



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117642619 A

(43) 申请公布日 2024. 03. 01

(21) 申请号 202280048373.9

(22) 申请日 2022.04.19

(30) 优先权数据

63/188,617 2021.05.14 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.01.08

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/025309 2022.04.19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/240552 EN 2022.11.17

(71) 申请人 贝克顿·迪金森公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 杰弗里·奥斯本

伊霍尔·V·贝列日尼

(74) 专利代理机构 北京弘权知识产权代理有限公司 11363

专利代理师 王建国 李琳

(51) Int.Cl.

G01N 15/1429 (2024.01)

G01N 15/1433 (2024.01)

G01N 15/1434 (2024.01)

G01N 21/31 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

G01N 21/53 (2006.01)

G01N 21/27 (2006.01)

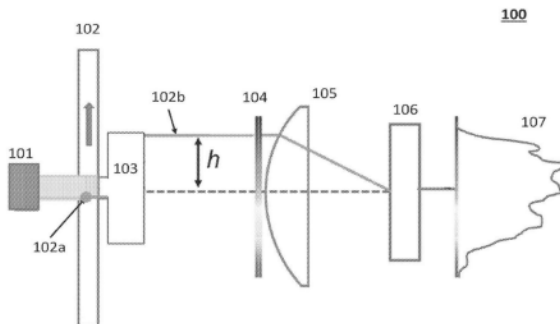
权利要求书2页 说明书35页 附图8页

(54) 发明名称

采用光谱鉴别法检测光的系统及其使用方法

(57) 摘要

本公开的各个方面包括采用光谱鉴别法从流动流的粒子中检测光的系统。根据某些实施例的系统包括一个光源,可对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照;一个光检测系统,包括一个波长分离器组件,可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器;一个光调节组件,可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时,跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光;以及一个光电检测器,可检测跨越波长分离器传送的光。系统还包括一个处理器,用于对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器信号脉冲。本发明还描述了通过所述主题系统进行光检测的方法。本发明还提供了根据所述主题方法的具有一个或多个光检测组件的套件。



1. 一种粒子分析仪, 包括:
 - 一个光源, 可对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照;
 - 一个光检测系统, 包括:
 - 一个波长分离器组件, 可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器;
 - 一个光调节组件, 可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时, 跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光;
 - 一个光电检测器, 可检测跨越波长分离器传送的光; 以及
 - 一个处理器, 包括一个与处理器可操作耦合的存储器, 其中, 所述存储器包括存储在存储器上的指令, 当处理器执行这些指令时, 这些指令可对从波长分离器中检测到的光进行响应, 使处理器产生光电检测器信号脉冲。
2. 根据权利要求1所述的粒子分析仪, 其中, 所述光调节组件包括一个双重远心透镜。
3. 根据权利要求1-2中任一项所述的粒子分析仪, 其中, 所述光源可跨越1mm或以上的探询区域连续辐照沿着流动流传播的粒子。
4. 根据权利要求1-3中任一项所述的粒子分析仪, 其中, 所述波长分离器组件可使具有波长范围为360nm-960nm的光通过波长分离器。
5. 根据权利要求1-4中任一项所述的粒子分析仪, 其中, 所述波长分离器组件包括一个或多个线性可变带通滤波器。
6. 根据权利要求1-5中任一项所述的粒子分析仪, 其中, 所述从沿着流动流传播的辐照粒子中检测到的光是荧光和通过探询区域的散射光中的一种或多种。
7. 根据权利要求1-6中任一项所述的粒子分析仪, 其中, 所述存储器包括存储在存储器上的指令, 当处理器执行这些指令时, 这些指令可使处理器根据光电检测器信号脉冲绘制检测到的光的波长谱图。
8. 一种方法, 包括:
 - 采用光源, 对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照;
 - 采用光检测系统检测流动流中来自粒子的光, 所述光检测系统包括:
 - 一个波长分离器组件, 可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器;
 - 一个光调节组件, 可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时, 跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光; 以及
 - 一个光电检测器, 可检测跨越波长分离器传送的光; 以及
 - 对从波长分离器中检测到的光进行响应, 产生光电检测器信号脉冲。
9. 根据权利要求8所述的方法, 其中, 所述光调节组件包括一个双重远心透镜。
10. 根据权利要求8所述的方法, 其中, 所述方法包括跨越1mm或更远的探询区域连续辐照沿着流动流传播的粒子。
11. 根据权利要求8-10中任一项所述的方法, 其中, 所述波长分离器组件可使具有波长范围为360nm-960nm的光通过波长分离器。
12. 根据权利要求11所述的方法, 其中, 所述波长分离器组件包括一个或多个线性可变带通滤波器。
13. 根据权利要求8-12中任一项所述的方法, 其中, 所述方法包括检测来自沿着流动流通过探询区域传播的辐照粒子的荧光和散射光中的一种或多种。

14. 根据权利要求8-13中任一项所述的方法, 其中, 所述方法进一步包括根据光电检测器信号脉冲绘制检测到的光的波长谱图。

15. 一种套件, 包括:

一个双重远心透镜;

一个波长分离器, 可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器; 以及

一个光电检测器。

采用光谱鉴别法检测光的系统及其使用方法

[0001] 相关专利申请的交叉引用

[0002] 根据《美国专利法》第35篇第119(e)条,本申请要求2021年5月14日提交的第63/188,617号美国临时专利申请的申请日优先权;所述第63/188,617号美国临时专利申请的公开通过本发明的整体引用,成为本发明的一部分。

背景技术

[0003] 在利用样品诊断疾病或身体状况时,通常采用光检测来表征样品(例如生物样品)的组分。样品在受到照射时可以散射、透射和(例如通过荧光)发射光。样品组分的变化,例如形态、吸光率和荧光标签的存在,都可能使样品散射、透射或发射的光发生变化。这些变化可用于表征和识别样品中存在的组分。将光收集并引导到检测器的表面,可以对这些变化进行量化。到达检测器的光量会影响检测器所输出的光信号的整体质量。通过增大检测器的表面积或增加样品光线的收集,即可提高到达检测器的光量。

[0004] 流式细胞术是一种利用光检测来表征样品中组分的技术。使用从被测光中获得的数据,可以记录组分的分布,分选出所需的物质。流式细胞仪通常包括一个用于容纳流体样品(例如血样)的样品储存器和一个包含鞘液的鞘储存器。流式细胞仪将流体样品中的粒子(包括细胞)作为细胞流输送到流动室,同时将鞘液引导到流动室。流动室内细胞流周围形成液体鞘,使细胞流具有基本均匀的流速。流动室在流体力学上将流内的细胞聚集起来,使其流经流动室中光源的中心。对于来自光源的光,可以以散射的形式或利用透射光谱术进行检测,或者由样品中的一个或多个组分吸收并以发光的形式再发射出去。

发明内容

[0005] 本公开的各个方面包括采用光谱鉴别法从流动流的粒子中检测光的系统。根据某些实施例的系统包括一个光源,可对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照;一个光检测系统,包括一个波长分离器组件,可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器;一个光调节组件,可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时,跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光;以及一个光电检测器,可检测跨越波长分离器传送的光。

[0006] 在某些实施例中,所述可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时连续传送来自粒子的光的光调节组件包括一个双重远心透镜。在某些实例中,所述光调节组件可将准直和垂直入射光从辐照粒子传送到波长分离器。在某些实施例中,所述光源跨越 $1\mu\text{m}$ 或以上(例如 $10\mu\text{m}$ 或以上)的流动流探询区域(例如跨越 1mm 或以上的探询区域)连续辐照沿着流动流传播的粒子。在某些实例中,所述传播粒子受到辐照时所在的流动流探询区域的范围为 0.001mm - 10mm 。在某些实例中,从沿着流动流传播的粒子中收集到的光是荧光。在某些实例中,从沿着流动流传播的粒子中收集到的光是散射光。

[0007] 在某些实施例中,所述波长分离器可使具有不同光谱范围(例如光谱范围 1nm - 25nm)的光通过。在某些实例中,所述波长分离器可使具有光谱范围 10nm 的光通过。在某些实例中,所述波长分离器使具有波长范围 200nm - 1200nm (例如 360nm - 960nm)的光通过。在某

些实施例中,所述波长分离器包括一个线性可变光学滤波器。在某些实施例中,所述波长分离器包括一个或多个线性可变带通滤波器。例如,所述波长分离器可包括一个长通线性可变带通滤波器、一个短通线性可变带通滤波器或长通线性可变带通滤波器和短通线性可变带通滤波器的组合。在其他实施例中,所述波长分离器包括一个或多个线性可变边缘滤波器。例如,所述波长分离器可包括一个长通线性可变边缘滤波器、一个短通线性可变边缘滤波器或长通线性可变边缘滤波器和短通线性可变边缘滤波器的组合。

[0008] 在实施例中,系统进一步包括一个处理器,所述处理器可对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器信号脉冲。在某些实施例中,系统包括一个与处理器可操作耦合的存储器,其中,所述存储器包括存储在存储器上的指令,当处理器执行这些指令时,这些指令可使处理器采用光源对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照,其中光调节组件可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时,跨越波长分离器组件连续传送来自粒子的光,并对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器信号。在某些实施例中,从光电检测器信号中产生光电检测器信号脉冲。在某些实施例中,所述光电检测器信号脉冲包括跨越预定光谱范围收集到的数据信号。在某些实施例中,所述光电检测器信号脉冲包括跨越具有波长范围200nm-1200nm(例如360nm-960nm)的光谱收集到的数据信号。在某些实施例中,每个光电检测器数据信号具有独特的形状或图样。在某些实施例中,每个光电检测器信号脉冲具有可识别的形状或图样,例如,可采用光电检测器信号脉冲来识别粒子组分(如荧光团)或粒子参数(如粒子形状、尺寸)。在某些实施例中,所述存储器包括存储在存储器上的指令,当处理器执行这些指令时,这些指令可使处理器根据光电检测器信号脉冲识别流动流中的粒子。在某些实施例中,所述存储器包括用于根据光电检测器信号脉冲产生粒子分选决策的指令。在其他实施例中,系统包括一台用于根据光电检测器信号脉冲对粒子进行分选的粒子分选机。在某些实施例中,所述系统是流式细胞仪或流式细胞仪的一部分。在某些实施例中,所述粒子分析仪可在没有光谱处理模块的情况下产生来自辐照粒子的光的光谱。

[0009] 本公开的各个方面还包括采用光谱鉴别法从流动流的粒子中检测光的方法。根据某些实施例的方法包括采用光源对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照;采用光检测系统,从流动流的粒子中检测光,所述光检测系统具有一个波长分离器组件、一个光调节组件和一个光电检测器,其中,所述波长分离器组件可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器,所述光调节组件可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时,跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光,所述光电检测器可检测到跨越波长分离器传送的光;以及对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器信号脉冲。

[0010] 在某些实施例中,方法包括检测来自粒子的荧光。在其他实施例中,方法包括检测来自粒子的散射光。在其他实施例中,方法包括检测来自粒子的荧光和散射光。在某些实施例中,来自粒子的光通过双重远心透镜跨越波长分离器连续传送。在某些实施例中,所述双重远心透镜将准直和垂直入射光从辐照粒子传送到波长分离器。在某些实施例中,方法包括跨越1 μ m或以上(例如10 μ m或以上)的流动流探询区域(例如跨越1mm或以上的探询区域)连续辐照沿着流动流传播的粒子。在某些实施例中,所述传播粒子受到辐照时所在的流动流探询区域的范围为0.001mm-10mm。

[0011] 在某些实施例中,方法包括检测来自波长分离器的光,所述波长分离器可使具有

不同光谱范围(例如光谱范围1nm-25nm)的光通过。在某些实例中,所述波长分离器可使具有光谱范围10nm的光通过。在某些实例中,所述波长分离器使具有预定波长范围的光通过。在某些实例中,所述波长分离器使具有波长范围200nm-1200nm(例如360nm-960nm)的光通过。在某些实例中,所述波长分离器包括一个线性可变光学滤波器。在某些实例中,所述波长分离器包括一个或多个线性可变带通滤波器。例如,所述波长分离器可包括一个长通线性可变带通滤波器、一个短通线性可变带通滤波器或长通线性可变带通滤波器和短通线性可变带通滤波器的组合。在其他实例中,所述波长分离器包括一个或多个线性可变边缘滤波器。例如,所述波长分离器可包括一个长通线性可变边缘滤波器、一个短通线性可变边缘滤波器或长通线性可变边缘滤波器和短通线性可变边缘滤波器的组合。

[0012] 在某些实例中,对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器信号脉冲。在某些实例中,方法包括对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照,其中所述光调节原件可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时,跨越波长分离器组件连续传送来自粒子的光,并对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器信号。在某些实例中,从光电检测器信号中产生光电检测器信号脉冲。在某些实例中,从跨越预定光谱范围收集到的数据信号中产生光电检测器信号脉冲。在某些实例中,从跨越具有波长范围200nm-1200nm(例如360nm-960nm)的光谱收集到的数据信号中产生光电检测器信号脉冲。

[0013] 在某些实例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲的图样或形状来表征粒子。例如,可根据光电检测器信号脉冲确定粒子的一个或多个参数。在某些实例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲的图样或形状来识别粒子。在某些实例中,根据识别出的粒子生成用于粒子分选的分选决策。在某些实例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲进行粒子分选。

附图说明

[0014] 根据以下具体实施方式并结合附图阅读可以获得本发明的最佳理解。附图如下:

[0015] 图1显示了根据某些实施例所述的采用光谱鉴别法从流动流的粒子中检测光的光检测系统。

[0016] 图2显示了根据某些实施例所述的从沿着流动流通过探询区域传播的粒子中检测光。图2A显示了说明性光束,当粒子位于流动流中的第一位置时,所述光束从辐照粒子发散出来。图2B显示了说明性光束,当粒子位于流动流中的第二位置时,所述光束从辐照粒子发散出来。

[0017] 图3显示了根据某些实施例所述的从沿着流动流通过探询区域传播的辐照粒子传送的连续光束的图示。

[0018] 图4A显示了根据某些实施例所述的粒子分析系统的功能框图。图4B显示了根据某些实施例所述的流式细胞仪。图4C显示了根据某些实施例所述的具有多个光检测模块的流式细胞仪系统。

[0019] 图5显示了根据某些实施例所述的粒子分析仪控制系统的一个示例的功能框图。

[0020] 图6A显示了根据某些实施例所述的粒子分选机系统的示意图。

[0021] 图6B显示了根据某些实施例所述的粒子分选机系统的示意图。

[0022] 图7显示了根据某些实施例所述的计算系统的框图。

具体实施方式

[0023] 本公开的各个方面包括采用光谱鉴别法从流动流的粒子中检测光的系统。根据某些实施例的系统包括一个光源,可对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照;一个光检测系统,包括一个波长分离器组件,可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器;一个光调节组件,可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时,跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光;以及一个光电检测器,可检测跨越波长分离器传送的光。系统还包括一个处理器,用于对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器信号脉冲。本发明还描述了通过所述主题系统进行光检测的方法。本发明还提供了根据所述主题方法的具有一个或多个光检测组件的套件。

[0024] 在进一步描述本发明之前,应理解的是,本发明不限于所描述的特定实施例,当然,这些实施例可能会有所不同。还应理解,由于本发明的范围将仅受所附权利要求的限制,所以本发明中的术语仅用于描述具体实施例,并非旨在对本发明进行限制。

[0025] 如果本发明提供了取值范围,应理解,本发明包括此范围上限与下限之间的每个中间值(除非上下文另有明确规定,否则近似到下限单位的十分之一),以及此规定范围内的任何其他规定值或中间值。这些较小范围的上限和下限可独立包括在较小范围内,同时包括在本发明的范围内,但受规定范围内任何明确排除的限值的约束。如果规定范围包括一个或两个限值,本发明还包括排除这些任一或两个所含限值的范围。

[0026] 本发明中表示某些范围时在数值前使用了术语“约”。在本发明中,术语“约”用于为其后确切数字以及接近或近似于其后数字的数字提供字面支持。在确定数字是否接近或近似于明确列举的数字时,接近或近似的未列举数字可能是一个数字,在其上下文中,它提供了与明确列举的数字基本等同的数字。

[0027] 除非另有定义,否则本发明中使用的所有技术和科学术语的含义与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同。虽然在本发明的实施或测试中也可使用与本发明所述方法或材料相似或等效的任何方法和材料,但代表性说明方法和材料描述如下。

[0028] 本说明书中引用的所有出版物和专利通过本发明的引用,成为本发明的一部分,就像各个出版物或专利均具体、单独表明通过本发明的引用,成为本发明的一部分,旨在公开并描述与所引用出版物有关的方法和/或材料。引用任何出版物的目的是在申请日之前公开,不应解释为承认由于先前的发明,本发明无权先于此类出版物出版。此外,所提供的出版日期可能与需要单独确认的实际出版日期不同。

[0029] 值得注意的是,除非上下文另有明确规定,否则本发明和所附权利要求中使用的单数形式“一个(a)”、“一个(an)”和“所述(the)”也包括复数指称对象。还应注意,在起草权利要求时可以排除任何可选要素。因此,本声明旨在作为使用如“只”、“仅”等与权利要求要素的叙述有关的排他性术语或使用“否定”限制的前提依据。

[0030] 在阅读本公开后,本领域的技术人员可明显看出,本发明所述和所示的各个实施例具有离散的组成部分和特征,在不脱离本发明的范围或精神的情况下,这些组成部分和特征可以很容易与其他多个实施例中任一实施例的特征分离或组合。可以按照所列事件的顺序或按逻辑上可行的任何其他顺序实施所列举的任何方法。

[0031] 虽然为了语法上的流畅性和功能上的解释,已经或将要对方法和合成物进行描述,但是应明确理解,除非《美国专利法》第35篇第112条明确规定,否则权利要求不应解释

为必须在任何方面都受限于“方式”或“步骤”的限制,而是根据等同司法原则赋予权利要求提供的定义的含义和等同物的整个范围,并且在《美国专利法》第35篇第112条明确规定了权利要求的情况下,应根据《美国专利法》第35篇第112条给予完全法定等同。

[0032] 如上所述,本公开提供了采用光谱鉴别法从流动流(例如在粒子分析仪中)的粒子中检测光的系统和方法。在进一步说明本公开的实施例时,首先对系统进行了更详细的说明,所述系统具有一个光源,可对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照;一个光检测系统,包括一个波长分离器组件,可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器;一个光调节组件,可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时,跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光;以及一个光电检测器,可检测跨越波长分离器传送的光。接下来,本发明还描述了通过所述主题系统采用光谱鉴别法进行光检测的方法。还描述了具有一个或多个主题光谱鉴别检测系统组件的套件。

[0033] 采用光谱鉴别法从流动流的粒子中检测光的系统

[0034] 本公开的各个方面包括采用光谱鉴别法从流动流的粒子中检测光的系统。本发明中使用的术语“光谱鉴别法”在其常规意义上是指对来自辐照粒子的一系列波长的光进行差分检测,其中,在某些实例中,可采用对来自辐照粒子的光的光谱的差分检测来识别或表征粒子或其组分。根据下文做出的更详细描述,所述主题系统可检测辐照粒子发散出的多个不同波长的光,其中,在某些实例中,对每个不同检测波长的光进行响应,产生一个或多个数据信号。在某些实施例中,所述主题系统可利用单个光电检测器对每条激光线检测来自辐照粒子的一系列波长的光。

[0035] 根据某些实施例的系统包括一个光源,可对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照;一个光检测系统,包括一个波长分离器组件,可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器;一个光调节组件,可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时,跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光;以及一个光电检测器,可检测跨越波长分离器传送的光。

[0036] 在实施例中,系统包括一个对沿着流动流传播的粒子进行辐照的光源。在某些实施例中,所述光源跨越0.1 μm 或以上(例如0.5 μm 或以上,例如1 μm 或以上,例如5 μm 或以上,例如10 μm 或以上,例如15 μm 或以上,例如20 μm 或以上,例如25 μm 或以上,例如50 μm 或以上,例如75 μm 或以上,例如100 μm 或以上,例如250 μm 或以上,例如500 μm 或以上,例如750 μm 或以上,例如跨越1mm或以上,例如2mm或以上,例如3mm或以上,例如4mm或以上,例如5mm或以上,例如6mm或以上,例如7mm或以上,例如8mm或以上,例如9mm或以上(包括10mm或以上))的流动流探询区域对沿着流动流传播的粒子进行连续辐照。

[0037] 在某些实施例中,所述光源可对传播流动流的平面横断面进行辐照,或者可促进预定长度的漫射场(例如使用漫射激光或漫射灯)的辐照。在某些实施例中,所述主题系统中光源所探询的流动流区域包括一个透明窗口,所述透明窗口促进预定长度(例如0.0001mm或更长,例如0.0005mm或更长,例如0.001mm或更长,例如0.005mm或更长,例如0.01mm或更长,例如0.05mm或更长,例如0.1mm或更长,例如0.5mm或更长,例如1mm或更长(包括5mm或更长))的发散流动流的辐照。根据用于对流动流进行辐照的光源的不同(如下所述),为利用光源促进流动流辐照的透明窗口可通过100nm-1500nm(例如150nm-1400nm,例如200nm-1300nm,例如250nm-1200nm,例如300nm-1100nm,例如350nm-1000nm,例如400nm-900nm(包括500nm-800nm))的光。

