

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 865 108**

51 Int. Cl.:

G01N 15/14 (2006.01)

C12Q 1/02 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.12.2012** **PCT/US2012/069924**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.06.2013** **WO13096137**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.12.2012** **E 12859029 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.03.2021** **EP 2795290**

54 Título: **Método, sistema, medio de almacenamiento legible por ordenador y clasificador de células para mejorar el rendimiento de partículas clasificadas**

30 Prioridad:

20.12.2011 US 201161578105 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

15.10.2021

73 Titular/es:

BECTON DICKINSON AND COMPANY (100.0%)
One Becton Drive
Franklin Lakes, NJ 07417-1880, US

72 Inventor/es:

HARRISON, C. BRENT;
LISTER, ANDREW;
RIEKSTINS, VALDIS JANIS y
STOKDIJK, WILLEM

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 865 108 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método, sistema, medio de almacenamiento legible por ordenador y clasificador de células para mejorar el rendimiento de partículas clasificadas

Introducción

5 La presente invención se refiere a instrumentos de laboratorio como citómetros de flujo. Más específicamente, la presente invención se refiere a sistemas y métodos para mejorar el rendimiento de partículas clasificadas en un instrumento de laboratorio.

10 Los citómetros de flujo, por ejemplo, son valiosos instrumentos de laboratorio para el análisis y aislamiento de partículas biológicas, como células y moléculas constituyentes. Los citómetros de flujo utilizan una corriente de fluido para segregar de forma lineal las partículas de forma que puedan pasar, en una sola fila, a través de un aparato de detección que mide la dispersión de la luz y/o la fluorescencia. A continuación, las células individuales se pueden caracterizar de acuerdo con su dispersión y la presencia de marcadores detectables. Por tanto, se puede usar un citómetro de flujo para producir un perfil diagnóstico de una población de partículas biológicas.

15 Los sistemas clasificadores de citómetros de flujo comerciales actuales usan un mecanismo simple de umbral para definir un límite de análisis más bajo. En la práctica, los límites de umbral se establecen típicamente en base a uno de dos modos: 1) un modo de "alto rendimiento", que resta importancia a la pureza a cambio de clasificar un gran número de partículas diana; o 2) un modo de "alta pureza", que resta importancia al rendimiento a cambio de clasificar una muestra "más pura" de partículas diana.

20 En algunos casos, los sistemas disponibles en la actualidad pueden establecer un umbral en más de un parámetro, pero no definir (en un método consistente con la lógica de selección de ventana normal) poblaciones que se detectan (por encima de cualquier umbral o combinación de umbrales establecidos), pero ser ignorados de manera segura, o aceptados de otro modo, al tomar decisiones de clasificación. Como consecuencia, las partículas diana no se pueden clasificar (o intentar ser clasificadas) debido a su relativa coincidencia con otras partículas no diana, incluso aunque en algunos casos no hay desventaja funcional para la inclusión de tales partículas no diana. El resultado neto es una
25 reducción en el rendimiento de las partículas diana, en un citómetro que, por lo demás, funcione correctamente. Este efecto será particularmente significativo cuando se intentan clasificar poblaciones diana escasas, especialmente a tasas de clasificación más altas que se acercan a los límites prácticos normales de eficiencia para cualquier conjunto dado de condiciones de clasificación.

30 El resumen del documento US2008255705 (A1) establece: "Se describen métodos implementados por ordenador para clasificar partículas de un flujo de partículas en un citómetro de flujo. Los métodos incluyen: calcular los parámetros de toma de decisiones de clasificación usando los valores de datos de eventos sin procesar de un citómetro de flujo y una lógica de clasificación; realizar cálculos de lógica de clasificación usando la definición de la lógica de clasificación y los parámetros de toma de decisiones de clasificación para generar decisiones de clasificación; convertir las decisiones de clasificación en comandos de clasificación; y enviar uno o más comandos de clasificación al citómetro de flujo. Los cálculos de lógica de clasificación pueden incluir de forma algorítmica el uso de lógica de ramificación condicional, y pueden incluir ecuaciones de lógica de clasificación que tienen funciones matemáticas que caracterizan una o más regiones de interés en el espacio de datos multidimensionales. Tales funciones matemáticas se pueden determinar basándose en uno o más parámetros proporcionados por un usuario. También se describen los sistemas correspondientes que tiene un citómetro de flujo y un ordenador".

