



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2012144390/15, 17.03.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
18.03.2010 US 61/315,109;
27.01.2011 US 61/436,964

(43) Дата публикации заявки: 27.04.2014 Бюл. № 12

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 18.10.2012(86) Заявка РСТ:
US 2011/028863 (17.03.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/116221 (22.09.2011)

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский бульвар, 11, этаж
3, "Гоулингз Интернэшнл Инк.", Т.Н. Лыу

(71) Заявитель(и):

СИНДЖЕН, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

КОЭЛЬО Филип Х. (US)(54) **СИСТЕМА ОЧИСТКИ ОПРЕДЕЛЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КЛЕТОК В КРОВИ ИЛИ В КОСТНОМ
МОЗГЕ ПУТЕМ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ДРУГИХ**

(57) Формула изобретения

1. Способ извлечения по меньшей мере одного из следующего: эритроцитов, гранулоцитов или тромбоцитов из образца, содержащего кровь, костный мозг или клетки стромальной сосудистой фракции, выделенные из жировой ткани, при этом указанный способ включает:

a. размещение жесткого картриджа в центрифуге, при этом указанный жесткий картридж содержит жесткую камеру, имеющую конец, который соединен по текучей среде с системой клапанов, которая сначала закрыта, первый жесткий отсек для хранения и второй жесткий отсек для хранения;

b. перенос указанного образца в указанную жесткую камеру, при этом указанный образец содержит тромбоциты, плазму, клетки высокой плотности и клетки низкой плотности;

c. центрифугирование указанного жесткого картриджа таким образом, что указанный образец вынужден двигаться в направлении указанного конца под действием первой динамической нагрузки по меньшей мере 10 G, а затем под действием второй динамической нагрузки, меньшей чем первая динамическая нагрузка, но большей, чем 1G;

d. обеспечение первого пути для указанных клеток высокой плотности через указанный конец и в указанный первый жесткий отсек для хранения;

е. наблюдение за миграцией указанных клеток высокой плотности через указанный конец; и

ф. обеспечение второго пути для указанных клеток низкой плотности и некоторого количества тромбоцитов и плазмы через указанный конец и в указанный второй жесткий отсек для хранения.

2. Способ по п.1, где указанное наблюдение осуществляют оптически.

3. Способ по п.1, где на указанной стадии обеспечения используют указанную систему клапанов.

4. Способ по п.1, где указанная жесткая камера обычно имеет коническую форму.

5. Способ по п.1, дополнительно включающий определение указанной первой и второй динамической нагрузки.

6. Способ по п.1, дополнительно включающий извлечение по меньшей мере одного дополнительного типа клеток из указанного образца.

7. Способ по п.6, дополнительно включающий стадии:

а. замедления вращения указанного жесткого картриджа до динамической нагрузки 1 G после указанной стадии центрифугирования и где часть указанного образца остается в указанной жесткой камере;

б. встряхивания указанного жесткого картриджа для перемешивания указанной части; и

с. центрифугирования указанного жесткого картриджа до динамической нагрузки превышающей 1 G для последующей обработки.

8. Способ по п.1, где множество гибких трубок соединяют указанную жесткую камеру с указанными первым и вторым жесткими отсеками, и где указанные гибкие трубки имеют соотношение длины к диаметру, не превышающее 20.

9. Способ по п.1, где система клапанов включает эксцентрик и гибкую трубку.

10. Способ по п.1, где бусину с антителом вводят в указанный образец до указанной стадии обеспечения.

11. Способ по п.10, где указанная бусина с антителом приблизительно имеет такую же плотность, как эритроциты.

12. Способ по п.10, где указанная бусина с антителом способна держаться на поверхности плазмы.

13. Способ по п.1, где указанный образец дополнительно содержит флуоресцентное вещество.

14. Способ по п.13, дополнительно включающий стадию слежения за указанным флуоресцентным веществом.

15. Способ по п.1, дополнительно включающий стадии:

а. замедления вращения указанного жесткого картриджа до динамической нагрузки 1 G после указанной стадии центрифугирования и где часть указанного образца остается в указанной жесткой камере;

б. встряхивания указанного жесткого картриджа для перемешивания указанной части; и

с. центрифугирования указанного жесткого картриджа до динамической нагрузки превышающей 1 G для последующей обработки.