[0038] 在实施例中,系统包括一个对流动流中的粒子进行辐照的光源。在某些实施例中,所述光源是连续波光源,例如,光源提供不间断的光通量,并保持对流动流中粒子的辐照,几乎不会出现不必要的光强变化。在某些实施例中,所述连续光源发出非脉冲或非频闪照射。在某些实施例中,所述连续光源提供基本恒定的发射光强度。例如,所述连续光源可在辐照时间间隔内提供发射光强,其变化幅度为10%或以下,例如9%或以下,例如8%或以下,例如7%或以下,例如6%或以下,例如5%或以下,例如4%或以下,例如3%或以下,例如2%或以下,例如1%或以下,例如0.5%或以下,例如0.1%或以下,例如0.01%或以下,例如0.001%或以下,例如0.0001%或以下,例如0.00001%或以下,包括在辐照时间间隔内发射光强变化幅度为0.000001%或以下。在测量光输出强度时,可采用任何方便的方案,包括但不限于扫描狭缝轮廓仪、电荷耦合器件(CCD,例如增强电荷耦合器件(ICCD))、定位传感器、功率传感器(例如热电堆功率传感器)、光学功率传感器、能量计、数字激光光度计、激光二极管检测器以及其他类型的光电检测器。

[0039] 在某些实施例中,所述光源包括一个或多个脉冲光源,例如在以预定的时间间隔发射光的情况下,每个时间间隔具有预定的辐照持续时间(即脉冲宽度)。在某些实施例中,所述脉冲光源可利用周期性闪光对流动流探询区域中的粒子进行辐照。例如,每个光脉冲的频率可以是0.0001kHz或更高,例如0.0005kHz或更高,例如0.001kHz或更高,例如0.005kHz或更高,例如0.01kHz或更高,例如0.05kHz或更高,例如0.1kHz或更高,例如0.5kHz或更高,例如1kHz或更高,例如2.5kHz或更高,例如5kHz或更高,例如10kHz或更高,例如25kHz或更高,例如50kHz或更高,包括100kHz或更高。在某些实例中,所述光源的脉冲辐照频率范围为0.00001kHz-1000kHz,例如0.00005kHz-900kHz,例如0.0001kHz-800kHz,例如0.0005kHz-700kHz,例如0.001kHz-600kHz,例如0.005kHz-500kHz,例如0.01kHz-400kHz,例如0.05kHz-300kHz,例如0.1kHz-200kHz,包括1kHz-100kHz。每个光脉冲的光辐照持续时间(即脉冲宽度)可能有所不同,可以是0.000001ms或更长,例如0.000005ms或更长,例如0.00001ms或更长,例如0.00005ms或更长,例如0.0001ms或更长,例如0.0005ms或更长,例如0.001ms或更长,例如0.005ms或更长,例如0.01ms或更长,例如0.05ms或更长,例如0.1ms或更长,例如0.5ms或更长,例如1ms或更长,例如2ms或更长,例如3ms或更长,例如4ms或更长,例如5ms或更长,例如10ms或更长,例如25ms或更长,例如50ms或更长,例如100ms或更长,包括500ms或更长。例如,光辐照的持续时间范围可以是0.000001ms-1000ms,例如0.000005ms-950ms,例如0.00001ms-900ms,例如0.00005ms-850ms,例如0.0001ms-800ms,例如0.0005ms-750ms,例如0.001ms-700ms,例如0.005ms-650ms,例如0.01ms-600ms,例如0.05ms-550ms,例如0.1ms-500ms,例如0.5ms-450ms,例如1ms-400ms,例如5ms-350ms,包括10ms-300ms。

[0040] 系统可包括任何方便的光源,并可包括激光和非激光光源。在某些实施例中,所述光源是非激光光源,例如发射特定波长或狭窄波长范围的窄带光源。在某些实例中,所述窄带光源发射具有窄波长范围的光,例如50nm或以下,例如40nm或以下,例如30nm或以下,例如25nm或以下,例如20nm或以下,例如15nm或以下,例如10nm或以下,例如5nm或以下,例如2nm或以下,包括发射特定波长光(即单色光)的光源。可以采用任何方便的窄带光源方案,如窄波长LED。

[0041] 在其他实施例中,所述光源是宽带光源,例如与一个或多个光带通滤波器、衍射光

栅、单色仪或其任何组合耦合的宽带光源。在某些实例中,所述宽带光源发射具有宽波长范围的光,例如波长跨度为50nm或以上,例如100nm或以上,例如150nm或以上,例如200nm或以上,例如250nm或以上,例如300nm或以上,例如350nm或以上,例如400nm或以上,包括跨度500nm或以上。例如,一个合适的宽带光源发射波长为200nm-1500nm的光。合适宽带光源的另一示例包括发射波长400nm-1000nm的光的光源。可以采用任何方便的宽带光源方案,如卤素灯、氙弧灯、氙弧灯、稳定型光纤耦合宽带光源、连续光谱宽带LED、超辐射发光二极管、半导体发光二极管、宽光谱LED白光光源、多LED集成白光光源等宽带光源或其任何组合。在某些实施例中,所述光源包括一排LED。在某些实例中,所述光源包括多个单色发光二极管,其中每个单色发光二极管输出具有不同波长的光。在某些实例中,所述光源包括多个多色发光二极管,输出具有预定光谱宽度的光,例如,所述多个多色发光二极管共同输出的光的光谱宽度范围为200nm-1500nm,例如225nm-1475nm,例如250nm-1450nm,例如275nm-1425nm,例如300nm-1400nm,例如325nm-1375nm,例如350nm-1350nm,例如375nm-1325nm,例如400nm-1300nm,例如425nm-1275nm,例如450nm-1250nm,例如475nm-1225nm,包括500nm-1200nm。

[0042] 在某些实施例中,所述光源包括一个激光器,如脉冲激光器或连续波激光器。例如,所述激光器可以是二极管激光器,如紫外二极管激光器、可见二极管激光器和近红外二极管激光器。在其他实施例中,所述激光器可以是氦氖(HeNe)激光器。在某些实例中,所述激光器是气体激光器,例如氦氖激光器、氙激光器、氩激光器、氙激光器、氮激光器、CO₂激光器、CO激光器、氙氟(ArF)准分子激光器、氪氟(KrF)准分子激光器、氙氯(XeCl)准分子激光器或氙氟(XeF)准分子激光器或其组合。在其他实例中,所述主题系统包括一个染料激光器,例如二苯乙烯、香豆素或罗丹明激光器。在其他实例中,目标激光器包括一个金属蒸气激光器,例如氦镉(HeCd)激光器、氦汞(HeHg)激光器、氦硒(HeSe)激光器、氦银(HeAg)激光器、铟激光器、氖铜(NeCu)激光器、铜激光器或金激光器及其组合。在其他实例中,所述主题系统包括固态激光器,例如红宝石激光器、Nd:YAG激光器、NdCrYAG激光器、Er:YAG激光器、Nd:YLF激光器、Nd:YVO₄激光器、Nd:YCa₄(BO₃)₃激光器、Nd:YCOB激光器、钛蓝宝石激光器、钪YAG激光器、镱YAG激光器、Yb₂O₃激光器或掺铈激光器及其组合。

[0043] 在一些实施例中,所述光源是窄带宽光源。在某些实例中,所述光源是输出200nm-1500nm(例如250nm-1250nm,例如300nm-1000nm,例如350nm-900nm,包括400nm-800nm)特定波长的光源。在某些实施例中,所述连续波光源发射波长为365nm、385nm、405nm、460nm、490nm、525nm、550nm、580nm、635nm、660nm、740nm、770nm或850nm的光。

[0044] 在某些实施例中,所述光源发射具有重叠波长的光,例如在光源的一个或多个分量的输出光谱重叠1nm或以上,例如重叠2nm或以上,例如重叠3nm或以上,例如重叠4nm或以上,例如重叠5nm或以上,例如重叠6nm或以上,例如重叠7nm或以上,例如重叠8nm或以上,例如重叠9nm或以上,例如重叠10nm或以上,包括重叠20nm或以上。在某些实施例中,所述光源发射光的波长没有重叠。例如,所述光源的输出光谱可相隔1nm或以上,例如2nm或以上,例如3nm或以上,例如4nm或以上,例如5nm或以上,例如6nm或以上,例如7nm或以上,例如8nm或以上,例如9nm或以上,例如10nm或以上,包括20nm或以上。

[0045] 所述光源的定位可与流动流保持任何合适的距离,例如保持距离0.001mm或以上,例如0.005mm或以上,例如0.01mm或以上,例如0.05mm或以上,例如0.1mm或以上,例如0.5mm

或以上,例如1mm或以上,例如5mm或以上,例如10mm或以上,例如25mm或以上,包括距离100mm或以上。此外,所述光源可以以相对于流动流的任何合适角度进行定位,例如范围为 10° - 90° 的角,例如 15° - 85° ,例如 20° - 80° ,例如 25° - 75° ,包括 30° - 60° ,例如 90° 角。

[0046] 根据某些实施例,光源还可包括一个或多个光学调节组件。本发明中使用的术语“光学调节”在其传统意义上是指任何能够改变辐照的空间宽度或光源辐照的某种其他特性(例如辐照方向、波长、光束宽度、光束强度和焦点)的器件。光学调节方案可以是调整光源一个或多个特性的任何方便器件,包括但不限于镜头、反射镜、滤波器、光纤、波长分离器、针孔、狭缝、准直方案及其组合。在某些实施例中,目标系统包括一个或多个聚焦镜头。在一个示例中,所述聚焦透镜可以是缩小镜。在另一示例中,所述聚焦透镜是放大镜。在其他实施例中,目标系统包括一个或多个镜子。在其他实施例中,目标系统包括光纤。

[0047] 如上所述,系统可对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照,在粒子沿着流动流通过探询区域传播时,来自辐照粒子的光通过光调节组件跨越波长分离器连续传送。在某些实例中,来自辐照粒子的光是发射光,如来自粒子的荧光。在某些实例中,来自辐照粒子的光是散射光。在某些实例中,所述散射光是前向散射光。在某些实例中,所述散射光是后向散射光。在某些实例中,所述散射光是侧向散射光。在某些实例中,来自辐照粒子的光是透射光。

[0048] 在采用光调节组件使粒子沿着探询区域中的流动流传播时,来自粒子的光跨越波长分离器连续传送。在某些实例中,所述光调节组件可扩大从流动流中的粒子收集的光的空间分离度。在某些实例中,所述光调节组件可将空间分离度扩大5%或更多,例如10%或更多,例如25%或更多,例如50%或更多,例如75%或更多,例如90%或更多。在某些实例中,所述光调节组件将空间分离度扩大1.1倍或更多,例如1.2倍或更多,例如1.3倍或更多,例如1.4倍或更多,例如1.5倍或更多,例如2倍或更多,例如3倍或更多,例如4倍或更多,例如5倍或更多,例如6倍或更多,例如7倍或更多,例如8倍或更多,例如9倍或更多,包括10倍或更多。

[0049] 在某些实施例中,所述光调节组件对从粒子收集到的光进行准直,并将准直光传播到波长分离器。术语“准直”在其传统意义上使用,指在光学上调整光传播的共线性,或减少来自公共传播轴线的光的发散。在某些实例中,对来自粒子的光进行准直包括使传播到波长分离器的光束的空间横断面变窄。在其他实例中,所述光调节组件改变了准直光束的方向,例如使光束传播改变 1° 或更多,例如 5° 或更多,例如 10° 或更多,例如 15° 或更多,例如 20° 或更多,例如 25° 或更多,例如 30° 或更多,例如 45° 或更多,例如 60° 或更多,例如 75° 或更多,包括使光传播方向改变 90° 或更多。在其他实例中,所述光调节组件缩小从粒子收集到的光,以减小传播到波长分离器的光(例如光束光斑)的尺寸,例如使尺寸减小5%或更多,例如减小10%或更多,例如减小25%或更多,例如减小50%或更多,包括使尺寸减小75%或更多。

[0050] 在某些实施例中,所述光调节组件可以相对于波长分离器表面从 60° 到 90° 变化的角度(例如相对于波长分离器表面从 65° 到 90° 变化的角度,例如从 70° 到 90° ,例如从 75° 到 90° 、 80° 到 90° ,包括从 85° 到 90°)将入射光从辐照粒子传送到波长分离器。在某些实施例中,所述光调节组件可以将来自辐照粒子的垂直入射光传送到波长分离器的表面(即,来自光调节组件的入射光与波长分离器的表面正交)。

[0051] 在某些实施例中,所述光调节组件可跨越波长分离器的轴线连续传送来自辐照粒子的光。在某些实例中,所述光调节组件可跨越波长分离器的水平轴连续传送来自辐照粒子的光。在某些实例中,所述光调节组件可跨越波长分离器的垂直轴连续传送来自辐照粒子的光。在某些实例中,所述光调节组件可跨越与流动流轴线完全相同的波长分离器轴线连续传送来自辐照粒子的光。在一个示例中,当流动流垂直流动时(例如向上,也可向下,同时粒子向上或向下流动),所述波长分离器组件垂直定位,使得光调节组件跨越波长分离器的垂直轴连续传送来自辐照粒子的光。在另一示例中,当流动流水平流动时(例如从一边流动到另一边,同时粒子从一边流动到另一边),所述波长分离器组件水平定位,使得光调节组件跨越波长分离器的水平轴连续传送来自辐照粒子的光。

[0052] 所述光调节组件可以是任何方便的光学方案,用于跨越波长分离器收集和连续传送来自沿着流动流通过探询区域传播的粒子的光。在一些实施例中,所述光调节组件包括一个复合透镜。在某些实施例中,所述光调节组件包括一个复合透镜和一个或多个孔径光阑,例如,在一个或多个孔径光阑位于光调节组件中复合透镜焦点处的情况。在某些实例中,所述光调节组件包括一个远心透镜。在某些实例中,所述光调节组件包括一个物方远心透镜。在某些实例中,所述光调节组件包括一个像方远心透镜。在某些实例中,所述光调节组件包括一个双重远心透镜(例如双侧远心透镜)。

[0053] 在实施例中,在粒子沿着流动流通过探询区域传播时,从粒子中收集到的光跨越波长分离器传送。本发明中使用的术语“波长分离器”在其常规意义上是指一种光学组件,可将从粒子收集到的光分离成预定的副光谱范围。在某些实施例中,所述波长分离器可通过使具有预定光谱范围的光通过并反射一个或多个剩余光谱范围的光,将收集到的光分离成预定光谱范围。在其他实施例中,所述波长分离器可通过使具有预定光谱范围的光通过并吸收一个或多个剩余光谱范围的光,将收集到的光分离成预定光谱范围。在另一些实施例中,所述波长分离器可将收集到的光在空间上衍射到预定光谱范围中。

[0054] 所述波长分离器可以是任何方便的光学组件,使不同波长范围的光通过波长分离器。在某些实施例中,所述主题光检测系统中的波长分离器组件包括一个或多个线性光学滤波器,例如2个或更多,例如3个或更多,例如4个或更多,包括5个或更多线性光学滤波器。在某些实例中,所述波长分离器包括一个或多个线性可变带通滤波器,例如2个或更多,例如3个或更多,例如4个或更多,包括5个或更多线性可变带通滤波器。在某些实例中,所述波长分离器包括一个长通线性可变带通滤波器。在某些实施例中,所述长通线性可变带通滤波器是一种线性可变带通滤波器,可使多种波长的光通过大于400nm、大于450nm、大于500nm、大于550nm、大于600nm、大于650nm、大于700nm、大于750nm、大于800nm的带通滤波器。在某些实例中,所述波长分离器包括一个短通线性可变带通滤波器。在某些实施例中,所述短通线性可变带通滤波器是一种线性可变带通滤波器,可使多种波长的光通过600nm或以下、550nm或以下、500nm或以下、450nm或以下、400nm或以下、350nm或以下、300nm或以下、250nm或以下、200nm或以下的带通滤波器。在某些实施例中,所述波长分离器组件包括一个或多个长通线性可变带通滤波器和一个或多个短通线性可变带通滤波器。在某些实施例中,所述波长分离器组件包括一个长通线性可变带通滤波器和一个短通线性可变带通滤波器。

[0055] 在某些实施例中,所述波长分离器包括一个或多个线性可变边缘滤波器,例如2个

或更多,例如3个或更多,例如4个或更多,包括5个或更多线性可变边缘滤波器。在某些实施例中,所述长通线性可变边缘滤波器是一种线性可变边缘滤波器,可使多种波长的光通过大于400nm、大于450nm、大于500nm、大于550nm、大于600nm、大于650nm、大于700nm、大于750nm、大于800nm的边缘滤波器。在某些实例中,所述波长分离器包括一个短通线性可变边缘滤波器。在某些实施例中,所述短通线性可变边缘滤波器是一种线性可变边缘滤波器,可使多种波长的光通过600nm或以下、550nm或以下、500nm或以下、450nm或以下、400nm或以下、350nm或以下、300nm或以下、250nm或以下、200nm或以下的边缘滤波器。在某些实施例中,所述波长分离器组件包括一个或多个长通线性可变边缘滤波器和一个或多个短通线性可变边缘滤波器。在某些实施例中,所述波长分离器组件包括一个长通线性可变边缘滤波器和一个短通线性可变边缘滤波器。

[0056] 在实施例中,跨越波长分离器组件传送的光传播到光电检测器。在某些实施例中,来自波长分离器的光通过光学调节组件传送到光电检测器。如上所述,所述光学调节组件可包括透镜、反射镜、准直器、针孔、狭缝、分束器以及其他类型的光学调节组件。在某些实例中,来自波长分离器的光通过聚焦透镜传播到光电检测器。在某些实例中,来自波长分离器的光通过物镜传播到光电检测器。

[0057] 所述主题系统的光电检测器可以是任何方便的光检测方案,包括但不限于光电传感器或光电检测器,例如雪崩光电二极管(APD)、有源像素传感器(APS)、象限光电二极管、图像传感器、电荷耦合器件(CCD)、增强电荷耦合器件(ICCD)、发光二极管、光子计数器、辐射热计、热电检测器、光敏电阻、光伏电池、光电二极管、光电倍增管、光电晶体管、量子点光电导体或光电二极管及其组合,以及其他光电检测器。在某些实施例中,所述光电检测器是光电倍增管,例如每个区域的有源检测表面积范围为 0.01cm_2 - 10cm_2 (例如 0.05cm_2 - 9cm_2 ,例如 0.1cm_2 - 8cm_2 ,例如 0.5cm_2 - 7cm_2 ,包括 1cm_2 - 5cm_2)的光电倍增管。

[0058] 在本公开的实施例中,所述光电检测器在一个或多个波长(例如2个或更多波长,例如5个或更多不同波长,例如10个或更多不同波长,例如25个或更多不同波长,例如50个或更多不同波长,例如100个或更多不同波长,例如200个或更多不同波长,例如300个或更多不同波长)下检测光,包括在400个或更多不同波长下测量光。

[0059] 光电检测器可连续或以离散间隔测量光。在某些实例中,目标检测器可连续测量光。在其他实例中,目标检测器进行离散间隔测量,例如每隔 0.001ms 、 0.01ms 、 0.1ms 、 1ms 、 10ms 、 100ms (包括 1000ms)或以其他间隔测量光。

[0060] 在每个离散时间间隔期间,检测器可对光进行一次或多次(例如2次或更多次,例如3次或更多次,例如5次或更多次,包括10次或更多次)测量。在某些实施例中,检测器对光进行2次或更多次测量,并且在某些情况下计算数据的平均值。可在一个或多个光电检测器通道(例如2个或更多,例如3个或更多,例如4个或更多,例如5个或更多,例如6个或更多,例如7个或更多,例如8个或更多,例如9个或更多,包括10个或更多光电检测器通道)中检测到来自流动流中粒子的光。

[0061] 在某些实施例中,光检测系统可检测到粒子发出的光,如粒子冷发光(即荧光或磷光)。在其他实施例中,光检测系统可检测到透射光,例如在光检测系统包括明场光检测器的情况下。在某些实施例中,光检测系统可检测到散射光。在实施例中,根据本公开的散射光不是荧光和磷光。在某些实施例中,所述主题系统的散射光检测器检测到的散射光包括

流动流中粒子的米氏散射。在其他实施例中,所述主题系统的散射光检测器检测到的散射光包括流动流中粒子的瑞利散射。在其他实施例中,所述主题系统的散射光检测器检测到的散射光包括流动流中粒子的米氏散射和瑞利散射。所述散射光电检测器可以是侧向散射光电检测器、前向散射光电检测器、后向散射光电检测器及其组合。