40 El resumen del documento US6281018 (B1) establece: "Un mecanismo de clasificación de citómetro de flujo es operativo para clasificar de manera controlable las gotitas de fluido generadas sucesivamente de acuerdo con el contenido de una pluralidad de regiones precursoras contiguas del fluido transportador que están contenidas dentro de una gotita diana de interés y regiones precursoras para gotitas en cualquier lado de la gota diana. Este esquema de ventana de clasificación de múltiples regiones es particularmente útil para reducir el tiempo requerido para
45 recolectar una cantidad altamente purificada de un tipo particular de célula, ya que no solo son gotas que contienen solo las células clasificadas deseadas en un depósito de recolección altamente purificado, si no que se detectaría una célula no deseada dentro de una proximidad predefinida de una célula deseada, en lugar de ser simplemente abortada, la gota se clasifica en un contenedor de enriquecimiento auxiliar, cuyo contenido puede luego ser recuperado para volver a clasificarlo. Dado que todas las gotas se clasifican en uno de una pluralidad de contenedores de recuperación de gotitas, sustancialmente no se pierden células detectadas/diana. Como resultado, a través de la recolección dual y
50 la reclasificación del contenido del contenedor de enriquecimiento, el tiempo total de recolección se puede reducir significativamente".

55 El resumen del documento US2011010144 (A1) establece: "Se describe un citómetro de flujo de autoajuste que usa un modelo matemático para tomar decisiones de clasificación que se basan en la respuesta biológica de los tipos particulares de células que se están clasificando. En una realización, se usan cálculos estadísticos de la probabilidad de un evento que pertenece a una determinada población para tomar las decisiones de clasificación. Los procesos de autoajuste automático se usan para optimizar los parámetros operativos del citómetro de flujo para lograr una pureza seleccionada con mayor rendimiento a velocidades de clasificación óptimas. Los procesos totalmente automatizados

minimizan la entrada del usuario y permite al usuario seleccionar la pureza deseada mientras se maximiza el rendimiento".

El resumen del documento US3710933 (A) establece: "Un aparato para analizar y clasificar de forma rápida y automática partículas diminutas en base a ciertas características preseleccionadas. Las partículas fluyen en suspensión a través de una cámara de flujo que tiene múltiples medios de detección para detectar las características físicas o químicas preseleccionadas de cada partícula y luego se inyectan entre electrodos de carga y placas de desviación. Las señales de los sensores para cada partícula se comparan con estándares preestablecidos, y las gotas que contienen partículas que tienen características que no cumplen con esos estándares son cargadas automáticamente por los electrodos de carga. Las placas de desviación proporcionan un campo eléctrico constante que desvía las gotas cargadas lejos de las gotas no cargadas, clasificando así las partículas en base a su conformidad o no conformidad con los estándares establecidos para las características preseleccionadas. Este aparato es particularmente aplicable a la clasificación rápida y automática de células biológicas".

Resumen

En la presente memoria se proporciona un método de clasificación de partículas dentro de una muestra de acuerdo con las reivindicaciones 1-9. Un sistema para clasificar partículas dentro de una muestra de acuerdo con las reivindicaciones 10-11; Un medio de almacenamiento legible por ordenador de acuerdo con la reivindicación 12; y un clasificador de células para clasificar partículas dentro de una muestra de acuerdo con la reivindicación 13. La descripción proporciona una población o clase de región de clasificación especial definible por el usuario que se acepta explícitamente, o se ignora de otro modo, al tomar decisiones de clasificación en citometría de flujo. Esta nueva clase puede verse como una "ventana de aceptación de coincidencia", "una población de desinterés", "región de indiferencia" o "ventana de clasificación nula". Esta población definible por el usuario puede consistir en una o más regiones definidas en un histograma de datos. En el caso de que se use más de una región para definir diferentes subpoblaciones, se combinarán mediante una combinación de operadores lógicos Y/O u otros operadores booleanos. En algunos casos, al usuario se le permite definir población(es) de partículas no diana que son detectadas por el citómetro de flujo, pero que no sería perjudicial para el resultado experimental si se incluyera en una población clasificada de partículas diana deseadas. Las poblaciones de ejemplo de coincidencia aceptable pueden incluir restos subcelulares o partículas de referencia (p. ej., perlas marcadoras) añadidas a una preparación biológica.

Breve descripción de las figuras

Los dibujos adjuntos, que se incorporan en esta memoria, forman parte de la especificación. Junto con esta descripción escrita, los dibujos sirven además para explicar los principios de y para permitir que un experto en la(s) técnica(s) fabrique y use sistemas y métodos de acuerdo con la presente invención.

La FIG. 1 muestra un ejemplo de un gráfico de puntos FL1 (CD3) sin ventana frente a FL2 (CD4), que muestra las regiones de recuento de perlas y de perlas de control.

La FIG. 2 ilustra el umbral mediante la simulación de un aumento en el umbral en el parámetro FL1.

La FIG. 3 muestra un diagrama de la arquitectura disponible actualmente.

La FIG. 4 muestra un diagrama de una arquitectura, de acuerdo con una realización presentada.

