



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106164645 B

(45)授权公告日 2019.10.18

(21)申请号 201580011249.5

(22)申请日 2015.02.03

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 106164645 A

(43)申请公布日 2016.11.23

(30)优先权数据
61/948,547 2014.03.06 US
62/056,646 2014.09.29 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2016.08.30

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2015/014210 2015.02.03

(87)PCT国际申请的公布数据
W02015/134139 EN 2015.09.11

(73)专利权人 生命技术公司

地址 美国加利福尼亚

(72)发明人 G·卡达查克 J·阿克隆德
J·马尔金 M·沃德

(74)专利代理机构 北京派特恩知识产权代理有限公司 11270

代理人 康艳青 姚开丽

(51)Int.Cl.
G01N 15/14(2006.01)

审查员 李媛媛

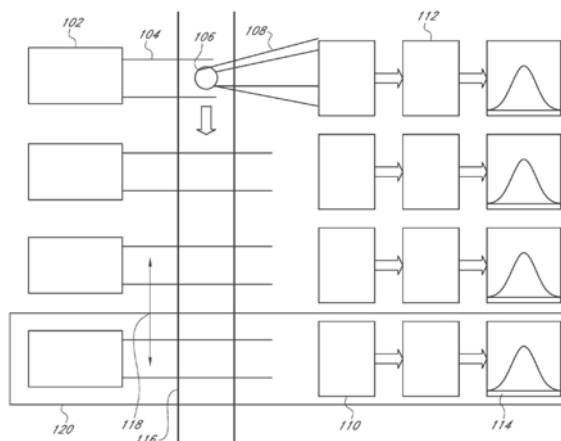
权利要求书2页 说明书13页 附图12页

(54)发明名称

用于诊断流体系统并且判定流式细胞仪的数据处理设置的系统和方法

(57)摘要

本发明的实施例组涉及用于诊断流体系统并且判定流式细胞仪的数据处理设置的系统和方法。用于诊断流体系统的系统和方法需要流体递送系统内波动的精确测量和解释。用于判定数据处理设置的系统和方法需要各种信道中峰值时间的精确测量,并且能够调节时间延迟设置,其中峰值时间为从数据采集时间窗的开始到所述窗中的最高峰所经过的时间的测量结果。



1. 一种用于判定流式细胞仪的数据处理设置的方法,其包含:

将一组校准粒子传送通过流动槽;

用至少两个光束照亮传送通过所述流动槽的每组校准粒子,其中各光束与信道相关;

使用与各信道相关的检测器采集从每组校准粒子发射的光;

记录来自各检测器的数据;

设定触发信道以在超过所述触发信道的数据信号阈值时,引发来自与所述触发信道相关的第一数据采集时间窗的数据的转移;

设定第二信道以在超过所述触发信道的所述数据信号阈值时,转移来自与所述第二信道相关的第二数据采集时间窗的数据,并且其中第二数据采集时间窗的开始是基于所述触发信道与所述第二信道之间的空间路径;

每当超过用于所述触发信道的所述数据信号阈值,记录从所述第一数据采集时间窗到数据存储器的数据;

每当超过所述触发信道的所述数据信号阈值,记录从所述第二数据采集时间窗到所述数据存储器的数据;

分析所述第二数据采集时间窗内的数据强度峰值时间的分布;以及

基于所述第二数据采集时间窗中的数据强度峰值时间的分布计算时间延迟以改变所述第二数据采集时间窗的大小、偏移所述第二数据采集时间窗、或改变所述第二数据采集时间窗的大小且偏移所述第二数据采集时间窗。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所发射的光为荧光。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中所述所发射的光为散射的。

4. 根据权利要求1所述的方法,其中所述第二数据采集时间窗的开始是基于流动速率。

5. 根据权利要求1所述的方法,其中所述第二数据采集时间窗的开始是基于鞘流体流动速率。

6. 根据权利要求1所述的方法,其中所述空间路径在80到250微米之间。

7. 根据权利要求1所述的方法,其中所述空间路径为150微米。

8. 根据权利要求1所述的方法,其中所述数据采集时间窗为80到120 ADC点宽之间。

9. 根据权利要求1所述的方法,其中所述数据采集时间窗为320到360 ADC点宽之间。

10. 一种用以判定流式细胞仪的数据处理设置的系统,其包含:

流动槽,其经配置以使校准粒子流动;

至少两个光源,各经配置以发射光束,其中各光束与信道相关,并且其中所述光束传送通过所述流动槽;

与各信道相关的检测器,其中各检测器经配置以采集从每组校准珠粒发射的光;

存储缓冲器,其经配置以记录来自所述检测器中的每个的数据;

触发信道,其经配置以在超过所述触发信道的数据信号阈值时,引发来自与所述触发信道相关的第一数据采集时间窗的数据的转移;

第二信道,其经配置以在超过所述触发信道的所述数据信号阈值时,转移来自与所述第二信道相关的第二数据采集时间窗的数据,其中第二数据采集时间窗的开始是基于所述触发信道与第二信道之间的空间路径;

触发处理器,其经配置以:

每当超过用于所述触发信道的数据信号强度阈值,将所述数据从所述第一数据采集时间窗转移到数据存储器;以及

每当超过用于所述触发信道的所述数据信号强度阈值,将所述数据从所述第二数据采集时间窗转移到所述数据存储器;

计算机处理器,其经配置以分析所述第二数据采集时间窗内的数据强度峰值时间分布并且基于所述第二数据采集时间窗中的数据强度峰值时间分布计算时间延迟,从而改变所述第二数据采集时间窗的大小、偏移所述第二数据采集时间窗、或改变所述第二数据采集时间窗的大小且偏移所述第二数据采集时间窗。

11. 根据权利要求10所述的系统,其进一步包含现场可编程门阵列,其中所述存储缓冲器和所述触发处理器是所述现场可编程门阵列的子组件。

12. 根据权利要求10所述的系统,其中所述所发射的光为荧光。

13. 根据权利要求10所述的系统,其中所述所发射的光为散射的。

14. 根据权利要求10所述的系统,其中所述第二数据采集时间窗的开始是基于流动速率。

15. 根据权利要求10所述的系统,其中所述第二数据采集时间窗的开始是基于鞘流体流动速率。

16. 根据权利要求10所述的系统,其中所述空间路径在80到250微米之间。

17. 根据权利要求10所述的系统,其中所述空间路径为150微米。

18. 根据权利要求10所述的系统,其中所述数据采集时间窗为80到120 ADC点宽之间。

19. 根据权利要求10所述的系统,其中所述数据采集时间窗为320到360 ADC点宽之间。

用于诊断流体系统并且判定流式细胞仪的数据处理设置的系统和方法

技术领域

[0001] 本发明大体上涉及流式细胞测量术领域中的流体系统,并且更尤其涉及用于诊断流体学故障和设定数据采集和分析设置的系统和方法。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请案主张2014年3月6日提交的美国申请第61/948,547号和2014年9月29日提交的美国申请第62/056,646号的优先权,所述申请的公开内容以全文引用的方式并入本文中。

背景技术

[0004] 流式细胞测量术是用于主要在生物科学研究和医学方面的大量应用中粒子和细胞的分析的强大的工具。所述技术的分析强度在于其能够使单一粒子(包含生物粒子,如细胞、细菌和病毒)快速连续地以高达数万粒子/秒的速率游行通过光源(典型地为激光)的聚焦光点。此焦点处的高光子通量通过粒子产生光的散射和/或从粒子或附接到可采集和分析的粒子的标记产生光的发射。此给予用户关于个别粒子的大量信息,此可以快速与关于粒子或细胞的群体的统计信息结合。

[0005] 在传统的流式细胞测量术中,粒子流动通过聚焦询问点,其中激光将激光束引导到在信道内包括纤芯直径的聚焦点。通过以约样品的容积速率的100-1000倍的极高容积速率使围绕样品物料流的鞘流体流动,使含有粒子的样品流体聚焦到约5-50微米的极小纤芯直径。此产生聚焦粒子的极快线性速度,约几米/秒。此转而意指各粒子在激发光点中耗费极有限时间,通常仅1-10微秒。