[0062] 在某些实施例中,系统进一步包括一个处理器,所述处理器可对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器数据信号。在某些实施例中,系统包括一个与处理器可操作耦合的存储器,其中,所述存储器包括存储在存储器上的指令,当处理器执行这些指令时,这些指令可使处理器将系统操作到在探测区域中沿流动流传播的粒子,其中所述光调节组件可在粒子沿着流动流通过探测区域传播时,跨越波长分离器组件连续传送来自粒子的光,并对跨越波长分离器传送的光进行响应,产生多个光电检测器数据信号。

[0063] 在某些实施例中,所述存储器包括对检测到的光进行响应使处理器在每个光电检测器通道中产生一个或多个数据信号的指令。在某些实例中,所述存储器包括对检测到的光进行响应在每个光电检测器通道中产生多个数据信号(例如产生2个或更多数据信号,例如3个或更多数据信号,例如4个或更多数据信号,例如5个或更多数据信号,例如6个或更多数据信号,例如7个或更多数据信号,例如8个或更多数据信号,例如9个或更多数据信号,包括对检测到的光进行响应,在每个光电检测器通道中产生10个或更多数据信号)的指令。在某些实例中,所述存储器包括对在粒子通过流动流传播时从粒子中检测到的光进行响应在一个不同的光电检测器通道中产生一个或多个数据信号的指令。

[0064] 在某些实施例中,从所述多个光电检测器数据信号中产生光电检测器信号脉冲。在某些实例中,所述光电检测器信号脉冲包括跨越预定光谱范围收集到的数据信号。在某些实例中,所述光电检测器信号脉冲包括跨越具有波长范围100nm-1500nm(例如150nm-1450nm,例如200nm-1400nm,例如250nm-1350nm,例如300nm-1300nm,例如350nm-1250nm,例如400nm-1200nm,例如450nm-1150nm,例如500nm-1100nm,例如550nm-1050nm,包括使具有波长范围600nm-1000nm的光通过)的光谱收集到的数据信号。在某些实施例中,所述产生的光电检测器信号脉冲包括跨越具有波长范围360nm-960nm的光谱收集到的数据信号。

[0065] 在某些实施例中,每个光电检测器数据信号具有独特的形状或图样。在某些实施例中,每个光电检测器信号脉冲具有可识别的形状或图样,例如,所述光电检测器信号脉冲可用于识别粒子组分(如荧光团)或粒子的一个或多个参数(如粒子形状、尺寸)。在某些实施例中,所述存储器包括存储在存储器上用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子荧光团丰度的指令。在其他实施例中,所述存储器包括存储在存储器上用于根据光电检测器信号脉冲识别粒子上荧光团类型的指令。在其他实施例中,所述存储器包括存储在存储器上用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子尺寸的指令。在其他实施例中,所述存储器包括存储在存储器上用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子质心的指令。在其他实施例中,所述存储器包括存储在存储器上用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子取向的指令。在其他实施例中,所述存储器包括存储在存储器上用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子偏心率的指令。在其他实施例中,所述存储器包括存储在存储器上用于根据光电检测器信号脉冲确定粒子共定位系数(即共定位程度)的指令。在某些实施例中,所述存储器包括存储在存储器上的指令,当处理器执行这些指令时,这些指令可使处理器根据光电检测器信号脉冲识别流动流中的粒子。在某些实施例中,所述存储器包括用于根据光电检测器信号脉冲产生粒

子分选决策的指令。

[0066] 图1显示了根据某些实施例所述的光检测系统。系统100包括一个光源101,光源101可在粒子沿着流动流102传播时对粒子102a进行辐照。当辐照粒子沿着流动流102传播时,来自辐照粒子102a的连续光束通过光调节组件103(例如双重远心透镜)跨越波长分离器104(例如一个或多个线性可变光学滤波器)传播。图1将连续光束绘制成一束光102b,当粒子102a处于流动流中的某一位置并通过光调节组件103传送时,这束光从辐照粒子102a发散出来。在某些实例中,波长分离器104是长通线性可变带通滤波器和短通线性可变带通滤波器的组合。光束102b偏离光调节组件103的中心光轴发生距离h的位移,该距离取决于流动流102在受到光源101辐照时的位置。如上所述,当粒子102a沿着流动流102传播时,从光调节组件103发散的光束与光调节组件103中心轴的距离h将发生变化。将说明性光束102b传送到波长分离器104,然后通过聚焦透镜105传播到光电检测器106。当粒子沿着流动流102传播时,光电检测器106对通过波长分离器104从光调节组件103连续传输的光进行响应,产生数据信号。来自光电检测器106的数据信号共同形成光电检测器信号脉冲107,在某些实例中,所述脉冲具有粒子102a独有的形状或图样。

[0067] 图2显示了根据某些实施例所述的从沿着流动流传播的粒子中检测光。图2A显示了采用如上图1所述的光检测系统检测说明性光束,当粒子位于流动流中的第一位置时,所述光束从辐照粒子发散出来。如上所述,粒子201a辐照从辐照粒子201a中产生连续光束,所述连续光束通过光调节组件跨越波长分离器连续传送。当粒子201a处于流动流中的第一位置时,通过光调节组件传送的来自粒子201a的光(在图2A中显示为光束202a)偏离光调节组件的中心光轴发生第一距离的位移。当粒子202a通过流动流传播时,从光调节组件发散的光束与光调节组件中心轴的距离h将发生变化。图2B显示了说明性光束,当粒子位于流动流中的一个不同位置时,所述光束从辐照粒子201a发散出来。

[0068] 图3显示了根据某些实施例所述的从沿着流动流通过探询区域传播的辐照粒子传送的连续光束的图示。粒子302通过流动流传播时受到光源301的辐照,来自辐照粒子的光产生连续光,所述连续光通过光调节组件303跨越波长分离器304连续传送(显示为五种不同的光束302a,显示为说明性光束,从处于流动流中不同位置的粒子发散出来)。来自辐照粒子的光沿着流动流通过探询区域传播时,通过光调节组件303连续传送,并且它与光调节组件303中心轴的距离h将发生变化。当通过光调节组件303传送的光偏离中心轴的位移距离发生变化时,来自辐照粒子的光将跨越波长分离器304传送。

[0069] 在某些实施例中,系统进一步包括一个传播流动流中样品的流动室。可使用任何方便的流动室将流体样品传播到样品探询区域,其中,在一些实施例中,所述流动室包括一个界定纵轴的近端圆柱部以及一个在平整表面(具有横向于纵轴的孔口)内终止的远端截头圆锥形部。近端圆柱部的长度(沿纵轴测量)范围可以是1mm-15mm不等,例如1.5mm-12.5mm,例如2mm-10mm,例如3mm-9mm,包括4mm-8mm。远端截头圆锥形部的长度(沿纵轴测量)也可以是1mm-10mm不等,例如2mm-9mm,例如3mm-8mm,包括4mm-7mm。在某些实施例中,所述流动室喷嘴腔的直径可以是1mm-10mm不等,例如2mm-9mm,例如3mm-8mm,包括4mm-7mm。

[0070] 在某些实例中,所述流动室不包括圆柱部,整个流动室内腔呈截头圆锥形。在这些实施例中,所述截头圆锥形内腔的长度(沿横向于喷嘴孔口的纵轴测量)范围可以是1mm-15mm,例如1.5mm-12.5mm,例如2mm-10mm,例如3mm-9mm,包括4mm-8mm。截头圆锥形内腔的近

端部分的直径范围可以是1mm-10mm,例如2mm-9mm,例如3mm-8mm,包括4mm-7mm。

[0071] 在一些实施例中,所述样品流路从流动室远端的孔口发散出来。根据所需的流路特征,所述流动室孔口可以呈现任何适当的形状,其中,目标横断面形状包括但不限于:直线横截面形状(例如正方形、矩形、梯形、三角形、六边形等)、曲线横截面形状(例如圆形、椭圆形)以及不规则形状(例如与平面顶部耦合的抛物线形底部)。在某些实施例中,目标流动室具有一个圆形孔口。在某些实施例中,喷嘴孔口大小的范围可以是1 μ m-20000 μ m,例如2 μ m-17500 μ m,例如5 μ m-15000 μ m,例如10 μ m-12500 μ m,例如15 μ m-10000 μ m,例如25 μ m-7500 μ m,例如50 μ m-5000 μ m,例如75 μ m-1000 μ m,例如100 μ m-750 μ m,包括150 μ m-500 μ m。在某些实施例中,所述喷嘴孔口尺寸为100 μ m。

[0072] 在某些实施例中,所述流动室包括一个可向流动室提供样品的进样口。在实施例中,所述进样系统可向流动室内腔提供合适的样品流。根据所需的流路特征,样品经进样口传送到流动室喷嘴腔的速率可以是1 μ L/min或以上,例如2 μ L/min或以上,例如3 μ L/min或以上,例如5 μ L/min或以上,例如10 μ L/min或以上,例如15 μ L/min或以上,例如25 μ L/min或以上,例如50 μ L/min或以上,包括100 μ L/min或以上,其中,在某些实例中,样品经进样口传送到流动室喷嘴腔的速率是1 μ L/sec或以上,例如2 μ L/sec或以上,例如3 μ L/sec或以上,例如5 μ L/sec或以上,例如10 μ L/sec或以上,例如15 μ L/sec或以上,例如25 μ L/sec或以上,例如50 μ L/sec或以上,包括100 μ L/sec或以上。

[0073] 所述进样口可以是内腔壁上的一个孔口,也可以是内腔近端的一根导管。在进样口是内腔壁上的一个孔口的情况下,所述进样口孔口可以呈现任何合适的形状,其中,目标横断面形状包括但不限于:直线横断面形状(例如正方形、矩形、梯形、三角形、六边形等)、曲线横断面形状(例如圆形、椭圆形等)以及不规则形状(例如与平面顶部耦合的抛物线形底部)。在某些实施例中,所述进样口具有一个圆形孔口。所述进样口孔口的尺寸可以因形状而异,在某些实例中,其开口范围为0.1mm-5.0mm,例如0.2-3.0mm,例如0.5mm-2.5mm,例如0.75mm-2.25mm,例如1mm-2mm,包括1.25mm-1.75mm,例如1.5mm。

[0074] 在某些实例中,所述进样口是流动室内腔近端的导管。例如,所述进样口可以是进样口孔口与流动室孔口成一直线的导管。在所述进样口是与流动室孔口成一直线的导管的情况下,所述进样管的横断面形状可以是任何合适的形状,其中,目标横断面形状包括但不限于:直线横断面形状(例如正方形、矩形、梯形、三角形、六边形等)、曲线横断面形状(例如圆形、椭圆形等)以及不规则形状(例如与平面顶部耦合的抛物线形底部)。导管孔口可以因形状而异,在某些实例中,其开口范围为0.1mm-5.0mm,例如0.2-3.0mm,例如0.5mm-2.5mm,例如0.75mm-2.25mm,例如1mm-2mm,包括1.25mm-1.75mm,例如1.5mm。进样口尖端的形状可与样品注入管的横断面形状相同或不同。例如,所述进样口孔口可包括一个斜切尖端,其斜角范围为1°-10°,例如2°-9°,例如3°-8°,例如4°-7°,包括斜角5°。

[0075] 在某些实施例中,所述流动室还包括一个向流动室提供鞘液的鞘液注入口。在实施例中,所述鞘液注入系统可向流动室内腔提供鞘液流,例如与样品一同在样品流路周围产生分层鞘液流路。根据所需的流动流特征,鞘液流入流动室腔体的速率可以是25 μ L/sec或以上,例如50 μ L/sec或以上,例如75 μ L/sec或以上,例如100 μ L/sec或以上,例如250 μ L/sec或以上,例如500 μ L/sec或以上,例如750 μ L/sec或以上,例如1000 μ L/sec或以上,包括2500 μ L/sec或以上。

[0076] 在一些实施例中,所述鞘液注入口是内腔壁上的孔口。所述鞘液注入口孔口可以呈任何适当的形状,其中,目标横断面形状包括但不限于直线横断面形状(例如正方形、矩形、梯形、三角形、六边形等)、曲线横断面形状(例如圆形、椭圆形)以及不规则形状(例如与平面顶部耦合的抛物线形底部)。所述进样口孔口的尺寸可以因形状而异,在某些实例中,其开口范围为0.1mm-5.0mm,例如0.2-3.0mm,例如0.5mm-2.5mm,例如0.75mm-2.25mm,例如1mm-2mm,包括1.25mm-1.75mm,例如1.5mm。

[0077] 在一些实施例中,系统进一步包括一个与流动室流体连通的泵,其用于使流动流通过流动室传播。可采用任何方便的流体泵方案来控制流动流流经流动室的流量。在某些实例中,系统包括一个蠕动泵,例如具有脉冲阻尼器的蠕动泵。所述主题系统中的泵以适合对来自流动流中样品的光进行检测的速率使流体流经流动室。在某些实例中,所述流动室中的样品流速为1 μ L/min(微升/分钟)或以上,例如2 μ L/min或以上,例如3 μ L/min或以上,例如5 μ L/min或以上,例如10 μ L/min或以上,例如25 μ L/min或以上,例如50 μ L/min或以上,例如75 μ L/min或以上,例如100 μ L/min或以上,例如250 μ L/min或以上,例如500 μ L/min或以上,例如750 μ L/min或以上,包括1000 μ L/min或以上。例如,所述系统可包括一个以范围为1 μ L/min-500 μ L/min(例如1 μ L/min-250 μ L/min,例如1 μ L/min-100 μ L/min,例如2 μ L/min-90 μ L/min,例如3 μ L/min-80 μ L/min,例如4 μ L/min-70 μ L/min,例如5 μ L/min-60 μ L/min,包括10 μ L/min-50 μ L/min)的速率使样品流经流动室的泵。在某些实施例中,流动流的流速为5 μ L/min-6 μ L/min。

[0078] 在某些实施例中,所述主题系统是流式细胞系统。合适的流式细胞术系统可包括但不限于以下文献所述内容:Ormerod(编辑),《流式细胞术:实用方法》,牛津大学出版社(1997年);Jaroszeski等人(编辑),《流式细胞术方案》,《分子生物学方法》第91期,Humana出版社(1997年);《实用流式细胞术》,第3版,Wiley-Liss出版社(1995年);Virgo等人(2012年),《临床生物化学年鉴》1月;49(pt 1):17-28;Linden等人,《血栓形成和止血研讨会》,2004年10月;30(5):502-11;Alison等人,《病理学杂志》,2010年12月;222(4):335-344;以及Herbig等人(2007年),《治疗药物载体系统的批判性评论》24(3):203-255;上述文献的公开内容通过本发明的引用,成为本发明的一部分。在某些实例中,目标流式细胞术系统包括BD Biosciences FACSCanto™流式细胞仪、BD Biosciences FACSCanto™II流式细胞仪、BD Accuri™流式细胞仪、BD Accuri™ C6 Plus流式细胞仪、BD Biosciences FACSCelesta™流式细胞仪、BD Biosciences FACSLytic™流式细胞仪、BD Biosciences FACSVerse™流式细胞仪、BD Biosciences FACSsymphony™流式细胞仪、BD Biosciences LSRFortessa™流式细胞仪、BD Biosciences LSRFortessa™ X-20流式细胞仪、BD Biosciences FACSPresto™流式细胞仪、BD Biosciences FACSvia™流式细胞仪和BD Biosciences FACSCalibur™细胞分选机、BD Biosciences FACSCount™细胞分选机、BD Biosciences FACSLytic™细胞分选机、BD Biosciences Via™细胞分选机、BD Biosciences Influx™细胞分选机、BD Biosciences Jazz™细胞分选机、BD Biosciences Aria™细胞分选机、BD Biosciences FACSaria™II细胞分选机、BD Biosciences FACSaria™III细胞分选机、BD Biosciences FACSaria™ Fusion细胞分选机和BD Biosciences FACSMelody™细胞分选机、BD Biosciences FACSsymphony™S6细胞分选机等。

[0079] 在一些实施例中,所述主题系统是流式细胞系统,例如以下美国专利所述的系统:

10,663,476;10,620,111;10,613,017;10,605,713;10,585,031;10,578,542;10,578,469;10,481,074;10,302,545;10,145,793;10,113,967;10,006,852;9,952,076;9,933,341;9,726,527;9,453,789;9,200,334;9,097,640;9,095,494;9,092,034;8,975,595;8,753,573;8,233,146;8,140,300;7,544,326;7,201,875;7,129,505;6,821,740;6,813,017;6,809,804;6,372,506;5,700,692;5,643,796;5,627,040;5,620,842;5,602,039;4,987,086;4,498,766;所述美国专利的全部内容通过本发明的整体引用,成为本发明的一部分。

[0080] 在一些实施例中,所述主题系统是粒子分选系统,所述粒子分选系统可通过封闭式粒子分选模块分选粒子,例如第2017/0299493号美国专利出版物中描述的粒子分选模块,所述美国专利出版物的公开内容通过本发明的引用,成为本发明的一部分。在某些实施例中,使用具有多个分选决策单元的分选决策模块分选样品的粒子(例如细胞),例如第2020/0256781号美国专利出版物所述,所述美国专利出版物的公开内容通过本发明的引用,成为本发明的一部分。在某些实施例中,所述主题系统包括一个具有偏转板的粒子分选模块,如2017年3月28日提交的第2017/0299493号美国专利出版物所述,所述美国专利出版物的公开内容通过本发明的引用,成为本发明的一部分。

[0081] 在某些实例中,本发明的流式细胞术系统可通过使用射频标记发射(FIRE)的荧光成像技术对流动流中的颗粒进行成像,如以下文献所述:Diebold等人《自然·光子学》第7(10)卷;806-810(2013年)以及第9,423,353号;第9,784,661号;第9,983,132号;第10,006,852号;第10,078,045号;第10,036,699号;第10,222,316号;第10,288,546号;第10,324,019号;第10,408,758号;第10,451,538号;第10,620,111号美国专利;以及第2017/0133857号;第2017/0328826号;第2017/0350803号;第2018/0275042号;第2019/0376895号和第2019/0376894号美国专利,上述美国专利的公开内容通过本发明的引用,成为本发明的一部分。

[0082] 在某些实施例中,系统是粒子分析仪,其中,无论是否将粒子以物理方式分选到收集容器中,均可采用粒子分析系统401(图4A)来分析和表征粒子。图4A显示了用于进行基于计算的样品分析和粒子表征的粒子分析系统的功能框图。在一些实施例中,粒子分析系统401是流动系统。图4A所示的粒子分析系统401可执行本发明所述的全部或部分方法。粒子分析系统401包括一个流体系统402。流体系统402可包括一个样品管405和一个位于所述样品管内的移动流柱,或流体系统402可与样品管405和移动流柱耦合,所述样品管中样品的粒子403(例如细胞)沿公共样品路径409移动。

[0083] 粒子分析系统401包括一个检测系统404,可在每个粒子沿公共样品路径经过一个或多个检测站时收集来自每个粒子的信号。检测站408一般是指公共样品路径的受监测区域407。在一些实施方式中,检测可包括在粒子403经过受监测区域407时检测所述粒子的光或一个或多个其他特性。图4A显示了一个检测站408及一个监测区407。粒子分析系统401的一些实施方式可包括多个检测站。此外,一些检测站可监测一个以上区域。

[0084] 每个信号具有信号值,形成每个粒子的数据点。如上所述,该数据可称为事件数据。数据点可以是多维数据点,包括粒子各种特性的测量值。检测系统404在第一时间间隔内收集一系列此类数据点。

[0085] 粒子分析系统401还可包括一个控制系统306。控制系统406可包括一个或多个处

理器、一个振幅控制电路和/或一个频率控制电路。所示的控制系统可以与流体系统402可操作关联。控制系统可根据检测系统404在第一时间间隔内收集到的数据点的泊松分布和数量,生成至少一部分第一时间间隔内信号频率的计算值。控制系统406可进一步根据所述部分第一时间间隔内数据点的数量,生成实验信号频率。控制系统406还可将所述实验信号频率与信号频率计算值或预定信号频率进行比较。

[0086] 图4B显示了根据本发明一个说明性实施例所述的用于流式细胞术的系统400。系统400包括一个流式细胞仪410、一个控制器/处理器490和一个存储器495。流式细胞仪410包括一个或多个激发激光器415a-415c、一个聚焦透镜420、一个流动腔425、一个前向散射检测器430、一个侧向散射检测器435、一个荧光收集透镜440、一个或多个分束器445a-445g、一个或多个带通滤波器450a-450e、一个或多个长通(“LP”)滤波器455a-455b和一个或多个荧光检测器460a-460f。

[0087] 激发激光器115a-c发射激光束形式的光。在图4B的示例系统中,从激发激光器415a-415c发射的激光束的波长分别为488nm、633nm和325nm。激光束首先通过一个或多个分束器445a和445b进行引导。分束器445a透射波长为488nm的光,反射波长为633nm的光。分束器445b透射紫外光(波长在10-400nm范围内的光)并反射488nm和633nm的光。

