második részmintát választunk ki, *azzal jellemezve*, hogy az első részmintában levő sejteket lényegében egyszerre legalább egy érzékelési zónán engedjük át, az első részmintában az egyedi sejteket legalább két paraméter és közöttük fényszórási jellemzőik alapján érzékeljük, illetve számbavesszük, a minta második részmintájában elfedett tulajdonságú sejtekből álló sejtpopulációt választunk ki, illetve a második részmintában levő elfedett tulajdonságú sejteket érzékelési karakterisztikájukat megváltoztató behatásnak vetjük alá oly módon, hogy a második részmintában
10 levő sejteket a bennük levő sejtek legalább egy sajátos molekulájával szemben specifikus reagenst (16, 36, 196, 256, 286) megkötő, az elfedett tulajdonságú sejtpopulációba tartozó sejteknél célszerűen sokkal kisebb méretű mikrogömbökkel az elfedett tulajdonságú sejtpopulációt összekeverjük, ezzel az elfedett tulajdonságú sejteket és a mikrogömböket összekapcsoljuk, a második részmintába tartozó sejteket lényegében egyszerre legalább egy érzékelési zónán engedjük át, a második részmintában
15 levő egyedi sejteket legalább két paraméter és közöttük fényszórási jellemzőik alapján érzékeljük, illetve számbavesszük, majd a két érzékelés, illetve számbavétel eredményei alapján az elfedett tulajdonságú sejteket tartalmazó sejtpopulációnak a mérési eredményhez való százalékos hozzájárulását meghatározzuk.

25 42. A 41. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az elfedett tulajdonságú sejteket náluk sokkal kisebb mikrogömbökkel kapcsoljuk össze, és az utóbbiakkal való összekötés révén az elfedett tulajdonságú sejtek legalább egy érzékelési karakterisztikáját megváltoztatjuk vagy eltoljuk.

30 43. A 41. vagy 42. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az elfedett tulajdonságú sejteknek a mikrogömbökkel való összekötése után az így kapott képződményeket a mikrogömbökkel együtt eltávolítjuk és ezzel a második részmintát méréshez előkészítjük.

35 44. A 41. – 43. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy érzékelési paraméterként legalább egy fényszórásra épülő optikai paramétert és legalább egy elektronikai paramétert választunk.

 45. A 41. – 44. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az első és második részmintát a legalább egy fényszórási paraméter és legalább két

egymástól eltérő elektronikus érzékelési paraméter alapján vizsgáljuk, majd a legalább három paraméter alapján kapott mérési eredmények felhasználásával az elfedett tulajdonságú sejtekből álló sejtpopulációra legalább kétdimenziós jellemzést készítünk, amiből az elfedett tulajdonságú sejtek százalékos részarányát az adott jelenség létrehozásában megállapítjuk.

46. A 41. – 45. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a reagenseket és antitesteket az elfedett tulajdonságú sejtekből álló vizsgálandó sejtpopuláció sejtjeinél monoklonális antitestek formájában visszük be és ezzel a molekulákat specifikusan módosítjuk.

47. A 41. – 46. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy mintát teljes vérminta legalább egy részeként hozzuk létre, ebben a fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció legalább egy elfedett tulajdonságú csoportját vizsgáljuk, ahol a vizsgálandó sejtcsoportot jellemzőit a fehérvérsejtek sejtpopulációjának tulajdonságai elfedik.

48. A 47. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az elfedett tulajdonságú sejtek egy adott érzékelési karakterisztikáját a második részmintában az elfedett tulajdonságú sejtekből álló populációban levő sejtekkel szemben specifikus reagenssel összekötött mikrogömbök beadagolásával módosítjuk, amihez a mikrogömböket a második részmintával összekeverjük.

49. A 48. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a reagenseket és antitesteket az elfedett tulajdonságú sejtekből álló vizsgálandó sejtpopuláció sejtjeinél monoklonális antitestek formájában visszük be és ezzel a molekulákat specifikusan módosítjuk.

50. A 41. – 49. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy neutrophil leukocytákkal szemben specifikus monoklonális antitesttel összekapcsolt mikrogömböket készítünk elő, a mikrogömböket a második részmintával összekeverjük, a neutrophil leukocytákból álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoljuk, ezzel legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltöljük, miközben érzékeléssel a fehérvérsejtek kifejeletlen sejtpopulációját vizsgáljuk.

51. A 47. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az elfedett tulajdonságú sejtek egy adott érzékelési karakterisztikáját a második részmintában az elfedett tulajdonságú sejtekből álló populációban levő sejtekkel szemben specifikus reagenssel összekötött mikrogömbök beadagolásával módosítjuk, amihez a mikrogömböket a második részmintával összekeverjük, majd a második részmintából a mikrogömböket a velük kapcsolódó elfedett tulajdonságú testekkel együtt eltávolítjuk.

52. Az 51. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a reagenseket és antitesteket az elfedett tulajdonságú sejtekből álló vizsgálandó sejtpopuláció sejteinél monoklonális antitestek formájában visszük be és ezzel a molekulákat specifikusan módosítjuk.

5 53. Az 52. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy neutrophil leukocytákkal szemben specifikus monoklonális antitesttel összekapcsolt mikrogömböket készítünk elő, a mikrogömböket a második részmintával összekeverjük, a neutrophil leukocytákból álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoljuk, majd a mikrogömböket a velük kapcsolódó neutrophil leukocytákkal együtt a második
10 részmintából eltávolítjuk.

54. Az 53. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mikrogömböket mágneses tulajdonságú anyagból készítjük elő, mágneses teret gerjesztünk, majd a második mintát a mágneses térbe helyezzük és a mágneses tér hatásával belőle a neutrophil leukocytákból álló, a mikrogömbökhöz kapcsolódó sejtpopulációt a második
15 részmintára maradványával együtt eltávolítjuk.

55. Az 52. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy CD2 jelű sejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel összekapcsolt mikrogömböket készítünk elő, a mikrogömböket a második részmintával összekeverjük, a CD2 jelű sejtekből álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoljuk, majd a mikrogömböket a velük
20 kapcsolódó CD2 jelű sejtekkel együtt a második részmintából eltávolítjuk.

56. Az 55. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mikrogömböket mágneses tulajdonságú anyagból készítjük elő, mágneses teret gerjesztünk, majd a második mintát a mágneses térbe helyezzük és a mágneses tér hatásával belőle a CD2 jelű sejtekből álló, a mikrogömbökhöz kapcsolódó sejtpopulációt a második
25 részmintára maradványával együtt eltávolítjuk.

57. Az 52. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy CD4 jelű sejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel összekapcsolt mikrogömböket készítünk elő, a mikrogömböket a második részmintával összekeverjük, a CD4 jelű sejtekből álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoljuk, majd a mikrogömböket a velük
30 kapcsolódó CD4 jelű sejtekkel együtt a második részmintából eltávolítjuk.

58. Az 57. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mikrogömböket mágneses tulajdonságú anyagból készítjük elő, mágneses teret gerjesztünk, majd a második mintát a mágneses térbe helyezzük és a mágneses tér hatásával belőle a CD4 jelű sejtekből álló, a mikrogömbökhöz kapcsolódó sejtpopulációt a második
35 részmintára maradványával együtt eltávolítjuk.

59. Az 52. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy CD8 jelű sejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel összekapcsolt mikrogömböket készítünk

elő, a mikrogömböket a második részmintával összekeverjük, a CD8 jelű sejtekből álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoljuk, majd a mikrogömböket a velük kapcsolódó CD8 jelű sejtekkel együtt a második részmintából eltávolítjuk.

5 60. Az 59. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mikrogömböket mágneses tulajdonságú anyagból készítjük elő, mágneses teret gerjesztünk, majd a második mintát a mágneses térbe helyezzük és a mágneses tér hatásával belőle a CD8 jelű sejtekből álló, a mikrogömbökhöz kapcsolódó sejtpopulációt a második rész minta maradványával együtt eltávolítjuk.

10 61. Berendezés sejtek csoportjának vizsgálatára, amely legalább egy vizsgáló landó sejtcsoportnak legalább egy más sejtcsoportok által elfedett tulajdonságú sejtpopulációt tartalmazó, első és második részmintára osztott mintában (12, 32, 192, 252, 282) való vizsgálatára alkalmas elemzőt (22, 44, 204, 260, 294) tartalmaz, *azzal jellemezve*, hogy az első részmintát és a benne levő sejteket lényegében egyszerre átengedő legalább egy érzékelési zónával kialakított első érzékelő eszközt tartalmaz,
15 amely az első részmintában levő egyedi sejtek legalább két paraméter és közöttük fényszórási jellemzőik alapján történő érzékelésére, illetve számbavételére alkalmasan van kiképezve, továbbá a minta (12, 32, 192, 252, 282) második részmintájában elfedett tulajdonságú sejtekből álló sejtpopuláció kiválasztására alkalmas első eszközzel van kiképezve, amelyben a második részmintában levő elfedett tulajdonságú
20 sejteket érzékelési karakterisztikájukat megváltoztató behatásnak vetjük alá oly módon, hogy a második részmintában levő sejteket a bennük levő sejtek legalább egy sajátos molekulájával szemben specifikus reagenst (16, 36, 196, 256, 286) megkötő, az elfedett tulajdonságú sejtpopulációba tartozó sejteknél célszerűen sokkal kisebb méretű mikrogömbökkel az elfedett tulajdonságú sejtpopulációt összekeverjük,
25 ezzel az elfedett tulajdonságú sejteket és a mikrogömböket összekapcsoljuk, valamint a minta (12, 32, 192, 252, 282) második részmintájába tartozó sejteket lényegében egyszerre átengedő legalább egy érzékelési zónával kialakított második érzékelő eszköz
30 közt tartalmaz, amely a második részmintában levő egyedi sejtek legalább két paraméter és közöttük fényszórási jellemzőik alapján való érzékelésére, illetve számbavételére alkalmasan van kiképezve, továbbá a két érzékelés, illetve számbavétel eredményei alapján az elfedett tulajdonságú sejteket tartalmazó sejtpopulációnak a mérési eredményhez való százalékos hozzájárulását meghatározó második eszközzel van ellátva.

35 62. A 61. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második eszközben az elfedett tulajdonságú sejteknél sokkal kisebb mikrogömbök vannak elrendezve és az elfedett tulajdonságú sejtek a mikrogömbökhöz való

összekötés révén legalább egy megváltoztatott, illetve eltolt érzékelési karakterisztikával vannak jelen.

5 63. A 61. vagy 62. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második eszköz az elfedett tulajdonságú sejteknek a mikrogömbökkel való összekötésére és összekötés után az így kapott képződményeknek a mikrogömbökkel együtt való eltávolítására alkalmas, a második részmintát méréshez előkészítő részegységgel van kialakítva.

10 64. A 61. – 63. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második érzékelő eszköz legalább egy fényszórásra épülő optikai paraméterre és legalább egy elektronikai paraméterre épülő érzékelésre alkalmasan van kialakítva.

15 65. A 61. – 64. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második érzékelő eszköz az első és második részmintának a legalább egy fényszórási paraméter és legalább két egymástól eltérő elektronikus érzékelési paraméter alapján történő vizsgálatára alkalmasan van kiképezve, továbbá a legalább három paraméter alapján kapott mérési eredmények felhasználásával az elfedett tulajdonságú sejtekből álló sejtpopulációra legalább kétdimenziós jellemzést készítő és ebből az elfedett tulajdonságú sejtek százalékos részarányát az adott jelenség létrehozásában megállapító részegységgel van ellátva.

20 66. A 61. – 65. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és második eszközben a reagensek (16, 36, 196, 256, 286) és antitestek az elfedett tulajdonságú sejtekből álló vizsgálandó sejtpopuláció sejtjeinél a molekulákat specifikusan módosító monoklonális antitestek formájában vannak jelen.

25 67. A 61. – 66. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és második rész minta teljes vérminta legalább egy részét alkotja, amely a fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció legalább egy elfedett tulajdonságú csoportját tartalmazza, ahol a vizsgálandó sejtcsoportot jellemzőit a fehérvérsejtek sejtpopulációjának tulajdonságai elfedik.

30 68. A 67. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első eszköz a fehérvérsejtek sejtpopulációjából az elfedett tulajdonságú sejtek egy adott érzékelési karakterisztikáját módosító, illetve eltoló, a második részmintában az elfedett tulajdonságú sejtekből álló populációban levő sejtekkel szemben specifikus reagenssel (16, 36, 196, 256, 286) összekötött mikrogömbök előállítására és beadagolására alkalmas részegységgel van ellátva, ahol a részegységhez a mikrogömböket a másod-
35 sodik részmintával homogenizáló keverő (66) tartozik.

69. A 68. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és második eszközben a reagensek (16, 36, 196, 256, 286) és antitestek az elfedett tu-

lajdonságú sejtekből álló vizsgálandó sejtpopuláció sejtjeinél a molekulákat specifikusan módosító monoklonális antitestek formájában vannak jelen.

70. A 61. – 69. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második eszközhöz neutrophil leukocytákkal szemben specifi-
 5 kus monoklonális antitesttel összekapcsolt mikrogömböket előkészítő részegység tartozik, amely a mikrogömböket a második részmintával homogenizáló, a neutrophil leukocytákból álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoló és ezzel legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltoló, eközben a fehérvérsejtek kifejeletlen sejtpopu-
 lációját vizsgáló érzékeléssel együttműködő keverőt (66) tartalmaz.

10 71. A 67. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második eszközhöz az elfedett tulajdonságú sejtekből álló sejtpopulációban levő specifikus molekulákkal szemben specifikus reagenssel (16, 36, 196, 256, 286) összekapcsolt mikrogömböket előkészítő részegység tartozik, amely a mikrogömböket a második részmintával homogenizáló és az elfedett tulajdonságú sejtekből álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoló keverőt (66), továbbá az első és/vagy
 15 második részmintából a mikrogömböket az elfedett tulajdonságú sejteknek velük kapcsolódó sejtpopulációjával együtt eltávolító részegységet tartalmaz.

72. A 71. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és második eszközben a reagens (16, 36, 196, 256, 286) és antitestek az elfedett tulajdonságú sejtekből álló vizsgálandó sejtpopuláció sejtjeinél a molekulákat specifikusan módosító monoklonális antitestek formájában vannak jelen.
 20

73. A 72. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második eszközhöz a neutrophil leukocytákkal szemben specifikus monoklonális antitesttel kapcsolódó mikrogömböket előkészítő részegység tartozik,
 25 amely a mikrogömböket a második részmintával homogenizáló és a neutrophil leukocytákból álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoló keverőt (66), továbbá az első és/vagy második részmintából a mikrogömböket a neutrophil leukocytákból álló, velük kapcsolódó sejtpopulációjával együtt eltávolító részegységet tartalmaz.

30 74. A 73. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második eszköz mágneses tulajdonságú anyagból előkészített mikrogömbök előállítására és mágneses tér gerjesztésére alkalmasan van kiképezve, továbbá a második mintából a mágneses térbe helyezés után a mágneses tér hatásával a neutrophil leukocytákból álló, a mikrogömbökhöz kapcsolódó sejtpopulációnak a má-
 35 sodik részmintára maradványával együtt történő eltávolítására alkalmas részegységgel van ellátva.