16. Способ по п.15, где бусину с антителом вводят в указанный образец до указанной стадии обеспечения.

17. Способ по п.16, где указанная бусина с антителом приблизительно имеет такую же плотность, как эритроциты.

18. Способ по п.16, где указанная бусина с антителом способна держаться на поверхности плазмы.

19. Способ по п.15, где указанный образец дополнительно содержит флуоресцентное

вещество.

20. Способ по п.19, дополнительно включающий стадию слежения за указанным флуоресцентным веществом.

21. Способ по п.1, дополнительно включающий стадию добавления вещества, ускоряющего седиментацию эритроцитов.

22. Способ извлечения по меньшей мере одного из следующего: эритроцитов, гранулоцитов или тромбоцитов из образца, содержащего кровь, костный мозг или клетки стромальной сосудистой фракции, выделенные из жировой ткани, при этом указанный способ включает:

а. предоставление:

i. центрифуги, имеющей ось вращения; и

ii. образца, содержащего плазму и первую часть с высокой плотностью и оставшуюся часть с низкой плотностью;

iii. жесткого картриджа, содержащего:

1. внутреннюю жесткую камеру, имеющую выходное отверстие;

2. первый жесткий отсек для хранения и второй жесткий отсек для хранения;

3. входное отверстие;

4. систему клапанов, обеспечивающую сообщение между указанным выходным отверстием и указанными жесткими отсеками для хранения; и

iv. датчика;

b. расположение указанного образца в указанном жестком картридже путем переноса указанного образца через указанное входное отверстие и в указанную жесткую камеру;

c. центрифугирование указанного жесткого картриджа таким образом, чтобы указанная первая часть сначала была вынуждена двигаться в направлении указанного выходного отверстия под действием центробежной силы, направляемая указанной системой клапанов, а затем была вынуждена двигаться в направлении указанной оси вращения и в указанный первый жесткий отсек для хранения; и

d. направление с помощью указанной системы клапанов некоторого количества указанной оставшейся части в направлении указанной оси вращения и в указанный второй жесткий отсек для хранения.

23. Способ по п.22, где система клапанов включает эксцентрик и гибкую трубку.

24. Способ по п.22, где указанный датчик представляет собой оптический датчик.

25. Способ по п.22, дополнительно включающий наблюдение с помощью указанного датчика за движением указанной первой части через выходное отверстие.

26. Способ по п.22, где указанный указанный жесткая камера дополнительно содержит узкий конец и где указанное выходное отверстие расположено на указанном узком конце.

27. Способ по п.22, дополнительно включающий расслоение указанного образца, тем самым образуя по меньшей мере одну поверхность раздела.

28. Способ по п.27, дополнительно включающий обнаружение указанного по меньшей мере на одной поверхности раздела с использованием указанного датчика.

29. Способ по п.27, где указанная стадия расслоения образует первую и вторую границу раздела.

30. Способ по п.29, дополнительно включающий обнаружение указанной первой и второй границы раздела с помощью указанного датчика.

31. Способ по п.30, где указанная стадия направления имеет место после того, как указанный датчик обнаружит указанную первую границу раздела.

32. Способ по п.30, где указанная стадия направления имеет место после того, как указанный датчик обнаружит указанную вторую границу раздела.

33. Способ по п.32, дополнительно включающий наблюдение с помощью указанного

датчика за движением указанной первой части через выходное отверстие.

34. Способ по п.22, дополнительно включающий стадии:

а. замедления вращения указанного жесткого картриджа с динамической нагрузки превышающей 10 G до динамической нагрузки приблизительно 1 G после указанной стадии центрифугирования и где:

i. подавляющее большинство указанной части находится в указанном первом жестком отсеке для хранения; и
ii. подавляющее большинство указанной оставшейся части находится в указанной жесткой камере;

б. перемешивания указанной оставшейся части путем встряхивания указанного жесткого картриджа; и

с. возвращения указанного жесткого картриджа к динамической нагрузке превышающей 1 G для последующей обработки.

35. Способ по п.34, дополнительно включающий наблюдение с помощью указанного датчика за движением указанной первой части или второй части через указанное выходное отверстие.