[0088] 然后,激光束被引导到聚焦透镜420,所述透镜将光束聚焦到流动室425中样品粒子所在的流动流部分上。流动腔是将流动流中的粒子(通常每次一个)引导到聚焦激光束进行探测的流体系统的一部分。流动腔可包括一个台式细胞仪中的流动室或空气流式细胞仪中的喷嘴尖端。

[0089] 根据粒子的特征,例如尺寸、内部结构,以及是否存在一个或多个附着或天然存在于粒子之上或之中的荧光分子,在各种不同的波长下,来自激光束的光通过衍射、折射、反射、散射和吸收及再发射与样品中的粒子相互作用。通过分束器445a-445g、带通滤波器450a-450e、长通滤波器455a-455b和荧光收集透镜440中的一种或多种,可以将荧光发射以及衍射光、折射光、反射光和散射光路由到前向散射检测器430、侧向散射检测器435以及一个或多个荧光检测器460a-460f中的一个或多个。

[0090] 荧光收集透镜440收集通过粒子与激光束的相互作用发射的光,并将其路由到一个或多个分束器和滤波器。带通滤波器(如带通滤波器450a-450e)允许较窄范围的波长通过滤波器。例如,带通滤波器450a是510/20滤波器。第一个数字代表光谱带的中心。第二个数字提供了光谱带的范围。因此,510/20滤波器在光谱带中心每侧延伸10nm,或者从500nm延伸到520nm。短通滤波器透射小于等于指定波长的光。长通滤波器(例如长通滤波器455a-455b)透射大于等于指定波长的光。例如,长通滤波器455a,即670nm长通滤波器,透射大于等于670nm的光。通常选用滤波器来优化用于特定荧光染料的检测器的特异性。滤波器可使透射到检测器的光的光谱带接近荧光染料的发射峰值。

[0091] 分束器在不同方向上引导不同波长的光。滤波器特性(例如短通和长通)可表征分束器。例如,分束器445g是620SP分束器,这意味着分束器445g透射小于等于620nm波长的光,并且在不同方向上反射大于620nm的光。在一个实施例中,分束器445a-445g可包括一个光学镜,例如二向色镜。

[0092] 前向散射检测器430略微偏离通过流动室的直射光束的轴线,可检测衍射光以及主要在前向上穿过或围绕粒子传播的激发光。前向散射检测器检测到的光的强度取决于粒

子的总体尺寸。前向散射检测器可包括一个光电二极管。侧向散射检测器435检测来自粒子表面和内部结构的折射光和反射光,往往随着粒子结构复杂性的增加而增加。可使用一个或多个荧光检测器460a-460f检测来自与粒子相关联的荧光分子的荧光发射。侧向散射检测器435和荧光检测器可包括光电倍增管。在前向散射检测器430、侧向散射检测器435和荧光检测器处检测到的信号可由检测器转换成电子信号(电压)。该数据可提供关于样品的信息。

[0093] 本领域技术人员应认识到,根据本发明实施例所述的流式细胞仪不限于图4B所示的流式细胞仪,而是可包括任何本领域已知的任何流式细胞仪。例如,流式细胞仪可具有任何数量的各种波长和各种不同配置的激光器、分束器、滤波器和检测器。

[0094] 工作时,流式细胞仪由控制器/处理器490控制,来自检测器的测量数据可存储在存储器495中并由控制器/处理器490处理。虽然未明确示出,但是控制器/处理器490与检测器耦合以从其接收输出信号,还可与流式细胞仪400的电气和机电部件耦合以控制激光器、流体流动参数等。所述系统还可具有输入/输出(I/O)能力497。存储器495、控制器/处理器490和I/O 497可以全部作为流式细胞仪410的组成部分。在此类实施例中,显示器也可以构成I/O能力497的一部分,用于向细胞仪400的用户呈现实验数据。可替代地,存储器495和控制器/处理器490以及I/O能力中的部分或全部可以是一个或多个外部设备(例如通用计算机)的一部分。在一些实施例中,存储器495和控制器/处理器490中的部分或全部可与细胞仪410进行无线或有线通信。控制器/处理器490与存储器495和I/O 497一起执行与流式细胞仪实验的准备和分析相关的各种功能。

[0095] 图4B所示的系统包括六个不同的检测器,所述检测器检测如从流动室425到每个检测器的光束路径中滤波器和/或分束器的配置所定义的六个不同波段(在本发明中可称为用于给定检测器的“滤波器窗口”)中的荧光。用于流式细胞仪实验的不同荧光分子将在其各自的特征波段发光。为了与检测器的滤波器窗口大体上保持一致,可选择用于实验的特定荧光标签及其相关荧光发射带。然而,由于提供了更多检测器,并且使用了更多标签,滤波器窗口与荧光发射光谱不可能完美对应。一般事实是,尽管特定荧光分子的发射光谱的峰值可以位于一个特定检测器的滤波器窗口内,该标签的一些发射光谱也将与一个或多个其他检测器的滤波器窗口重叠。这可称为溢出。I/O 497可接收关于流式细胞仪实验的数据,所述实验包含一组荧光标签以及具有多个标记的多个细胞群体,每个细胞群体具有所述多个标记的子集。I/O 497还可接收向一个或多个细胞群体分配一个或多个标记的生物数据、标记密度数据、发射光谱数据、向一个或多个标记分配标签的数据以及细胞仪配置数据。流式细胞仪实验数据(例如标签光谱特征和流式细胞仪配置数据)也可存储在存储器495中。控制器/处理器490可评估向标记分配标签的一个或多个分配结果。

[0096] 在某些实施例中,根据本公开实施例的流式细胞术系统如图4C所示。系统470包括激光器471(例如637nm激光器)、激光器472(例如561nm激光器)、激光器473(例如488nm激光器)、激光器474(例如405nm激光器)和激光器475(例如349nm激光器),用于对流动流中通过流动室477传播的样品进行辐照。采用光学元件471a-475a,将来自激光器471-475的光传送到流动室477,光学元件471a-475a可包括一个或多个收集透镜、分束器、带通滤波器和二向色镜。来自每个激光器的光通过聚焦透镜476聚焦到流动室477上。

[0097] 采用本发明所述的一种不同的光检测模块,对来自根据某些实施例的每个激光器

所辐照粒子的光进行检测。如图1所示,每个光检测模块包括一个光学调节组件(如双重远心透镜)和一个波长分离器组件,如一个或多个线性可变带通滤波器(如长通线性可变带通滤波器和短通线性可变带通滤波器的组合,或长通线性边缘滤波器和短通线性边缘滤波器的组合)。在图4C中,光检测模块478a可检测来自采用激光器471(例如采用637nm激光器)辐照的通过流动室477传播的粒子的光;光检测模块478b可检测来自采用激光器472(例如采用561nm激光器)辐照的通过流动室477传播的粒子的光;光检测模块478c可检测来自采用激光器473(例如采用488nm激光器)辐照的通过流动室477传播的粒子的光;光检测模块478d可检测来自采用激光器474(例如采用405nm激光器)辐照的通过流动室477传播的粒子的光;光检测模块478e可检测来自采用激光器475(例如采用349nm激光器)辐照的通过流动室477传播的粒子的光。在图4C所示的实施例中,使用了一个不同的光检测模块,从每条激光光线中检测来自流动流的光。在实施例中,所述光检测模块可沿着流动流以任意角度排列在任意位置。在某些实例中,如图4C所示,所述光检测模块沿着流动流的纵轴排成一排。根据每个激光器的辐照位置的不同,所述光检测模块可沿着流动流纵轴彼此相隔1mm或以上,例如5mm或以上,例如10mm或以上,例如25mm或以上,例如50mm或以上,例如100mm或以上,包括250mm或以上。

[0098] 系统470还包括输入/输出(I/O) 497a,输入/输出(I/O) 497a可接收关于流式细胞仪实验的数据,所述实验具有一组荧光标签以及具有多个标记的多个细胞群体,每个细胞群体具有所述多个标记的子集。I/O 497a还可接收向一个或多个细胞群体分配一个或多个标记的生物数据、标记密度数据、发射光谱数据、向一个或多个标记分配标签的数据以及细胞仪配置数据。流式细胞仪实验数据(例如标签光谱特征和流式细胞仪配置数据)也可存储在存储器495a中。控制器/处理器490a可评估并识别向标记分配标签的一个或多个分配结果。

[0099] 图5是用于分析和显示生物事件的粒子分析仪控制系统(例如分析控制器500)的一个示例的功能框图。分析控制器500可实现用于控制生物事件图形显示的各种过程。

[0100] 粒子分析仪或分选系统502可采集生物事件数据。例如,流式细胞仪可生成流式细胞事件数据。粒子分析仪502可向分析控制器500提供生物事件数据。粒子分析仪或分选系统502与分析控制器500之间可设有数据通信信道。通过数据通信信道,可以向分析控制器500提供生物事件数据。

[0101] 分析控制器500可从粒子分析仪或分选系统502接收生物事件数据。从粒子分析仪或分选系统502接收到的生物事件数据可包括流式细胞事件数据。分析控制器500可向显示设备506提供图形显示,包括生物事件数据的第一图表。例如,分析控制器500可进一步将目标区域呈现为显示设备506所示的覆盖在第一图表上的一组生物事件数据周围的门。在一些实施例中,所述门可以是在单参数直方图或双变量图上绘制的一个或多个目标图形区域的逻辑组合。在一些实施例中,可采用显示器显示粒子参数或饱和的检测器数据。

[0102] 分析控制器500可进一步在显示设备506上显示门内生物事件数据,其与门外生物事件数据中的其他事件不同。例如,分析控制器500可呈现包含在门内的生物事件数据的颜色,其与门外生物事件数据的颜色不同。可将显示设备506实现为监视器、平板电脑、智能手机或其他可呈现图形界面的电子设备。

[0103] 分析控制器500可从第一输入设备接收识别门的门选择信号。例如,可将所述第一

输入设备实现为鼠标510。鼠标510可向分析控制器500发送门选择信号,识别需在显示设备506上显示或通过该显示设备操纵的门(例如,当光标位于所需的门上或门中时,单击此处即可)。在一些实施方式中,可将第一设备实现为键盘508或其他用于向分析控制器500提供输入信号的装置,例如触摸屏、手写笔、光学检测器或语音识别系统。一些输入设备可包括多项输入功能。在此类实施方式中,每项输入功能均可被视为输入设备。例如,如图5所示,鼠标510可包括鼠标右键和鼠标左键,其中每个键均可生成触发事件。

[0104] 触发事件可使分析控制器500改变数据显示方式以及显示设备506上实际显示的数据部分,并且/或者提供输入信息以进行进一步处理,例如选择目标群体以进行粒子分选。

[0105] 在一些实施例中,分析控制器500可检测何时由鼠标510发起门选择。分析控制器500可进一步自动修改图表可视化以促进门控过程。修改可基于分析控制器500接收到的生物事件数据的特定分布。

[0106] 分析控制器500可与存储设备504连接。存储设备504可接收并存储来自分析控制器500的生物事件数据。存储设备504还可接收并存储来自分析控制器500的流式细胞事件数据。存储设备504可进一步允许通过分析控制器500检索生物事件数据,例如流式细胞事件数据。

[0107] 显示设备506可从分析控制器500接收显示数据。显示数据可包括生物事件数据的图表以及概述图表部分的门。显示设备506可进一步根据从分析控制器500接收到的输入信息,结合来自粒子分析仪502、存储设备504、键盘508和/或鼠标510的输入信息,改变呈现的信息。

[0108] 在一些实施方式中,分析控制器500可生成用户界面以接收用于分选的示例事件。例如,所述用户界面可包括一个用于接收示例事件或示例图像的控件。可在收集样品的事件数据之前,或者根据部分样品的初始事件集,提供示例事件或图像或示例门。

[0109] 图6A是根据本发明所述一个实施例的粒子分选机系统600(例如粒子分析仪或分选系统502)的示意图。在某些实施例中,粒子分选机系统600是细胞分选机系统。如6A所示,液滴形成传感器602(例如压电振荡器)与流体导管601耦合,流体导管601可与喷嘴603耦合,可包括喷嘴603,或者可以是喷嘴603。在流体导管601内,鞘液604以流体力学方式将包含粒子609的样品流体606聚焦到移动液柱608(例如液流)中。在移动液柱608内,粒子609(例如细胞)排列成单列,横穿监测区611(例如激光与液流交汇处),并受到辐照源612(如激光)的辐照。液滴形成传感器602振动,使移动液柱608断裂成多个液滴610,其中一些液滴包含粒子609。

[0110] 在运行过程中,由检测站614(例如事件检测器)确定目标粒子(或目标细胞)何时横穿监测区611。检测站614馈入定时电路628,定时电路628再馈入闪光充电电路630。在液滴断裂点,在定时液滴延迟(Δt)的提醒下,可以对移动液柱608进行闪光充电,以便使目标液滴带电。目标液滴可包括一个或多个待分选的粒子或细胞。然后,可以通过激活偏转板(未显示)对带电液滴进行分选,将带电液滴偏转到收集管或多孔或微孔样品板等容器中,在容器中,孔或微孔可与特别目标液滴相关联。如图6A所示,可在排放容器638中收集液滴。

[0111] 当目标粒子通过监测区611时,检测系统616(例如液滴边界检测器)起到自动确定液滴驱动信号相位的作用。第7,679,039号美国专利对示例性液滴边界检测器进行了描述,

所述美国专利通过本发明的整体引用,成为本发明的一部分。检测系统616允许仪器准确计算出每个检测粒子在液滴中的位置。检测系统616可以馈入振幅信号620和/或相位信号618,进而(通过放大器622)馈入振幅控制电路626和/或频率控制电路624。振幅控制电路626和/或频率控制电路624进而又控制液滴形成传感器602。振幅控制电路626和/或频率控制电路624可包含在控制系统中。

[0112] 在某些实施方式中,分选电子设备(例如检测系统616、检测站614和处理器640)可与存储器耦合,所述存储器可存储检测到的事件和基于事件的分选决策。分选决策可包含在粒子的事件数据中。在某些实施方式中,检测系统616和检测站614可以作为单个检测单元实现,也可以通信方式耦合,以便能够通过检测系统616或检测站614其中的一个收集事件测量值并提供给非收集元件。

[0113] 图6B是根据本发明所述一个实施例的粒子分选机系统的示意图。图6B所示的粒子分选机系统600包括偏转板652和654。可通过倒刺中的液流充电线施加电荷。这样就形成了含有待分析粒子610的液滴流610。可采用一个或多个光源(例如激光器)对粒子进行辐照,以生成光散射和荧光信息。通过分选电子设备或其他检测系统(图6B中未示出)对粒子信息进行分析。偏转板652和654可以独立控制,以吸引或排斥带电液滴,将液滴导向目的地收集容器(例如,672、674、676或678其中的一个)。如图6B所示,可以控制偏转板652和654,将粒子沿第一路径662引向收集容器674或沿第二路径668引向收集容器678。如果所述粒子不是目标粒子(例如,在规定分选范围内未显示散射或照明信息),则偏转板可允许粒子继续沿流动路径664流动。这种不带电的液滴可以经抽气机670等进入废物容器。

[0114] 分选电子设备可包含在内,以启动测量值收集、接收粒子的荧光信号以及确定如何调节偏转板,实现粒子分选。图6B所示实施例的示例实施方式包括美国BD公司(Becton, Dickinson and Company)(新泽西州富兰克林湖)提供的BD FACSAria™系列流式细胞仪。

[0115] 计算机控制系统

[0116] 本公开的方面进一步包括计算机控制系统,其中,所述系统进一步包括一台或多台实现完全自动化或部分自动化的计算机。在某些实施例中,系统包括一台计算机,所述计算机具有一个计算机可读存储介质,存储介质上存储有计算机程序,其中,所述计算机程序加载到计算机上时包括以下指令:采用光检测系统,对沿着流动流通过探测区域传播的粒子进行辐照,所述光检测系统具有一个波长分离器组件、一个光调节组件以及一个光电检测器,其中,所述波长分离器组件可使具有跨越波长分离器的预定光谱范围的光通过,所述光调节组件可在粒子沿着流动流通过探测区域传播时,跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光,所述光电检测器可检测到跨越波长分离器传送的光;以及对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器信号脉冲。

[0117] 在某些实施例中,所述计算机控制系统包括的存储器存储有用于根据光电检测器信号脉冲识别粒子的指令。在某些实施例中,所述计算机控制系统包括的存储器存储有用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子尺寸的指令。在其他实施例中,所述计算机控制系统包括的存储器存储有用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子质心的指令。在其他实施例中,所述计算机控制系统包括的存储器存储有用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子取向的指令。在其他实施例中,所述计算机控制系统包括的存储器存储有用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子偏心率的指令。在其他实施例中,所述计算机控制系统包括的存储器存

储有助于根据光电检测器信号脉冲确定粒子的共定位系数(即共定位程度)。在某些实施例中,所述计算机控制系统包括的存储器具有用于根据光电检测器信号脉冲生成粒子分选决策的指令。

[0118] 在实施例中,所述系统包括一个输入模块、一个处理模块和一个输出模块。所述主题系统可包括硬件和软件组成部分,其中硬件组成部分可采取一个或多个平台的形式,例如以服务器的形式,通过在系统的一个或多个典型计算机平台上或跨一个或多个典型计算机平台执行软件应用程序来实现功能构件,即执行系统的特定任务(例如管理信息的输入和输出、处理信息等)的系统构件。

[0119] 系统可包括一个显示器和操作员输入设备。例如,操作员输入设备可以是键盘、鼠标等。所述处理模块包括一个可访问存储器的处理器,所述存储器包含用于执行所述主题方法的步骤的指令。所述处理模块可包括一个操作系统、一个图形用户界面(GUI)控制器、一个系统存储器、记忆存储设备、输入和输出控制器、一个高速缓存存储器、一个数据备份单元及许多其他设备。所述处理器可以是市售处理器,也可以是一种现在或将来可用的其他处理器。所述处理器执行操作系统,所述操作系统以已知的方式通过接口与固件和硬件连接,帮助处理器协调和执行各种计算机程序的功能,所述计算机程序可采用各种编程语言,例如Java、Perl、C++以及其他本领域已知的高级或低级语言及其组合。所述操作系统通常与处理器协作,协调并执行计算机其他组成部分的功能。所述操作系统还提供调度、输入和输出控制、文件和数据管理、存储器管理和通信控制及相关服务,所述服务均基于已知技术。所述处理器可以是任何适当的模拟或数字系统。在某些实施例中,处理器包括模拟电子设备,所述模拟电子设备允许用户根据第一和第二光信号手动对齐光源与流动流。在某些实施例中,所述处理器包括提供反馈控制(例如负反馈控制)的模拟电子设备。

[0120] 所述系统存储器可以是各种已知或未来记忆存储设备中的任何一种。示例包括任何常用的随机存取存储器(RAM)、磁性介质(例如常驻硬盘或磁带)、光学介质(例如读写光盘)、闪存设备或其他记忆存储设备。所述记忆存储设备可以是各种已知或未来设备中的任何一种,包括光盘驱动器、磁带驱动器、可移动硬盘驱动器或软盘驱动器。此类记忆存储设备通常分别对光盘、磁带、可移动硬盘或软盘等程序存储介质(未示出)进行读取和/或写入。这些程序存储介质中的任何一种,或者其他当前使用或以后可能开发的程序存储介质,都可视为计算机程序产品。应理解,这些程序存储介质通常存储计算机软件程序和/或数据。计算机软件程序,也称为计算机控制逻辑,通常存储在系统存储器和/或配合记忆存储设备使用的程序存储设备中。

[0121] 在一些实施例中,本发明描述了一种计算机程序产品,包括包含控制逻辑(计算机软件程序,包括程序代码)的计算机可用介质。由处理器和计算机执行时,控制逻辑使处理器执行本发明所述的功能。在其他实施例中,主要(例如)通过硬件状态机在硬件中实现一些功能。对相关领域的技术人员来说显而易见的是,实现硬件状态机可以执行本发明所述的功能。

[0122] 存储器可以是任何可供处理器存储和检索数据的适当设备,例如磁性、光学或固态存储设备(包括磁盘、光盘、磁带或RAM,或者任何其他适当的固定式或便携式设备)。所述处理器可包括一个通用数字微处理器,其由承载必要程序代码的计算机可读介质适当编程。编程可通过通信信道远程提供给处理器,或者先前保存在计算机程序产品(例如存储器

或其他利用任何存储器相关设备的便携式或固定式计算机可读存储介质)中。例如,磁盘或光盘可承载编程,并且可由磁盘写入器/读取器读取。本发明所述的系统还包括(例如)以计算机程序产品的形式对用于实施上述方法的算法进行编程。根据本发明所述的编程可记录在计算机可读介质(例如任何可供计算机直接读取和访问的介质)上。此类介质包括但不限于:磁性存储介质,例如软盘、硬盘存储介质和磁带;光学存储介质,例如CD-ROM;电气存储介质,例如RAM和ROM;便携式闪存驱动器;以及这些类别的混合介质,例如磁性/光学存储介质。