[0006] 在常规流式细胞仪中,存在跟踪完全系统和子系统性能所需的分析工具和/或方法。在流式细胞仪中可能故障的子系统可以独立地或共同地包括光学装置、电子装置以及流体学装置。传统上,流式细胞测量术数据采集和/或诊断软件自带用于测量即时系统性能和将其与前一天(几天)性能进行比较的模式。这些性能测试通常使用具有已知荧光特征的珠粒的混合液。性能测试将使用这些珠粒以得到一系列测量结果,包括‘明亮的’荧光珠粒群体的变化系数、光学背景以及检测信道的量子效率。通过监测这些值以及其如何改变,可以判定仪器何时不再符合规格地起作用并且应进行维修。维修仪器的人员可以在光学装置、电子装置以及流体学装置上进行测试;接着经由消除或隔离变量的方法判定故障模式。

[0007] 不幸的是,维修流式细胞仪的最大困难中的一个大多数测量到的参数来源于光学装置、电子装置以及流体系统的旋绕输入端。存在用于隔离许多光学和电子组件的技术。由于流体系统的微流体性质,极少传感器和测试可用以分离和判定健康和/或精确测量流体递送系统的流动剖面。出于此原因,测试光学装置和电子装置并且仅在问题未解决时才测试流体系统。除测量稳态压力或研究泄漏以外,流体学装置的测试通常包括调换入和调换出各种组件以希望发现解决方案。具有多个激光束的流式细胞仪尤其对流体递送系统内的压力波动具有敏感性,其中远低于总操作压力的1%的波动使得光学数据中的变化系数

变宽。在此情况下,将召唤人员来修复光学数据中的变化系数变宽并且测试开始于光学和电子界面处。

[0008] 如此,需要能够检测在分离情况下用于流式细胞仪的流体系统中的稳态和动态失调或故障,以在不进行故障实验并且接着在可以甚至考虑流体系统之前故障检修各种子系统的情况下将流体学装置与光学和电子子系统解耦。此类检测系统可以用于故障处理破损流体系统以及帮助调节工作流体系统以符合预期规格。

发明内容

[0009] 在一个方面中,公开一种用于判定流式细胞仪的数据处理设置的方法。所述方法可以包括使一组校准粒子传送通过流动槽。所述方法可以包括用至少两个光束照亮传送通过流动槽的每组校准粒子,其中各光束与信道相关。所述方法可以包括使用与各信道相关的检测器采集从每组校准粒子发射的光。所述方法可以包括记录来自各检测器的数据。所述方法可以包括设定触发信道以在超过触发信道的数据信号阈值时,引发来自与触发信道相关的第一数据采集时间窗的数据的转移。所述方法可以包括设定第二信道以在超过触发信道的数据信号阈值时,转移来自与第二信道相关的第二数据采集时间窗的数据,并且其中第二数据采集时间窗的开始是基于触发信道与第二信道之间的空间路径。所述方法可以包括每当超过数据信号阈值,记录从第一数据采集时间窗到数据存储器的数据。所述方法可以包括每当超过触发信道的数据信号阈值,记录从第二数据采集时间窗到数据存储器的数据。所述方法可以包括分析第二数据采集时间窗内的数据强度峰值时间的分布。所述方法可以包括基于第二数据采集时间窗中的数据强度峰值时间的分布计算时间延迟以定位第二数据采集时间窗中第二信道中的数据信号。所述方法可以包括所发射的光为荧光。所述方法可以包括所发射的光为散射的。所述方法可以包括第二数据采集时间窗的开始是基于流动速率。所述方法可以包括第二数据采集时间窗的开始是基于鞘流体流动速率。所述方法可以包括空间路径在约80到250微米之间。所述方法可以包括空间路径为约150微米。所述方法可以包括数据采集时间窗为约80到约120ADC点宽之间。所述方法可以包括数据采集时间窗为约320到约360ADC点宽之间。

[0010] 在一个方面中,公开一种用以判定流式细胞仪的数据处理设置的系统。所述系统可以包括经配置以使校准粒子流动的流动槽。所述系统可以包括各自经配置以发射光束的至少两个光源,其中各光束与信道相关,并且其中光束传送通过流动槽。所述系统可以包括与各信道相关的检测器,其中各检测器可以经配置以采集从每组校准珠粒发射的光。所述系统可以包括存储缓冲器,其经配置以记录来自每个检测器的数据。所述系统可以包括触发信道,其经配置以在超过触发信道的数据信号阈值时,引发来自与触发信道相关的第一数据采集时间窗的数据的转移。所述系统可以包括第二信道,其经配置以在超过触发信道的数据信号阈值时,转移来自与第二信道相关的第二数据采集时间窗的数据,其中第二数据采集时间窗的开始是基于触发信道与第二信道之间的空间路径。所述系统可以包括触发处理器,其经配置以每当超过数据信号强度阈值,将数据从第一数据采集时间窗转移到数据存储器,并且每当超过数据信号强度阈值,将数据从第二数据采集时间窗转移到数据存储器。所述系统可以包括计算机处理器,其经配置以分析第二数据采集时间窗内的数据强度峰值时间分布并且基于第二数据采集时间窗中的数据强度峰值时间分布计算时间延迟,

从而定位第二数据采集时间窗中第二信道中的数据信号。所述系统可以包括现场可编程门阵列,其中存储缓冲器和触发处理器是现场可编程门阵列的子组件。

[0011] 所述系统可以包括所发射的光为荧光。所述系统可以包括所发射的光为散射的。所述系统可以包括第二数据采集时间窗的开始是基于流动速率。所述系统可以包括第二数据采集时间窗的开始是基于鞘流体流动速率。所述系统可以包括空间路径在约80到250微米之间。所述系统可以包括空间路径为约150微米。所述系统可以包括数据采集时间窗为约80到约120ADC点宽之间。所述系统可以包括数据采集时间窗为约320到约360ADC点宽之间。在一个方面中,公开一种用于流式细胞仪的流体诊断方法。所述方法可以包括使一组校准粒子传送通过流动槽。所述方法可以包括用至少两个光束照亮传送通过流动槽的每组校准粒子,其中各光束与信道相关。所述方法可以包括使用与各信道相关的检测器采集从每组校准粒子发射的光。所述方法可以包括记录来自每个检测器的数据。所述方法可以包括设定触发信道以在超过触发信道的数据信号阈值时,引发来自与触发信道相关的第一数据采集时间窗的数据的转移。所述方法可以包括设定第二信道以在超过触发信道的数据信号阈值时,转移来自与第二信道相关的第二数据采集时间窗的数据。所述方法可以包括每当超过数据信号阈值,记录从第一数据采集时间窗到数据存储器的数据。所述方法可以包括每当超过触发信道的数据信号阈值,记录从第二数据采集时间窗到数据存储器的数据。所述方法可以包括分析第二数据采集时间窗内的数据强度峰值时间分布并且将所述分布与系统规格进行比较以判定流体系统的健康。所述方法可以包括系统规格为1标准差。所述方法可以包括系统规格为2标准差。所述方法可以包括系统规格为3标准差。所述方法可以包括系统规格为4标准差。所述方法可以包括系统规格为高斯分布(Gaussian distribution)。所述方法可以包括系统规格为泊松分布(Poisson distribution)。所述方法可以包括系统规格为任何统计分布。所述方法可以包括所发射的光为荧光。所述方法可以包括所发射的光为散射的。所述方法可以包括数据采集时间窗为约80到约120ADC点宽之间。所述方法可以包括数据采集时间窗为约320到约360ADC点宽之间。