75. A 72. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második eszközhöz a CD2 jelű sejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel kapcsolódó mikrogömböket előkészítő részegység tartozik, amely a mikrogömböket a második részmintával homogenizáló és a CD2 jelű sejtekből álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoló keverőt (66), továbbá az első és/vagy második részmintából a mikrogömböket a CD2 jelű sejtekből álló, velük kapcsolódó sejtpopulációjával együtt eltávolító részegységet tartalmaz.

76. A 75. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második eszköz mágneses tulajdonságú anyagból előkészített mikrogömbök előállítására és mágneses tér gerjesztésére alkalmasan van kiképezve, továbbá a második mintából a mágneses térbe helyezés után a mágneses tér hatásával a CD2 jelű sejtekből álló, a mikrogömbökhöz kapcsolódó sejtpopulációnak a második rész minta maradványával együtt történő eltávolítására alkalmas részegységgel van ellátva.

77. A 72. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második eszközhöz a CD4 jelű sejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel kapcsolódó mikrogömböket előkészítő részegység tartozik, amely a mikrogömböket a második részmintával homogenizáló és a CD4 jelű sejtekből álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoló keverőt (66), továbbá az első és/vagy második részmintából a mikrogömböket a CD4 jelű sejtekből álló, velük kapcsolódó sejtpopulációjával együtt eltávolító részegységet tartalmaz.

78. A 77. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második eszköz mágneses tulajdonságú anyagból előkészített mikrogömbök előállítására és mágneses tér gerjesztésére alkalmasan van kiképezve, továbbá a második mintából a mágneses térbe helyezés után a mágneses tér hatásával a CD4 jelű sejtekből álló, a mikrogömbökhöz kapcsolódó sejtpopulációnak a második rész minta maradványával együtt történő eltávolítására alkalmas részegységgel van ellátva.

79. A 72. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második eszközhöz a CD8 jelű sejtekkel szemben specifikus monoklonális antitesttel kapcsolódó mikrogömböket előkészítő részegység tartozik, amely a mikrogömböket a második részmintával homogenizáló és a CD8 jelű sejtekből álló sejtpopulációt a mikrogömbökkel összekapcsoló keverőt (66), továbbá az első és/vagy második részmintából a mikrogömböket a CD8 jelű sejtekből álló, velük kapcsolódó sejtpopulációjával együtt eltávolító részegységet tartalmaz.

80. A 79. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második eszköz mágneses tulajdonságú anyagból előkészített mikrogömbök

előállítására és mágneses tér gerjesztésére alkalmasan van kiképezve, továbbá a második mintából a mágneses térbe helyezés után a mágneses tér hatásával a CD8 jelű sejtekből álló, a mikrogömbökhöz kapcsolódó sejtpopulációnak a második rész-minta maradványával együtt történő eltávolítására alkalmas részegységgel van ellátva.

81. Eljárás sejtek csoportjának vizsgálatára, amikor is fehérvérsejtekből álló legalább egy sejtpopulációt vagy a sejtpopuláció legalább egy részét teljes vérmintából kiindulva elemezzük és legalább egy fehérvérsejtekből álló részpopulációra vonatkozóan mérési eredményeket állapítunk meg, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációt tartalmazó vérminta sejteit és a sejtekből álló csoportokat lényegében egyidejűleg legalább egy érzékelési zónán engedjük át, az egyes sejteket legalább két paraméternek megfelelően érzékeljük és számbavesszük, és az érzékeléshez, illetve számbavételhez legalább két paramétert, közöttük legalább egy, a fényszórás érzékelésére épülő paramétert választunk, a fehérvérsejteket tartalmazó legalább egy sejtpopulációból vagy részpopulációból a sejteket legalább egy fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció vagy részpopuláció fehérvérsejtjein levő specifikus molekulákkal szemben specifikus monoklonális antitestekkel kapcsolt mikrogömbökkel összekapcsoljuk és eltávolítjuk, a mikrogömböket a mintával összekapcsoljuk, a fehérvérsejtekből álló legalább egy sejtpopuláció vagy részpopuláció sejteit a mikrogömbökkel összekapcsoljuk, továbbá a fehérvérsejtekből álló legalább egy sejtpopuláció vagy részpopuláció sejteivel együtt a mikrogömböket a mintából eltávolítjuk, majd a visszamaradó és az eltávolított populációban levő sejtektől mentes, fehérvérsejtekből álló sejtpopulációkat lényegében egy azonos időben legalább egy érzékelési zónán átengedjük, az egyes sejteket legalább két paraméter és közöttük legalább egy fényszórás érzékelésére épülő paraméter alapján érzékeljük, illetve számbavesszük, ezt követően a két érzékelés eredményeit összehasonlítva a

a) a visszamaradó fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk nagyságát az eltávolított populációk nélkül és/vagy

b) az eltávolított, fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk vagy részpopulációk
30 nagyságát és/vagy

c) mind az eltávolított, mind pedig a visszamaradó, fehérvérsejtekből álló populációk nagyságát meghatározzuk.

35 **82. A 81. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a sejtpopulációba tartozó sejteket a fényszórásra épülő legalább egy paraméter mellett legalább egy elektronikus érzékelési paraméter szerint vizsgáljuk.**

83. A 81. vagy 82. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a sejtpopulációba tartozó sejteket legalább egy a fényszórásra épülő és legalább kettő egy-

mástól eltérő elektronikus érzékelési paraméter szerint vizsgáljuk és a kapott legalább három adatsor alapján a sejtek legalább kétdimenziós reprezentációját állítjuk elő.

84. A 81. – 83. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy mágneses anyagból készült mikrogömböket készítünk elő és a mintából a fehérvérsejtek legalább egy sejtpopulációját vagy részpopulációját eltávolító mágneses teret gerjesztünk, a mágneses térrel az első és/vagy második mintára hatunk és ezzel a mágneses mikrogömböket, valamint a mintának velük kapcsolt részét eltávolítjuk.

85. A 81. – 84. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mintából a neutrophil leukocytákból álló populációt távolítjuk el.

86. A 81. – 85. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mintának egy részét szekvenciálisan használjuk fel, eközben első érzékelést, illetve számbavételt végzünk, majd a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk közül legalább egyet a mintából eltávolítunk és ezen második érzékelést hajtunk végre.

87. A 81. – 86. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mintát két részmintára osztjuk, az első részmintát első meghatározásnak vetjük alá, a második részmintából a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk vagy részpopulációk közül legalább egyet eltávolítunk és ezután rajta második meghatározást végzünk.

88. Berendezés sejtek csoportjának vizsgálatára, amely fehérvérsejtekből álló legalább egy sejtpopulációnak vagy a sejtpopuláció legalább egy részének teljes vérmintából kiinduló vizsgálatát végző és legalább egy fehérvérsejtekből álló részpopulációra vonatkozóan mérési eredményeket megállapító elemzőt (22, 44, 204, 260, 294) tartalmaz, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációt tartalmazó vérminta sejteit és a sejtekből álló csoportokat lényegében egyidejűleg áteresztő legalább egy érzékelési zónával kialakított, az egyes sejteket legalább két paraméterek megfelelően érzékelő és számbavevő, az érzékeléshez, illetve számbavételhez legalább két paramétert, közöttük legalább egy, a fényszórás érzékelésére épülő paramétert alkalmazó első érzékelő eszközzel van ellátva, továbbá a fehérvérsejteket tartalmazó legalább egy sejtpopulációból vagy részpopulációból a sejteket legalább egy fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció vagy részpopuláció fehérvérsejtjein levő specifikus molekulákkal szemben specifikus monoklonális antitestekkel kapcsolt mikrogömbökkel összekapcsoló és eltávolító, eközben a mikrogömböket a mintával összekapcsoló, a fehérvérsejtekből álló legalább egy sejtpopuláció vagy részpopuláció sejteit a mikrogömbökkel összekapcsoló és összekeverő, valamint a fehérvérsejtekből álló legalább egy sejtpopuláció vagy részpopuláció sejteivel együtt a mikrogömböket a mintából (12, 32, 192, 252, 282) eltávolító eszközzel van kialakítva, amelyhez a visszamaradó és az eltávolított populációban levő sejtektől mentes, fehérvérsejtekből álló sejtpopulációkat lényegében egy azonos időben legalább egy ér-

zékelési zónán átengedő, az egyes sejteket legalább két paraméter és közöttük legalább egy fényszórás érzékelésére épülő paraméter alapján észlelő, illetve számbavevő második érzékelő eszköz van csatlakoztatva, ahol az első és a második érzékelő eszköz egy-egy kimenetével a két érzékelés eredményeit összehasonlító,

5 a) a visszamaradó fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk nagyságát az eltávolított populációk nélkül és/vagy

b) az eltávolított, fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk vagy részpopulációk nagyságát és/vagy

10 c) mind az eltávolított, mind pedig a visszamaradó, fehérvérsejtekből álló populációk nagyságát

meghatározó komparátorra (110, 264, 298) van kapcsolva.

89. A 88. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy a második érzékelő eszköz a sejtpopulációba tartozó sejteknek a fényszórásra épülő legalább egy paraméter mellett legalább egy elektronikus érzékelési paraméter szerinti vizsgálatára alkalmasan van kiképezve.

90. A 88. vagy 89. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és/vagy második érzékelő eszköz a sejtpopulációba tartozó sejteknek legalább egy, a fényszórásra épülő és legalább kettő egymástól eltérő elektronikus érzékelési paraméter szerinti vizsgálatára alkalmasan van kiképezve és a komparátorhoz (110, 20 264, 298) a kapott legalább három adatsor alapján a sejtek legalább kétdimenziós reprezentációját előállító egység van rendelve.

91. A 88. – 90. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy mágneses anyagból készült mikrogömböket előkészítésére és a mintából (12, 32, 192, 252, 282) a fehérvérsejtek legalább egy sejtpopulációját vagy részpopulációját eltávolító mágneses tér gerjesztésére alkalmasan van kiképezve, ahol a mintát (12, 25 32, 192, 252, 282) befogadó eszköz a mágneses mikrogömböket, valamint a mintának (12, 32, 192, 252, 282) velük kapcsolt részét eltávolító mágneses térhez van rendelve.

92. A 88. – 91. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, 30 hogy a mintából (12, 32, 192, 252, 282) a neutrophil leukocytákból álló populációt eltávolító részegységgel van ellátva.

93. A 88. – 92. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és második érzékelő eszköz a mintának (12, 32, 192, 252, 282) egy részét szekvenciálisan felhasználóan van elrendezve, ahol az első érzékelő eszközzel 35 végzett érzékelést, illetve számbavételt követően a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk közül legalább egyet a mintából (12, 32, 192, 252, 282) eltávolítunk és a módosí-

tott mintán (12, 32, 192, 252, 282) a második érzékelő eszközzel hajtunk végre érzékelést, illetve számbavételt.

5 94. A 88. – 93. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy két részmintára osztott minta (12, 32, 192, 252, 282) feldolgozására alkalmasan van kiképezve, ahol az első részminta az első érzékelő eszközben van elrendezve, míg a második részminta belőle a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk vagy részpopulációk közül legalább egy eltávolítását követően a második érzékelő eszközbe van vezetve.

10 95. Eljárás sejtek csoportjának vizsgálatára, amikor fehérvérsejtekből álló legalább egy sejtpopulációt vagy a sejtpopuláció legalább egy részét teljes vérmintából kiindulva elemezzük és legalább egy fehérvérsejtekből álló részpopulációra vonatkozóan mérési eredményeket állapítunk meg, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációt tartalmazó vérminta sejteit és a sejtekből álló csoportokat lényegében egyidejűleg legalább egy érzékelési zónán engedjük át, az egyes sejteket
15 legalább két paraméternek megfelelően érzékeljük és számbavesszük, és az érzékeléshez, illetve számbavételhez legalább két paramétert, közöttük legalább egy, a fényszórás érzékelésére épülő paramétert választunk, a fehérvérsejteket tartalmazó legalább egy sejtpopulációból vagy részpopulációból a sejteket legalább egy fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció vagy részpopuláció fehérvérsejtjein levő specifikus
20 molekulákkal szemben specifikus reagenssel kapcsolt, a sejtpopulációba vagy a részpopulációba tartozó sejteknél jóval kisebb méretű mikrogömbökkel összekapcsoljuk, ezzel a mikrogömböket a mintával összekapcsoljuk, a fehérvérsejtekből álló legalább egy sejtpopuláció vagy részpopulációban a mikrogömbökkel összekapcsolt sejtek legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltoljuk, majd a megváltoztatott érzékelési
25 karakterisztikájú sejtekből álló sejtpopulációt lényegében egy azonos időben legalább egy érzékelési zónán átengedjük, az egyes sejteket legalább két paraméter és közöttük legalább egy fényszórás érzékelésére épülő paraméter alapján érzékeljük, illetve számbavesszük, ahol a fényszórás érzékelésére épülő paraméter értékét

30 a) az eltoló érzékelési karakterisztikájú sejtpopuláció nélküli visszamaradó fehérvérsejtekből álló sejtpopulációban és/vagy

b) az eltoló érzékelési karakterisztikájú fehérvérsejtekből álló sejtpopulációban vagy részpopulációban és/vagy

c) mind az eltoló érzékelési karakterisztikájú, mind pedig a visszamaradó, fehérvérsejtekből álló populációban

35 meghatározzuk és a két meghatározásból kiindulva

a) az eltoló érzékelési karakterisztikájú sejtpopuláció nélküli visszamaradó fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció és/vagy

b) az eltolt érzékelési karakterisztikájú fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció vagy részpopuláció és/vagy

c) mind az eltolt érzékelési karakterisztikájú, mind pedig a visszamaradó, fehérvérsejtekből álló populáció

5 nagyságát megállapítjuk.

96. A 95. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a sejtpopulációba tartozó sejteket a fényszórásra épülő legalább egy paraméter mellett legalább egy elektronikus érzékelési paraméter szerint vizsgáljuk.

10 97. A 95. vagy 96. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a sejtpopulációba tartozó sejteket legalább egy a fényszórásra épülő és legalább kettő egymástól eltérő elektronikus érzékelési paraméter szerint vizsgáljuk és a kapott legalább három adatsor alapján a sejtek legalább kétdimenziós reprezentációját állítjuk elő.

15 98. A 95. – 97. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mintában a neutrophil leukocytákból álló populáció legalább egy érzékelési karakterisztikáját toljuk el.

20 99. A 95. – 98. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mintának egy részét szekvenciálisan használjuk fel, eközben első érzékelést, illetve számbavételt végzünk, majd a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk közül legalább egynek legalább egy érzékelési karakterisztikáját a mintában eltoljuk és ezen második érzékelést, illetve számbavételt hajtunk végre.

25 100. A 95. – 99. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mintát két részmintára osztjuk, az első részmintát első meghatározásnak vetjük alá, a második részmintából a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk vagy részpopulációk közül legalább egynek legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltoljuk és ezután rajta második meghatározást végzünk.