[0123] 所述处理器还可访问通信信道,与远程位置的用户进行通信。远程位置是指用户不直接与系统接触,将输入信息从外部设备(例如连接到广域网(“WAN”)、电话网、卫星网或任何其他适当通信信道的计算机,包括移动电话(即智能手机))中继到输入管理器。

[0124] 在一些实施例中,根据本公开所述的系统可包括一个通信接口。在一些实施例中,所述通信接口包括一个接收机和/或一个发射机,用于与网络 and/或另一设备进行通信。所述通信接口可用于有线或无线通信,包括但不限于射频(RF)通信(例如射频识别(RFID))、Zigbee通信协议、WiFi、红外、无线通用串行总线(USB)、超宽带(UWB)、**Bluetooth®**通信协议以及蜂窝通信,例如码分多址(CDMA)或全球移动通信系统(GSM)。

[0125] 在一个实施例中,所述通信接口可包括一个或多个通信端口,例如物理端口或接口,例如USB端口、RS-232端口或任何其他适当的电气连接端口,以实现(例如医生办公室或医院环境中)所述主题系统与用于类似补充数据通信的计算机终端等其他外部设备之间的数据通信。

[0126] 在一个实施例中,所述通信接口用于红外通信、**Bluetooth®**通信或任何其他适当的无线通信协议,使所述主题系统能够与计算机终端和/或网络、支持通信的移动电话、个人数字助理等其他设备或任何其他可供用户结合使用的通信设备进行通信。

[0127] 在一个实施例中,所述通信接口通过手机网络、短信服务(SMS)、与连接到互联网的局域网(LAN)上的个人计算机(PC)的无线连接或WiFi热点上与互联网的WiFi连接,利用因特网协议(IP)提供用于数据传送的连接。

[0128] 在一个实施例中,所述主题系统通过通信接口(例如采用802.11或**Bluetooth®**RF协议等公共标准,或者IrDA红外协议)与服务器设备进行无线通信。所述服务器设备可以是另一便携式设备,例如智能手机、个人数字助理(PDA)或笔记本电脑;或者更大的设备,例如台式计算机、家用电器等。在一些实施例中,所述服务器设备具有一个显示器,例如液晶显示器(LCD),以及一个输入设备,例如按钮、键盘、鼠标或触摸屏。

[0129] 在一些实施例中,所述通信接口通过采用上述一个或多个通信协议和/或机制的网络或服务器,自动或半自动地传递所述主题系统(例如可选数据存储单元)中存储的数据。

[0130] 输出控制器可包括用于各种已知显示设备中的任何一种的控制器,所述显示设备用于向用户(无论是人还是机器,无论是本地还是远程)呈现信息。如果一种所述显示设备提供视觉信息,通常可以在逻辑和/或物理上将该信息整理成一系列像素。图形用户界面(GUI)控制器可包括用于在系统与用户之间提供图形输入和输出接口以及处理用户输入信息的各种已知或未来软件程序中的任何一种。计算机的功能构件彼此可通过系统总线进行通信,在替代实施例中可利用网络或其他类型的远程通信完成其中一些通信。输出管理器

还可根据已知技术,例如通过因特网、电话或卫星网络,向远程位置的用户提供处理模块生成的信息。输出管理器对数据的呈现可基于各种已知技术。例如,数据可包括SQL、HTML或XML文档、电子邮件或其他文件或其他形式的数据。数据可包括因特网URL地址,以便用户可以从远程源检索更多SQL、HTML、XML或其他文档或数据。尽管所述主题系统中存在的一个或多个平台通常属于俗称为服务器的计算机大类,它们也可以是任何类型的已知计算机平台或将来开发的类型。然而,它们还可以是主架计算机、工作站或其他计算机类型。这些平台可通过任何已知或未来类型的布线或其他通信系统(包括无线系统)以联网或其他方式连接。它们可以同地协作,也可以在物理上分开。各种操作系统可能应用于任何计算机平台,这很可能取决于所选择的计算机平台的类型和/或型号。合适的操作系统包括Windows NT®、Windows XP、Windows 7、Windows 8、iOS、Oracle Solaris、Linux、OS/400、Compaq Tru64 Unix、SGI IRIX、Siemens Reliant Unix等。

[0131] 图7显示了根据某些实施例所述的示例计算设备700的一般架构。图7所示计算设备700的一般架构包括布置的计算机硬件和软件组成部分。计算设备700可包括比图7所示构件更多(或更少)的构件。然而,不必出于公开目的示出所有常规构件。如图所示,计算设备700包括一个处理单元710、一个网络接口720、一个计算机可读介质驱动器730、一个输入/输出设备接口740、一个显示器750和一个输入设备760,所述全部设备彼此可通过通信总线进行通信。网络接口720可提供与一个或多个网络或计算系统的连通性。因此,处理单元710可通过网络从其他计算系统或服务接收信息和指令。处理单元710还可与存储器770进行通信,并进一步通过输入/输出设备接口740向可选显示器750提供输出信息。输入/输出设备接口740还可接收来自可选输入设备760(例如键盘、鼠标、数字笔、麦克风、触摸屏、手势识别系统、语音识别系统、游戏手柄、加速度计、陀螺仪或其他输入设备)的输入信息。

[0132] 为了实施一个或多个实施例,存储器770可包含处理单元710执行的计算机程序指令(在一些实施例中归类为模块或组成部分)。存储器770一般包括RAM、ROM和/或其他永久、辅助或非暂时性计算机可读介质。存储器770可存储操作系统772,所述操作系统提供在计算设备700的一般管理和操作方面供处理单元710使用的计算机程序指令。存储器770可进一步包括用于实施本公开的方面的计算机程序指令及其他信息。采用光谱鉴别法从流动流的粒子中检测光的方法

[0133] 如上所述,本公开的各个方面还包括采用光谱鉴别法从流动流的粒子中检测光的方法。根据某些实施例的方法包括采用光源对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照;采用光检测系统,从流动流的粒子中检测光,所述光检测系统具有一个波长分离器组件、一个光调节组件和一个光电检测器,其中,所述波长分离器组件可使具有跨越波长分离器的预定光谱范围的光通过,所述光调节组件可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时,跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光,所述光电检测器可检测到跨越波长分离器传送的光;以及对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器信号脉冲。

[0134] 根据某些实施例的方法包括跨越 $1\mu\text{m}$ 或以上、 $5\mu\text{m}$ 或以上(例如 $10\mu\text{m}$ 或以上,例如 $15\mu\text{m}$ 或以上,例如 $20\mu\text{m}$ 或以上,例如 $25\mu\text{m}$ 或以上,例如 $50\mu\text{m}$ 或以上,例如 $75\mu\text{m}$ 或以上,例如 $100\mu\text{m}$ 或以上,例如 $250\mu\text{m}$ 或以上,例如 $500\mu\text{m}$ 或以上,例如 $750\mu\text{m}$ 或以上,例如跨越 1mm 或以上,例如 2mm 或以上,例如 3mm 或以上,例如 4mm 或以上,例如 5mm 或以上,例如 6mm 或以上,例如 7mm 或以上,例如 8mm 或以上,例如 9mm 或以上(包括 10mm 或以上)的探询区域)的流动流探询区域对

沿着流动传播的粒子进行辐照。

[0135] 在某些实施例中,方法包括采用连续波光源对流动流中的粒子进行辐照,例如,光源提供不间断的光通量,并保持对流动流中粒子的辐照,几乎不会出现不必要的光强变化。在某些实施例中,所述连续光源发出非脉冲或非频闪照射。在某些实施例中,所述连续光源提供基本恒定的发射光强度。例如,所述方法可包括采用连续光源对流动流中的粒子进行辐照,所述连续光源在辐照时间间隔内提供发射光强,其变化幅度为10%或以下,例如9%或以下,例如8%或以下,例如7%或以下,例如6%或以下,例如5%或以下,例如4%或以下,例如3%或以下,例如2%或以下,例如1%或以下,例如0.5%或以下,例如0.1%或以下,例如0.01%或以下,例如0.001%或以下,例如0.0001%或以下,例如0.00001%或以下,包括在辐照时间间隔内发射光强变化幅度为0.000001%或以下。

[0136] 在其他实施例中,方法包括采用脉冲光源对流动流中的粒子进行辐照,例如在以预定的时间间隔发射光的情况下,每个时间间隔具有预定的辐照持续时间(即脉冲宽度)。在某些实施例中,方法包括采用脉冲光源在流动流探测区域内对粒子进行周期性闪光辐照。例如,每个光脉冲的频率可以是0.0001kHz或更高,例如0.0005kHz或更高,例如0.001kHz或更高,例如0.005kHz或更高,例如0.01kHz或更高,例如0.05kHz或更高,例如0.1kHz或更高,例如0.5kHz或更高,例如1kHz或更高,例如2.5kHz或更高,例如5kHz或更高,例如10kHz或更高,例如25kHz或更高,例如50kHz或更高,包括100kHz或更高。在某些实例中,所述光源的脉冲辐照频率范围为0.00001kHz-1000kHz,例如0.00005kHz-900kHz,例如0.0001kHz-800kHz,例如0.0005kHz-700kHz,例如0.001kHz-600kHz,例如0.005kHz-500kHz,例如0.01kHz-400kHz,例如0.05kHz-300kHz,例如0.1kHz-200kHz,包括1kHz-100kHz。每个光脉冲的光辐照持续时间(即脉冲宽度)可能有所不同,可以是0.000001ms或更长,例如0.000005ms或更长,例如0.00001ms或更长,例如0.00005ms或更长,例如0.0001ms或更长,例如0.0005ms或更长,例如0.001ms或更长,例如0.005ms或更长,例如0.01ms或更长,例如0.05ms或更长,例如0.1ms或更长,例如0.5ms或更长,例如1ms或更长,例如2ms或更长,例如3ms或更长,例如4ms或更长,例如5ms或更长,例如10ms或更长,例如25ms或更长,例如50ms或更长,例如100ms或更长,包括500ms或更长。例如,光辐照的持续时间范围可以是0.000001ms-1000ms,例如0.000005ms-950ms,例如0.00001ms-900ms,例如0.00005ms-850ms,例如0.0001ms-800ms,例如0.0005ms-750ms,例如0.001ms-700ms,例如0.005ms-650ms,例如0.01ms-600ms,例如0.05ms-550ms,例如0.1ms-500ms,例如0.5ms-450ms,例如1ms-400ms,例如5ms-350ms,包括10ms-300ms。

[0137] 如上所述,粒子可采用任何方便的光源进行辐照,并可包括激光和非激光光源。在某些实施例中,所述光源是非激光光源,例如发射特定波长或狭窄波长范围的窄带光源。在某些实例中,所述窄带光源发射具有窄波长范围的光,例如50nm或以下,例如40nm或以下,例如30nm或以下,例如25nm或以下,例如20nm或以下,例如15nm或以下,例如10nm或以下,例如5nm或以下,例如2nm或以下,包括发射特定波长光(即单色光)的光源。可以采用任何方便的窄带光源方案,如窄波长LED。可以采用任何方便的宽带光源方案,如卤素灯、氙弧灯、氙弧灯、稳定型光纤耦合宽带光源、连续光谱宽带LED、超辐射发光二极管、半导体发光二极管、宽光谱LED白光光源、多LED集成白光光源等宽带光源或其任何组合。在某些实施例中,所述光源包括一排LED。在某些实例中,所述光源包括多个单色发光二极管,其中每个单色

发光二极管输出具有不同波长的光。在某些实例中,所述光源包括多个多色发光二极管,输出具有预定光谱宽度的光,例如,所述多个多色发光二极管共同输出的光的光谱宽度范围为200nm-1500nm,例如225nm-1475nm,例如250nm-1450nm,例如275nm-1425nm,例如300nm-1400nm,例如325nm-1375nm,例如350nm-1350nm,例如375nm-1325nm,例如400nm-1300nm,例如425nm-1275nm,例如450nm-1250nm,例如475nm-1225nm,包括500nm-1200nm。

[0138] 在某些实施例中,方法包括使用激光器(如脉冲激光器或连续波激光器)对粒子进行辐照。例如,所述激光器可以是二极管激光器,如紫外二极管激光器、可见二极管激光器和近红外二极管激光器。在其他实施例中,所述激光器可以是氦氖(HeNe)激光器。在某些实例中,所述激光器是气体激光器,例如氦氖激光器、氩激光器、氦激光器、氙激光器、氮激光器、CO₂激光器、CO激光器、氟氩(ArF)准分子激光器、氟氪(KrF)准分子激光器、氟氙(XeCl)准分子激光器或氟氙(XeF)准分子激光器或其组合。在其他实例中,所述主题系统包括一个染料激光器,例如二苯乙烯、香豆素或罗丹明激光器。在其他实例中,目标激光器包括一个金属蒸气激光器,例如氦镉(HeCd)激光器、氦汞(HeHg)激光器、氦硒(HeSe)激光器、氦银(HeAg)激光器、铯激光器、氖铜(NeCu)激光器、铜激光器或金激光器及其组合。在其他实例中,所述主题系统包括一个固态激光器,例如红宝石激光器、Nd:YAG激光器、NdCrYAG激光器、Er:YAG激光器、Nd:YLF激光器、Nd:YVO₄激光器、Nd:YCa₄O(BO₃)₃激光器、Nd:YCOB激光器、钛蓝宝石激光器、铥YAG激光器、镱YAG激光器、Yb₂O₃激光器或掺铈激光器及其组合。

[0139] 所述光源可从任何适当的距离辐照流动流中的粒子,例如距离0.001mm或以上,例如0.005mm或以上,例如0.01mm或以上,例如0.05mm或以上,例如0.1mm或以上,例如0.5mm或以上,例如1mm或以上,例如5mm或以上,例如10mm或以上,例如25mm或以上,包括距离100mm或以上。此外,流动流的辐照可以(例如相对于流动流垂直轴)成任何适当的角度,例如10°-90°、15°-85°、20°-80°、25°-75°,包括30°-60°,例如90°角。

[0140] 在实施主题方法的过程中,来自辐照粒子的光通过光调节组件跨越波长分离器连续传送。在某些实例中,从辐照粒子传送的光是发射光,如来自粒子的荧光。在某些实例中,从辐照粒子传送的光是散射光。在某些实例中,所述散射光是前向散射光。在某些实例中,所述散射光是后向散射光。在某些实例中,所述散射光是侧向散射光。在某些实例中,从辐照粒子传送的光是透射光。在采用光调节组件使粒子沿着流动流通过探测区域传播时,来自粒子的光跨越波长分离器连续传送。在某些实例中,所述光调节组件可扩大从流动流中的粒子收集的光的空间分离度。在某些实例中,所述光调节组件可将空间分离度扩大5%或更多,例如10%或更多,例如25%或更多,例如50%或更多,例如75%或更多,例如90%或更多。在某些实例中,所述光调节组件将空间分离度扩大1.1倍或更多,例如1.2倍或更多,例如1.3倍或更多,例如1.4倍或更多,例如1.5倍或更多,例如2倍或更多,例如3倍或更多,例如4倍或更多,例如5倍或更多,例如6倍或更多,例如7倍或更多,例如8倍或更多,例如9倍或更多,包括10倍或更多。

[0141] 所述光调节组件可以是任何方便的光学方案,用于收集和传播从粒子到波长分离器的光。在某些实施例中,所述光调节组件对从粒子收集到的光进行准直,并跨越波长分离器传送准直光。在某些实施例中,所述光调节组件以相对于双折射偏振干涉仪表面从60°到90°变化的角度(例如相对于波长分离器表面从65°到90°变化的角度,例如从70°到90°,例如从75°到90°、从80°到90°,包括从85°到90°)将入射光从辐照粒子传送到波长分离器。在

某些实施例中,所述光调节组件将来自辐照粒子的垂直入射光传送到波长分离器的表面(即,来自光调节组件的入射光与波长分离器的表面正交)。

[0142] 所述光调节组件可以是任何方便的光学方案,用于跨越波长分离器收集和连续传送来自沿着流动流通过探测区域传播的粒子的光。在一些实施例中,所述光调节组件包括一个复合透镜。在某些实施例中,所述光调节组件包括一个复合透镜和一个或多个孔径光阑,例如,在一个或多个孔径光阑位于光调节组件中复合透镜焦点处的情况。在某些实例中,所述光调节组件包括一个远心透镜。在某些实例中,所述光调节组件包括一个物方远心透镜。在某些实例中,所述光调节组件包括一个像方远心透镜。在某些实例中,所述光调节组件包括一个双重远心透镜(例如双侧远心透镜)。

[0143] 在实施例中,将从粒子收集到的光跨越波长分离器连续传送(例如,沿着波长分离器,一系列不同位置,详见下文)。根据流动流速率(即粒子传播速率)的不同,光可以0.000001mm/秒或更快的速率(例如0.000005mm/秒或更快,例如0.00001mm/秒或更快,例如0.00005mm/秒或更快,例如0.0001mm/秒或更快,例如0.0005mm/秒或更快,例如0.001mm/秒或更快,例如0.005mm/秒或更快,例如0.01mm/秒或更快,例如0.05mm/秒或更快,例如0.1mm/秒或更快,例如0.5mm/秒或更快,包括1mm/秒或更快)跨越波长分离器传送。

[0144] 在某些实例中,所述波长分离器使具有波长范围200nm-1200nm(例如360nm-960nm)的光通过。在某些实施例中,所述波长分离器包括一个线性可变光学滤波器。在某些实例中,所述波长分离器包括一个或多个线性可变带通滤波器。例如,所述波长分离器可包括一个长通线性可变带通滤波器、一个短通线性可变带通滤波器或长通线性可变带通滤波器和短通线性可变带通滤波器的组合。在其他实施例中,所述波长分离器包括一个或多个线性可变边缘滤波器。例如,所述波长分离器可包括一个长通线性可变边缘滤波器、一个短通线性可变边缘滤波器或长通线性可变边缘滤波器和短通线性可变边缘滤波器的组合。

[0145] 从波长分离器传送来自粒子的光,然后光电检测器进行检测。在某些实施例中,光从波长分离器通过光学调节组件传送到光电检测器。如上所述,所述光学调节组件可包括透镜、反射镜、准直器、针孔、狭缝、分束器以及其他类型的光学调节组件。在某些实例中,来自波长分离器的光通过聚焦透镜传播到光电检测器。在某些实例中,来自波长分离器的光通过物镜传播到光电检测器。物镜的特性可能会各不相同。例如,目标物镜的数值孔径也可能各不相同,范围为0.01-1.7,例如0.05-1.6,例如0.1-1.5,例如0.2-1.4,例如0.3-1.3,例如0.4-1.2,例如0.5-1.1,包括范围为0.6-1.0的数值孔径。同样,物镜的焦距也各不相同,范围为10mm-20mm,例如10.5mm-19mm,例如11mm-18mm,包括12mm-15mm。

[0146] 在实施例中,光电检测系统包括一个或多个光电检测器,例如2个或更多,例如3个或更多,例如4个或更多,例如5个或更多,例如6个或更多,例如7个或更多,例如8个或更多,例如9个或更多,包括10个或更多光电检测器。用于实施主题方法的光电检测器可以是任何方便的光检测方案,包括但不限于光电传感器或光电检测器,例如有源像素传感器(APS)、象限光电二极管、图像传感器、电荷耦合器件(CCD)、增强电荷耦合器件(ICCD)、发光二极管、光子计数器、辐射热计、热电检测器、光敏电阻、光伏电池、光电二极管、光电倍增管、光电晶体管、量子点光电导体或光电二极管及其组合,以及其他光电检测器。在某些实施例中,所述光电检测器是光电倍增管,例如每个区域的有源检测表面积范围为 0.01cm_2 - 10cm_2 (例如 0.05cm_2 - 9cm_2 ,例如 0.1cm_2 - 8cm_2 ,例如 0.5cm_2 - 7cm_2 ,包括 1cm_2 - 5cm_2)的光电倍增管。

[0147] 可在1个或多个波长(例如2个或更多波长、5个或更多不同波长、10个或更多不同波长、25个或更多不同波长、50个或更多不同波长、100个或更多不同波长、200个或更多不同波长、300个或更多不同波长)下采用光电检测器测量光,包括在400个或更多不同波长下测量来自流动流中粒子的光。可连续或离散间隔测量光。在某些实例中,目标检测器可连续测量光。在其他实例中,目标检测器进行离散间隔测量,例如每隔0.001ms、0.01ms、0.1ms、1ms、10ms、100ms(包括1000ms)或以其他间隔测量光。

[0148] 在每个离散时间间隔内,可以对来自光源的光的测量值进行一次或多次(例如2次或2次以上、3次或3次以上、5次或5次以上,包括10次或10次以上)选取。在某些实施例中,采用光电检测器对来自光源的光进行2次或2次以上测量,并且在某些情况下计算数据的平均值。