[0012] 在一个方面中,公开一种用于流式细胞仪的流体诊断系统。所述系统可以包括经配置以使校准粒子流动的流动槽。所述系统可以包括各自经配置以发射光束的至少两个光源,其中各光束与信道相关,并且其中光束传送通过流动槽。所述系统可以包括与各信道相关的检测器,其中各检测器经配置以采集从每组校准珠粒发射的光。所述系统可以包括经配置以记录来自每个检测器的数据的存储缓冲器。所述系统可以包括触发信道,其经配置以在超过触发信道的数据信号阈值时,引发来自与触发信道相关的第一数据采集时间窗的数据的转移。所述系统可以包括第二信道,其经配置以在超过触发信道的数据信号阈值时,转移来自与第二信道相关的第二数据采集时间窗的数据。所述系统可以包括触发处理器,其经配置以每当超过数据信号强度阈值,将数据从第一数据采集时间窗转移到数据存储器,并且每当超过数据信号强度阈值,将数据从第二数据采集时间窗转移到数据存储器。所述系统可以包括计算机处理器,其经配置以将第二数据采集时间窗内的数据强度峰值时间分布与系统规格进行比较以判定流体系统的健康。所述系统可以包括现场可编程门阵列,其中存储缓冲器和触发处理器可以是现场可编程门阵列的子组件。所述系统可以包括其中系统规格为1标准差。所述系统可以包括系统规格为2标准差。所述系统可以包括系统规格为3标准差。所述系统可以包括系统规格为4标准差。所述系统可以包括系统规格为高斯分

布。所述系统可以包括系统规格为泊松分布。所述系统可以包括系统规格为任何统计分布。所述系统可以包括所发射的光为荧光。所述系统可以包括所发射的光为散射的。所述系统可以包括数据采集时间窗为约80到约120ADC点宽之间。所述系统可以包括数据采集时间窗为约320到约360ADC点宽之间。

附图说明

- [0013] 图1是基本流式细胞仪的各种实施例中的一个的图示。
- [0014] 图2是可以通过流式细胞仪采集的一些数据类型的一个实例的图示。
- [0015] 图3是可以通过流式细胞仪采集的一些数据类型的一个实例的图示。
- [0016] 图4A—4B说明较宽和较窄的数据时间采集窗。
- [0017] 图5是来自流式细胞仪中的四个信道的数据的一个实例的图示。
- [0018] 图6是用于判定流式细胞仪的数据处理设置的方法的示例性实施例。
- [0019] 图7是来自流式细胞仪的数据的一个实例的图示,其中峰值时间扩展随与触发信道的距离而增加。
- [0020] 图8A说明不符合系统规格的峰值时间。
- [0021] 图8B说明符合系统规格的峰值时间。
- [0022] 图9A-E是当存在流体学装置故障时何种流式细胞测量术数据可能看起来像什么的图示。
- [0023] 图10是用以诊断流式细胞仪的流体系统的方法的示例性实施例。

具体实施方式

[0024] 用于流体诊断和数据采集的系统和方法的实施例以及用于流式细胞仪的分析设置描述于随附实施方式和图式中。在图式中,阐述许多特定细节以提供对某些实施例的彻底理解。本领域技术人员将能够了解,本文所描述的系统和方法可以用于使用流体系统的多种仪器中,包括(但不限于)流式细胞仪。另外,本领域技术人员将了解,可以在没有这些特定细节的情况下实践某些实施例。此外,本领域技术人员可以易于了解的是呈现和执行方法的特定顺序是说明性的并且预期所述顺序可以变化并且仍保持在某些实施例的精神和范围内。

[0025] 虽然结合各种实施例来描述本教导内容,但并不打算将本教导内容限制于此类实施例。相反地,如本领域技术人员应了解,本教导内容涵盖各种替代方案、修改以及等效物。

[0026] 此外,在描述各种实施例时,本说明书可能将方法和/或过程呈现为特定顺序的步骤。然而,在方法或过程不依赖于本文阐述的步骤的特定次序的程度上,方法或过程不应限于所描述的步骤的特定顺序。如本领域技术人员将了解,步骤的其它顺序可以是可能的。因此,在说明书中阐述的步骤的特定次序不应解释为对权利要求书的限制。另外,针对方法和/或过程的权利要求书不应限于以书写的次序执行其步骤,并且本领域技术人员可以易于了解的是顺序可以变化并且仍保持在各种实施例的精神和范围内。

[0027] 为了使本发明可以更易于理解,首先定义某些术语。在整个具体实施方式中阐述另外的定义。

[0028] 如本文所使用的“ADC点”是模/数转换器的采样点之间的时间间隔。出于本说明书

的目的,1ADC点可以是500纳秒或1微秒。

[0029] 如本文所使用的“分析物”意指待分析的物质或材料。

[0030] 如本文所使用的“信道”意指通过其中发生数据采集的流动槽的路径。

[0031] 如本文所使用的术语“诊断参数”意指涉及层流稳定性、泵或齿轮泵中产生的机械扰动、粒子到达之间的时间(粒子到达时间)、流体压力、高流体压力、低流体压力、流体压力波动、泄漏的品质或测量结果和/或涉及流体系统品质的本领域中已知的任何事物。

[0032] 如本文所使用的“流动槽”意指具有选自矩形、正方形、椭圆形、扁球形环、圆形、八边形、七边形、六边形、五边形以及三角形的内部形状的流道、腔室或毛细管。

[0033] 如本文所使用的“标记”意指可鉴别的物质,如引入系统,如生物学系统中的染料或放射性同位素,并且可以经由流动槽或信道的路线追踪,提供关于流动槽或信道中的粒子或目标的信息。

[0034] 如本文所使用的“微球体”或“珠粒”意指呈球体形式时可以对称、呈哑铃形状形式时不对称的粒子或不具有对称性的大分子。微球体或珠粒的实例包括(但不限于)二氧化硅;玻璃和中空玻璃;乳胶;硅酮橡胶;聚合物,如聚苯乙烯、聚甲基丙烯酸甲酯、聚亚甲基三聚氰胺、聚丙烯腈、聚甲基丙烯腈、聚(偏氟乙烯-共-丙烯腈)以及聚乳酸交酯。

[0035] 如本文所使用的“粒子”意指小单元的物质包括(但不限于):生物细胞,如真核和原核细胞、古菌、细菌、霉菌、植物细胞、酵母、原虫、阿米巴(ameba)、原生生物、动物细胞;细胞器;有机/无机元素或分子;微球体;以及如水包油的不可混溶的流体的液滴。

[0036] 如本文所使用的“峰值”涉及信号幅度的高点。在一些情况下,信号可以来源于荧光。

[0037] 如本文所使用的“峰值时间”是从数据采集时间窗的开始到窗中的最高峰值所经过的时间的测量结果。

[0038] 如本文所使用的“探针”意指经标记或以其它方式标示并且用于检测或鉴别流体或样品中的另一物质的物质。

[0039] 如本文所使用的“试剂”是已知以特定方式反应的物质。

[0040] 如本文所使用的“信号传导分子”意指可鉴别的物质,如引入系统,如生物学系统中并且可以用作粒子信号的染料或放射性同位素。

[0041] 如本文所使用的“空间分离”或“信道之间的空间分离”意指从一个光束中心到相邻光束中心的距离。

[0042] 如本文所使用的“规格”意指符合数据品质要求的流式细胞仪性能以符合个别实验需要。

[0043] 如本文所使用的“目标”意指探针的结合部分。

[0044] 如本文所使用的“瞬态”是最终稳定化的暂时性系统不稳定性。举例来说,膨胀和收缩的流体系统中的空气气泡可能导致瞬态。

[0045] 如本文所使用的“触发阈值”意指其中信号强度值足够高以激活处理电子装置,从而处理检测到的事件的点。

[0046] 如本文所使用的“触发(trigger)”或“触发(triggering)”是当信号强度值超过触发阈值时处理电子装置的激活。

[0047] 如本文所使用的“触发激光”或“触发信道”是负责感测触发阈值并且指示来自系

统中所有激光或信道的所有所获得的数据需要储存和分析的硬件组。

[0048] 如本文所使用的“窗”、“采集窗”、“数据采集窗”、“数据采集时间窗”、“数据分析窗”是起初通过高度、宽度和接着面积的数字采样电子装置分析,随后从数字采样电子装置转移到永久性存储位置以便进一步分析的数据。

[0049] 在各种实施例中,本申请中所公开的系统、方法和设备可以与涉及流式细胞测量术的各种设备、系统和方法结合使用。参看美国专利申请第12/239,390号和第12/209,084号,所述申请都以全文引用的方式并入。还参看《实用的流式细胞术(Practical Flow Cytometry)》,第4版本,Howard M.Shapiro,所述文献以全文引用的方式并入。