30 101. Berendezés sejtek csoportjának vizsgálatára, amely fehérvérsejtekből álló legalább egy sejtpopulációnak vagy a sejtpopuláció legalább egy részének teljes vérmintából kiinduló vizsgálatát végző és legalább egy fehérvérsejtekből álló részpopulációra vonatkozóan mérési eredményeket megállapító elemzőt (22, 44, 204, 260, 294) tartalmaz, *azzal jellemezve*, hogy a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációt tartalmazó vérminta sejteit és a sejtekből álló csoportokat lényegében egyidejűleg áteresztő legalább egy érzékelési zónával kialakított, az egyes sejteket legalább két paraméternek megfelelően érzékelő és számbavevő, az érzékeléshez, illetve számbavételhez legalább két paramétert, közöttük legalább egy, a fényszórás érzékelésére épülő paramétert alkalmazó első érzékelő eszközzel van ellátva, továbbá a fehérvérsejteket tartalmazó legalább egy sejtpopulációból vagy részpopulációból a sejteket legalább 35 egy fehérvérsejtekből álló sejtpopuláció vagy részpopuláció fehérvérsejtjein levő

specifikus molekulákkal szemben specifikus reagenssel (16, 36, 196, 256, 286) kapcsoló mikrogömbökkel összekapcsoló, eközben a mikrogömböket a mintával (12, 32, 192, 252, 282) összekapcsoló, a fehérvérsejtekből álló legalább egy sejtpopuláció vagy részpopuláció sejtjeit a mikrogömbökkel összekapcsoló és összekeverő, valamint a fehérvérsejtekből álló legalább egy sejtpopulációban vagy részpopulációban a mikrogömbökkel kapcsolódó sejtek legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltolt eszközzel van kialakítva, amelyhez az eltolt érzékelési karakterisztikájú sejtpopulációt lényegében egy azonos időben legalább egy érzékelési zónán átengedő, az egyes sejteket legalább két paraméter és közöttük legalább egy fényszórás érzékelésére épülő paraméter alapján észlelő, illetve számbavevő második érzékelő eszköz van csatlakoztatva, ahol az első és a második érzékelő eszköz

a) az eltolt érzékelési karakterisztikájú fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk nélküli sejtpopulációban és/vagy

b) az eltolt érzékelési karakterisztikájú fehérvérsejtekből álló sejtpopulációban vagy részpopulációban és/vagy

c) mind az eltolt érzékelési karakterisztikájú, mind pedig a visszamaradó, fehérvérsejtekből álló populációban a kijelölt paraméterek értékének meghatározására alkalmasan van kiképezve, továbbá az első és a második érzékelő eszköz egy-egy kimenetével a két érzékelés, illetve számbavétel eredményeit összehasonlító,

a) az eltolt érzékelési karakterisztikájú fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk nélküli sejtpopulációra és/vagy

b) az eltolt érzékelési karakterisztikájú fehérvérsejtekből álló sejtpopulációra vagy részpopulációra és/vagy

c) mind az eltolt érzékelési karakterisztikájú, mind pedig a visszamaradó, fehérvérsejtekből álló populációra az összehasonlítás alapján értéket megállapító komparátorra (110, 264, 298) van kapcsolva.

102. A 101. igénypont szerinti berendezés, azzal jellemezve, hogy az első és/vagy a második érzékelő eszköz a sejtpopulációba tartozó sejteknek a fényszórásra épülő legalább egy paraméter mellett legalább egy elektronikus érzékelési paraméter szerinti vizsgálatára alkalmasan van kiképezve.

103. A 101. vagy 102. igénypont szerinti berendezés, azzal jellemezve, hogy az első és/vagy második érzékelő eszköz a sejtpopulációba tartozó sejteknek legalább egy, a fényszórásra épülő és legalább kettő egymástól eltérő elektronikus érzékelési paraméter szerinti vizsgálatára alkalmasan van kiképezve és a komparátorhoz

(110, 264, 298) a kapott legalább három adatsor alapján a sejtek legalább kétdimenziós reprezentációját előállító egység van rendelve.

5 104. A 101. – 103. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy a mintában (12, 32, 192, 252, 282) a neutrophil leukocytákból álló populáció legalább egy érzékelési karakterisztikáját eltoló részegységgel van ellátva.

10 105. A 101. – 104. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy az első és második érzékelő eszköz a mintának (12, 32, 192, 252, 282) egy részét szekvenciálisan felhasználóan van elrendezve, ahol az első érzékelő eszközzel végzett érzékelést, illetve számbavételt követően a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk közül legalább egynek legalább egy érzékelési karakterisztikáját a mintában (12, 32, 192, 252, 282) eltoljuk és az eltoló érzékelési karakterisztikájú mintán (12, 32, 192, 252, 282) a második érzékelő eszközzel hajtunk végre érzékelést, illetve számbavételt.

15 106. A 101. – 105. igénypontok bármelyike szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy két részmintára osztott minta (12, 32, 192, 252, 282) feldolgozására alkalmasan van kiképezve, ahol az első rész minta az első érzékelő eszközben van elrendezve, míg a második rész minta belőle a fehérvérsejtekből álló sejtpopulációk vagy részpopulációk közül legalább egynél legalább egy érzékelési karakterisztika eltolását követően a második érzékelő eszközbe van vezetve.

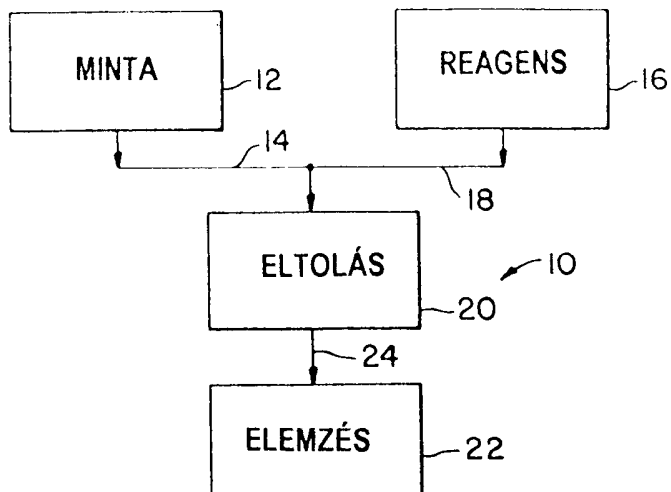
20

A bejelentő helyett
a meghatalmazott:

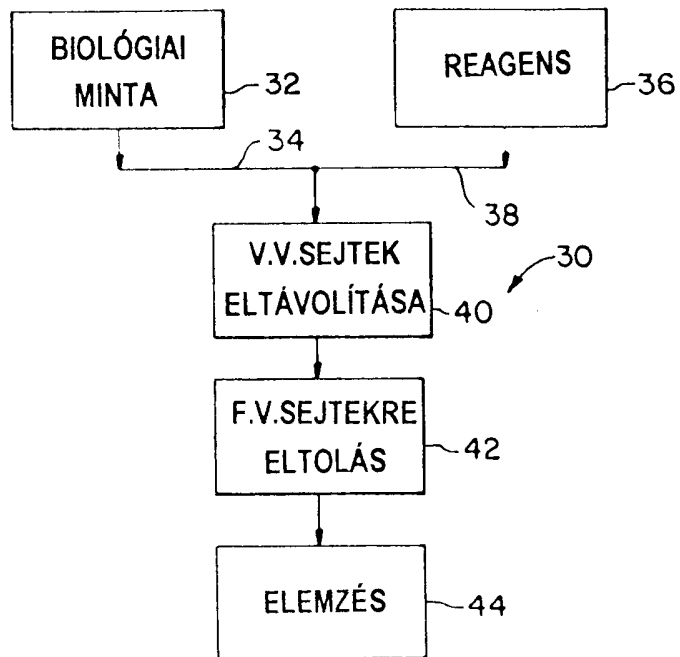
DANUCIA
Szabványügyi és Védjegyi Iroda Kft.
18.

07 oldal
+ 20 ábrarészlet
9.6 oldal
Közlöny 7. sz. 11.

Aktaszámunk: 77379-7849/NE-Ko
Ügyintézőnk: Nagy Ernő

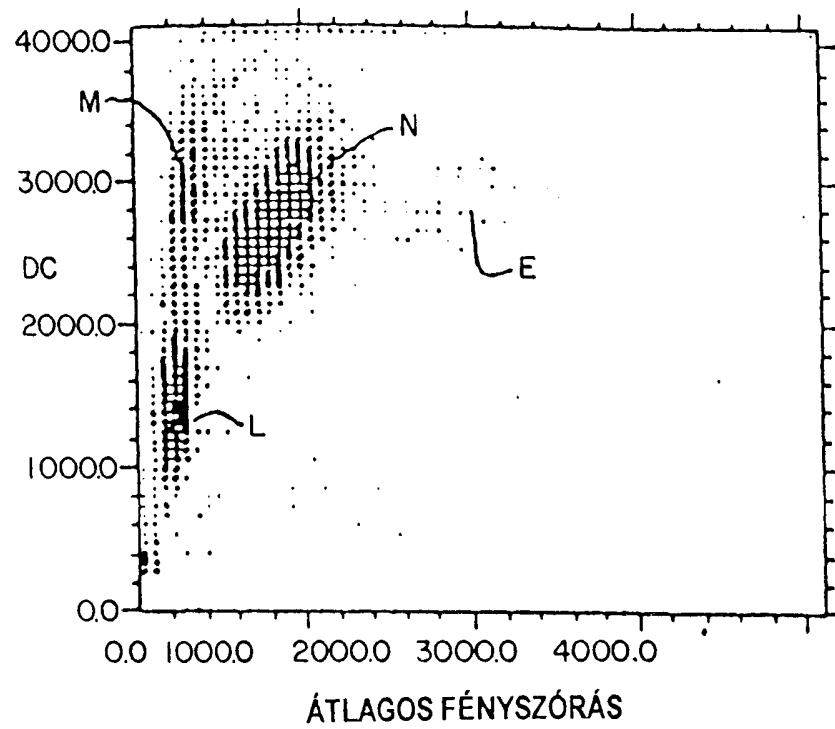


1. ÁBRA



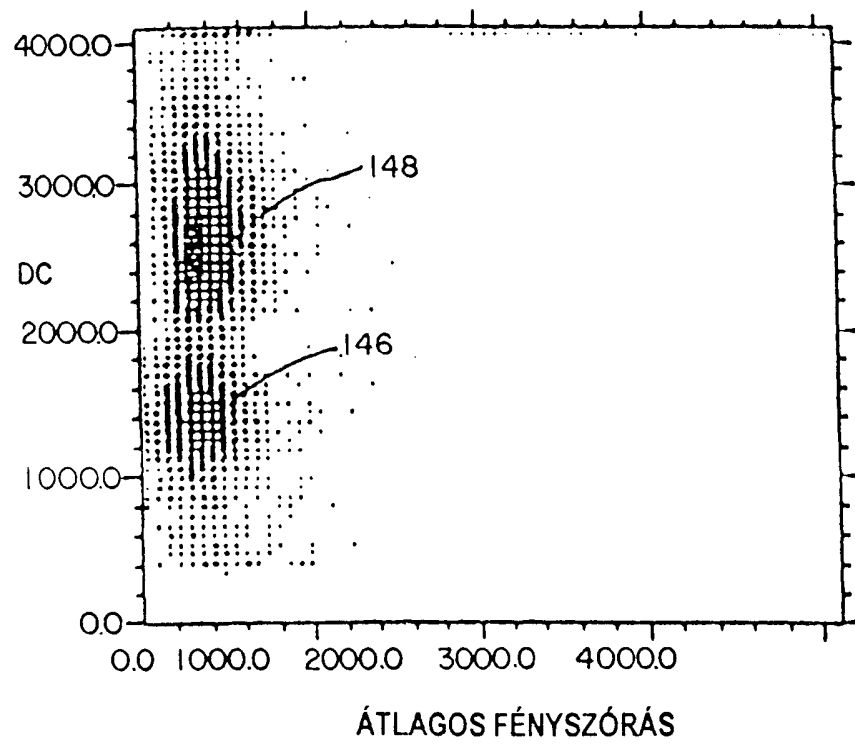
2. ÁBRA

DANUBIA
Szakaddíj- és Védjegy Iroda Kft.
18.



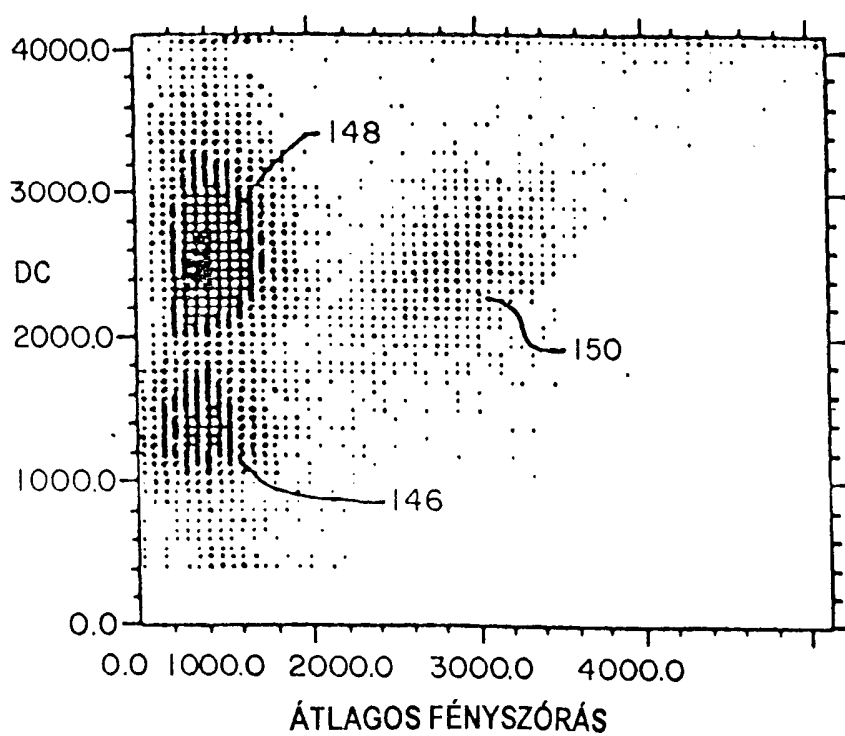
4A. ÁBRA

DANUBIA
Szakmai és Védjegy Iroda
18
[Handwritten signature]