36. Способ по п.35, где указанный датчик представляет собой оптический датчик.

37. Способ по п.36, где указанный оптический датчик содержит по меньшей мере одну пару инфракрасный эмиттер/детектор.

38. Способ извлечения по меньшей мере одного из следующего: эритроцитов, гранулоцитов или тромбоцитов из образца, содержащего кровь, костный мозг или клетки стромальной сосудистой фракции, выделенные из жировой ткани, при этом указанный способ включает:

а. предоставление жесткого картриджа, содержащего:

i. жесткий наружный корпус;
ii. внутреннюю жесткую камеру обычно в форме воронки, имеющую узкий конец, содержащий выходное отверстие, и широкий конец, содержащий входное отверстие;
iii. первый и второй жесткий отсек для хранения, изначально не находящийся в жидкостной связи с указанным узким концом;
iv. первый клапан в соединении с указанным выходным отверстием и указанным первым жестким отсеком для хранения, где указанный первый клапан изначально находится в закрытом состоянии; и

v. второй клапан в соединении с указанным выходным отверстием и указанным вторым жестким отсеком для хранения, где указанный второй клапан изначально находится в закрытом состоянии;

б. предоставление центрифуги, выполненной с возможностью установки указанного жесткого картриджа;

с. предоставление образца, содержащего смесь клеток высокой плотности, клеток низкой плотности, тромбоцитов и плазмы;

д. перенос указанного образца в указанный жесткий картридж через указанное входное отверстие;

е. помещение указанного жесткого картриджа в указанную центрифугу;

ф. приложение центробежной силы, чтобы заставить указанный образец двигаться в направлении указанного узкого конца;

г. расслоение указанного образца таким образом, чтобы подавляющее большинство указанных клеток высокой плотности образовывало слой компонента высокой плотности и подавляющее большинство указанных клеток низкой плотности образовывали слой компонента низкой плотности;

h. открытие указанного первого клапана, таким образом, чтобы указанные слои компонентов перемещались в направлении указанного узкого конца, и где указанное

подавляющее большинство указанных клеток высокой плотности были вынуждены под действием центробежной силы течь сначала в направлении от указанной оси вращения, а затем в направлении указанной оси вращения и в указанный первый жесткий отсек для хранения; и

i. снятие указанной центробежной силы.

39. Способ по п.38, где первый клапан активируется эксцентриком.

40. Способ по п.38, где указанный первый жесткий отсек для хранения содержит входное отверстие первого жесткого отсека для хранения, расположенное ближе к указанной оси вращения, чем указанное выходное отверстие, и где указанные клетки высокой плотности проходят через указанное входное отверстие первого жесткого отсека для хранения.

41. Способ по п.38, дополнительно включающий определение с использованием датчика присутствия по меньшей мере одного из указанных слоев компонентов в указанном узком конце.

42. Способ по п.38, дополнительно включающий определение с использованием первого и второго датчика присутствия указанных первого и второго слоев компонентов, проходящих через указанный узкий конец.

43. Способ по п.42, дополнительно включающий закрытие указанного первого клапана и открытие указанного второго клапанов таким образом, чтобы указанное подавляющее большинство указанных клеток низкой плотности и плазма были вынуждены под действием центробежной силы течь сначала в направлении от указанный оси вращения, а затем в направлении к указанный оси вращения и в указанный второй жесткий отсек для хранения.

44. Способ по п.43, дополнительно включающий стадию перед открытием указанного второго клапана предварительного определения конечного объема клеток низкой плотности и плазмы, добавляемого в указанный второй жесткий отсек для хранения.

45. Способ по п.44, дополнительно включающий:

j. вычисление количества времени после обнаружения указанного слоя второго компонента, при этом указанный второй клапан будет оставаться открытым для заполнения указанного второго жесткого отсека для хранения плазмой, таким образом, чтобы указанный конечный объем был по существу равен указанному предварительно определенному конечному объему; и

k. закрытие указанного второго клапана после указанного количества времени.

46. Способ по п.45, где указанная стадия вычисления основана на времени, прошедшем между обнаружением первого из указанных слоев компонентов указанным первым датчиком, и указанным вторым датчиком.