[0050] 图1是流式细胞仪和可以采集数据的方式的基本图示。各种实施例可以包括至少一个光源102。每个光源102可以产生光束104,其可以接着在粒子传送通过流动槽116时照亮粒子106。照射可能导致光108离开粒子。光108的形式可以包括荧光或散射光。光108可以接着通过检测器110检测并且数据114可以转移到数字采样电子装置112。在各种实施例中,数字采样电子装置112可以包括可以呈模拟或数字形式的一些种类的存储器。存储器可以是随机存取存储器或利用随机存取存储器的循环缓冲器。在数字采样电子装置112中,数据114可以由可以包括高度、宽度和峰值时间信息的信号产生。数据114可以呈电压形式并且可以用于流体诊断和校正时间延迟设置中。在各种实施例中,模/数转换器可以用于将电压转换成数字数据。在各种实施例中,可以使用图像代替电压并且可以外推强度。另外,可以通过相邻光束104之间的距离测量空间分离118(或空间路径)。在信道120之间可以存在空间分离118,其在各种实施例中可以是约150微米或在其它各种实施例中可以是约80微米到约250微米。如本文所使用,信道120可以是数据采集路径。在图1中,显示四个此类数据采集路径或信道120,然而,各种实施例可以使用任何数量的信道120。

[0051] 在各种实施例中,数字采样电子装置112可以模拟采样电子装置或简单采样电子装置。在各种实施例中,数字采样电子装置112可以包括现场可编程门阵列,其中现场可编程门阵列可以包括存储缓冲器、触发处理器以及计算块。存储缓冲器可以储存所有数据114,并且当超过数据信号强度阈值(触发阈值)时,可以接着通过计算块处理数据114并且传送到计算机。计算机可以包括存储器、处理器以及本领域中已知的任何其它组件。

[0052] 图2描绘当已绘制到x和y坐标系并且呈现为信号曲线206时,所得数据114的一个示例性图示。x轴可以表示时间并且y轴可以表示信号强度。在各种实施例中,信号强度可以来源于荧光强度。在各种实施例中,强度可以在光电倍增管或类似装置中放大并且随后以电压形式测量。在各种实施例中,当信号强度达到触发阈值208时,数字采样电子装置112可以登记粒子(或事件)是否已检测到并且可以进行一些数字处理或将数据转移到永久性数据存储单元或两者都进行。永久性数据存储单元可以位于计算机上。在图2中,可见脉冲宽度以包括在触发阈值208处的信号曲线206的宽度。最高峰204(也被称为数据强度峰或脉冲高度)可以为相对于y轴信号曲线在其最高处的地方。一般来说,当设定数据采集时间窗214时,有必要采集尽可能多的相关数据114。因此,数据采集时间窗214可以包括脉冲宽度202以及前延伸部分210和后延伸部分212。数据采集时间窗214可以在实验之前设定并且考虑到信号曲线206的位置可能有一些变化。

[0053] 数据采集时间窗214可以是动态的并且在实验期间在逐个粒子的基础上设定。当决定最终数据时间采集窗214大小时,若干考虑因素变得相关。数据时间采集窗214不可过

大,否则存在重合的风险,并且数据时间采集窗214不可过小,否则来自粒子106的数据将落在数据时间采集窗214的界限外。

[0054] 参看图3,可以观测到直方图,其包括汇编到单一曲线中的若干信号曲线206。各信号曲线206计为单一事件或可以表示传送通过流动槽116并且从信道120中的一个产生信号的粒子106。 y 轴表示事件的计数或数目并且 x 轴表示峰值时间216或数据强度峰值时间。峰值的顶端是大多数事件发生的时间点。在图3中,事件正态分布。在图3中,峰值时间216加在一起可以称作汇编峰值时间302。在流式细胞测量术中,粒子到达时间始终存在一些变化或抖动,其导致事件在不同峰值时间216发生。在前文说明书中,检测精确峰值时间216的能力极重要。为了达到统计显著性,有时需要平均500个事件或更多个事件。在一些情形中,需要1000或更多个事件以达到统计显著性,并且恰当地评估汇编峰值时间302。可以使用涉及平均值、中值、积分或斜率导数的任何统计手段。本领域的技术人员将了解许多分析变化的其它方法。

[0055] 参看图4A和4B,描绘两个信号曲线206。图4A描绘较宽数据采集时间窗曲线206,并且图4B描绘较窄数据采集时间窗曲线206。这些图式表示用以判定流式细胞仪的数据处理设置的系统或方法中的重要步骤。当在数据采集时间窗214内获取峰值时间216的初始测量结果时,将产生最高峰204的地方存在不确定性。扩宽每个信道120的数据采集时间窗214大大提高发现峰204的可能性。如先前所提及,需要采集若干数据点以确保汇编峰值时间302的精确表示。在精确测量汇编峰值时间302后,数据采集时间窗214可以变窄(如图4B中所见)以便降低重合的可能性并且提高信噪比。此类数据采集时间窗214大小减少可以在各信道120中进行。数据时间采集时间窗214还可以在时间上偏移。

[0056] 参看图5,说明四个信号曲线206。图5中的各信号曲线206表示具有系统的典型峰值时间216的典型信号曲线206。此处, y 轴可以是强度(电压、荧光、亮度等),并且 x 轴可以是时间(此在本领域中有时称作ADC点,涉及模/数转换器。)。信号曲线216表示传送通过四个空间分离的信道518、520、522和524的相同粒子。在本实例中,第一信道518表示触发信道518。当触发阈值208符合触发信道518时,数字采样电子装置112开始针对所有信道518、520、522和524的信号处理。

[0057] 在使用峰值时间216或汇编峰值时间302作出时间延迟决定之前,可以基于系统设置使用近似值。这些设置可以包括通过流动槽的流动速率或鞘流体流动速率。另外,硬件参数,如相邻光束104之间的距离,传送通过流动槽116。

[0058] 当判定数据采集设置时,针对四个空间分离的信道518、520、522和524中的每个,数据采集时间窗214保持较宽(如图4A中所见)。可以针对四个空间分离的信道518、520、522和524中的每个设定来源于峰值时间216的时间延迟,其中时间延迟通过数据采集时间窗位置 T_i 与峰值时间216之间的以下关系式给出:

$$[0059] \quad \text{时间延迟} = T_i + (\text{峰值时间}_i - \text{峰值时间}_1)$$

[0060] 其中 i 对应于第 i 个激光位置,并且 $i=1$ 是触发信道216。通常设定 $T_1=0$ 。应注意,触发信道可以是任何信道并且时间延迟可以是正的或负的。

[0061] 空间上信道越远离触发信道518,将具有最长时间延迟。在已通过数字采样电子装置112测量到所有信道518、520、522和524的峰值时间216的精确测量结果后,可以针对信道

518、520、522和524中的每个调节时间延迟,并且时间采集数据窗214可以变窄以使信噪比最佳化并且减少重合。一般来说,最高峰值204平均值将在各信道518、520、522和524的时间采集数据窗214中心。然而,不需要定心并且在一些情况下可能不是最佳的。应注意,此类程序可以用于两个或更多个信道并且图5仅是若干实施例的一个实例。

[0062] 在各种实施例中,初始较宽时间采集数据窗214可以在约320到360ADC点范围内变化。并且较窄时间采集数据窗214可以在约80到约120ADC点范围内变化。在各种实施例中,对于较窄窗,延伸部分可以是约27ADC点。在各种实施例中,延伸部分可以在约17到约37ADC点范围内变化。

[0063] 图6说明用以判定流式细胞仪的数据处理设置的方法的各种实施例的一个实例,所述方法包含将一组校准粒子传送通过流动槽602。各种实施例可以包括用至少两个光束照亮传送通过流动槽的每组校准粒子,其中各光束与信道相关604。各种实施例可以包括使用与各信道相关的检测器采集从每组校准粒子发射的光606。各种实施例可以包括记录来自各检测器的数据608。各种实施例可以包括设定触发信道以在超过触发信道的数据信号阈值时,引发来自与触发信道相关的第一数据采集时间窗的数据的转移610。各种实施例可以包括设定第二信道以在超过触发信道的数据信号阈值时,转移来自与第二信道相关的第二数据采集时间窗的数据,并且其中第二数据采集时间窗的开始是基于触发信道与第二信道之间的空间路径612。各种实施例可以包括每当超过数据信号阈值,记录从第一数据采集时间窗到数据存储器的数据614。各种实施例可以包括每当超过触发信道的数据信号阈值,记录从第二数据采集时间窗到数据存储器的数据616。各种实施例可以包括分析第二数据采集时间窗内的数据强度峰值时间的分布618。各种实施例可以包括基于第二数据采集时间窗中的数据强度峰值时间的分布计算时间延迟以定位第二数据采集时间窗中第二信道中的数据信号620。