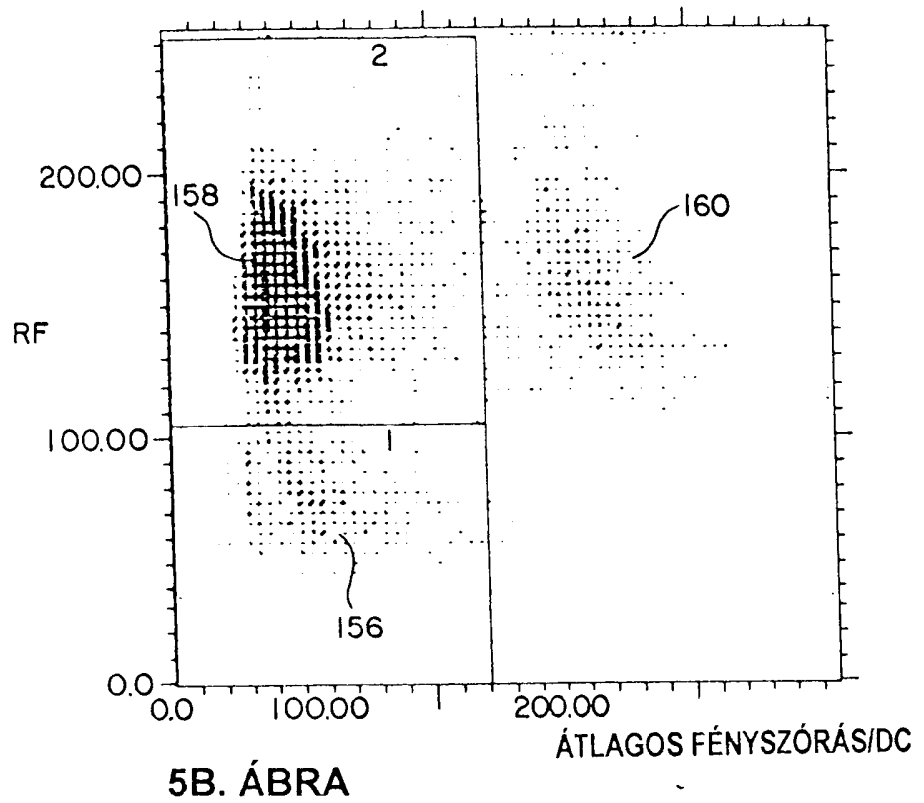
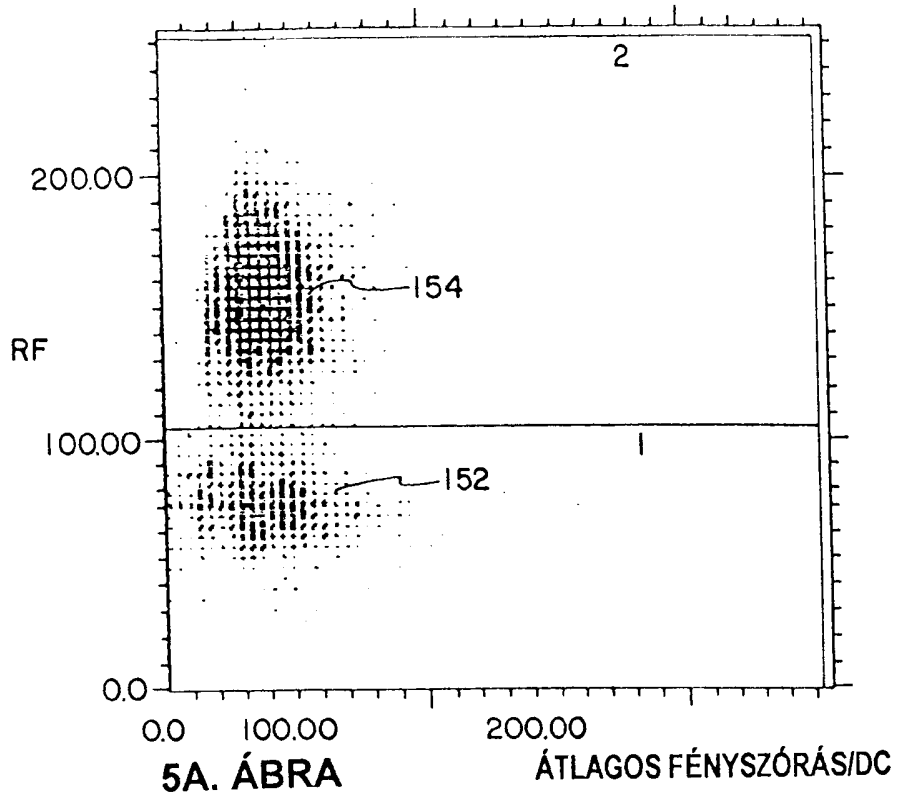
4B. ÁBRA

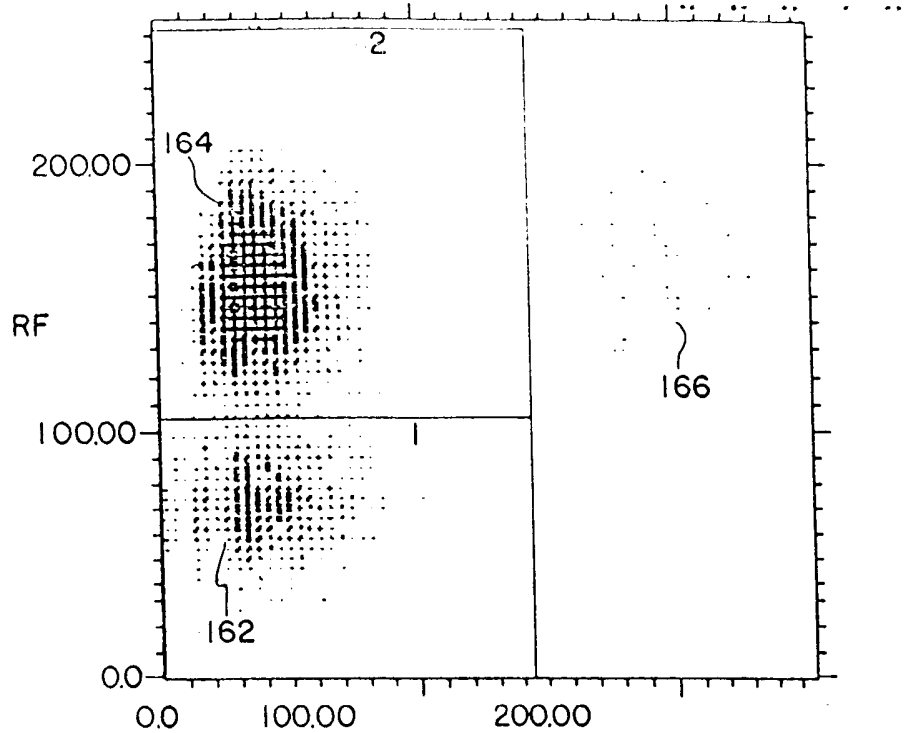
DENTISIA
Szakmai Igazgató Vezető
18.
[Signature]



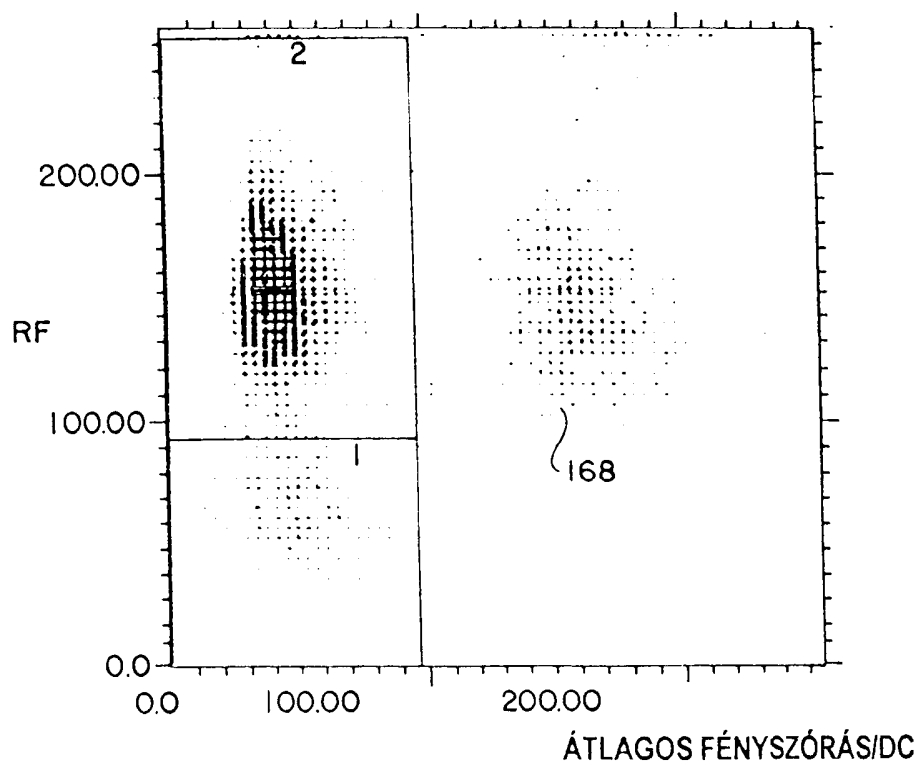
4C. ÁBRA

DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.
18.
2018.03.20.

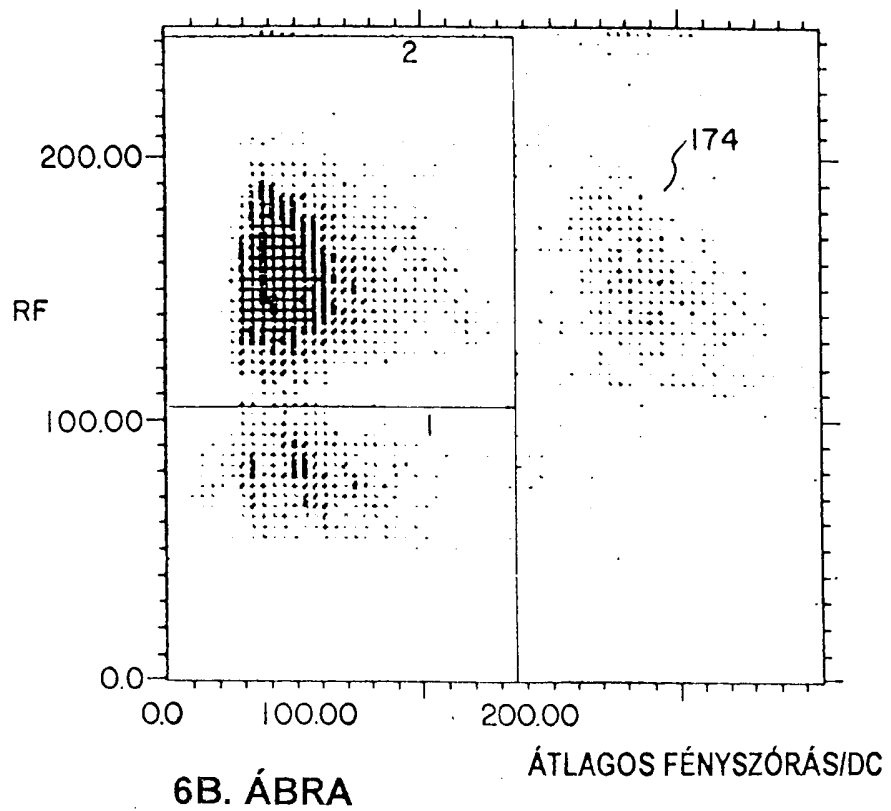
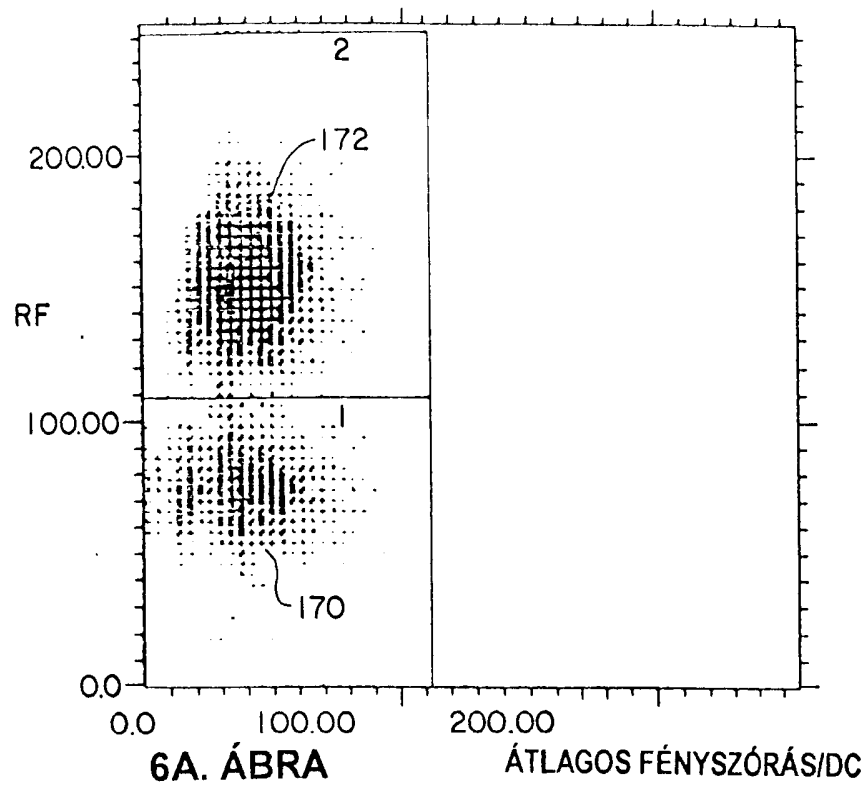




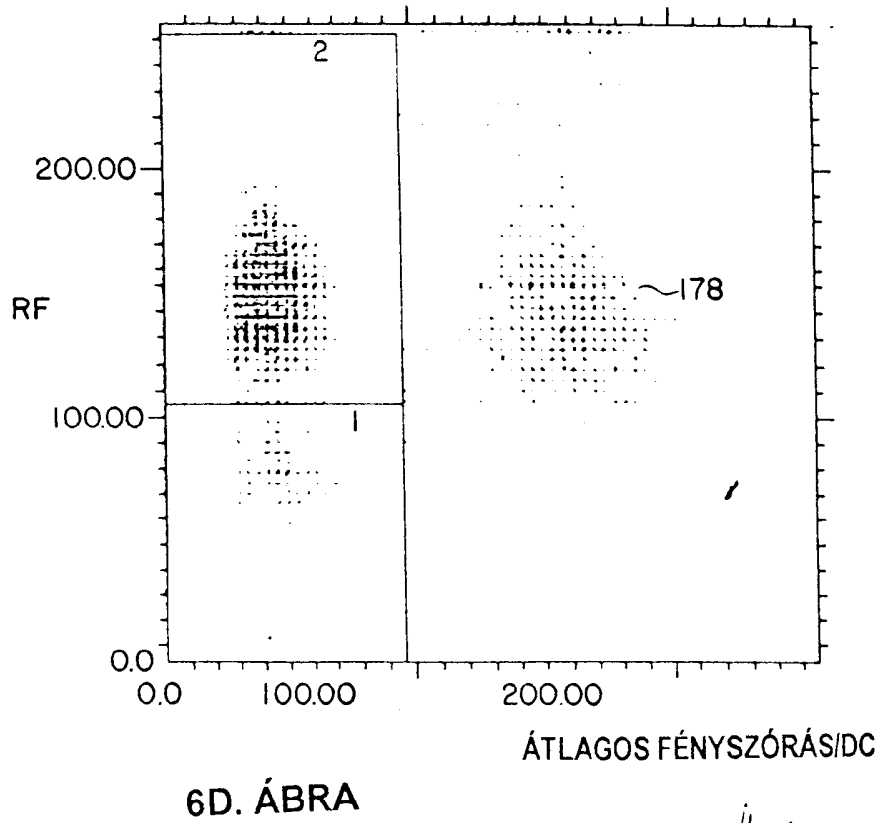
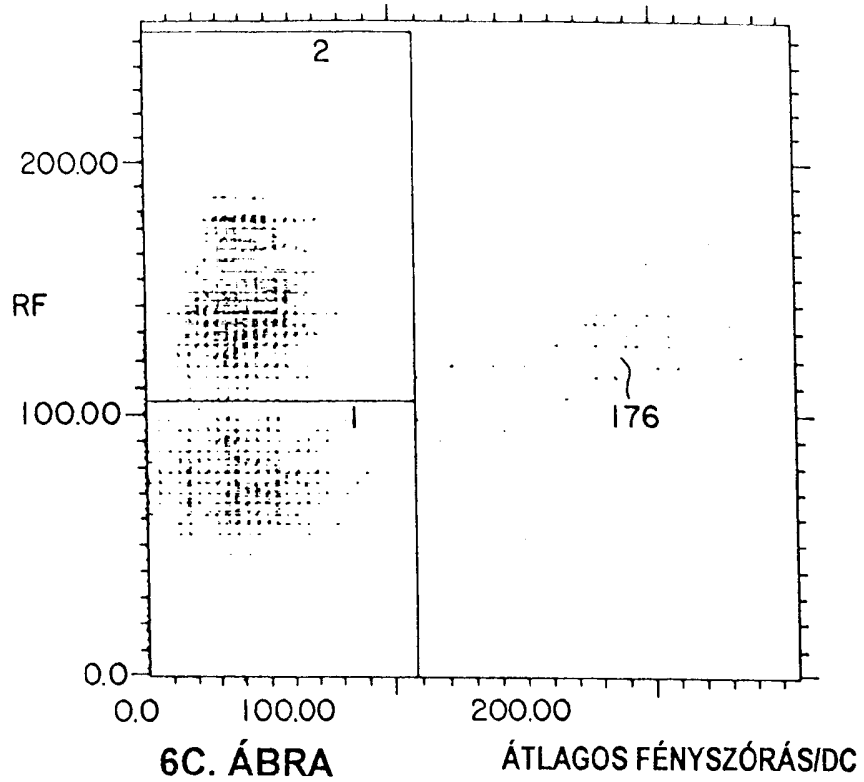
5C. ÁBRA