47. Способ по п.40, дополнительно включающий:

l. устранение центробежной силы после указанной стадии открытия;

m. встряхивание указанного жесткого картриджа для перемешивания указанных клеток низкой плотности, указанных тромбоцитов и указанной плазмы после указанной стадии устранения центробежной силы; и

n. повторное приложение центробежной силы для дополнительной обработки указанных клеток низкой плотности, указанных тромбоцитов и указанной плазмы.

48. Способ по п.40, где указанный слой компонентов высокой плотности содержит эритроциты, и где указанный слой компонентов низкой плотности содержит лейкоциты.

49. Способ по п.48, где указанный слой компонентов низкой плотности дополнительно содержит моноклеарные клетки.

50. Способ по п.48, где указанный слой компонентов низкой плотности дополнительно содержит гранулоциты.

51. Способ по п.48, где указанный слой компонентов высокой плотности

A
0
6
4
3
9
0
A
2
0
1
2
1
4
4
3
9
0
A
R
U

R
U
2
0
1
2
1
4
4
3
9
0
A

дополнительно содержит гранулоциты.

52. Способ сбора, по существу, чистого раствора по меньшей мере одного типа клеток из образца, содержащего клетки высокой плотности, клетки низкой плотности, тромбоциты и плазму, при этом указанный способ включает:

- a. предоставление жесткого картриджа, содержащего:
 - i. внутреннюю жесткую камеру обычно в форме воронки, имеющую первое и второе выходное отверстие, указанные отверстия изначально закрыты; и
 - ii. по меньшей мере два жестких отсека для хранения;
- b. расположение жидкого биологического образца, содержащего клетки высокой плотности, клетки низкой плотности в указанной жесткой камере;
- c. центрифугирование указанного жесткого картриджа таким образом, чтобы подавляющее большинство указанных клеток высокой плотности формировали слой компонентов высокой плотности, а подавляющее большинство указанных клеток низкой плотности формировали слой компонентов низкой плотности; и
- d. во время указанной стадии центрифугирования:
 - i. открытие указанного первого выходного отверстия, позволяющего проходить части указанного компонента высокой плотности;
 - ii. закрытие указанного первого отверстия; и
 - iii. открытие указанного второго отверстия, позволяющего проходить части указанного слоя компонентов низкой плотности.

53. Способ по п.52, где один из указанных слоев компонентов вынужден под действием центробежной силы течь сначала через одно из указанных выходных отверстий и в направлении от оси вращения, а затем в направлении к указанной оси вращения и в указанный жесткий отсек для хранения.

54. Способ по п.52, где указанный образец содержит по меньшей мере одно из следующего: кровь, костный мозг или клетки стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани.

55. Способ сбора мононуклеарных клеток из образца крови, костного мозга или клеток стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани, где все стадии происходят в одном жестком картридже, при этом указанный способ включает:

- a. предоставление центрифуги, имеющей ось вращения;
- b. предоставление жесткого картриджа, содержащего внутреннюю жесткую камеру;
- c. расположение указанного образца в указанной жесткой камере, при этом образец содержит по меньшей мере два биологических компонента, выбранных из группы эритроцитов, гранулоцитов, мононуклеарных клеток, стволовых клеток, тромбоцитов и плазмы;
- d. установление указанного жесткого картриджа в указанную центрифугу;
- e. приложение с помощью указанной центрифуги центробежной силы к указанному образцу, указанная центробежная сила:
 - i. сначала перемещает большинство указанных эритроцитов в указанном образце в направлении от указанной оси вращения, из указанной жесткой камеры, в направлении к указанной оси вращения, и в первый жесткий отсек для хранения; и
 - ii. затем перемещает большинство указанных мононуклеарных клеток в указанном образце в направлении от указанной оси вращения, из указанной жесткой камеры, в направлении к указанной оси вращения, и во второй жесткий отсек для хранения.

56. Способ по п.55, где указанная внутренняя жесткая камера имеет переменный радиус, при этом указанный радиус является наибольшим в расположении, ближайшем к указанной оси вращения и наименьшим в расположении, удаленном от указанной оси вращения.

57. Способ по п.56, где во время указанной второй стадии перемещения большинство

указанных моноклеарных клеток концентрируется в стратифицированном слое, толщина которого увеличивается по мере движения указанного стратифицированного слоя в направлении от указанной оси вращения.