[0149] 在某些实施例中,从粒子中检测到的光是透射光,例如采用明场光检测器检测到的光。在其他实施例中,从每个粒子检测到的光都是发射光,例如粒子发光(即荧光或磷光)。在这些实施例中,每个粒子可包括一个或多个荧光团,对两个或多个光源的辐照进行响应,荧光团发出荧光。例如,每个粒子可包括2个或更多荧光团,例如3个或更多,例如4个或更多,例如5个或更多,例如6个或更多,例如7个或更多,例如8个或更多,例如9个或更多,包括10个或更多荧光团。在某些实例中,每个粒子包括一个荧光团,对光源的辐照进行响应,荧光团发出荧光。在一些实施例中,目标荧光团可包括但不限于适用于分析应用(如流式细胞术、成像等)的染料,如吖啶染料、蒽醌染料、芳基甲烷染料、二芳基甲烷染料(如二苯基甲烷染料)、含叶绿素染料、三芳基甲烷染料(如三苯基甲烷染料)、偶氮染料、重氮染料、硝基染料等、三芳基甲烷染料(如三苯基甲烷染料)、偶氮染料、重氮染料、硝基染料、亚硝基染料、酞菁染料、花青染料、不对称花青染料、醌亚胺染料、连氮染料、二氢吖啶染料、番红染料、引达胺、靛酚染料、氟染料、恶嗪染料、恶酮染料、噻嗪染料、噻唑染料、咕吨染料、茛染料、派若宁染料、氟染料、罗丹明染料、菲啶染料,以及结合两种或两种以上上述染料(如偶联)的染料、具有一种或多种单体染料单元的聚合染料以及两种或两种以上上述染料的混合物。很多染料可从各种渠道购买,例如,分子探针公司(俄勒冈州尤金)、Dyomics GmbH(德国耶拿)、Sigma-Aldrich(密苏里州圣路易斯)、Sirigen公司(加州圣塔芭芭拉)和Exciton(俄亥俄州代顿)。例如,荧光团可包括4-乙酰氨基-4'-异硫氰基二苯乙烯-2,2'-二磺酸;吖啶及其衍生物,如吖啶、吖啶橙、吖啶黄、吖啶红和异硫氰酸酯吖啶;别藻蓝蛋白、藻红蛋白、多甲藻黄素-叶绿素-蛋白质、5-(2'-氨基乙基)萘胺-1-磺酸(EDANS);4-氨基-N-[3-乙烯砜基]苯基]萘酰亚胺-3,5二磺酸盐(荧光黄VS);N-(4-苯胺基-1-萘基)马来酰亚胺;氨基苯甲酰胺;亮黄;香豆素及其衍生物,如香豆素、7-氨基-4-甲基香豆素(AMC,香豆素120)、7-氨基-4-三氟甲基香豆素(香豆素151);氰及其衍生物,如四氯四溴荧光素、Cy3、Cy3.5、Cy5、Cy5.5和Cy7;4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI);5',5''-二溴邻苯三酚磺酞(溴邻苯三酚红);7-二乙氨基-3-(4'-异硫氰酸苯基)-4-甲基香豆素;二乙基氨基香豆素;二乙烯三胺五乙酸酯;4,4'-二异硫氰基二苯乙烷-2,2'-二磺酸;4,4'-二异硫氰酸基-2,2'-二磺酸;5-[二甲基氨基]萘-1-磺酰氯(DNS,丹酰氯);4-(4'-二甲基氨基苯基偶氮)苯甲酸(DABCYL);4-二甲基氨基苯基偶氮-4'-异硫氰酸酯(DABITC);曙红及其衍生物,如曙红和曙红异硫氰酸酯;赤藓红及其衍生物,如赤藓红B和赤藓红异硫氰酸酯;乙啶;荧光素及其衍生物,如5-羧基荧光素(FAM)、5-(4,6-二氯三嗪-2-基)氨基荧光素(DTAF)、2'7'-二甲氧基-4'5'-二氯-6-羧基荧

光素 (JOE)、异硫氰酸荧光素 (FITC)、氯三嗪基荧光素、萘荧光素和QFITC (XRITC) ; 荧光胺; IR144; IR1446; 绿色荧光蛋白 (GFP) ; 珊瑚礁荧光蛋白 (RCFP) ; LissamineTM ; 丽丝胺罗丹明, 荧光黄; 孔雀石绿异硫氰酸酯; 4-甲基伞形酮; 邻甲酚酞; 硝基酪氨酸; 对氨基苯磺酸; 尼罗红; 俄勒岗绿; 酚红; B-斑蝥素; 邻苯二甲醛; 茈及其衍生物, 如茈、茈丁酸酯和1-茈丁酸琥珀酰亚胺酯; 活性红4 (CibacronTM亮红3B-A) ; 罗丹明及衍生物, 如6-羧基-X-罗丹明 (ROX)、6-羧基罗丹明 (R6G)、4,7-二氯罗丹明丽丝胺、罗丹明B磺酰氯、罗丹明 (Rhod)、罗丹明B、罗丹明123、罗丹明X异硫氰酸酯、磺酰罗丹明B、磺酰罗丹明101、磺酰罗丹明101的磺酰氯衍生物 (德克萨斯红)、N,N,N',N'-四甲基-6-羧基罗丹明 (TAMRA)、四甲基罗丹明和四甲基罗丹明异硫氰酸酯 (TRITC) ; 核黄素; 玫红酸和铋螯合衍生物; 咕吨; 染料共轭聚合物 (即聚合物吸附染料), 如异硫氰酸荧光素-葡聚糖, 以及结合两种或两种以上染料 (如偶联) 的染料、具有一种或多种单体染料单元的聚合染料以及两种或两种以上上述染料的混合物或其组合。

[0150] 在某些实例中, 所述荧光团是聚合染料。在所述方法的某些实例中, 所述聚合染料包括共轭聚合物。共轭聚合物 (CP) 的特征是离域电子结构, 所述离域电子结构包括不饱和键 (如双键和/或三键) 和饱和键 (如单键) 交替排列的主链, 其中 π 电子可以从一个键移动到另一个键。因此, 共轭主链可使聚合染料具有延伸线性结构, 聚合物重复单元之间的键角有限。例如, 虽然蛋白质和核酸也是聚合态, 但在某些情况下并不会形成延伸杆状结构, 而是折叠成更高阶的三维形状。此外, 共轭聚合物可能会形成“刚性杆”聚合物主链, 并在沿着聚合物主链的单体重复单元之间经历有限的扭曲 (如扭转) 角。在某些实例中, 所述聚合染料包括具有刚性杆结构的共轭聚合物。所述聚合染料的结构特点会对分子的荧光性质产生影响。

[0151] 目标聚合染料包括但不限于Gaylord等人在第20040142344号、第20080293164号、第20080064042号、第20100136702号、第20110256549号、第20110257374号、第20120028828号、第20120252986号、第20130190193号、第20160264737号、第20160266131号、第20180231530号、第20180009990号、第20180009989号和第20180163054号美国出版物中描述的聚合染料, 上述美国出版物的公开内容通过本发明的整体引用, 成为本发明的一部分; 以及Gaylord等人, 《美国化学会志》, 2001, 123 (26), 第6417-6418页; Feng等人, 《化学会评论》, 2010, 39, 2411-2419; 以及Traina等人, 《美国化学会志》, 2011, 133 (32), 第12600-12607页中描述的聚合染料, 上述出版物的公开内容通过本发明的整体引用, 成为本发明的一部分。

[0152] 所述聚合染料可具有一种或多种理想的光谱性质, 例如特定的最大吸收波长、特定的最大发射波长、消光系数、量子产率等 (参见Chattopadhyay等人, “Brilliant violet 荧光团: 免疫荧光实验用新型超亮荧光化合物。”《流式细胞仪A部分》, 81A (6), 456-466, 2012)。在某些实施例中, 所述聚合染料具有介于280nm和475nm之间的吸收曲线。在某些实施例中, 所述聚合染料具有280nm和475nm范围内的最大吸收值 (最大激励值)。在某些实施例中, 所述聚合染料吸收波长范围在280nm和475nm之间的入射光。在某些实施例中, 所述聚合染料具有400nm和850nm (例如415nm和800nm) 范围内的最大发射波长, 其中, 目标最大发射值的具体示例包括但不限于: 421nm、510nm、570nm、602nm、650nm、711nm和786nm。在某些实例中, 所述聚合染料具有某个范围 (选自410nm-430nm、500nm-520nm、560nm-580nm、590nm-610nm、640nm-660nm、700nm-720nm和775nm-795nm) 内的最大发射波长。在某些实施

例中,所述聚合染料具有最大发射波长421nm。在某些实例中,所述聚合染料具有最大发射波长510nm。在某些情况下,所述聚合染料具有最大发射波长570nm。在某些实施例中,所述聚合染料具有最大发射波长602nm。在某些实例中,所述聚合染料具有最大发射波长650nm。在某些情况下,所述聚合染料具有最大发射波长711nm。在某些实施例中,所述聚合染料具有最大发射波长786nm。在某些实例中,所述聚合染料具有最大发射波长421nm $\pm$ 5nm。在某些实施例中,所述聚合染料具有最大发射波长510nm $\pm$ 5nm。在某些实例中,所述聚合染料具有最大发射波长570nm $\pm$ 5nm。在某些实例中,所述聚合染料具有最大发射波长602nm $\pm$ 5nm。在某些实施例中,所述聚合染料具有最大发射波长650nm $\pm$ 5nm。在某些实例中,所述聚合染料具有最大发射波长711nm $\pm$ 5nm。在某些实例中,所述聚合染料具有最大发射波长786nm $\pm$ 5nm。在某些实施例中,所述聚合染料具有从421nm、510nm、570nm、602nm、650nm、711nm和786nm中选择的最大发射值。

[0153] 可采用的特定聚合染料包括但不限于BD Horizon Brilliant™染料,例如BD Horizon Brilliant™紫色染料(例如BV421、BV510、BV605、BV650、BV711、BV786);BD Horizon Brilliant™紫外线染料(例如BUV395、BUV496、BUV737、BUV805);BD Horizon Brilliant™蓝色染料(例如BB515)(BD Biosciences,加利福尼亚州圣何塞)。

[0154] 在某些实施例中,从粒子中检测到的光是散射光。本发明中使用的术语“散射光”在其常规意义上是指通过光束的反射、折射或偏转从粒子传播光能偏离了入射光束路径。在某些实例中,从流动流的粒子中检测到的散射光是前向散射光(FSC)。在其他实例中,从流动流的粒子中检测到的散射光是侧向散射光。在其他实例中,从流动流的粒子中检测到的散射光是后向散射光。

[0155] 在一个或多个光电检测器通道(例如3个或更多,例如4个或更多,例如5个或更多,例如6个或更多,例如7个或更多,例如8个或更多,例如9个或更多,包括10个或更多光电检测器通道)中检测来自粒子的光。在某些实施例中,方法包括对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器信号脉冲。在某些实施例中,方法包括对检测到的光进行响应,在每个光电检测器通道中产生一个或多个信号脉冲。在某些实例中,方法包括对检测到的光进行响应,在每个光电检测器通道中产生多个数据信号,例如产生2个或更多数据信号,例如3个或更多数据信号,例如4个或更多数据信号,例如5个或更多数据信号,例如6个或更多数据信号,例如7个或更多数据信号,例如8个或更多数据信号,例如9个或更多数据信号,包括对检测到的光进行响应,在每个光电检测器通道中产生10个或更多数据信号。在某些实例中,所述方法包括对跨越波长分离器从粒子中检测到的光进行响应,在一个不同的光电检测器通道中产生一个或多个数据信号。

[0156] 在某些实施例中,从所述多个光电检测器数据信号中产生光电检测器信号脉冲。在某些实例中,所述光电检测器信号脉冲包括跨越预定光谱范围收集到的数据信号。在某些实例中,所述光电检测器信号脉冲包括跨越具有波长范围100nm-1500nm(例如150nm-1450nm,例如200nm-1400nm,例如250nm-1350nm,例如300nm-1300nm,例如350nm-1250nm,例如400nm-1200nm,例如450nm-1150nm,例如500nm-1100nm,例如550nm-1050nm)的光谱收集到的数据信号,包括使具有波长范围600nm-1000nm的光通过。在某些实施例中,所述产生的光电检测器信号脉冲包括跨越具有波长范围360nm-960nm的光谱收集到的数据信号。

[0157] 在某些实施例中,每个光电检测器数据信号具有独特的形状或图样。在某些实施

例中,每个光电检测器信号脉冲具有可识别的形状或图样,例如,所述光电检测器信号脉冲可用于识别粒子组分(如荧光团)或粒子的一个或多个参数(如粒子形状、尺寸)。在某些实施例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲表征粒子的荧光团丰度。在其他实施例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲识别粒子上的荧光团类型。在其他实施例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲表征粒子的尺寸。在其他实施例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲表征粒子的质心。在某些实施例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲表征粒子的取向。在其他实施例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲表征粒子的偏心率。在其他实施例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲确定粒子的共定位系数(即共定位程度)。在某些实施例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲识别粒子。在某些实施例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲产生粒子分选决策。

[0158] 在某些实施例中,方法还包括分选粒子。本发明中使用的术语“分选”在其常规意义上是指分离样品的组分(例如含有细胞的液滴、含有非细胞粒子(如生物大分子)的液滴),以及在某些实例中,将分离出来的组分传送到一个或多个样品收集容器。例如,方法可包括分选一个样品的2个或更多组分(例如3个或更多组分、4个或更多组分、5个或更多组分、10个或更多组分、15个或更多组分),包括分选样品的25个或更多组分。在实施例中,方法包括根据光电检测器信号脉冲分选细胞。

[0159] 然后,可以根据收集到的整个粒子群的数据,通过“门控”进一步分析特定的目标亚群。为了选择适当的门控,需要绘制数据图,以尽可能获得最佳的亚群分离效果。在二维点阵图上绘制前向光散射(FSC)与侧向(即正交)光散射(SSC)的对比图,即可完成此程序。然后,选择粒子亚群(即门内细胞),并排除不在门内的粒子。如果需要,可以在计算机屏幕上用光标在所需亚群周围画一条线来选择门。然后,通过绘制这些粒子的其他参数(如荧光),仅对门内粒子进行进一步分析。如果需要,上述分析可产生样品中目标粒子的计数。

[0160] 在某些实施例中,方法包括分选样品组分,如以下美国专利所述:第10,006,852号;第9,952,076号;第9,933,341号;第9,784,661号;第9,726,527号;第9,453,789号;第9,200,334号;第9,097,640号;第9,095,494号;第9,092,034号;第8,975,595号;第8,753,573号;第8,233,146号;第8,140,300号;第7,544,326号;第7,201,875号;第7,129,505号;第6,821,740号;第6,813,017号;第6,809,804号;第6,372,506号;第5,700,692号;第5,643,796号;第5,627,040号;第5,620,842号;第5,602,039号美国专利;上述美国专利的公开内容通过本发明的整体引用,成为本发明的一部分。在某些实施例中,样品组分分选方法包括通过封闭式粒子分选模块分选粒子(例如生物样品中的细胞),例如第2017/0299493号美国专利出版物所述,所述美国专利出版物的公开内容通过本发明的引用,成为本发明的一部分。在某些实施例中,使用具有多个分选决策单元的分选决策模块分选样品的粒子(例如细胞),例如第2020/0256781号美国专利出版物所述,所述美国专利出版物的公开内容通过本发明的引用,成为本发明的一部分。在某些实施例中,样品组分分选方法包括使用具有偏转板的粒子分选模块分选粒子(例如,生物样品中的细胞),如2017年3月28日提交的第2017/0299493号美国专利出版物所述,所述美国专利出版物的公开内容通过本发明的引用,成为本发明的一部分。

[0161] 计算机可读存储介质

[0162] 本公开的方面进一步包括非暂时性计算机可读存储介质,其存储有用于实施所述

主题方法的指令。计算机可读存储介质可用于一台或多台实现用于实施本发明所述方法的系统的完全自动化或部分自动化的计算机。在某些实施例中,根据本发明中方法所述的指令可以以“编程”的形式编码到计算机可读介质上,其中,术语“计算机可读介质”是指任何参与向计算机提供指令和数据以供执行和处理的非暂时性存储介质。适当的非暂时性存储介质的示例包括软盘、硬盘、光盘、磁光盘、CD-ROM、CD-R、磁带、非易失性存储卡、ROM、DVD-ROM、蓝光盘、固态盘和网络附加存储(NAS)(无论此类设备位于计算机内部还是外部)。包含信息的文件可“存储”在计算机可读介质上,其中“存储”是指记录信息,使计算机以后可以访问和检索该信息。执行本发明所述的计算机实现方法时,可以以任意数量的计算机编程语言中的一种或多种语言进行编程。例如,此类语言包括Java(Sun Microsystems, Inc., 加利福尼亚州圣克拉拉)、Visual Basic(Microsoft Corp., 华盛顿州雷德蒙德)和C++(AT&T Corp., 新泽西州贝德明斯特)及任何其他许多语言。

[0163] 在某些实施例中,目标计算机可读存储介质包括存储在其上的计算机程序,其中,所述计算机程序加载到计算机上时包括指令,所述指令具有:对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照的算法;采用光检测系统检测来自沿着流动流通过探询区域传播的粒子的光的算法,所述系统具有一个波长分离器组件、一个光调节组件以及一个光电检测器,其中,所述波长分离器组件可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器,所述光调节组件可在粒子沿着流动流传播时,跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光,所述光电检测器可检测到跨越波长分离器传送的光;以及对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器信号脉冲的算法。

[0164] 在一些实施例中,所述非暂时性计算机可读存储介质包括的指令具有用于根据光电检测器信号脉冲识别粒子的算法。在某些实施例中,所述非暂时性计算机可读存储介质包括的指令具有用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子尺寸的算法。在其他实施例中,所述非暂时性计算机可读存储介质包括的指令具有用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子质心的算法。在其他实施例中,所述非暂时性计算机可读存储介质包括的指令具有用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子取向的算法。在某些实施例中,所述非暂时性计算机可读存储介质包括的指令具有用于根据光电检测器信号脉冲表征粒子偏心率的算法。在其他实施例中,所述非暂时性计算机可读存储介质包括的指令具有用于根据光电检测器信号脉冲确定粒子共定位系数(即共定位程度)的算法。在某些实施例中,所述非暂时性计算机可读存储介质包括的指令具有用于根据光电检测器信号脉冲生成粒子分选决策的算法。

[0165] 所述计算机可读存储介质可用于一个或多个具有显示器和操作员输入设备的计算机系统。例如,操作员输入设备可以是键盘、鼠标等。所述处理模块包括一个可访问存储器的处理器,所述存储器包含用于执行所述主题方法的步骤的指令。所述处理模块可包括一个操作系统、一个图形用户界面(GUI)控制器、一个系统存储器、记忆存储设备、输入和输出控制器、一个高速缓存存储器、一个数据备份单元及许多其他设备。所述处理器可以是市售处理器,也可以是一种现在或将来可用的其他处理器。所述处理器执行操作系统,所述操作系统以已知的方式通过接口与固件和硬件连接,帮助处理器协调和执行各种计算机程序的功能,所述计算机程序可采用各种编程语言,例如Java、Perl、C++以及其他本领域已知的高级或低级语言及其组合。所述操作系统通常与处理器协作,协调并执行计算机其他组成部分的功能。所述操作系统还提供调度、输入和输出控制、文件和数据管理、存储器管理和

通信控制及相关服务,所述服务均基于已知技术。

[0166] 套件

[0167] 本发明还提供了包括一个或多个主题系统组件的套件。根据某些实施例的套件包括一个双重远心透镜、一个可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器的波长分离器组件以及一个光电检测器(如光电倍增管)。在某些实施例中,所述波长分离器包括一个线性可变光学滤波器。在某些实例中,所述波长分离器包括一个短通线性可变带通滤波器。在某些实例中,所述波长分离器包括一个长通线性可变带通滤波器。在某些实施例中,套件包括一个短通线性可变带通滤波器和一个长通线性可变带通滤波器。在某些实例中,所述波长分离器包括一个短通线性可变边缘滤波器。在某些实例中,所述波长分离器包括一个长通线性可变边缘滤波器。在某些实例中,套件包括一个短通线性可变边缘滤波器和一个长通线性可变边缘滤波器。套件还可包括一个流动室喷嘴以及一个用于对流动流进行辐照的小玻璃管。套件还可包括一个光学调节组件,如透镜(如聚焦透镜、物镜)、反射镜、滤波器、光纤、波长分离器、针孔、狭缝、准直方案及其组合。在某些实例中,套件包括一个或多个光源,如激光器、LED、宽带光源或其组合。