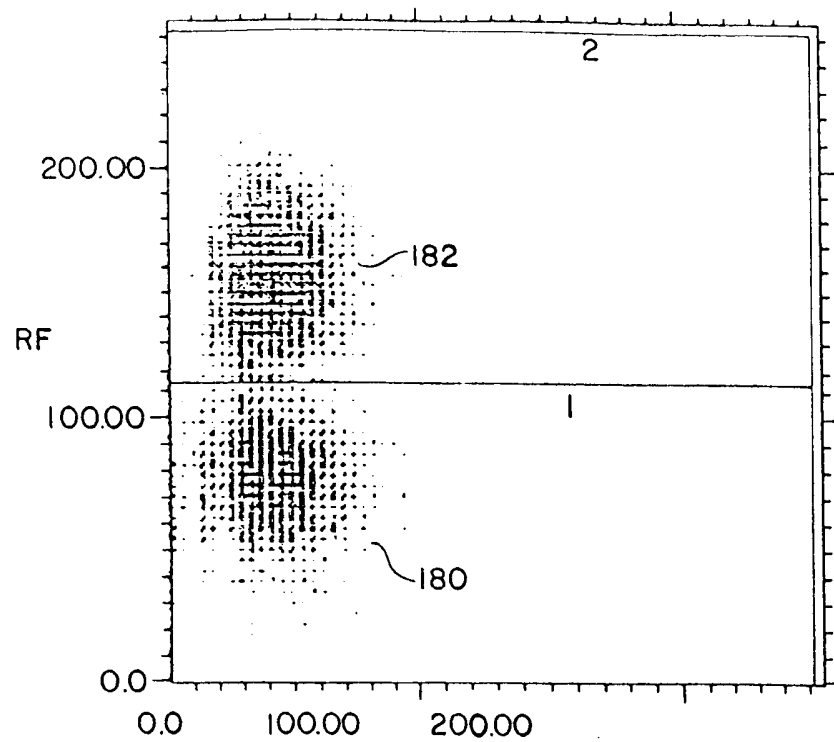
5D. ÁBRA



DANUBIA
 Szakmai és Védjegy Iroda Kft
 1051 Budapest, Rákóczi út 139.
 Tel: 06-1-465-1111
 Fax: 06-1-465-1112
 E-mail: info@danubia.hu

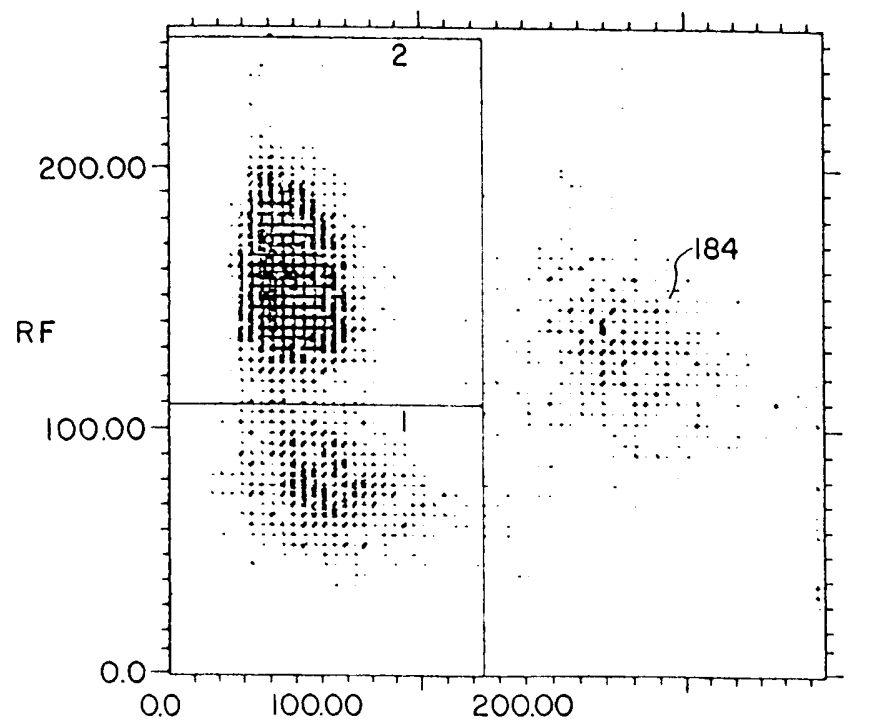


DANIELA
Szerkesztő és Véglegesítő Kft.
18. *[Signature]*



7A. ÁBRA

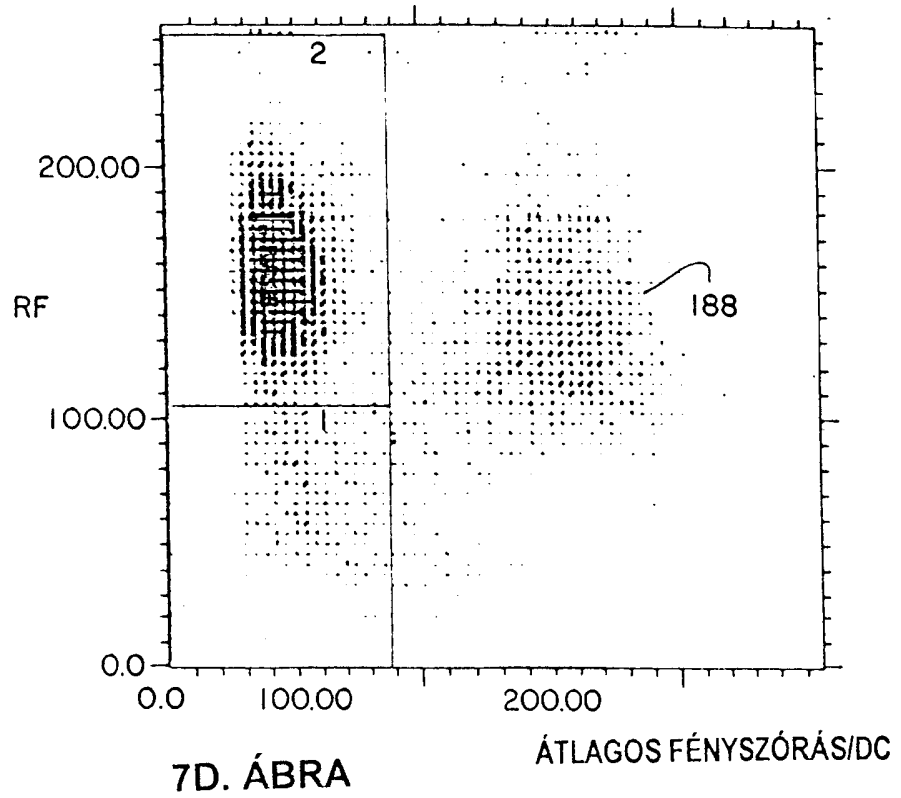
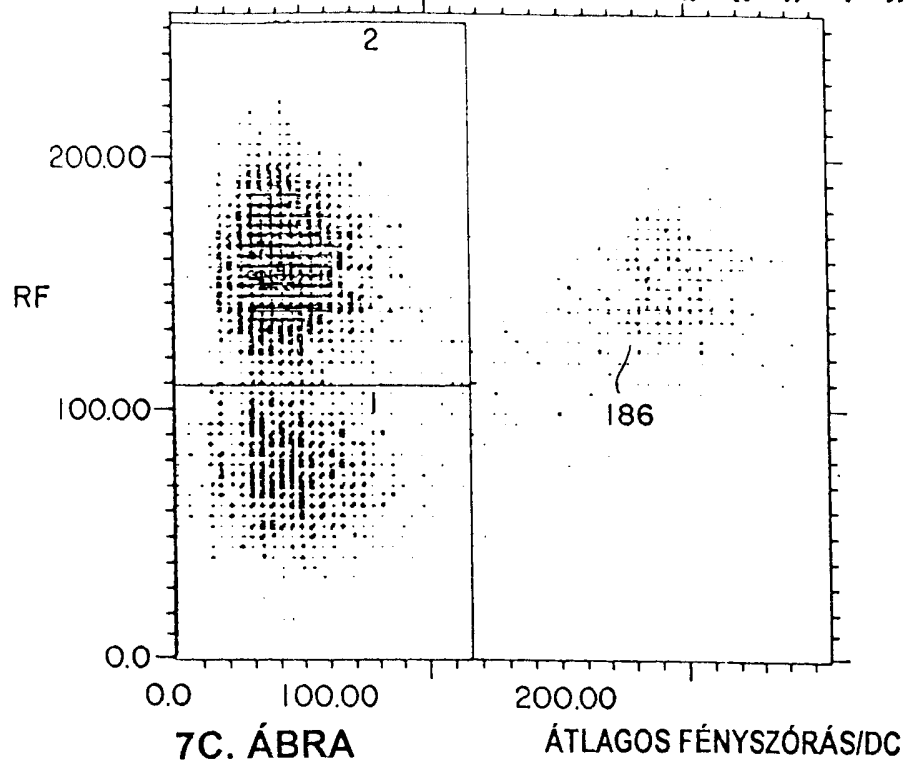
ÁTLAGOS FÉNYSZÓRÁS/DC