58 Способ селективного извлечения клеток различной плотности из образца, включающий:

а. расположение жесткого картриджа в центрифуге, при этом указанный жесткий картридж содержит жесткую камеру, имеющую конец, соединенный текучей средой с системой клапанов, которая изначально закрыта, и по меньшей мере один жесткий отсек для хранения;

б. помещение указанного образца в указанную жесткую камеру, при этом указанный образец содержит клетки относительно высокой и низкой плотности и жидкость;

с. центрифугирование указанного жесткого картриджа таким образом, чтобы указанный образец был вынужден двигаться в направлении указанного конца под действием первой динамической нагрузки;

д. центрифугирование указанного жесткого картриджа таким образом, чтобы указанный образец был вынужден двигаться в направлении указанного конца под действием второй динамической нагрузки, меньшей, чем указанная первая динамическая нагрузка, но большей, чем 1 G и обеспечение открытого пути через указанную систему клапанов по меньшей мере для части указанных клеток относительно высокой плотности через указанный конец и в указанный по меньшей мере один жесткий отсек для хранения;

е. отслеживание в указанном жестком картридже миграции указанных клеток через указанный конец; и

ф. закрытие указанного открытого пути.

59. Устройство для извлечения по меньшей мере одного из следующего: эритроцитов, гранулоцитов или тромбоцитов из образца, включающего кровь, костный мозг или клетки стромальной сосудистой фракции, выделенные из жировой ткани, при этом устройство включает:

а. центрифугу, имеющую ось вращения:

б. жесткий картридж, содержащий:

i. жесткую внутреннюю камеру, имеющую радиус, обычно обратно пропорциональный расстоянию от указанной оси вращения, когда указанный картридж центрифугируют в указанной центрифуге, входное отверстие, и выходное отверстие;

ii. систему клапанов;

iii. первый жесткий отсек для хранения ближе к указанной оси вращения, когда указанный картридж центрифугируют в указанной центрифуге, чем указанное выходное отверстие; и

iv. второй жесткий отсек для хранения ближе к указанной оси вращения, когда указанный картридж центрифугируют в указанной центрифуге, чем указанное выходное отверстие; и

с. блок управления.

60. Устройство по п.59, где по меньшей мере часть указанной системы клапанов расположена дальше от указанной оси вращения, когда указанный картридж центрифугируют в указанной центрифуге, чем указанные входные отверстия первого и второго отсека.

61. Устройство по п.59, дополнительно включающее эксцентрик в функциональной связи с клапаном.

62. Устройство для извлечения по меньшей мере одного из следующего: эритроцитов, гранулоцитов или тромбоцитов из образца, содержащего кровь, костный мозг или клетки стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани, при этом устройство включает:

- а. жесткий контейнер, содержащий:
- i. наружный корпус;
 - ii. жесткую камеру в форме воронки, содержащую выходное отверстие, расположенное на узком конце указанной жесткой камеры, и входное отверстие, расположенное на широком конце указанной жесткой камеры;
 - iii. по меньшей мере два жестких отсека, исходно изолированные по текучей среде от указанной жесткой камеры;
 - iv. клапан, соединенный текучей средой с указанным выходным отверстием и расположенный между указанной жесткой камерой и указанными по меньшей мере двумя жесткими отсеками, при этом указанный клапан имеет первую конфигурацию, где соединение с возможностью переноса текучей среды не существует между указанной жесткой камерой и одним из жестких отсеков, вторую конфигурацию, где соединение с возможностью переноса текучей среды существует только между указанной жесткой камерой и указанным первым жестким отсеком, и третью конфигурацию, где соединение с возможностью переноса текучей среды существует только между указанной жесткой камерой и указанным вторым жестким отсеком; и
- б. блок управления.

63. Устройство по п.62, при этом каждый из указанных отсеков содержит входное отверстие в отсек, и где указанные входные отверстия в отсек расположены ближе к оси вращения, чем указанное выходное отверстие.

64. Устройство по п.62, дополнительно включающее оптический датчик.

65. Устройство по п.64, дополнительно включающее гравитационный датчик и батарею питания.

66. Устройство по п.64, где указанный оптический датчик расположен в указанном блоке управления.