[0168] 除上述组件以外,所述主题套件可进一步包括(在某些实施例中)用于实施所述主题方法的指令。这些指令可以以各种形式存在于所述主题套件中,其中一种或多种形式可以存在于所述套件中。这些指令的一种存在形式是在适当介质或基底(例如一张或多张印有信息的纸)上、套件包装中、包装说明书中等位置打印的信息。这些指令的另一形式是包含信息的计算机可读介质,例如软盘、光盘(CD)、便携式闪存驱动器等。这些指令的另一存在形式是可用于通过互联网访问被移除站点上信息的网址。

[0169] 实用功能

[0170] 所述主题方法、系统和计算机系统可用于各种应用,其中有望优化粒子识别、表征和分选。所述主题方法和系统可利用光谱鉴别法检测光,并可识别或表征流动流中的粒子。本公开还可用于流式细胞术,其中有望提供一种流式细胞仪,可在细胞分选期间改进细胞分选准确度、增强粒子收集、降低能量消耗、提高粒子充电效率、提高粒子充电准确度并增强粒子偏转。在实施例中,本公开减少了使用流式细胞仪分析样品时对用户输入或手动调节的需求。在某些实施例中,所述主题方法和系统提供使用时几乎无需任何人类输入即可调节流式细胞仪的完全自动方案。

[0171] 尽管附有权利要求,本公开也由以下条款限定:

[0172] 1.一种粒子分析仪,包括:

[0173] 一个光源,可对沿着流动流通过探测区域传播的粒子进行辐照;

[0174] 一个光检测系统,包括:

[0175] 一个波长分离器组件,可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器;

[0176] 一个光调节组件,可在粒子沿着流动流通过探测区域传播时,跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光;

[0177] 一个光电检测器,可检测跨越波长分离器传送的光;以及

[0178] 一个处理器,包括一个与处理器可操作耦合的存储器,其中,所述存储器包括存储在存储器上的指令,当处理器执行这些指令时,这些指令可对从波长分离器中检测到的光进行响应,使处理器产生光电检测器信号脉冲。

- [0179] 2. 根据条款1所述的粒子分析仪,其中,所述光调节组件包括一个双重远心透镜。
- [0180] 3. 根据条款1-2中任一项所述的粒子分析仪,其中,所述光源可跨越1 μ m或以上探询区域连续辐照沿着流动流传播的粒子。
- [0181] 4. 根据条款3所述的粒子分析仪,其中,所述光源可跨越1mm或以上的探询区域连续辐照沿着流动流传播的粒子。
- [0182] 5. 根据条款1-4中任一项所述的粒子分析仪,其中,所述波长分离器组件可使具有波长范围为200nm-1200nm的光通过波长分离器。
- [0183] 6. 根据条款1-4中任一项所述的粒子分析仪,其中,所述波长分离器组件可使具有波长范围为360nm-960nm的光通过波长分离器。
- [0184] 7. 根据条款1-6中任一项所述的粒子分析仪,其中,所述波长分离器组件包括一个线性可变光学滤波器。
- [0185] 8. 根据条款7所述的粒子分析仪,其中,所述波长分离器组件包括一个或多个线性可变带通滤波器。
- [0186] 9. 根据条款8所述的粒子分析仪,其中,所述波长分离器组件包括一个长通线性可变带通滤波器。
- [0187] 10. 根据条款8所述的粒子分析仪,其中,所述波长分离器组件包括一个短通线性可变带通滤波器。
- [0188] 11. 根据条款7所述的粒子分析仪,其中,所述波长分离器组件包括一个或多个线性可变边缘滤波器。
- [0189] 12. 根据条款11所述的粒子分析仪,其中,所述波长分离器组件包括一个长通线性可变边缘滤波器。
- [0190] 13. 根据条款11所述的粒子分析仪,其中,所述波长分离器组件包括一个短通线性可变边缘滤波器。
- [0191] 14. 根据条款1-13中任一项所述的粒子分析仪,其中,所述从沿着流动流传播的辐照粒子中检测到的光是通过探询区域的荧光。
- [0192] 15. 根据条款1-13中任一项所述的粒子分析仪,其中,所述从沿着流动流传播的辐照粒子中检测到的光是通过探询区域的散射光。
- [0193] 16. 根据条款1-15中任一项所述的粒子分析仪,其中,所述存储器包括存储在存储器上的指令,当处理器执行这些指令时,这些指令可使处理器根据光电检测器信号脉冲绘制检测到的光的波长谱图。
- [0194] 17. 根据条款1-15中任一项所述的粒子分析仪,其中,所述存储器包括存储在存储器上的指令,当处理器执行这些指令时,这些指令可使处理器根据光电检测器信号脉冲识别粒子。
- [0195] 18. 根据条款1-15中任一项所述的粒子分析仪,其中,所述存储器包括存储在存储器上的指令,当处理器执行这些指令时,这些指令可使处理器根据光电检测器信号脉冲产生粒子分选决策。
- [0196] 19. 根据条款1-18中任一项所述的粒子分析仪,其中,所述粒子分析仪进一步包括一台根据光电检测器信号脉冲分选粒子的粒子分选机。
- [0197] 20. 根据条款1-19中任一项所述的粒子分析仪,其中,所述粒子分析仪是流式细胞

仪的一部分。

[0198] 21.一种方法,包括:

[0199] 采用光源,对沿着流动流通过探询区域传播的粒子进行辐照;

[0200] 采用光检测系统检测流动流中来自粒子的光,所述光检测系统包括:

[0201] 一个波长分离器组件,可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器;

[0202] 一个光调节组件,可在粒子沿着流动流通过探询区域传播时,跨越波长分离器连续传送来自辐照粒子的光;以及

[0203] 一个光电检测器,可检测跨越波长分离器传送的光;以及

[0204] 对从波长分离器中检测到的光进行响应,产生光电检测器信号脉冲。

[0205] 22.根据条款21所述的方法,其中,所述光调节组件包括一个双重远心透镜。

[0206] 23.根据条款21-22中任一项所述的方法,其中,所述方法包括跨越1 μ m或以上探询区域连续辐照沿着流动流传播的粒子。

[0207] 24.根据条款3所述的粒子分析仪,其中,所述方法包括跨越1mm或更远的探询区域连续辐照沿着流动流传播的粒子。

[0208] 25.根据条款21-24中任一项所述的方法,其中,所述波长分离器组件可使具有波长范围为200nm-1200nm的光通过波长分离器。

[0209] 26.根据条款21-24中任一项所述的方法,其中,所述波长分离器组件可使具有波长范围为360nm-960nm的光通过波长分离器。

[0210] 27.根据条款21-26中任一项所述的方法,其中,所述波长分离器组件包括一个线性可变光学滤波器。

[0211] 28.根据条款27所述的方法,其中,所述波长分离器组件包括一个或多个线性可变带通滤波器。

[0212] 29.根据条款28所述的方法,其中,所述波长分离器组件包括一个长通线性可变带通滤波器。

[0213] 30.根据条款28所述的方法,其中,所述波长分离器组件包括一个短通线性可变带通滤波器。

[0214] 31.根据条款27所述的方法,其中,所述波长分离器组件包括一个或多个线性可变边缘滤波器。

[0215] 32.根据条款31所述的方法,其中,所述波长分离器组件包括一个长通线性可变边缘滤波器。

[0216] 33.根据条款31所述的方法,其中,所述波长分离器组件包括一个短通线性可变边缘滤波器。

[0217] 34.根据条款21-33中任一项所述的方法,其中,所述方法包括检测来自沿着流动流通过探询区域传播的辐照粒子的荧光。

[0218] 35.根据条款21-33中任一项所述的方法,其中,所述方法包括检测来自沿着流动流通过探询区域传播的辐照粒子的散射光。

[0219] 36.根据条款21-35中任一项所述的方法,其中,所述方法进一步包括根据光电检测器信号脉冲绘制检测到的光的波长谱图。

[0220] 37.根据条款21-35中任一项所述的方法,其中,所述方法进一步包括根据光电检

测器信号脉冲识别粒子。

[0221] 38. 根据条款21-35中任一项所述的方法,其中,所述方法进一步包括根据光电检测器信号脉冲产生分选决策。

[0222] 39. 根据条款38所述的方法,其中,所述方法进一步包括根据光电检测器信号脉冲分选粒子。

[0223] 40. 一种套件,包括:

[0224] 一个双重远心透镜;

[0225] 一个波长分离器,可使具有预定光谱范围的光通过波长分离器;以及

[0226] 一个光电检测器。

[0227] 41. 根据条款40所述的套件,其中,所述波长分离器包括一个线性可变光学滤波器。

[0228] 42. 根据条款41所述的套件,其中,所述波长分离器选自一个长通线性可变带通滤波器、一个短通线性可变带通滤波器、一个长通线性可变边缘滤波器、一个短通线性可变边缘滤波器及其组合。

[0229] 43. 根据条款42所述的套件,其中,所述套件包括一个长通线性可变带通滤波器和一个短通线性可变带通滤波器。

[0230] 44. 根据条款41-43中任一项所述的套件,进一步包括一个光调节组件。

[0231] 45. 根据条款44所述的套件,其中,所述光学调节组件包括一个聚焦透镜。

[0232] 46. 根据条款41-45中任一项所述的套件,进一步包括一个光源。

[0233] 47. 根据条款46所述的套件,其中,所述光源包括一个激光器。

[0234] 48. 根据条款47所述的套件,其中,所述光源包括一个连续波激光器。

[0235] 虽然为了理解清楚起见,已经通过说明和示例对上述发明进行了一些详细的描述,但对于本领域的普通技术人员来说,根据本发明的指导,显而易见的是,在不脱离所附权利要求的精神或范围的情况下,可以对其进行某些更改和修改。

[0236] 因此,上述内容仅说明了本发明的原理。应理解,本领域技术人员将能够设计各种布置,这些布置尽管在本发明中未明确描述或示出,但是体现了本发明的原理并且包括在其精神和范围内。此外,本发明所列举的所有示例和条件语言主要旨在帮助读者理解本发明的原理和诸位发明人为拓深领域而提供的概念,并且应被解释为不限于这些具体列举的示例和条件。此外,本发明中记载本发明的原理、方面和实施例及其特定示例的所有陈述旨在涵盖其结构和功能等同物。另外,其意图在于该等同物包括当前已知的等同物以及将来研发的等同物,即所研发的执行相同功能的任何要素(无论其结构如何)。另外,本发明公开的任何内容均无意专门向公众开放,无论此类公开是否在权利要求中明确列举。

[0237] 因此,本发明的范围并非旨在仅限于本发明所示和所述的示例性实施例。相反,所附权利要求体现了本发明的范围和精神。在权利要求书中,《美国专利法》第35篇第112(f)条或《美国专利法》第35篇第112(6)条被明确定义为只有在权利要求中此类限制以确切短语“方式”或确切短语“步骤”开始时,才作为权利要求中的限制而援引;如果权利要求中没有使用此类确切短语,则没有援引《美国专利法》第35篇第112(f)或《美国专利法》第35篇第112(6)条。