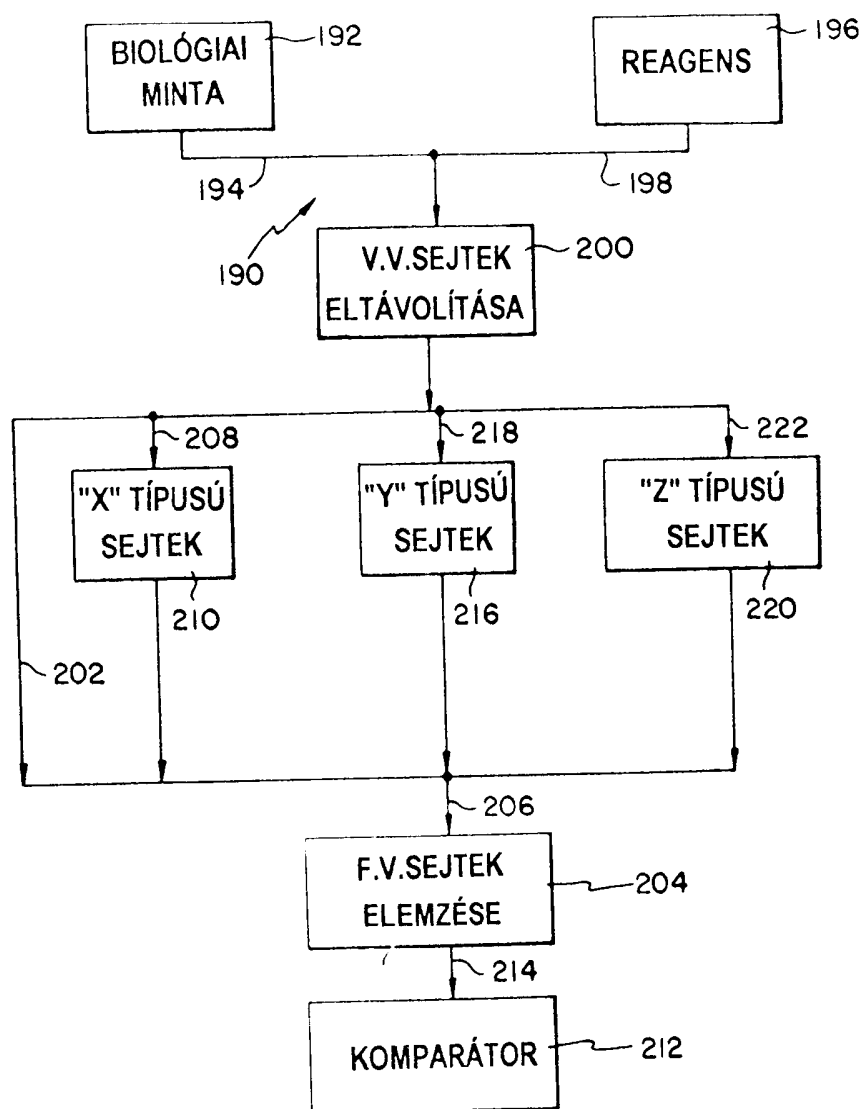
7B. ÁBRA

ÁTLAGOS FÉNYSZÓRÁS/DC

DANUBIA
Bátonyudvari és Védjegyi Iroda Kft.
18. *us un*

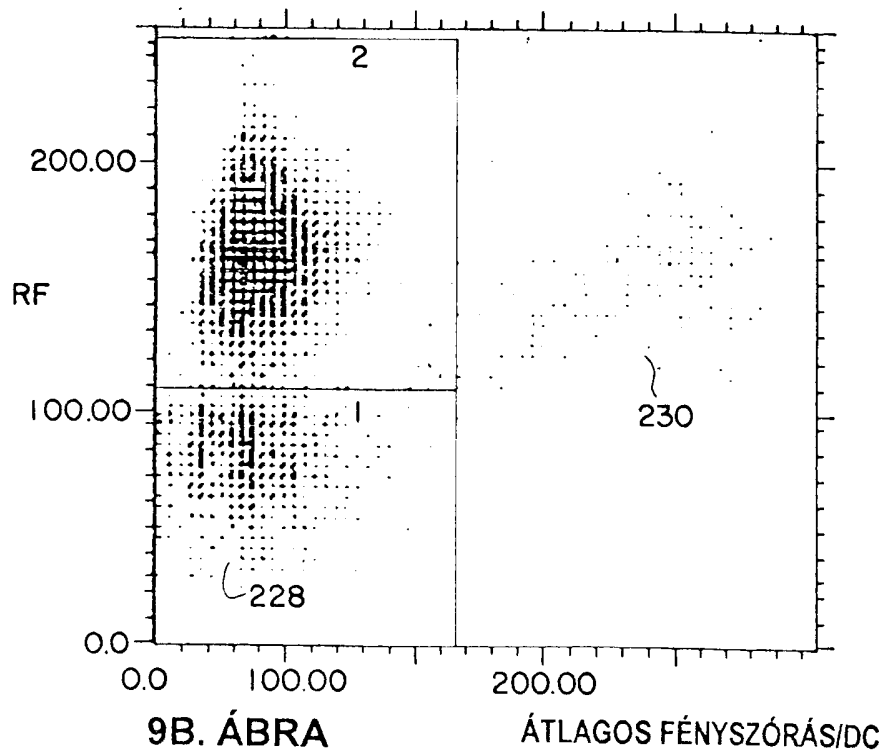
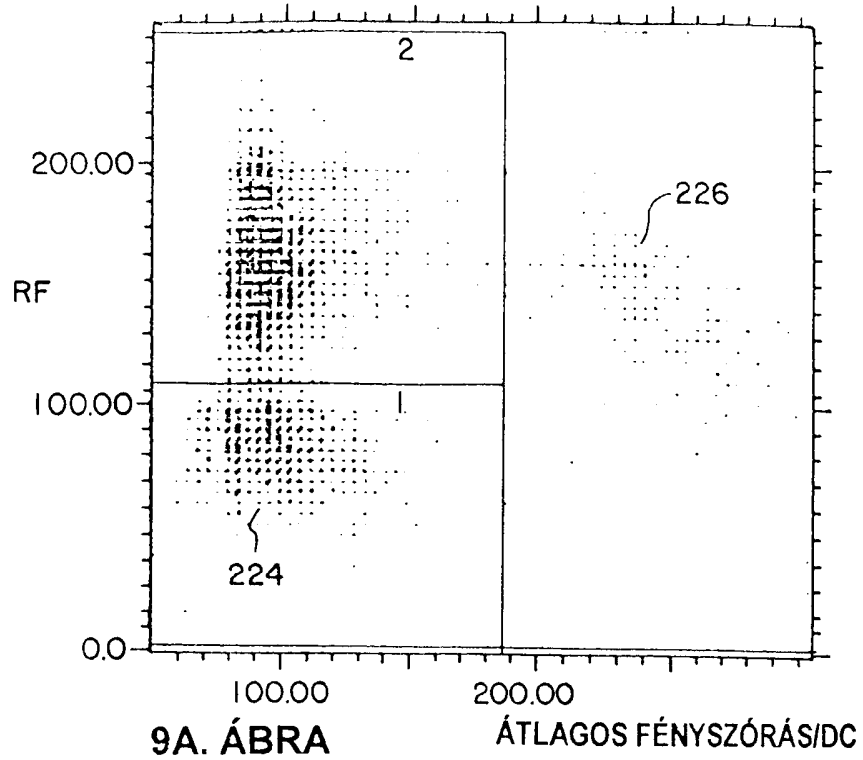


DANUSIA
Számosítási és Válogatási Iroda Kft.
18.
[Handwritten signature]

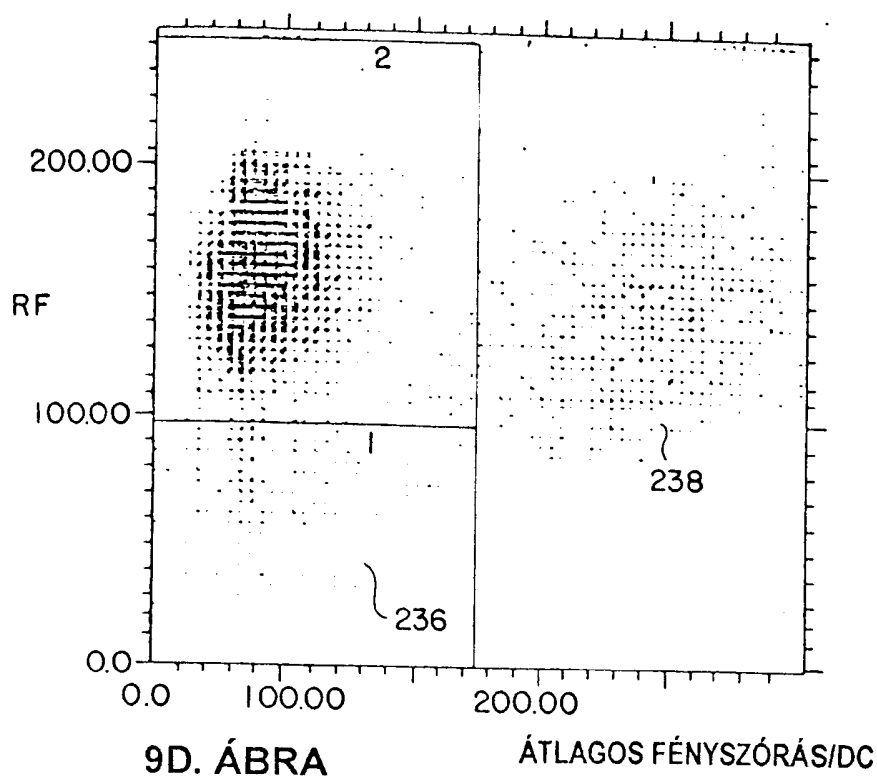
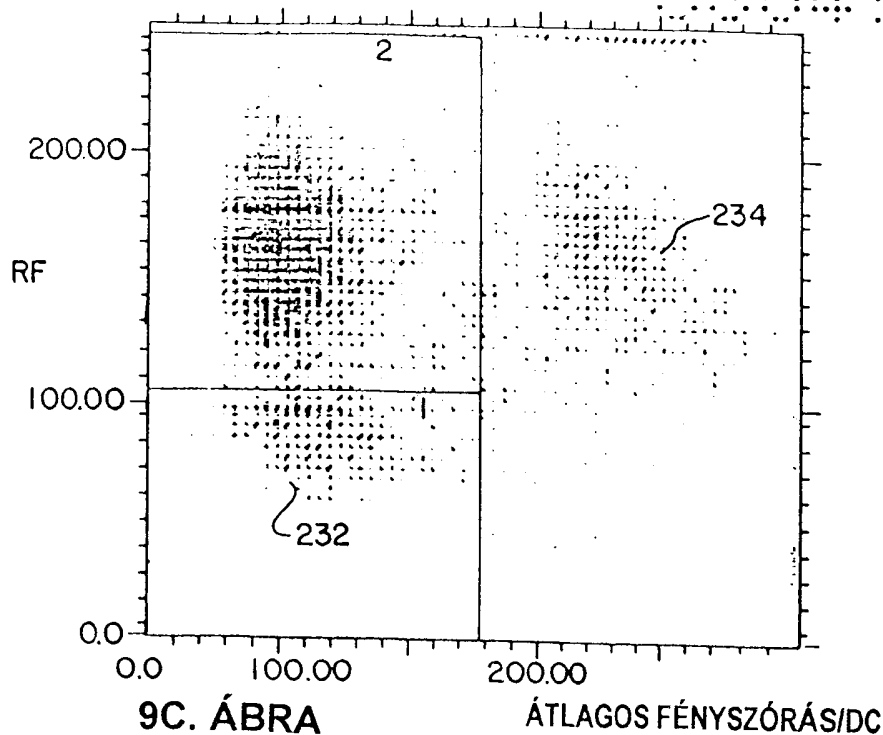


8. ÁBRA

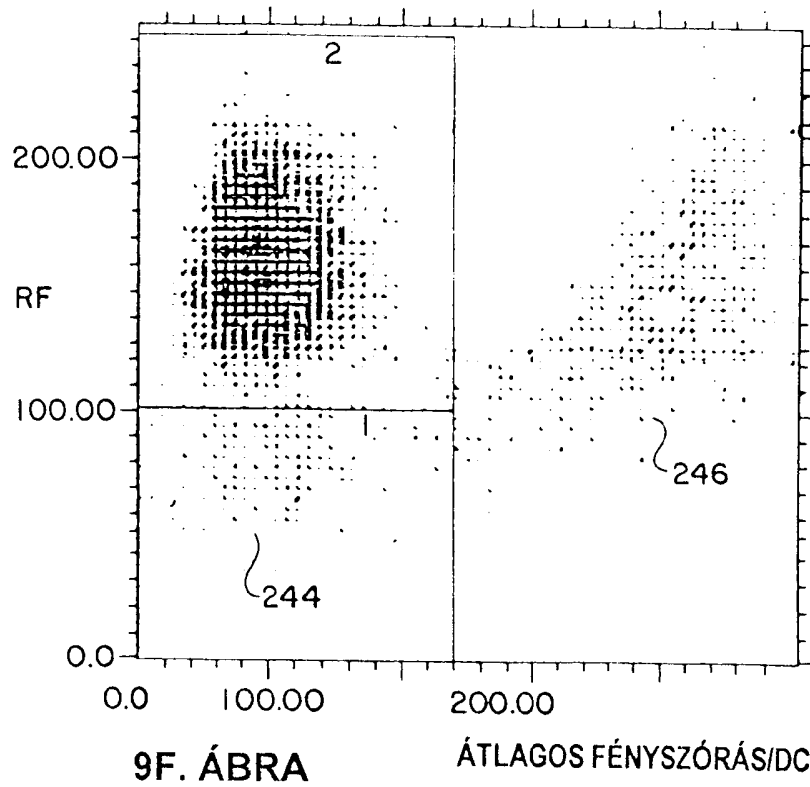
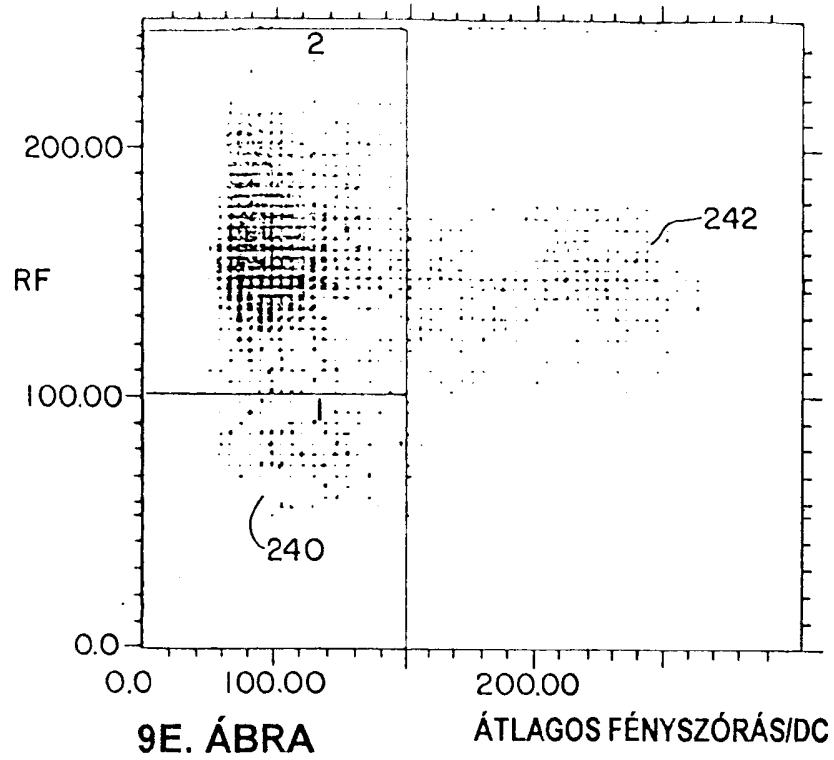
Dr. G. G.
Szabó Antal
18. *[Signature]*



DANIELA
 2004. évi és V. évi közgyűlési Kft.
 18. 2004. évi és V. évi közgyűlési Kft.

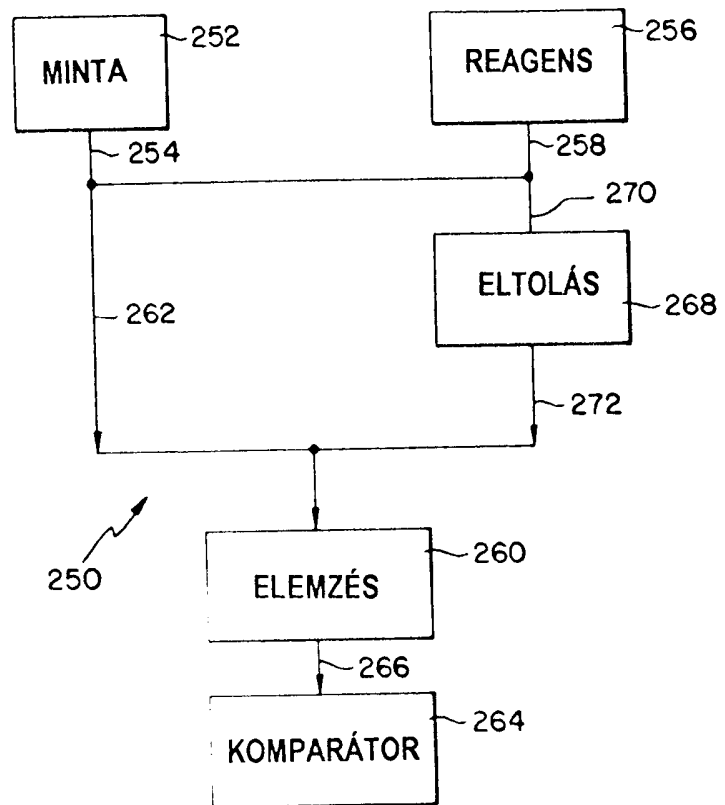


DANUBIA
 Számítógépes Cs. V. Sz. Igazgató Kft.
 13.
res k



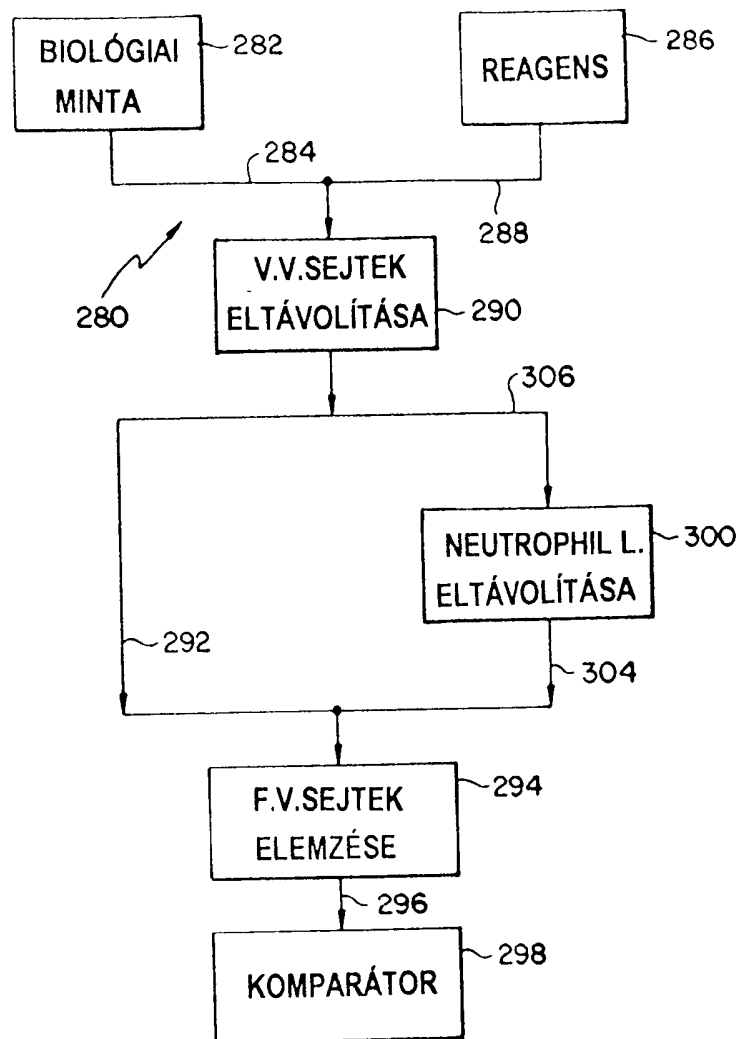
ESNIDA
Széchenyi Városi Könyvtár Kft.
197