Descripción detallada

La descripción proporciona una población especial definible por el usuario o una clase de región de clasificación que se acepta explícitamente, o se ignora de otro modo, al tomar decisiones de clasificación en citometría de flujo. Esta nueva clase se puede ver como una "ventana de aceptación de coincidencia", "una población de desinterés", "región de indiferencia" o "ventana de clasificación nula". Esta población definible por el usuario puede constar de una o más regiones definidas en un histograma de datos. En el caso de que se use más de una región para definir diferentes subpoblaciones, se combinarán mediante una combinación de operadores lógicos Y/O u otros operadores booleanos. En algunos casos, al usuario se le permite definir población(es) de partículas no diana que son detectadas por el citómetro de flujo, pero que no sería perjudicial para el resultado experimental si se incluyera en una población clasificada de partículas diana deseadas. Las poblaciones de ejemplo de coincidencia aceptable pueden incluir restos subcelulares o partículas de referencia (p. ej., perlas marcadoras) añadidas a una preparación biológica.

La FIG. 1 muestra un ejemplo de un gráfico de puntos FL1 (CD3) sin ventana frente a FL2 (CD4), que muestra las regiones de recuento de perlas y perlas de control. En la FIG. 1, se ha "enriquecido" una muestra biológica con dos tipos de perlas de referencia, que caen en distintas regiones R1 y R2 y no afectan a la población celular. En un escenario de clasificación típico, se podría desear clasificar la población 100 y la población 200 con alta pureza (es decir, con una ventana/modo de alta pureza), separando cada una de ellas de los otros componentes celulares. Con la metodología de clasificación actual, al clasificar por pureza (en lugar de por rendimiento, donde se debe clasificar cada ocurrencia de un evento diana), si es probable que una partícula diana esté contenida en una gota con otro evento de una categoría diferente, entonces no se clasificará la gota. Dependiendo de la configuración precisa del modo de clasificación, esto puede ocurrir incluso si el "evento contaminante" está en una gota adyacente a la que se

espera que contenga la partícula diana. El resultado es una pérdida de rendimiento de las partículas diana clasificadas, sin ninguna razón válida.

En el ejemplo mostrado en la FIG. 1, las perlas en R1 y R2 no tendrían ninguna consecuencia práctica en el procesamiento corriente abajo (es decir, posterior a la clasificación) y, por lo tanto, se podría permitir que se clasifiquen junto con las partículas diana. Como tal, la presente invención proporciona un medio para que un usuario defina una población de partículas (p. ej., R1 y/o R2) de coincidencia aceptable. La "ventana de aceptación de coincidencia" presentada es, por tanto, un intermediario entre una "ventana de rendimiento" y una "ventana de pureza", y permite la coincidencia de partículas no diana que no tiene consecuencia (o es limitada) cuando se incluyen con partículas diana clasificadas.

La tecnología actual permite la creación de umbrales, aunque normalmente se implementa sobre un parámetro de dispersión. La FIG. 2 ilustra el umbral mediante la simulación de un aumento del umbral en el parámetro FL1. El efecto no es solo eliminar los eventos de la pantalla en particular, haciéndolos invisibles para el operador, sino que también son completamente invisibles para el instrumento y, por lo tanto, se ignoran en cualquier decisión de clasificación. Los sistemas y métodos presentados amplían y desarrollan esta idea, pero sin ocultar los eventos, y con mucha mayor flexibilidad para definir estos eventos permisibles. Los sistemas y métodos presentados permiten al usuario definir una población (o una serie de poblaciones) que se puede ignorar de forma segura en el procesamiento lógico de clasificación, mejorando así los rendimientos generales de clasificación de las partículas diana importantes.

En realizaciones alternativas, se puede establecer una ventana de coincidencia de aceptación en múltiples regiones definidas en diferentes parámetros. Por ejemplo, en una realización, se implementa el firmware para permitir que las regiones de aceptación se combinen mediante una única ventana lógica O o una única ventana Y. En otra realización, los eventos de coincidencia aceptables caen en dos o más categorías que están definidas cada una por una combinación de ventanas. Por ejemplo, si S1 y S2 son dos regiones 2-D diferentes definidas en términos de FSC y SSC, y F1 y F2 son dos regiones 2-D más definidas en términos de parámetros de fluorescencia, entonces la lógica puede establecerse como Ignorar = (S1 Y F1) O (S2 Y F2). Por supuesto, esto no pretende ser una restricción sobre solo una dispersión y una ventana de fluorescencia.