[0064] 参看图7,说明三个数据采集曲线702、704和706,其中各具有随附汇编数据曲线(或直方图)708、710和712。针对数据采集曲线702、704和706,x轴可以表示时间并且y轴表示信号强度。第一数据采集曲线702表示触发信道702,其中几乎无峰值时间216波动。相邻数据采集曲线704描绘三个曲线。虚曲线表示粒子到达时间的波动。距离触发信道702的最远信道120或数据采集曲线706具有最多的峰值时间216波动,因为波动可能在较长距离内复合。当诊断是否存在流体故障时,峰值时间216到达可以提供重要证据。举例来说,距离触发信道的最远信道的数据采集曲线706具有落在最佳化数据采集时间窗214外部的曲线。此类数据114可以次最佳地处理或简单地不做处理并且可能导致数据缺失和较差结果。在某些情形中,数据采集时间窗214可以打开以采集更多数据114,但重合与噪音一样将增加。

[0065] 汇编数据曲线708、710和712显示包含y轴上事件或计数和x轴上峰值时间216(获自系统上峰值时间216的许多粒子测量结果)的直方图。触发信道的汇编数据708说明紧密的数据分布,其中传送通过信道的大多数事件或粒子在较小时间范围内发生。预期随着粒子行进较长距离,扩展将变得更宽,其可以见于其它汇编数据曲线710和712中。

[0066] 参看8A,峰值时间值216的直方图的实例显示低品质汇编数据,其中由于系统的流体波动,大多数数据114不落入数据采集时间窗214内。通过短划线显示不符合预定系统规格的数据。图8B是显示高品质汇编数据曲线的峰值时间值216的直方图的实例,其中所有数据114由于操作规格内的流体系统而落在数据采集时间窗214内。如图8A中可见的数据114

可以指示流体学装置不稳定性问题。应注意,这些图式不按比例并且这一实例的意图是数据采集时间窗214宽度相同,其意指与图8B中的事件相比,图8A中的事件扩展间隔更大。

[0067] 图9A-E是由本文所公开的实施例产生的数据114b的类型的的所有实例,其将指示流体系统中的故障。

[0068] 参看图9A,y轴表示事件的数目并且x轴表示峰值时间216的直方图(其中最高峰204相对于数据采集时间窗214存在)。在图9A中,短划线之间的区域表示对于给定实验的系统规格的可接受程度。在本实例中,峰值时间216的分布具有高点和向右的尾部。尾部指示在此运行期间发生大量流体波动和/或脉动。图9B与9A操作相同并且在y轴上显示荧光并且在x轴上显示时间。随着时间推移,荧光或信号强度提高。9A和9B两者结合在一起指示早期在实验或操作中发生流体系统中的问题并且自校正。系统中的截留空气气泡可能导致此类结果。一般来说,不正常的任何分布指示一些种类的流体学装置问题或故障。

[0069] 图9C描绘y轴上的事件计数和x轴上的荧光强度,其中分布过宽以符合规格。此类数据114可以是光源102未对准的结果、采集光学装置问题、采集电子装置上的过大噪音或多种混合问题。关于更详细的论述,参见上述参考文献。然而,当收集峰值时间216信息,如在图9D(y轴上的事件计数、x轴上的峰值时间)中,并且接着结合图9C进行分析时,可以判定可能存在流体学装置故障。在判定峰值时间216扩展是否超出可接受的界限时,监测落在数据采集时间窗214外部的数据114的量可能是重要的。在各种实施例中,可以是10%或更多。在图9C和9D中,短划线之间的区域表示对于给定实验的系统规格的可接受程度。

[0070] 图9E描绘操作中y轴上的后续粒子的峰值时间216以及时间和x轴。由此实例,可以推断出,随时间推移粒子106到达不是恒定的并且如果峰值时间216变化过大并且在无系统规格的情况下,那么可以指示严重的流体故障。此类故障的原因通常是鞘递送系统的脉动。在现用实施例组之前,此类问题的诊断将涉及迂回处理,其涉及浪费大量时间。使用其中已知在数据采集时间窗214内的最高峰值204的位置的峰值时间216数据,此类诊断变得更简单。

[0071] 图6说明用于流式细胞仪的流体诊断方法的各种实施例的一个实例,所述方法包含将一组校准粒子传送通过流动槽1002。各种实施例可以包括用至少两个光束照亮传送通过流动槽的每组校准粒子,其中各光束与信道相关1004。各种实施例可以包括使用与各信道相关的检测器采集从每组校准粒子发射的光1006。各种实施例可以包括记录来自每个检测器的数据1008。各种实施例可以包括设定触发信道以在超过触发信道的数据信号阈值时,引发来自与触发信道相关的第一数据采集时间窗的数据的转移1010。各种实施例可以包括设定第二信道以在超过触发信道的数据信号阈值时,转移来自与第二信道相关的第二数据采集时间窗的数据1012。各种实施例可以包括每当超过数据信号阈值,记录从第一数据采集时间窗到数据存储器的数据1014。各种实施例可以包括每当超过触发信道的数据信号阈值,记录从第二数据采集时间窗到数据存储器的数据。各种实施例可以包括分析第二数据采集时间窗内的数据强度峰值时间分布并且将所述分布与系统规格进行比较以判定流体系统的健康1016。各种实施例可以包括系统规格为1标准差。各种实施例可以包括系统规格为2标准差。各种实施例可以包括系统规格为3标准差。各种实施例可以包括系统规格为4标准差。各种实施例可以包括系统规格为高斯分布。各种实施例可以包括系统规格为泊松分布。各种实施例可以包括系统规格为任何统计分布。各种实施例可以包括所发射的光

为荧光。各种实施例可以包括所发射的光为散射的。各种实施例可以包括数据采集时间窗为约80到约120ADC点宽之间。各种实施例可以包括数据采集时间窗为约320到约360ADC点宽之间。