[Handwritten signature]



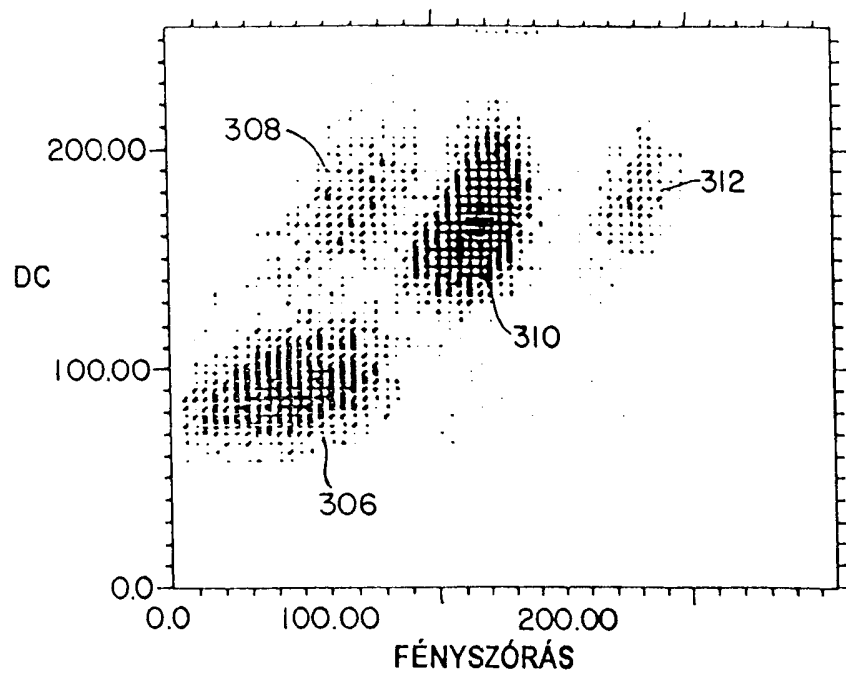
10. ÁBRA

Dr. Árpád
Szerkesztő: Cs. Gy. Kft.
18. 10. 11.

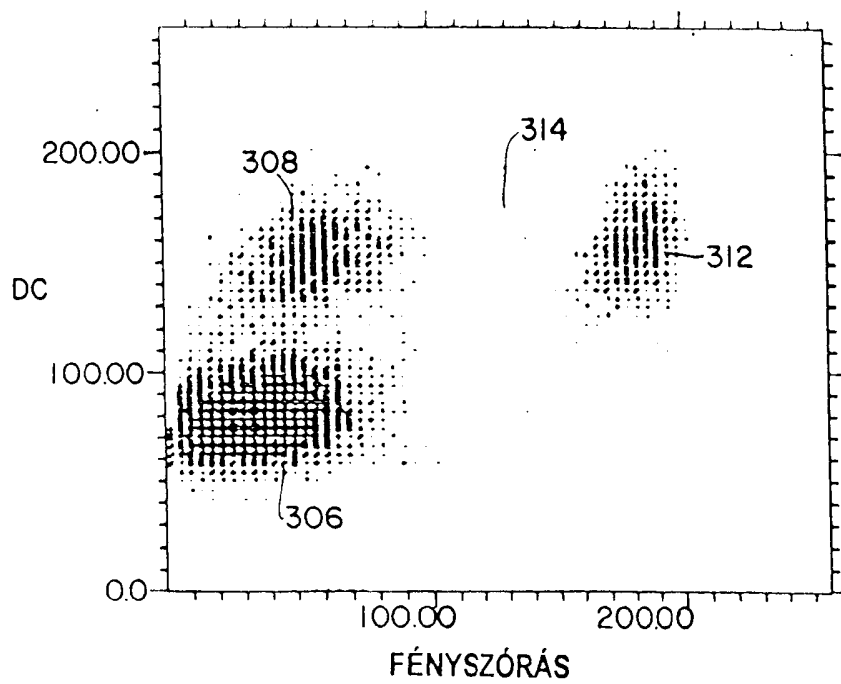


11. ÁBRA

DR. NIKOLA
Származási és Végrehajtási Iroda Kft.
13. *Nikola*

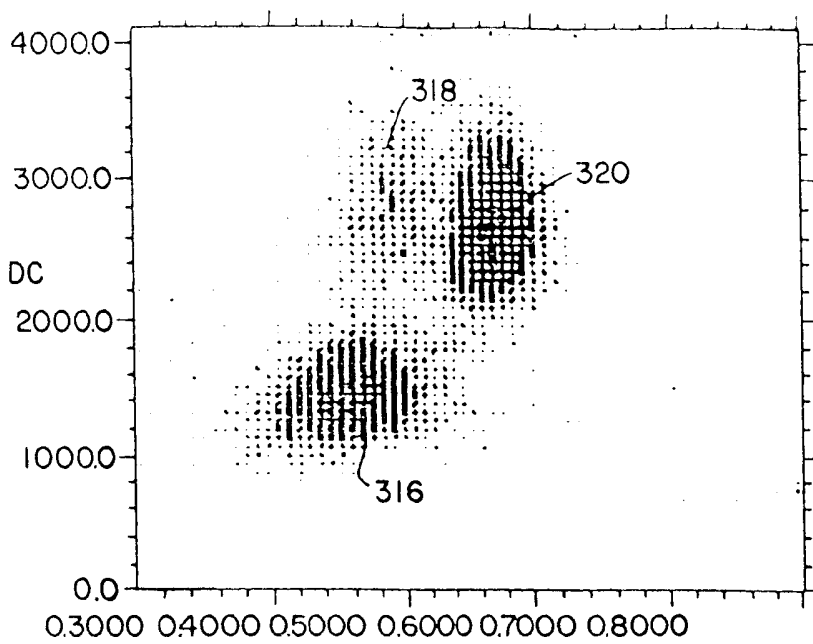


12A. ÁBRA

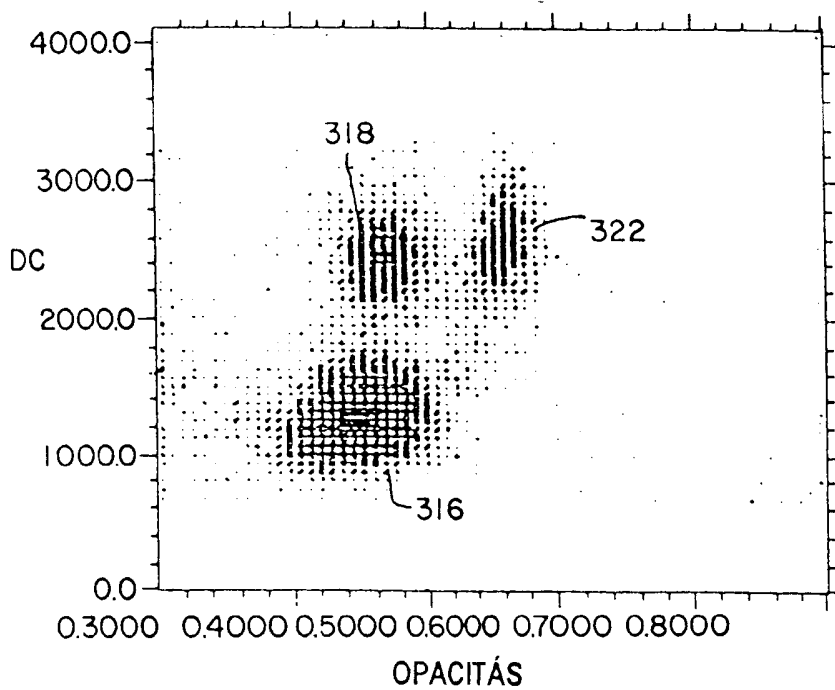


12B. ÁBRA

DR. ÁBRA
Dr. Ábrahám Cs. György Iréda Kft.
15. *Ábrahám*

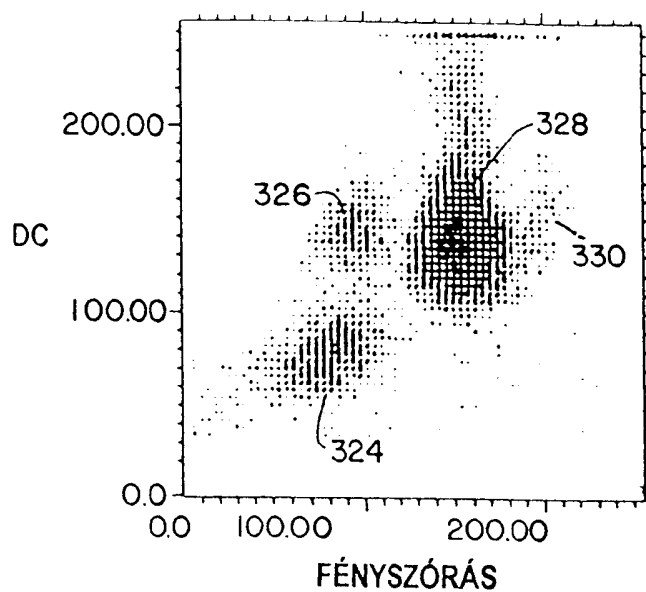


OPACITÁS
13A ÁBRA

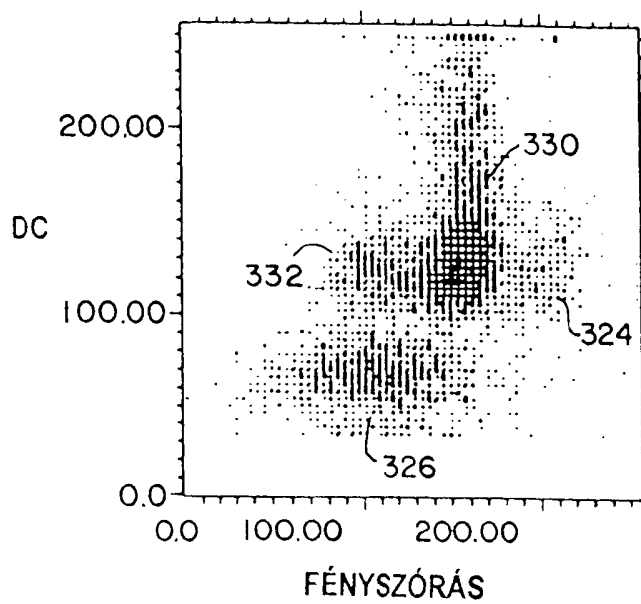


13B. ÁBRA

8. *[Signature]*
 8. *[Signature]*

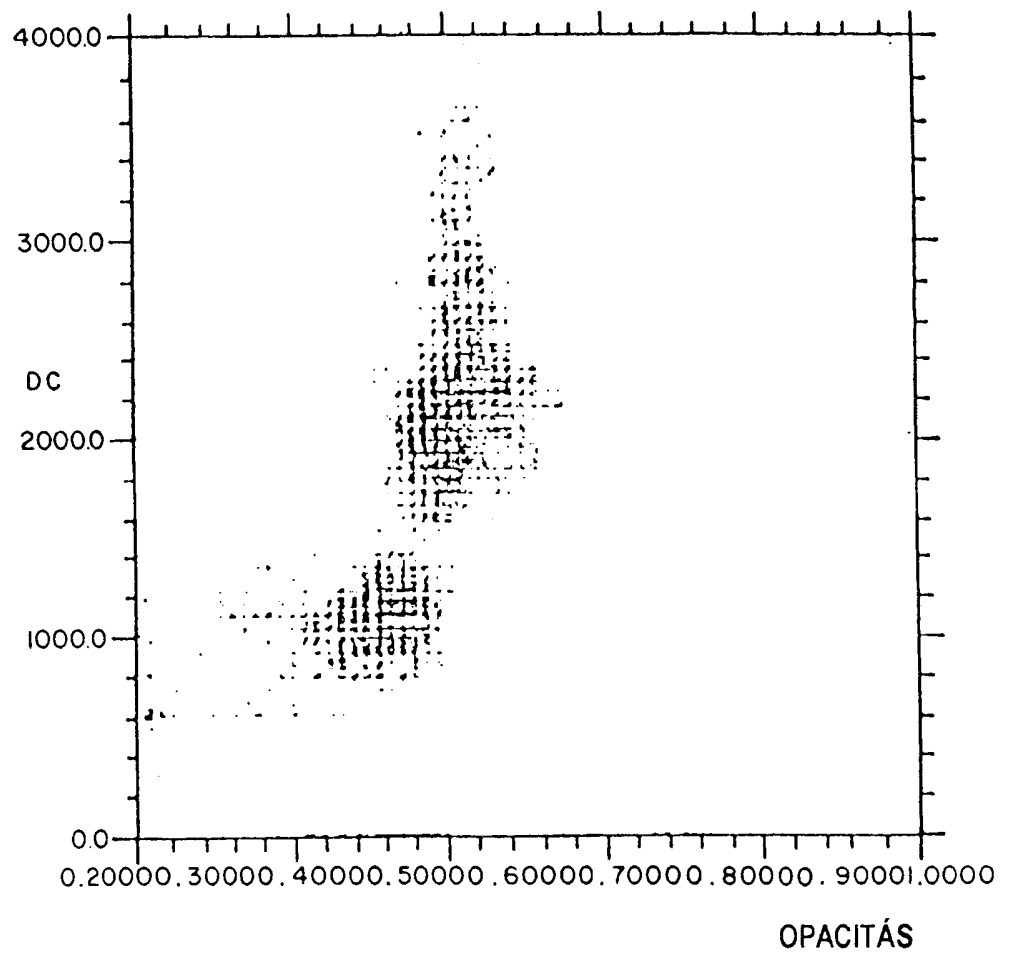


14A. ÁBRA



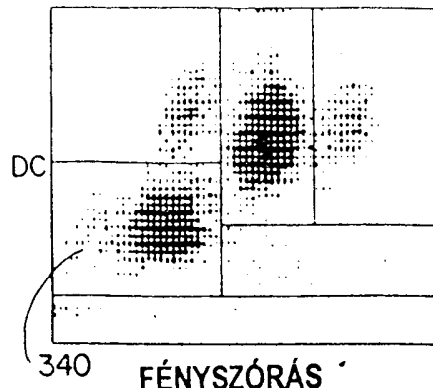
14B. ÁBRA

Dr. Károlyi
Károlyi Károly Kft.
12. *Károlyi*

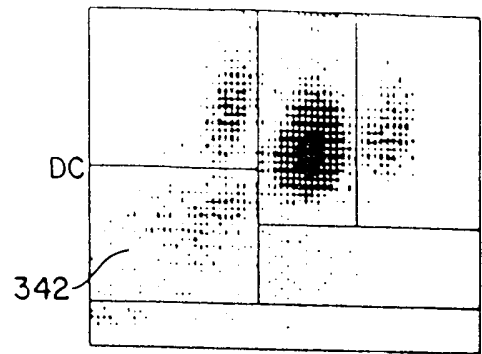


15B. ÁBRA

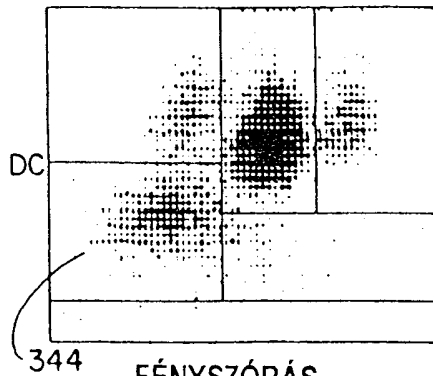
[Signature]