67. Устройство по п.64, дополнительно включающее средство управления клапанами для определения, находится ли указанный клапан в указанной первой, второй или третьей конфигурации.

68. Устройство по п.67, где указанный оптический датчик функционально связан с указанным средством управления клапанами.

69. Устройство по п.62, дополнительно включающее центрифугу, выполненное с возможностью установки указанного жесткого картриджа и генерирования центробежной силы.

70. Устройство по п.62, дополнительно включающее первый и второй датчик, функционально соединенные с регулятором клапанов, при этом указанные датчики и регулятор клапанов выполнены с возможностью собирать заранее определенный конечный объем жидкости в указанный второй жесткий отсек.

71. Устройство по п.70, где указанный блок управления выполнен с возможностью измерять первое значение времени, прошедшего между измерением заданного показания указанным первым датчиком и указанным вторым датчиком, и приводить в действие указанный регулятор клапанов в рассчитанное время, на основании указанного первого значения затраченного времени, для сбора указанного предварительно определенного конечного объема жидкости в указанном втором жестком отсеке.

72. Устройство по п.70, содержащее третий датчик, и где указанный блок управления выполнен с возможностью:

- а. измерять первое значение времени, прошедшее между измерением заданного параметра указанным первым датчиком и указанным вторым датчиком;
- б. измерять второе значение времени, прошедшее между измерением заданного параметра указанным вторым датчиком и указанным третьим датчиком; и
- с. приводить в действие указанный регулятор клапанов в рассчитанное время,

основанное на указанном первом и втором значении времени, для сбора указанного предварительно определенного конечного объема жидкости в указанном втором жестком отсеке.

73. Устройство для отделения по существу чистого раствора по меньшей мере одного типа клеток из образца, содержащего биологическую жидкость, при этом устройство включает:

- a. блок управления, содержащий:
 - i. средство управления клапанами;
 - ii. гравитационный датчик;
 - iii. оптический датчик; и
 - iv. батарею питания;

a. жесткий картридж, съемно соединенный с указанным блоком управления, при этом указанный жесткий картридж содержит:

- i. жесткий наружный корпус;
- ii. жесткую камеру обычно в форме воронки, имеющую узкий конец, содержащий выходное отверстие и широкий конец, содержащий входное отверстие;
- iii. первый и второй жесткий отсек для хранения, исходно не находящийся в соединении текучей средой с указанным выходным отверстием;
- iv. первый клапан в соединении с указанным выходным отверстием и указанным первым жестким отсеком для хранения, где указанный первый клапан имеет закрытую конфигурацию и открытую конфигурацию; и
- v. второй клапан в соединении с указанным выходным отверстием и указанным вторым жестким отсеком для хранения, где указанный второй клапан имеет закрытую конфигурацию и открытую конфигурацию.

74. Устройство по п.73, где указанное средство управления клапанами содержит эксцентрик.

75. Устройство по п.73, где указанное соединение осуществляется через гибкую трубку.

76. Жесткий картридж для отделения, по существу, чистого раствора по меньшей мере одного типа клеток из образца, содержащего биологическую жидкость, при этом жесткий картридж содержит:

- a. жесткий наружный корпус;
- b. жесткую камеру обычно в форме воронки, имеющую узкий конец, содержащий выходное отверстие и широкий конец, содержащий входное отверстие;
- c. первый и второй жесткий отсек для хранения, исходно не находящийся в соединении текучей средой с указанным выходным отверстием;
- d. первый клапан в соединении с указанным выходным отверстием и указанным первым жестким отсеком для хранения, где указанный первый клапан имеет закрытую конфигурацию и открытую конфигурацию; и
- e. второй клапан в соединении с указанным выходным отверстием и указанным вторым жестким отсеком для хранения, где указанный второй клапан имеет закрытую конфигурацию и открытую конфигурацию.

77. Очищенный раствор плазмы, мононуклеарных клеток и тромбоцитов человека, выделенный из цельной крови, костного мозга или клеток стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани, где:

- a. указанный очищенный раствор содержит по меньшей мере 90% по числу мононуклеарных клеток в указанной цельной крови, костном мозге или клетках стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани;
- b. указанный очищенный раствор содержит не более 10% по числу эритроцитов и гранулоцитов в указанной цельной крови, костном мозге или клетках стромальной

сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани; и

с. указанный очищенный раствор выделен и отделен из указанной цельной крови, костного мозга или клеток стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани во время однократного цикла центрифуги.