[0072] 在各种实施例中,所述方法可以包括用光束104影响粒子106以从每个空间分离的信道120产生数据的步骤。

[0073] 在各种实施例中,所述方法可以包括使用检测器110,检测来自粒子106的信号步骤。

[0074] 在各种实施例中,数据114可以包括峰值时间216。在各种实施例中,数据114可以包括高度、宽度和面积数据。

[0075] 在各种实施例中,峰值时间216数据可以用于评估数据的步骤中。

[0076] 在各种实施例中,评估数据114可以包括判定是否大于10%的峰值时间216数据落在数据采集时间窗214外部。

[0077] 在各种实施例中,评估数据114可以使用数字采样电子装置112进行。

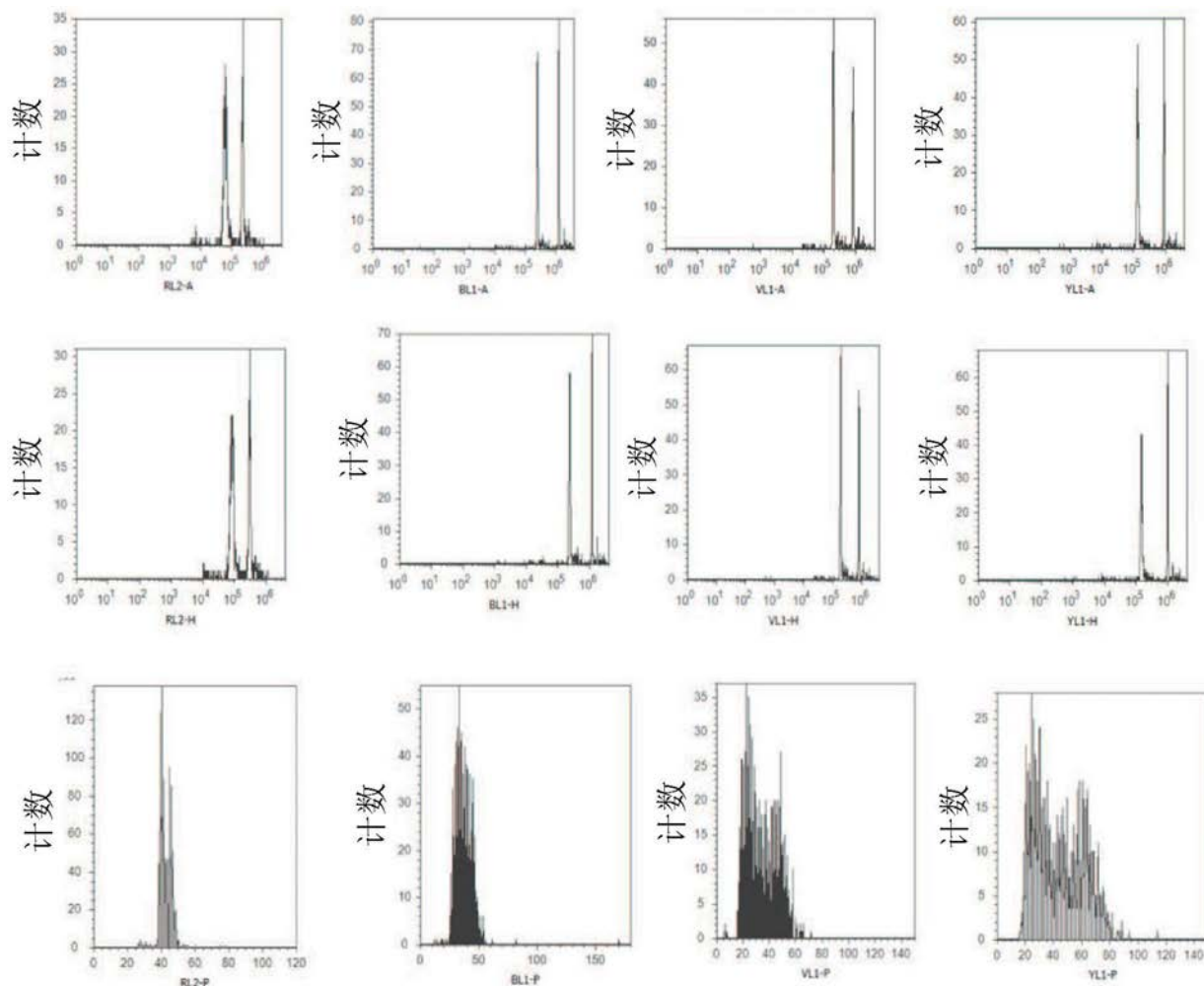
[0078] 在各种实施例中,数据采集时间窗214可以是约三个点,五微秒。

[0079] 在流体诊断方法和用于判定流式细胞仪的数据处理的方法的各种实施例中,光束104可以具有比每个粒子106更大的直径。此类配置允许在不需要积分的情况下计算信号强度。换句话说,在文献中其它地方描述的高度和面积可以成比例。然而,作为替代方案,可以使用积分,其在粒子106直径超过光束104直径时尤其适用。

[0080] 实例1

[0081] 高品质荧光和峰值时间数据

[0082]



[0083] 针对流式细胞仪中的四个信道120,收集荧光和峰值时间216数据114。从左到右移动的柱表示红色、蓝色、紫色和黄色光源102。顶部两行显示y轴上的计数或事件和x轴上的荧光强度。信道名称中用“A”描绘的曲线是信号面积测量结果的柱状图并且测量中用“H”描绘的曲线是信号高度测量结果的柱状图。在本实例中,使用具有两种不同荧光强度的珠粒,这就是存在两个峰的原因。最后一行描绘y轴上的计数或事件以及x轴上的峰值时间(在ADC点中测量)。

[0084] 在前两行中,在各曲线中可见两个清晰峰,指示较强信号强度。

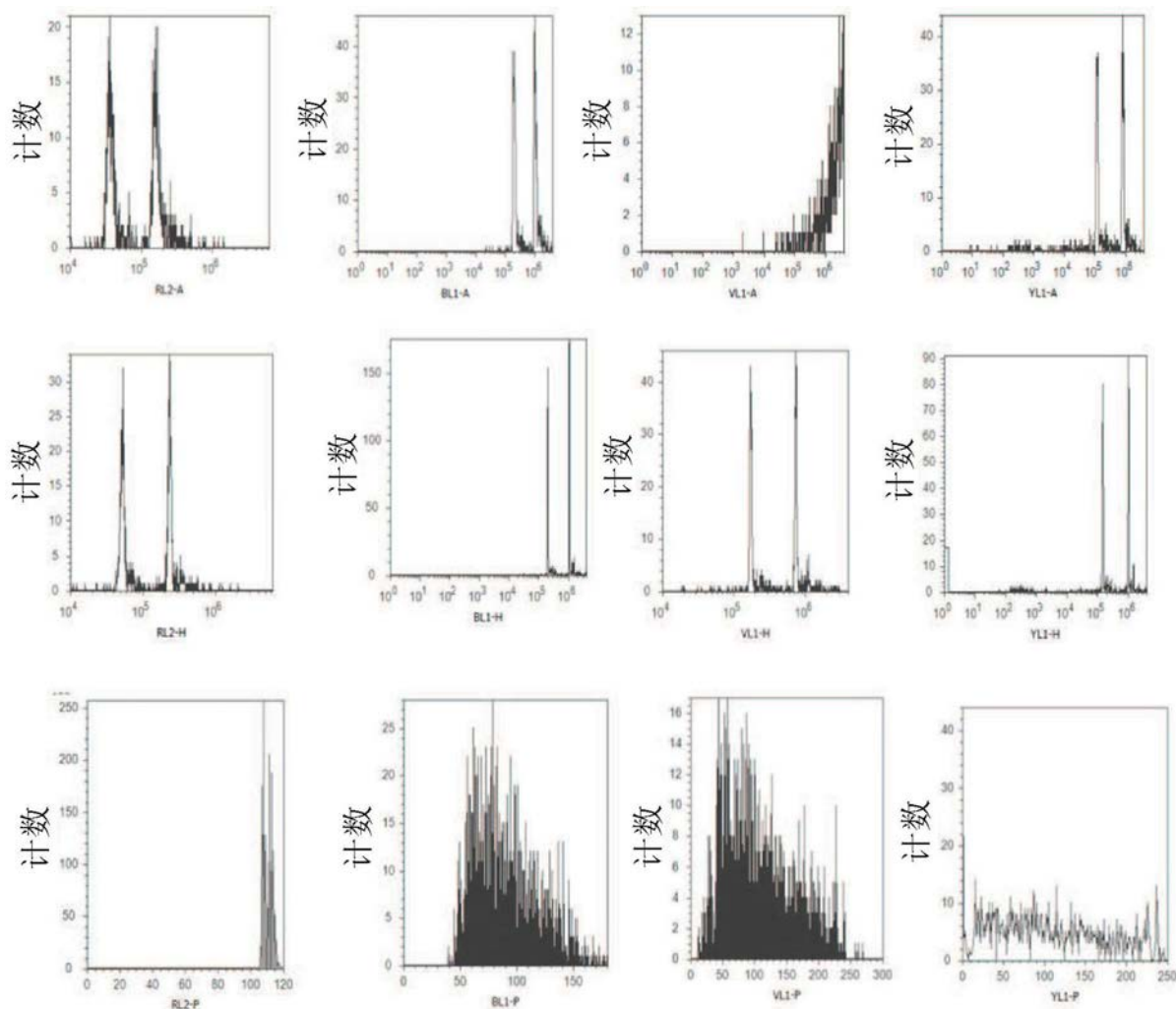
[0085] 在最后一行中,由产生前两行数据的粒子数据显示峰值时间216的柱状图。最左边曲线显示最高峰,因为其是触发信道。向右移动的各信道120进一步远离触发信道,这就是曲线变宽的原因。然而,扩展仍符合规格并且适合120ADC点宽的数据采集时间窗214。

[0086] 总的来说,本实例表明健康的流体系统。

[0087] 实例2

[0088] 低质量荧光和峰值时间数据

[0089]