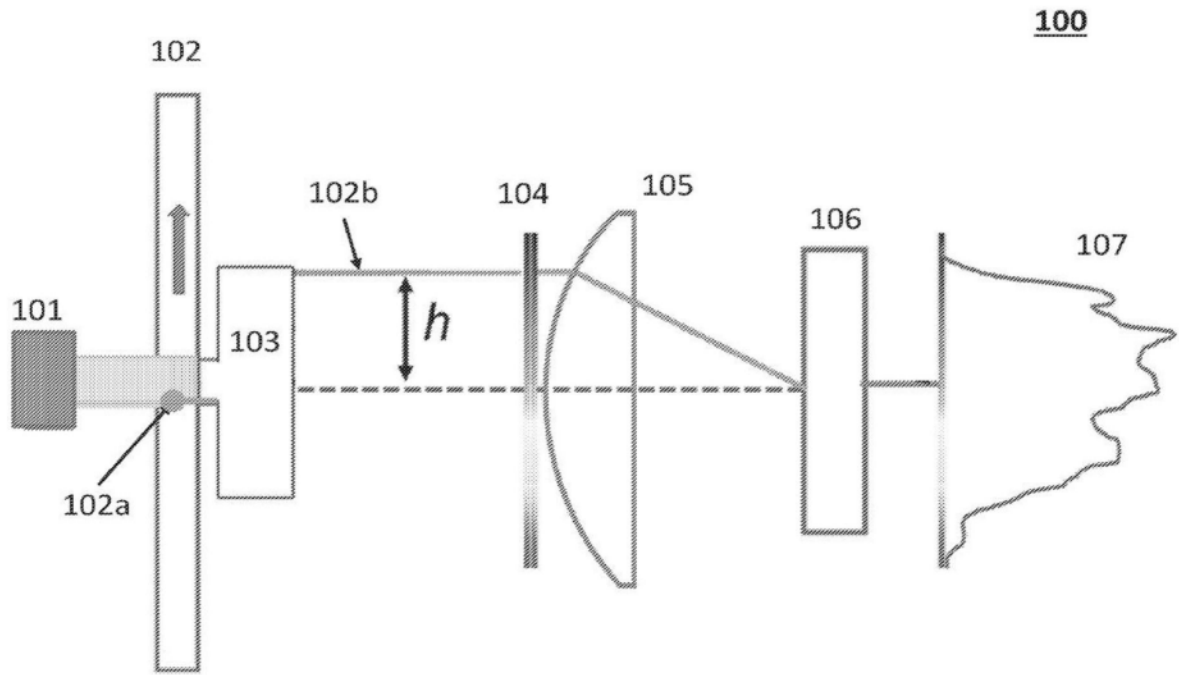


图1

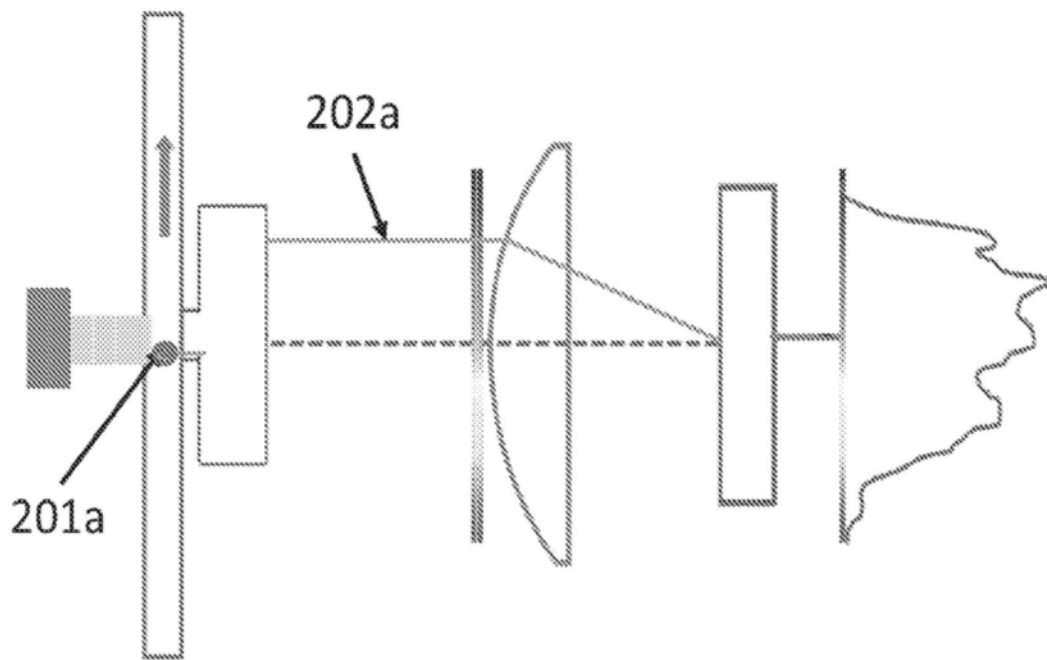


图2A

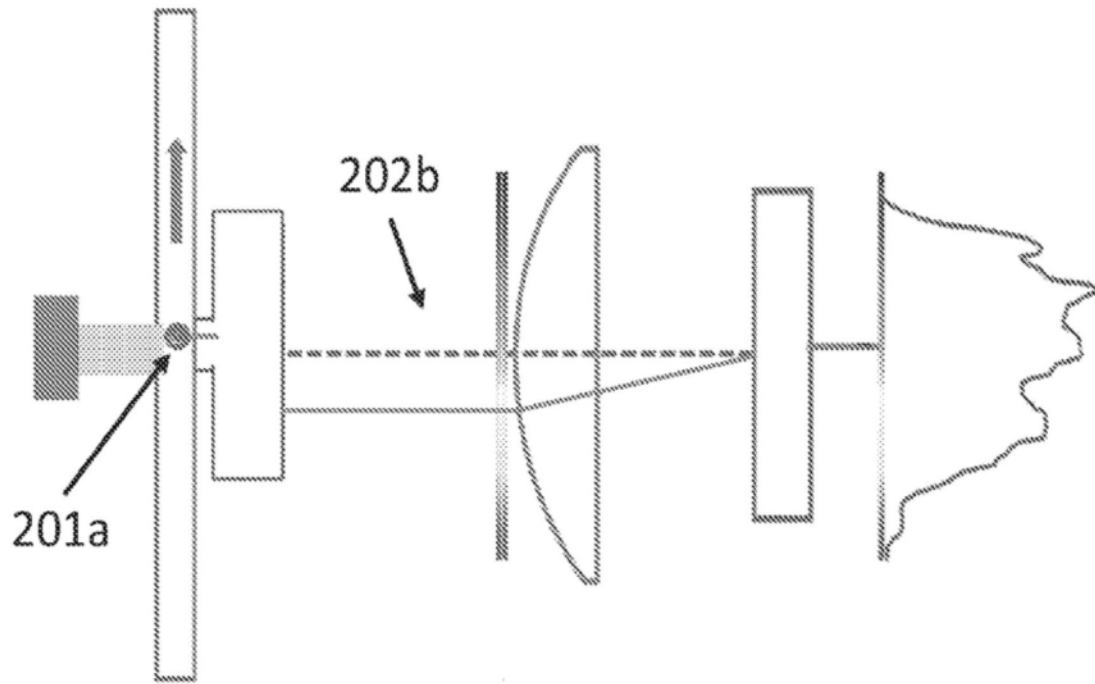


图2B

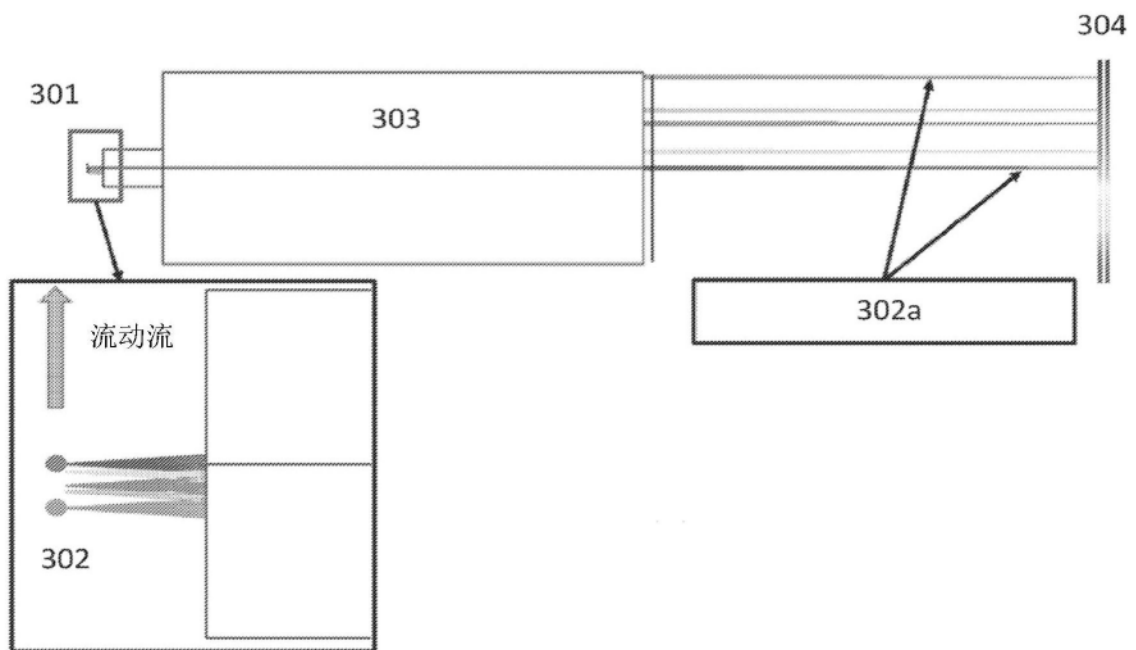


图3

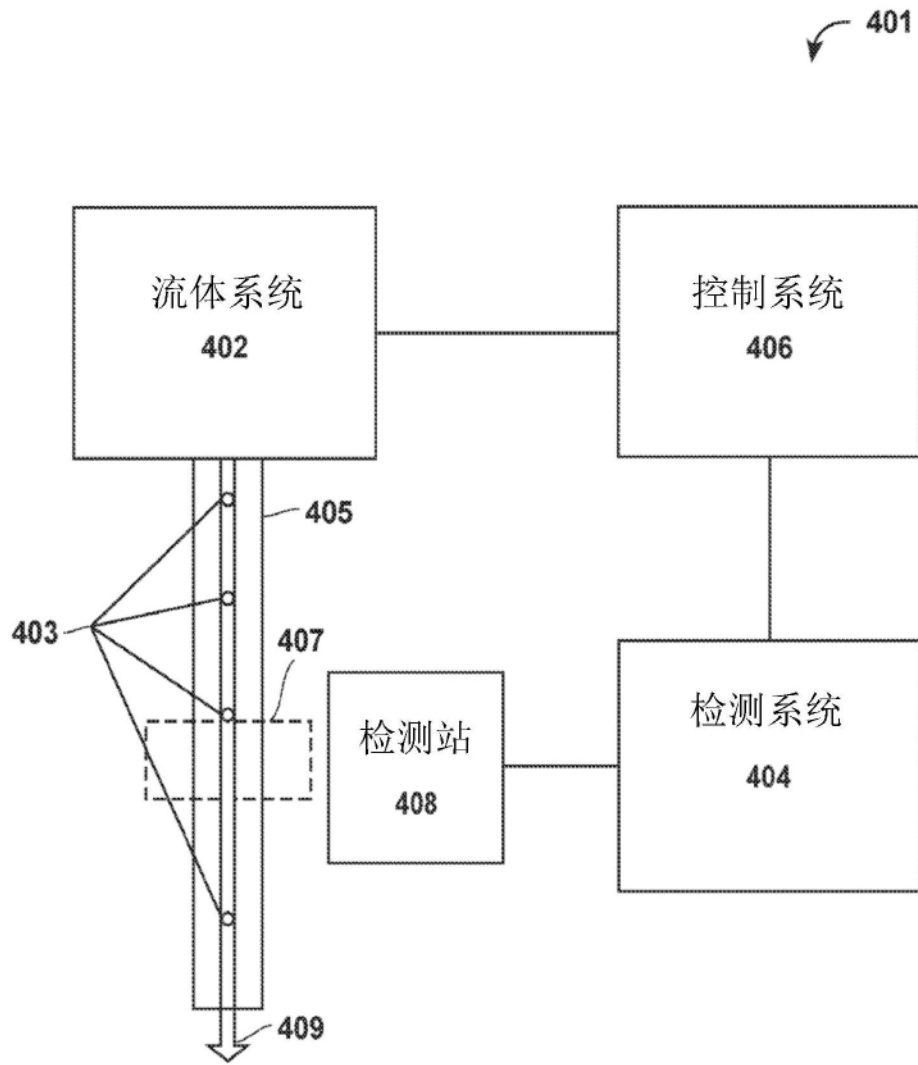


图4A

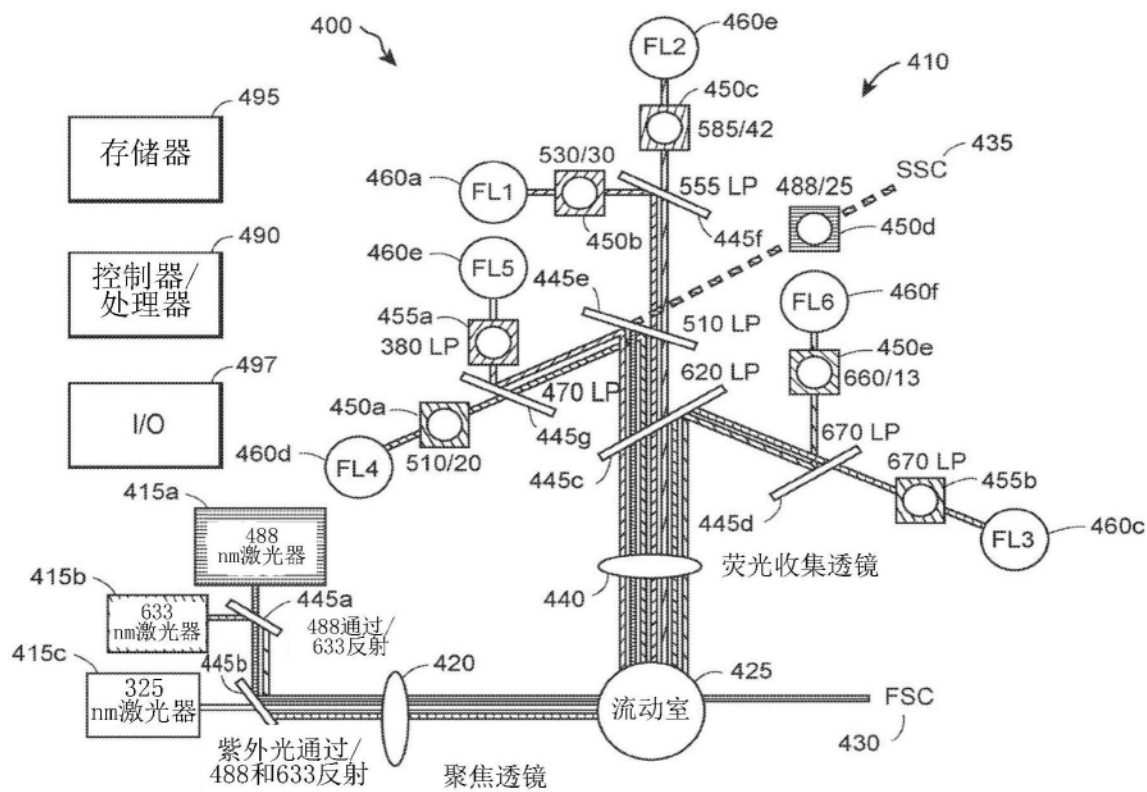


图4B

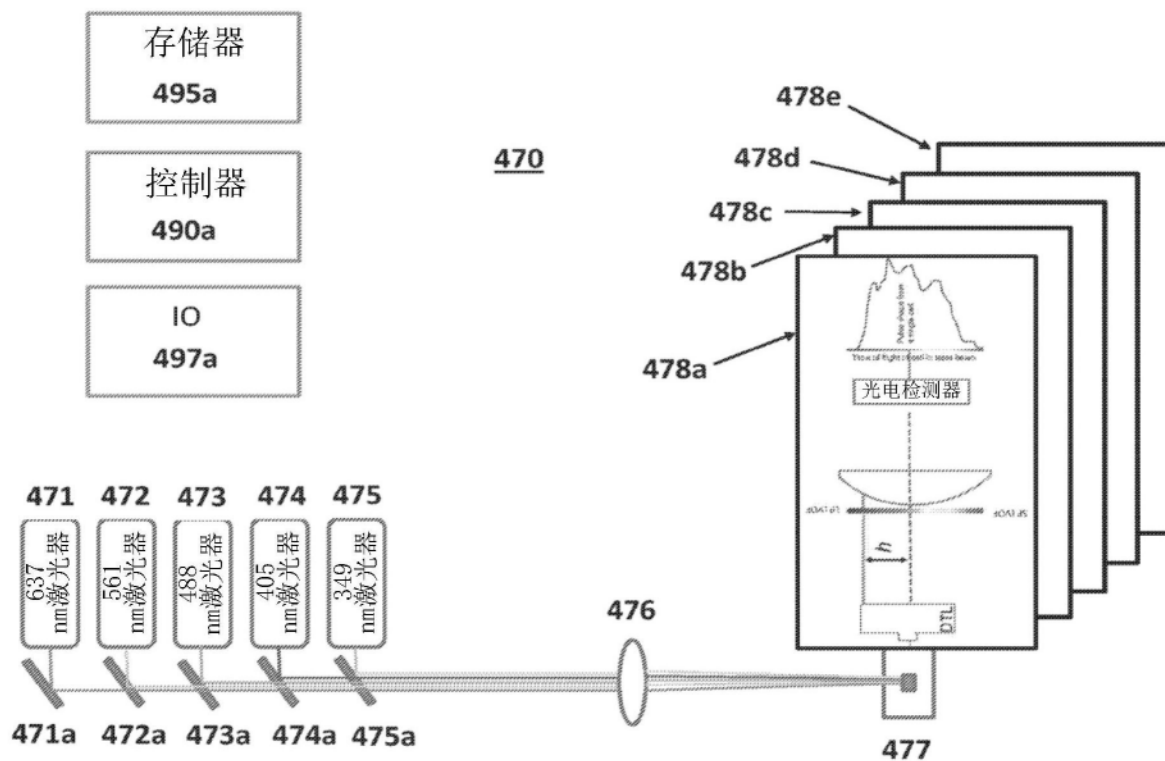


图4C

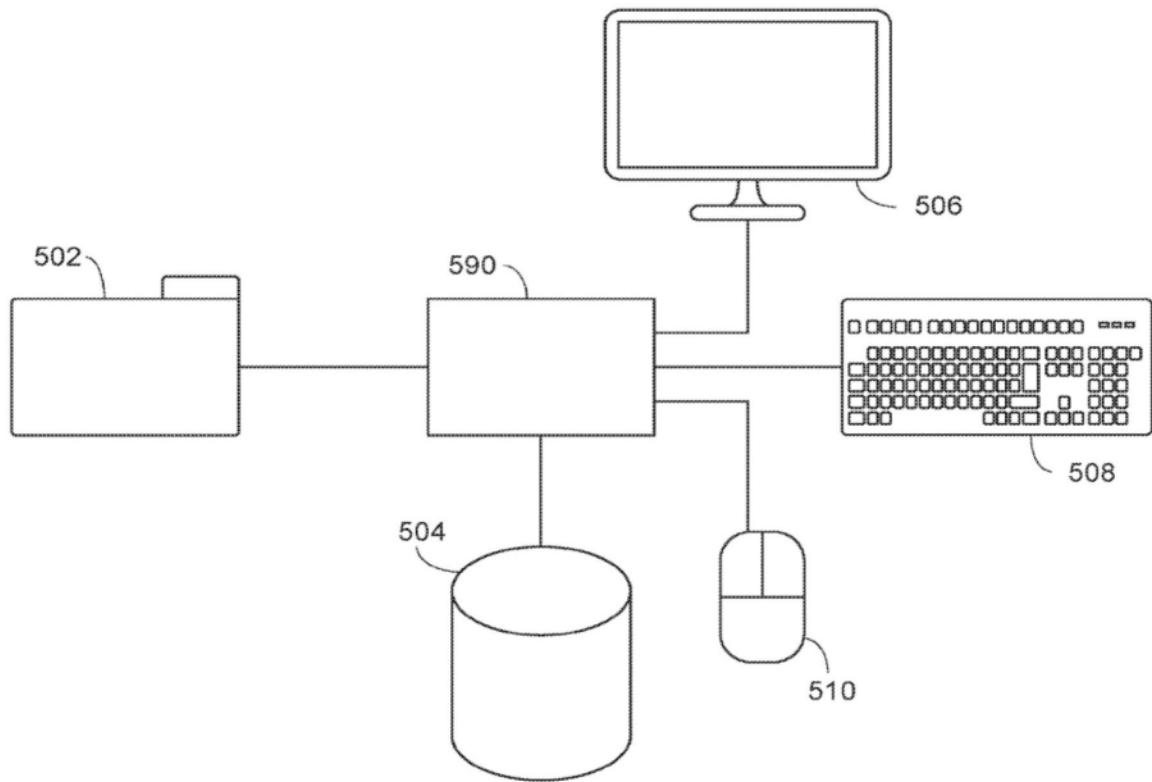


图5

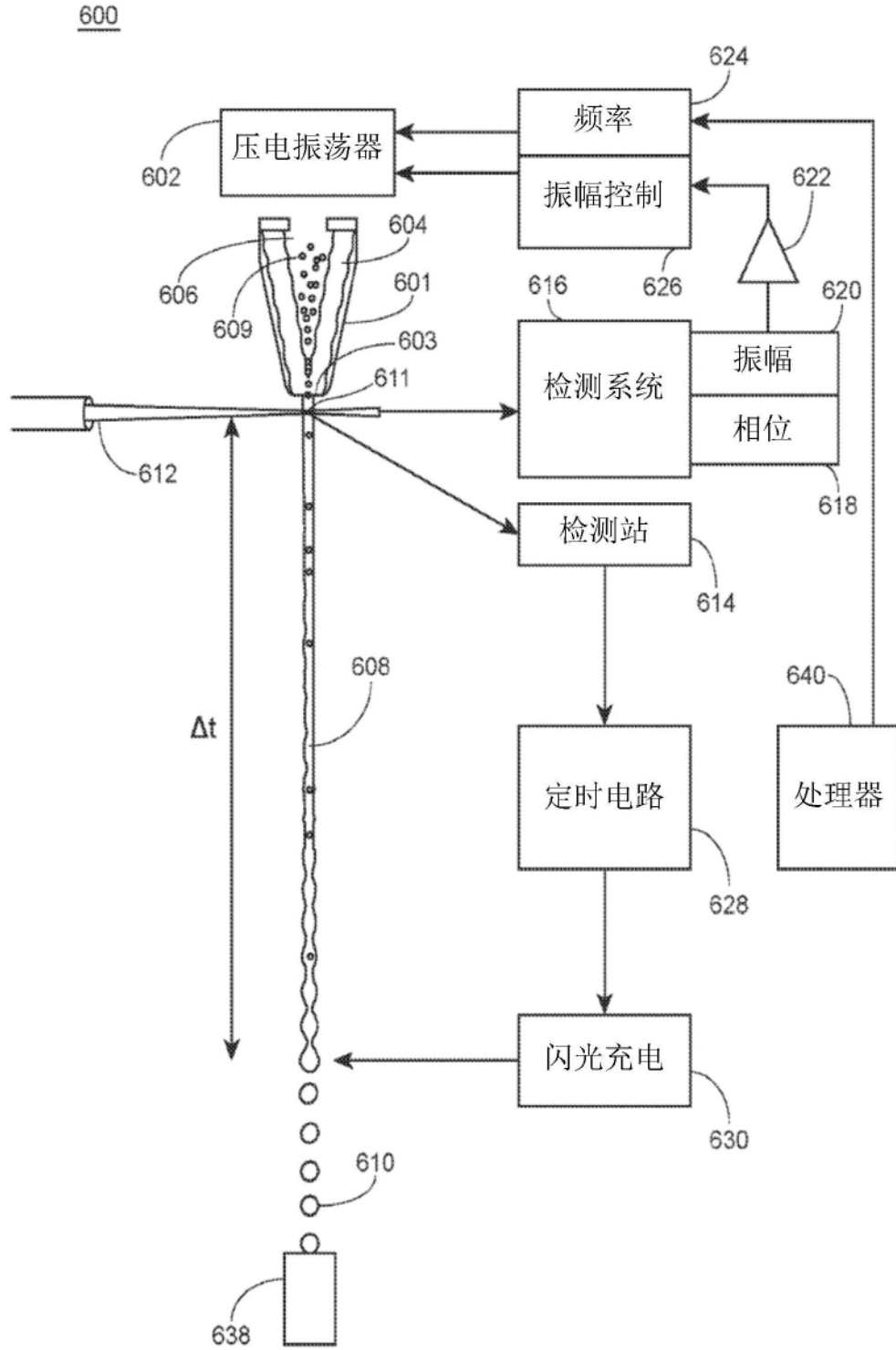


图6A

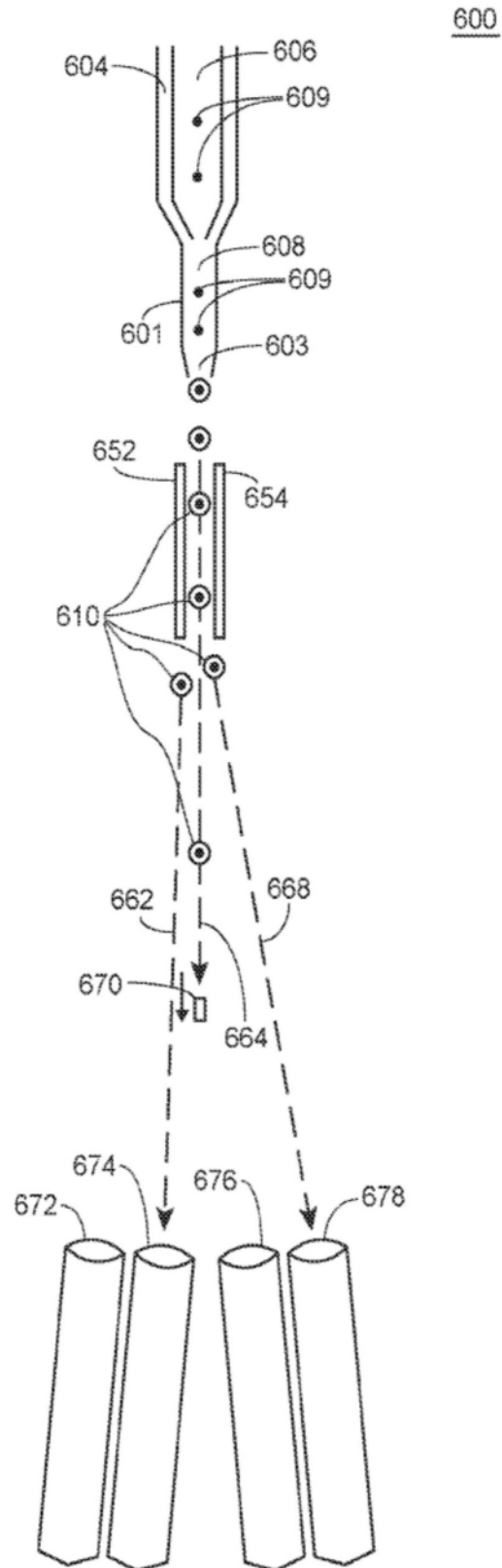


图6B

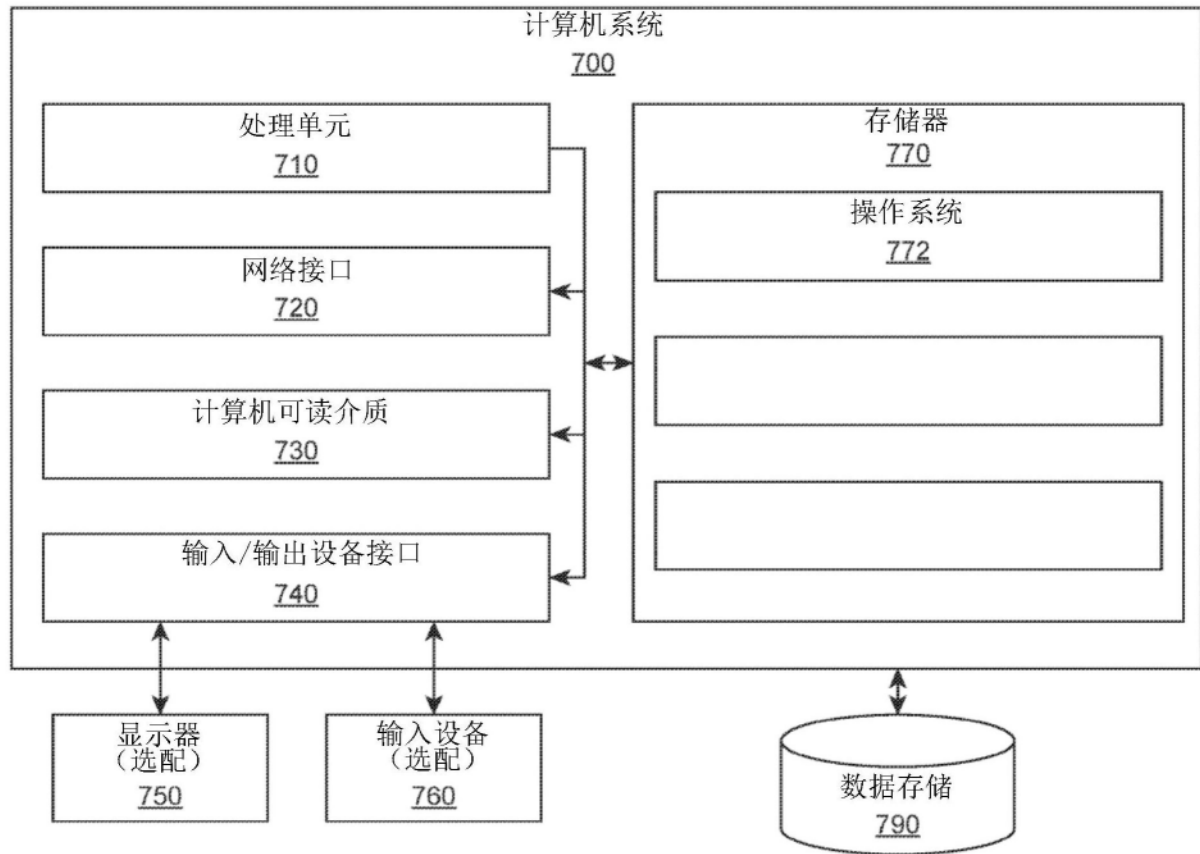


图7