78. Очищенный раствор по п.77, где указанный очищенный раствор содержит по меньшей мере 95% по числу моноклеарных клеток в указанной цельной крови, костном мозге или клетках стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани.

79. Очищенный раствор по п.77, где указанный очищенный раствор содержит не более 5% по числу эритроцитов в указанной цельной крови, костном мозге или клетках стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани.

80. Очищенный раствор по п.78, где указанный очищенный раствор содержит не более 5% по числу эритроцитов в указанной цельной крови, костном мозге или клетках стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани.

81. Очищенный раствор по п.77, где указанный очищенный раствор выделен и отделен с использованием одного одноразового картриджа.

82. Очищенный раствор по п.77, где указанный очищенный раствор содержит не более 10% по числу гранулоцитов в указанной цельной крови, костном мозге или клетках стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани.

83. Очищенный раствор моноклеарных клеток, содержащий по меньшей мере 90% моноклеарных клеток по массе, где:

а. указанный раствор очищен и выделен из образца цельной крови, костного мозга или клеток стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани;

б. указанный раствор очищен путем извлечения по меньшей мере 90% эритроцитов из указанного образца без использования среды с градиентом плотности или буфера; и

с. указанный раствор очищен в одном одноразовом жестком картридже.

84. Очищенный раствор по п.83, содержащий по меньшей мере 95% моноклеарных клеток по массе.

85. Очищенный раствор по п.83, где из указанного образца извлечено по меньшей мере 95% указанных эритроцитов.

86. Очищенный раствор плазмы, моноклеарных клеток и тромбоцитов человека, полученный путем:

а. извлечения по меньшей мере 90% эритроцитов из образца цельной крови, костного мозга или клеток стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани;

б. где указанное извлечение происходит в ускоренной системе отсчета, в одном одноразовом устройстве и без применения среды с градиентом плотности или буфера; и

с. где указанное извлечение физически отделяет указанный очищенный раствор от указанного образца цельной крови, костного мозга или клеток стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани.

87. Очищенный раствор плазмы, моноклеарных клеток и тромбоцитов человека по пункту 86, полученный путем извлечения по меньшей мере 95% эритроцитов из образца цельной крови, костного мозга или клеток стромальной сосудистой фракции, полученной из жировой ткани.

88. Очищенный раствор плазмы, моноклеарных клеток и тромбоцитов человека, полученный путем:

а. извлечения по меньшей мере 90% эритроцитов из образца цельной крови, костного мозга или клеток стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани;

б. где указанное извлечение происходит при более чем одном ускорении силы тяжести,

в одном одноразовом устройстве и без применения среды с градиентом плотности или буфера; и

с. где указанное извлечение физически отделяет указанный очищенный раствор от указанного образца цельной крови, костного мозга или клеток стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани.

89. Очищенный раствор плазмы, мононуклеарных клеток и тромбоцитов человека по пункту 88, полученный путем извлечения по меньшей мере 95% эритроцитов из образца цельной крови, костного мозга или клеток стромальной сосудистой фракции, выделенной из жировой ткани.

90. Очищенный раствор по п.77, где указанный очищенный раствор не содержит буферов или добавок.

91. Очищенный раствор по п.83, где указанный очищенный раствор не содержит буферов или добавок.

92. Очищенный раствор по п.86, где указанный очищенный раствор не содержит буферов или добавок.

93. Очищенный раствор по п.88, где указанный очищенный раствор не содержит буферов или добавок.

94. Способ по п.1, где не используются буферы или добавки.

95. Способ по п.22, где не используются буферы или добавки.

96. Способ по п.38, где не используются буферы или добавки.

97. Способ по п.52, где не используются буферы или добавки.

98. Способ по п.55, где не используются буферы или добавки.

99. Способ по п.58, где не используются буферы или добавки.

A
0
6
3
4
3
9
0
2
0
1
2
1
4
4
3
9
0
A
R
U

R
U
2
0
1
2
1
4
4
3
9
0
A