[0090] 针对流式细胞仪中的四个信道,收集荧光和峰值时间216数据114。从左到右移动的柱表示红色、蓝色、紫色和黄色光源102。顶部两行显示y轴上的计数或事件和x轴上的荧光强度。在本实例中,使用两个荧光团,这就是存在两个峰的原因。最后一行描绘y轴上的计数或事件以及x轴上的峰值时间(在ADC点中测量)。

[0091] 在前两行中,在大多数曲线中可见两个峰,但沿着x轴存在大量明显的噪音。此类结果将指示流式细胞仪在一定程度上发生故障,但故障类型可能不是显而易见的。

[0092] 在最后一行中,最左边曲线显示紧密峰值,但另一曲线迅速下降直到最右边曲线沿着x轴完全噪音,即使数据采集时间窗214加宽到350ADC点。此数据指示系统内存在极端流体学装置波动,因为当粒子应在时间上相当接近到达时,粒子在最后一个信道几乎随机地到达(平坦分布)。存在一些种类的流体学装置故障并且可能是鞘流体泵故障。

[0093] 用于诊断流式细胞仪的流体系统的现用系统和方法可以供应以高达35,000个粒子106/秒的速率流动的粒子106,并且可以比常规诊断手段快十倍。使用更快ADC、更快数字处理器以及更高流体速度,此速率可以更高。

[0094] 虽然结合各种实施例来描述本教示内容,但并不打算将本教示内容限制于此类实施例。相反地,如本领域技术人员应了解,本教示内容涵盖各种替代方案、修改以及等效物。如本文所描述的检测模式是指与前述粒子检测平台一样的流式细胞测量术。除光学分解方

法的构建和/或流式细胞测量术以外,此还适用于流体和/或空气物料流粒子检测,并且可以用作任何一般粒子物料流的粒子物料流波动测量方法。此外,在描述各种实施例时,本说明书可以将方法和/或过程呈现为特定顺序的步骤。然而,在方法或过程不依赖于本文阐述的步骤的特定次序的程度上,方法或过程不应限于所描述的步骤的特定顺序。如本领域技术人员将了解,步骤的其它顺序可以是可能的。因此,在说明书中阐述的步骤的特定次序不应解释为对权利要求书的限制。另外,针对方法和/或过程的权利要求书不应限于以书写的次序执行其步骤,并且本领域技术人员可以易于了解的是顺序可以变化并且仍保持在各种实施例的精神和范围内。