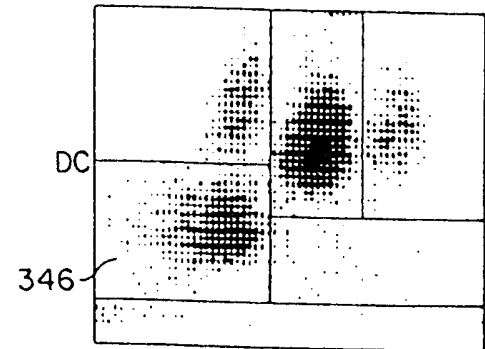
FÉNYSZÓRÁS
16A. ÁBRA



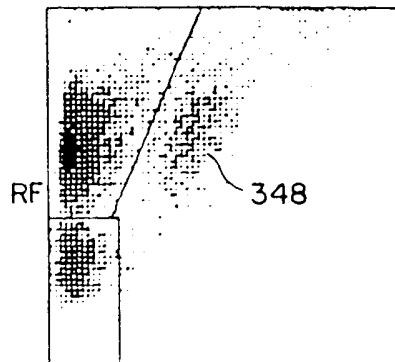
FÉNYSZÓRÁS
16B. ÁBRA



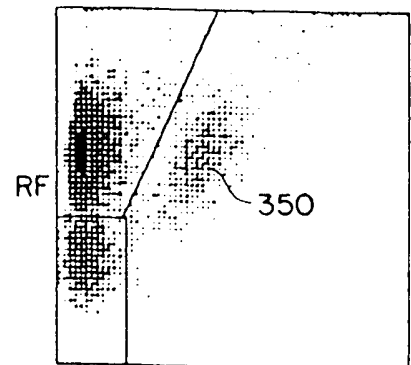
FÉNYSZÓRÁS
16C. ÁBRA



FÉNYSZÓRÁS
16D. ÁBRA

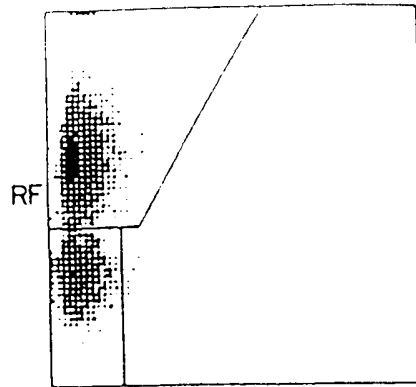


ÁTLAGOS FÉNYSZÓRÁS
17A. ÁBRA



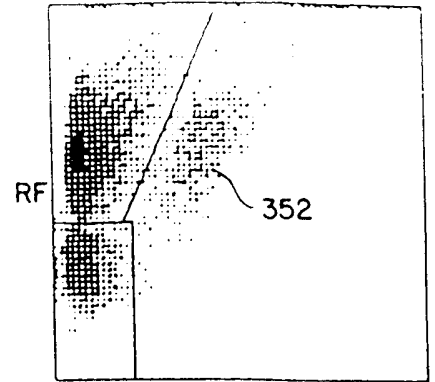
ÁTLAGOS FÉNYSZÓRÁS
17B. ÁBRA

Handwritten signature and text: *us mi*



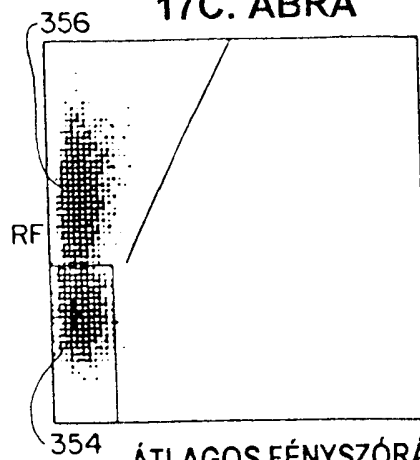
ÁTLAGOS FÉNYSZÓRÁS

17C. ÁBRA



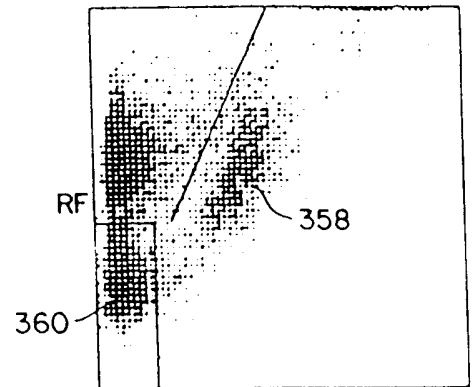
ÁTLAGOS FÉNYSZÓRÁS

17D. ÁBRA



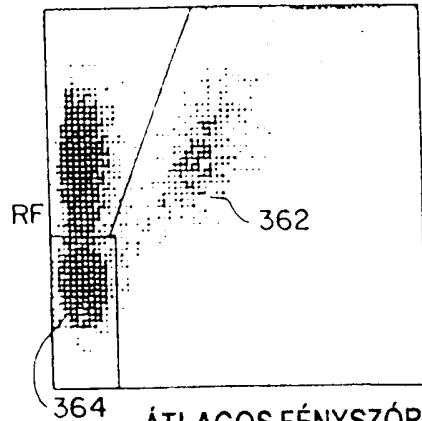
ÁTLAGOS FÉNYSZÓRÁS

18A. ÁBRA



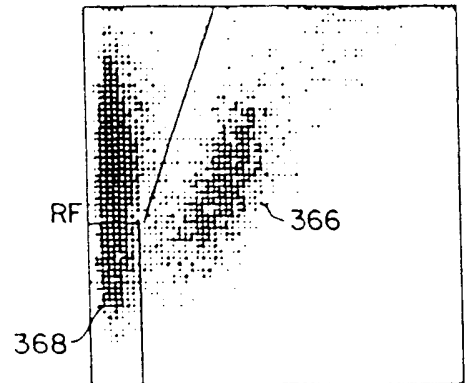
ÁTLAGOS FÉNYSZÓRÁS

18B. ÁBRA



ÁTLAGOS FÉNYSZÓRÁS

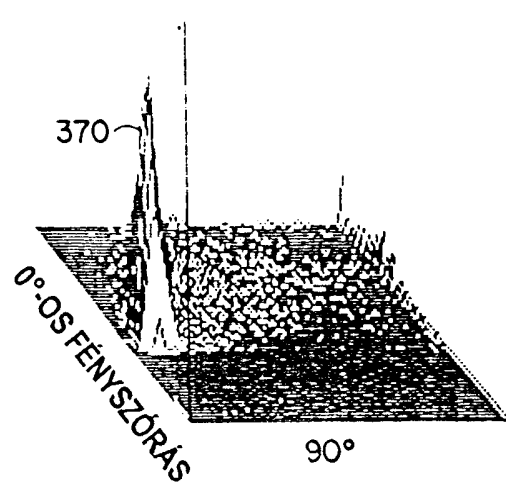
18C. ÁBRA



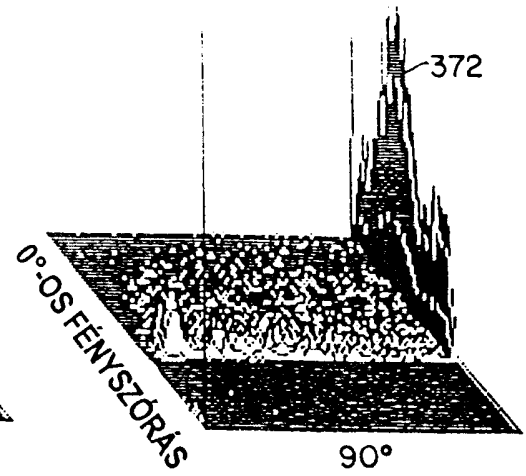
ÁTLAGOS FÉNYSZÓRÁS

18D. ÁBRA

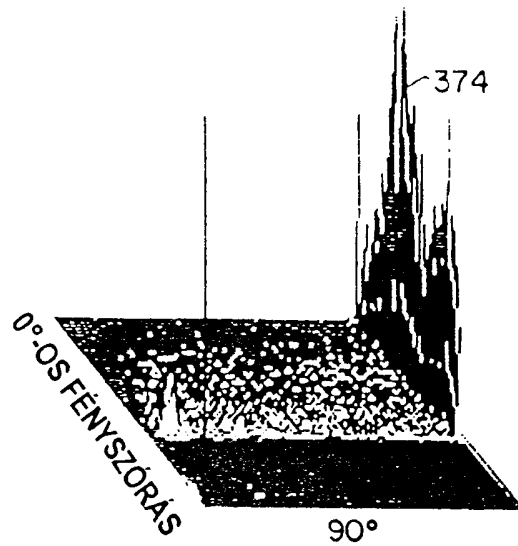

 SZAKKÖZVETÍTŐ
 KÖZVETÍTŐI KFT.



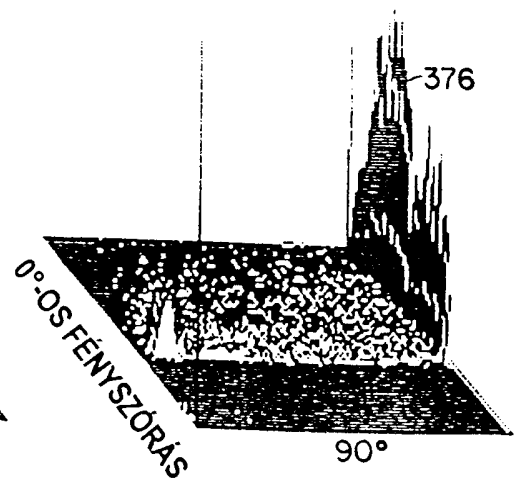
19A. ÁBRA



19B. ÁBRA

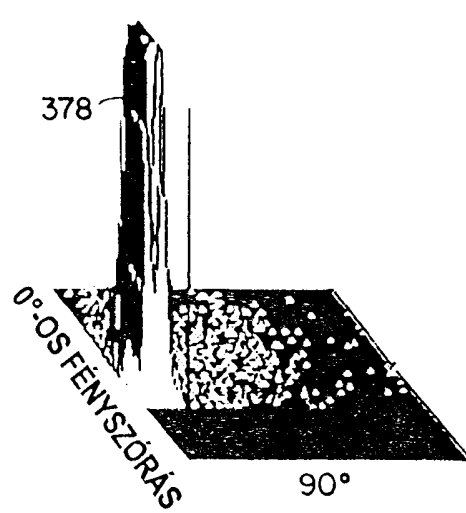


19C. ÁBRA

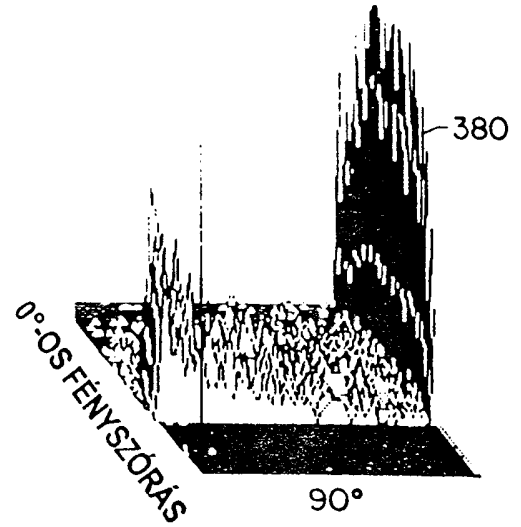


19D. ÁBRA

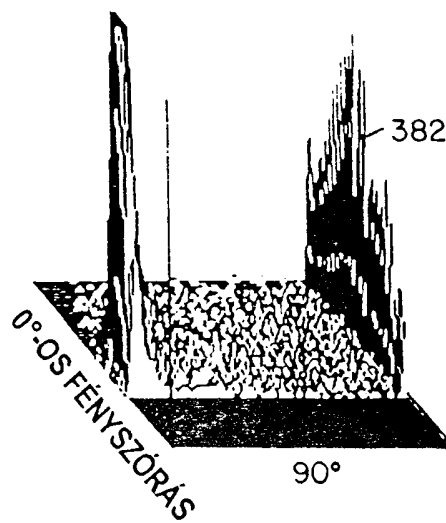
Handwritten signature and text: *Handwritten signature* Handwritten text



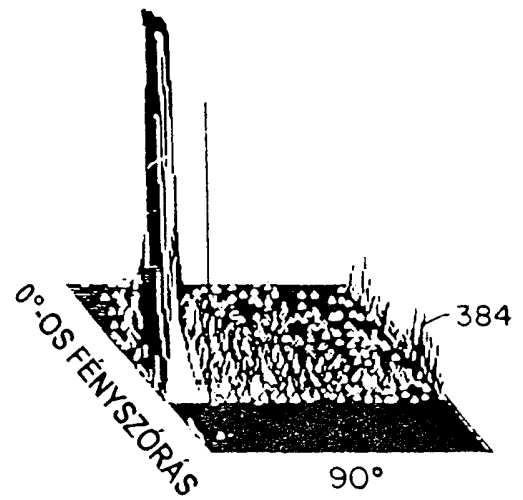
20A. ÁBRA



20B. ÁBRA



20C. ÁBRA



20D. ÁBRA

Dr. Ágoston Cs. György MSc. Kft.
[Handwritten signature]