La FIG. 3 muestra un diagrama de la arquitectura disponible actualmente. El bloque de controlador de clasificación analiza la clasificación de eventos (es decir, en qué dirección se debe clasificar el evento), así como el estado actual del contador (es decir, si la dirección de clasificación deseada todavía está clasificando activamente) antes de colocar un evento en el canal de clasificación para buscar partículas contaminantes. Cuando un evento sale del canal, los valores de datos para ese evento se envían a un ordenador, y los componentes electrónicos de control de flujo de clasificación reciben valores para cargar el flujo y clasificar una gota si ese evento está libre de contaminantes cercanos. Una "solución alternativa" que se puede emplear con los sistemas actuales es elevar el umbral del sistema en la medida en que se reduzca el número de eventos "irrelevantes". Sin embargo, este abordaje de solución alternativa hace que los eventos sean completamente invisibles para el análisis, lo que puede no ser deseable. Además, este enfoque de solución alternativa no es factible si la población de coincidencia aceptable es más fluorescente (o tiene una señal de dispersión más alta) que la población diana. Otro método empleado en los sistemas actuales es usar un modo de rendimiento de decisión de clasificación, en el que se clasifica cualquier caso de una población de partículas diana deseada, independientemente del tipo de evento contaminante. Sin embargo, en una realización presentada en esta memoria, se proporciona un medio para modificar la lógica de clasificación, en el contexto de la clasificación por citometría de flujo, para permitir la aceptación deliberada de un conjunto (o conjuntos) de eventos especificados por el usuario del proceso de toma de decisiones.

La FIG. 4 muestra un diagrama de una arquitectura, de acuerdo con una realización presentada. El controlador de clasificación tiene un nuevo valor de entrada que indica cuándo el canal de clasificación puede aceptar un evento. Por ejemplo, y con referencia a la FIG. 1, se puede proporcionar una lógica de exclusión de eventos en forma de una interfaz de usuario para que el usuario defina las poblaciones R1 y/o R2 que se deberían aceptar durante un análisis de clasificación posterior. Si el evento se indica como un evento de coincidencia aceptable, y ese evento no muestra otro tipo de clasificación, el evento no se coloca en el canal para su consideración como una partícula contaminante.

En una realización, al usuario se le permite dibujar una o más ventanas (p. ej., ventanas Y o ventanas O) y denominar a las poblaciones que tienen una coincidencia aceptable en la lógica de clasificación. Por ejemplo, se puede proporcionar una interfaz de usuario para que el usuario identifique poblaciones (p. ej., R1 y R2) para que sean aceptables. Si la lógica de clasificación ve un evento con solo este bit de clasificación establecido, la lógica de clasificación ignorará por completo el evento en el canal de clasificación. Dado que el evento no entra en el canal, la lógica de clasificación para eventos cercanos puede permitir la clasificación con la nueva arquitectura, aumentando así el rendimiento de los eventos deseados (es decir, partículas diana), sin sacrificar la pureza con respecto a las partículas verdaderamente contaminantes.

Por ejemplo, en una implementación en donde un usuario desea clasificar células madre, el usuario puede definir regiones específicas de coincidencia aceptable (p. ej., perlas marcadoras que no afectarían a la pureza), mientras se asegura que las poblaciones inaceptables (p. ej., células cancerígenas que afectan la pureza) se mantienen fuera de la clasificación. Las ventanas de aceptación de coincidencia se pueden definir de varias formas. Por ejemplo, las ventanas de aceptación de coincidencia se pueden definir como: 1) A y permitir B, en donde A es la población diana

y B es una población no diana aceptable; o 2) A y NO C, en donde A es la población diana y B es una población no diana no aceptable. En resumen, un usuario tiene la oportunidad de tomar dos decisiones: 1) identificación de la población de partículas diana que se va a clasificar; y 2) identificación de una coincidencia aceptable de partículas no diana.

5 En una realización, se proporciona un sistema para clasificar partículas dentro de una muestra de acuerdo con las reivindicaciones 10 y 11. En una realización, la ventana de aceptación de coincidencia identifica perlas marcadoras inertes dentro de la muestra. La ventana de aceptación de coincidencia se puede definir por: (1) un área bidimensional en el gráfico de parámetros; (2) definida por dos parámetros en el gráfico de parámetros; (3) un área aparte de una línea de base en el gráfico de parámetros; (4) un área aparte de un umbral en el gráfico de parámetros; y/o cualquier combinación o equivalente de estos. La ventana de aceptación de coincidencia también se puede definir usando software de ordenador, o una combinación de software y firmware de ordenador (p. ej., usando un sistema de ventanas programables en campo).

10 En otra realización, se proporciona un medio de almacenamiento legible por ordenador, de acuerdo con la reivindicación 12. En una realización, la ventana de aceptación de coincidencia identifica perlas marcadoras inertes dentro de la muestra. La ventana de aceptación de coincidencia se puede definir por: (1) un área bidimensional en el gráfico de parámetros; (2) definida por dos parámetros en el gráfico de parámetros; (3) un área aparte de una línea de base en el diagrama de parámetros; (4) un área aparte de un umbral en el gráfico de parámetros; y/o cualquier combinación o equivalente de estos. En una realización, se proporciona un clasificador de células que comprende dicho medio de almacenamiento legible por ordenador.

20 En otra realización más, se proporciona un método para clasificar partículas dentro de una muestra, con el uso de un citómetro de flujo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9. En una realización, la ventana de aceptación de coincidencia identifica perlas marcadoras inertes dentro de la muestra. La ventana de aceptación de coincidencia se puede definir por: (1) un área bidimensional en el gráfico de parámetros; (2) definida por dos parámetros en el gráfico de parámetros; (3) un área aparte de una línea de base en el diagrama de parámetros; (4) un área aparte de un umbral en el gráfico de parámetros; y/o cualquier combinación o equivalente de estos. En una realización, se proporciona un clasificador de células que comprende dicho medio de almacenamiento legible por ordenador.

25 La descripción anterior de la invención se ha presentado con fines ilustrativos y descriptivos. No pretende ser exhaustiva ni limitar la invención a la forma precisa descrita. Pueden ser posibles otras modificaciones y variaciones a la luz de las enseñanzas anteriores. Las realizaciones se eligieron y describieron con el fin de explicar mejor los principios de la invención y su aplicación práctica, y de ese modo permitir que otros expertos en la técnica utilicen mejor la invención en diversas realizaciones y diversas modificaciones que se adapten al uso particular contemplado.

30 A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en esta memoria tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en esta memoria también se puede usar en la práctica o ensayo de la presente invención, ahora se describen métodos y materiales ilustrativos representativos.

35 Se observa que, como se usa en esta memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen los referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Cabe señalar además que las reivindicaciones se pueden redactar para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta declaración está destinada a servir como base antecedente para el uso de dicha terminología exclusiva como "únicamente", "solo" y similares en relación con la lectura de elementos de reivindicación o el uso de una limitación "negativa".

40 Se aprecia que ciertas características de la invención, que, para mayor claridad, se describen en el contexto de realizaciones separadas, también se pueden proporcionar en combinación en una única realización. A la inversa, varias características de la invención, que, por brevedad, se describen en el contexto de una única realización, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier sub-combinación adecuada. Todas las combinaciones de las realizaciones están abarcadas específicamente por la presente invención y se describen en esta memoria como si todas y cada una de las combinaciones se describieran individual y explícitamente, en la medida en que dichas combinaciones abarcan procesos y/o dispositivos/sistemas/kits operables. Además, todas las sub-combinaciones enumeradas en las realizaciones que describen dichas variables también están incluidas específicamente en la presente invención y se describen en esta memoria como si todas y cada una de tales sub-combinaciones de grupos químicos se revelaran individual y explícitamente en esta memoria.

REIVINDICACIONES

1. Un método para clasificar partículas dentro de una muestra, con el uso de un citómetro de flujo, comprendiendo el método:
 - (a) analizar una muestra que tiene una pluralidad de poblaciones de partículas con un citómetro de flujo;
 - 5 (b) obtener un gráfico de parámetros a partir del análisis de citometría de flujo de la etapa (a);
 - (c) definir una ventana de aceptación de coincidencia en el gráfico de parámetros de la etapa (b), en donde la ventana de aceptación de coincidencia identifica una población de partículas no diana que se puede aceptar con una partícula diana en un análisis de clasificación posterior, si la partícula no diana no está asignada a otro tipo de clasificación; y
 - 10 (d) procesar la muestra a través del análisis de clasificación, estando el análisis de clasificación de acuerdo con los parámetros de selección de ventana de clasificación y al menos un valor además de los parámetros de selección de ventana de clasificación, representando el al menos un valor la ventana de aceptación de coincidencia.
2. El método de la reivindicación 1, en donde la ventana de aceptación de coincidencia identifica perlas marcadoras inertes dentro de la muestra.
- 15 3. El método de la reivindicación 1, en donde la ventana de aceptación de coincidencia está definida por un área bidimensional en el gráfico de parámetros.
4. El método de la reivindicación 1, en donde la ventana de aceptación de coincidencia se define mediante dos parámetros en el gráfico de parámetros.
5. El método de la reivindicación 1, en donde la ventana de aceptación de coincidencia se define como un área aparte de una línea de base en el gráfico de parámetros.
- 20 6. El método de la reivindicación 1, en donde la ventana de aceptación de coincidencia se define como un área aparte de un umbral en el gráfico de parámetros.
7. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la ventana de aceptación de coincidencia se define usando software de ordenador.
- 25 8. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la ventana de aceptación de coincidencia se define usando una combinación de software y firmware de ordenador.
9. El método de la reivindicación 1, en donde la ventana de aceptación de coincidencia se define usando una combinación de ventanas programable en campo.
10. Un sistema para clasificar partículas dentro de una muestra, el sistema comprende:
 - 30 un citómetro de flujo para analizar una muestra que tiene una pluralidad de poblaciones de partículas, en donde el citómetro de flujo proporciona un gráfico de parámetros basado en el análisis de la muestra;
 - caracterizado por,
 - una interfaz de usuario, adecuada para la definición de una ventana de aceptación de coincidencia en el gráfico de parámetros y en donde la ventana de aceptación de coincidencia identifica una población de partículas no diana en la muestra que se puede aceptar con una partícula diana en un análisis de clasificación posterior y está representada por al menos un valor además de los parámetros de selección de ventanas de clasificación para permitir clasificar una partícula no diana junto con una partícula diana, si la partícula no diana no está asignada a otro tipo de clasificación; y
 - 35 un sistema de análisis de clasificación para clasificar partículas dentro de la muestra de acuerdo con los parámetros de selección de ventanas de clasificación y el al menos un valor que representa la ventana de aceptación de coincidencia.
- 40 11. El sistema de la reivindicación 10, en donde la ventana de aceptación de coincidencia es como se describe en cualquiera de las reivindicaciones 2-9.
12. Un medio de almacenamiento legible por ordenador, que comprende:
 - 45 instrucciones ejecutables por al menos un dispositivo de procesamiento que, cuando se ejecuta, hace que el dispositivo de procesamiento
 - (a) analice una muestra que tiene una pluralidad de poblaciones de partículas;

(b) proporcione un gráfico de parámetros del análisis de la etapa (a);

caracterizado por que las instrucciones ejecutables por el al menos un dispositivo de procesamiento hacen que el dispositivo de procesamiento

5 (c) proporcione una interfaz de usuario en donde un usuario pueda definir una ventana de aceptación de coincidencia en el gráfico de parámetros de la etapa (b), y en donde la ventana de aceptación de coincidencia identifica una población de partículas no diana en la muestra que se puede aceptar con un partícula diana en un análisis de clasificación posterior y está representada por al menos un valor además de los parámetros de selección de ventanas de clasificación para permitir clasificar una partícula no diana junto con una partícula diana, si la partícula no diana no está asignada a otro tipo de clasificación; y

10 (d) procese la muestra a través de un análisis de clasificación de acuerdo con los parámetros de selección de ventanas de clasificación mientras se aceptan partículas no diana definidas por la ventana de aceptación de coincidencia, si las partículas no diana no se asignan a otra clasificación.

13. Un clasificador de células para clasificar partículas dentro de una muestra que comprende:

el medio de almacenamiento legible por ordenador de la reivindicación 12;

15 el sistema para clasificar partículas dentro de una muestra de acuerdo con la reivindicación 10.

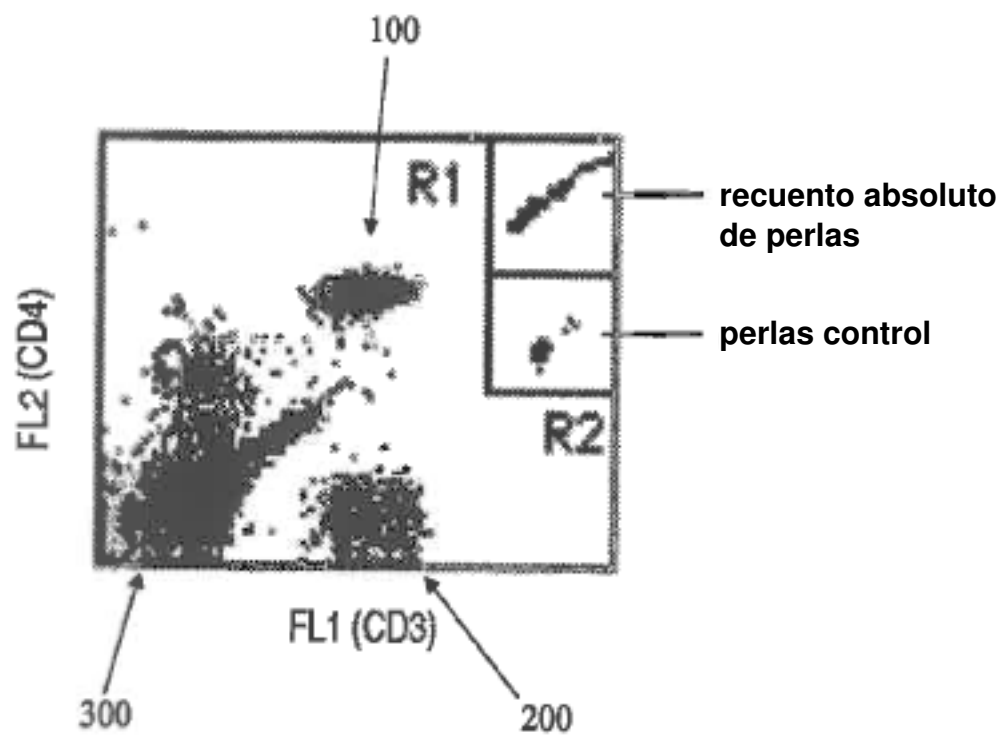


FIG. 1

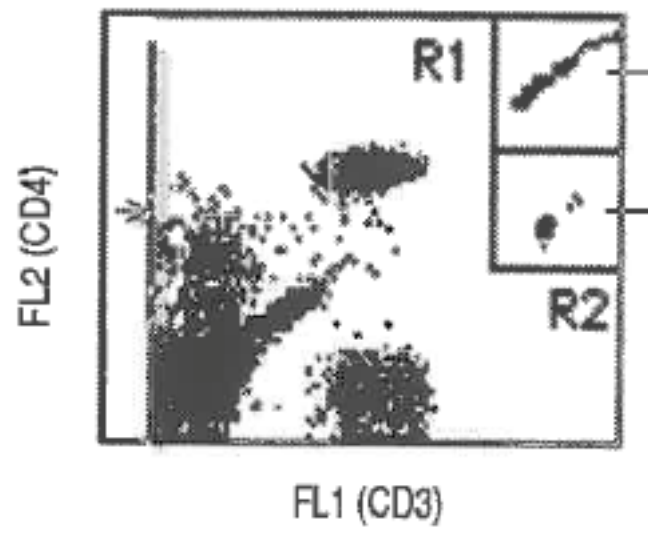


FIG. 2

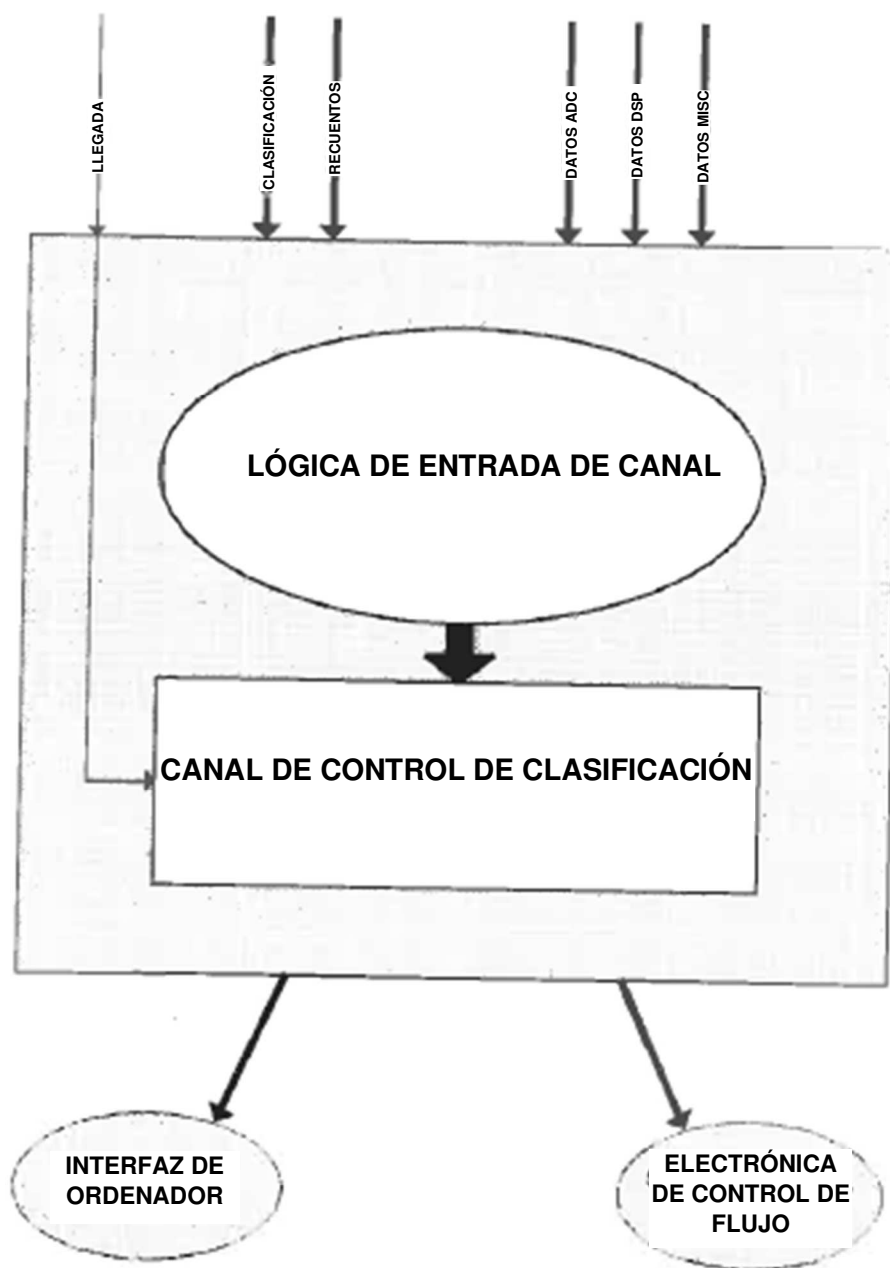


FIG. 3

TÉCNICA ANTERIOR

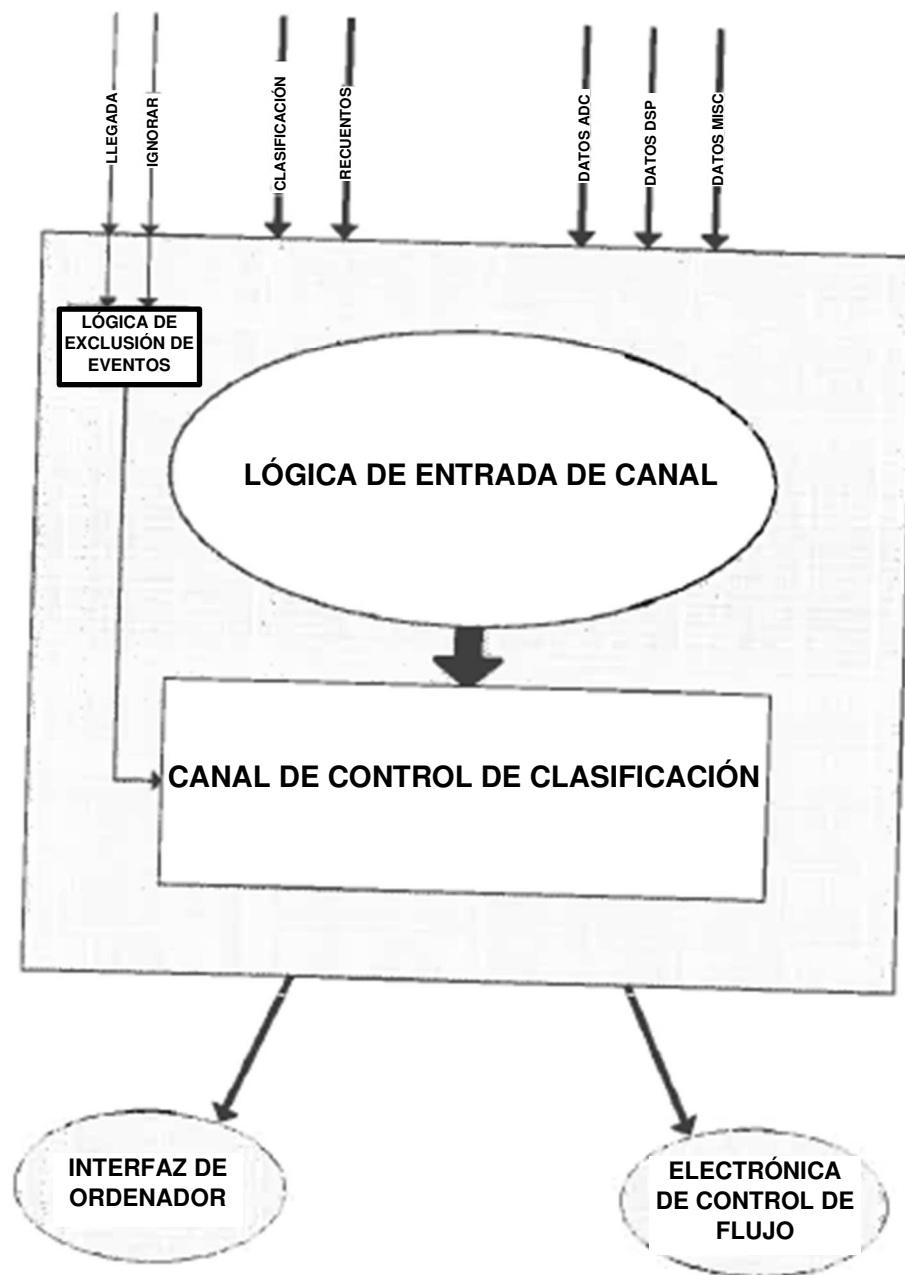


FIG. 4