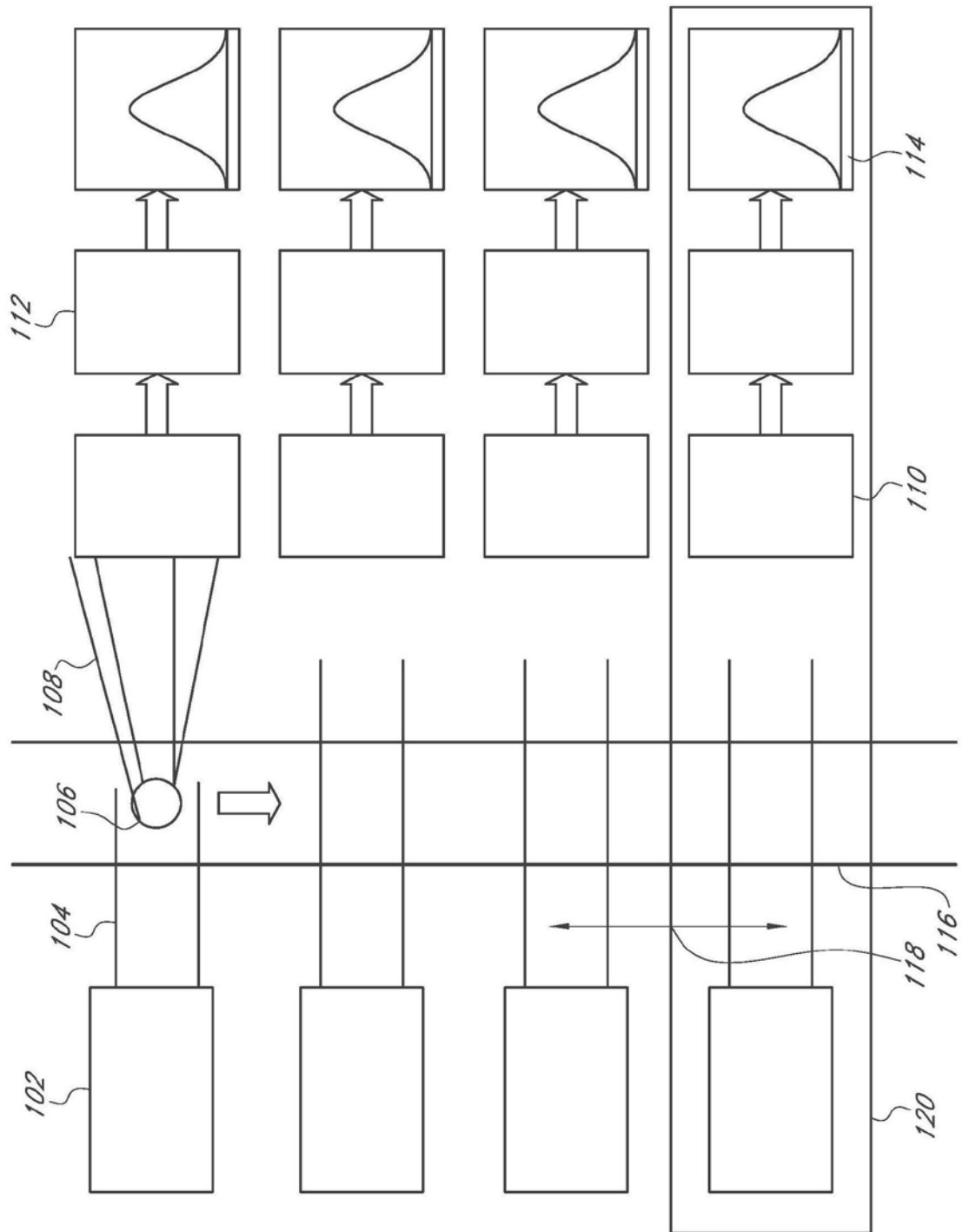


图1

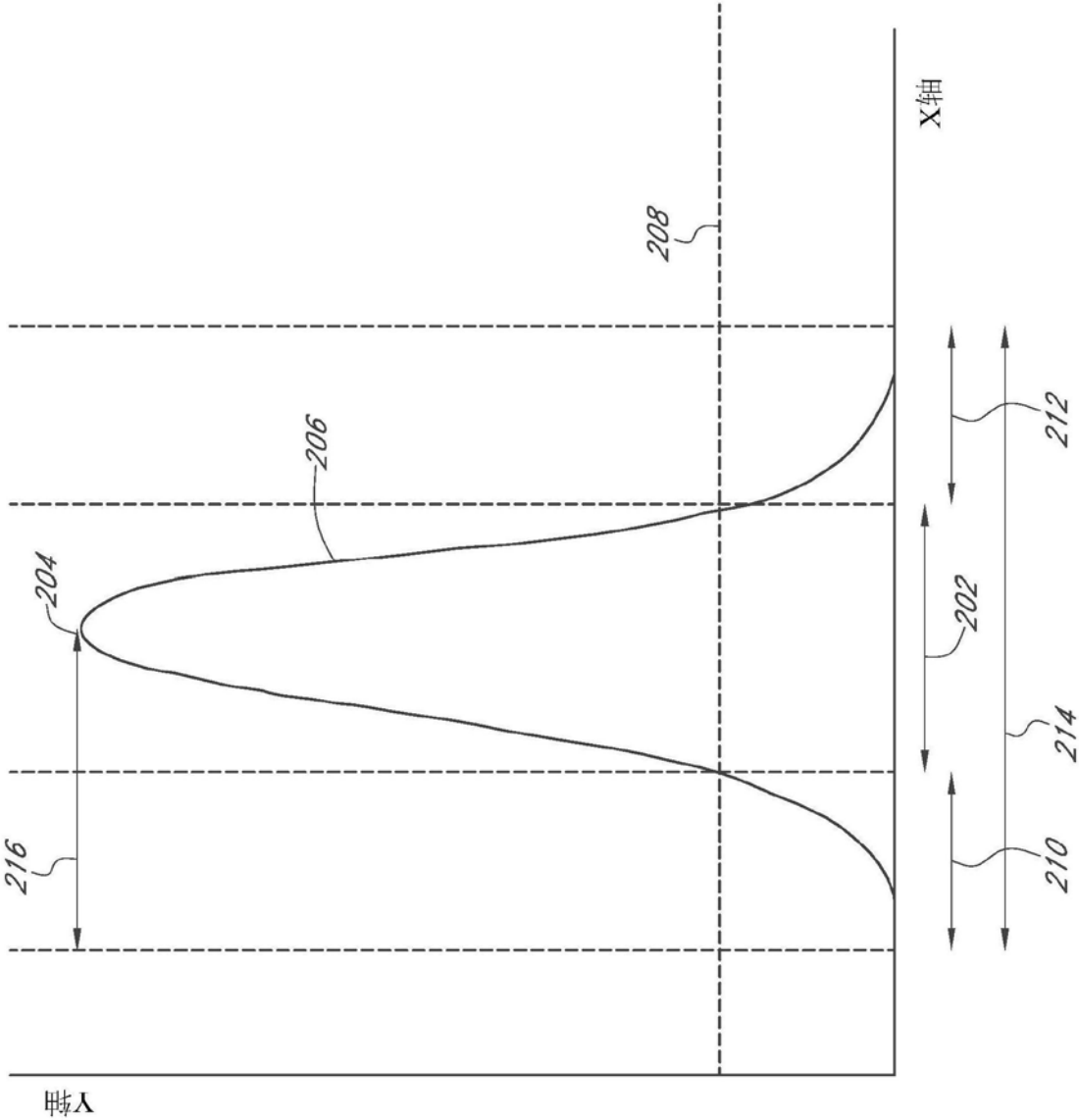
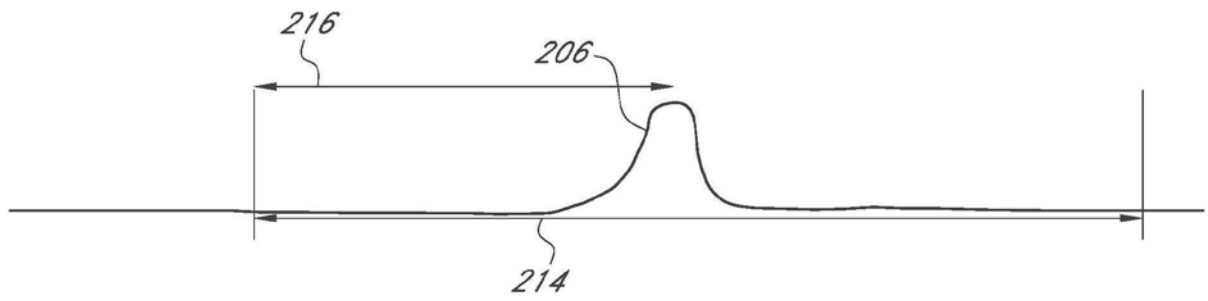
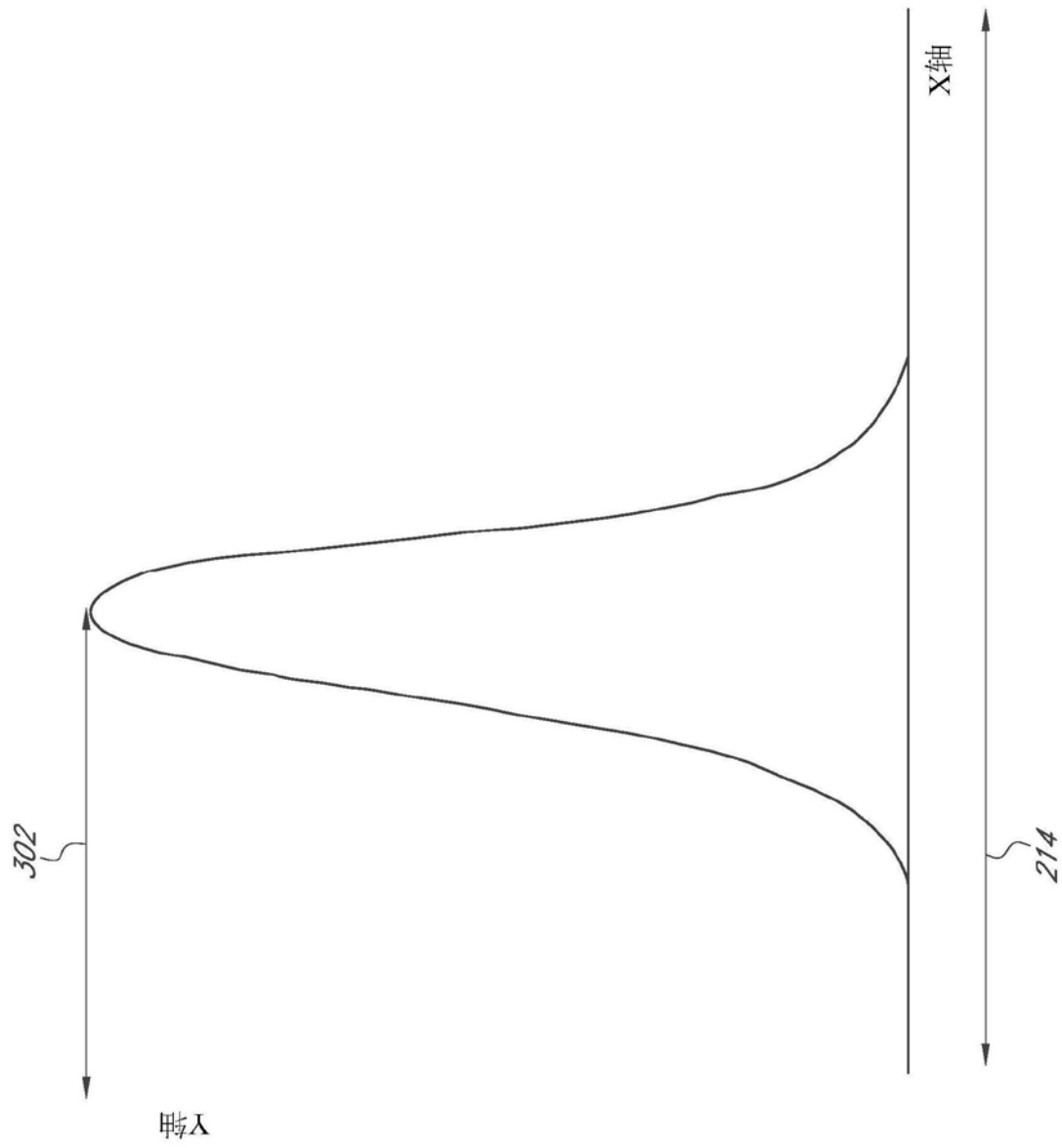


图2



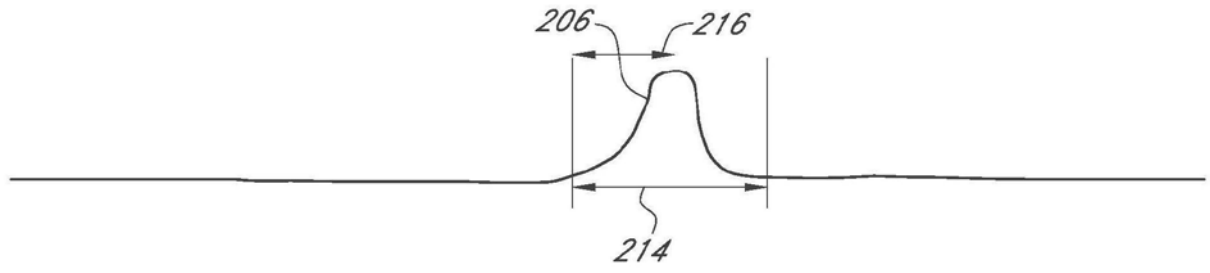


图4B

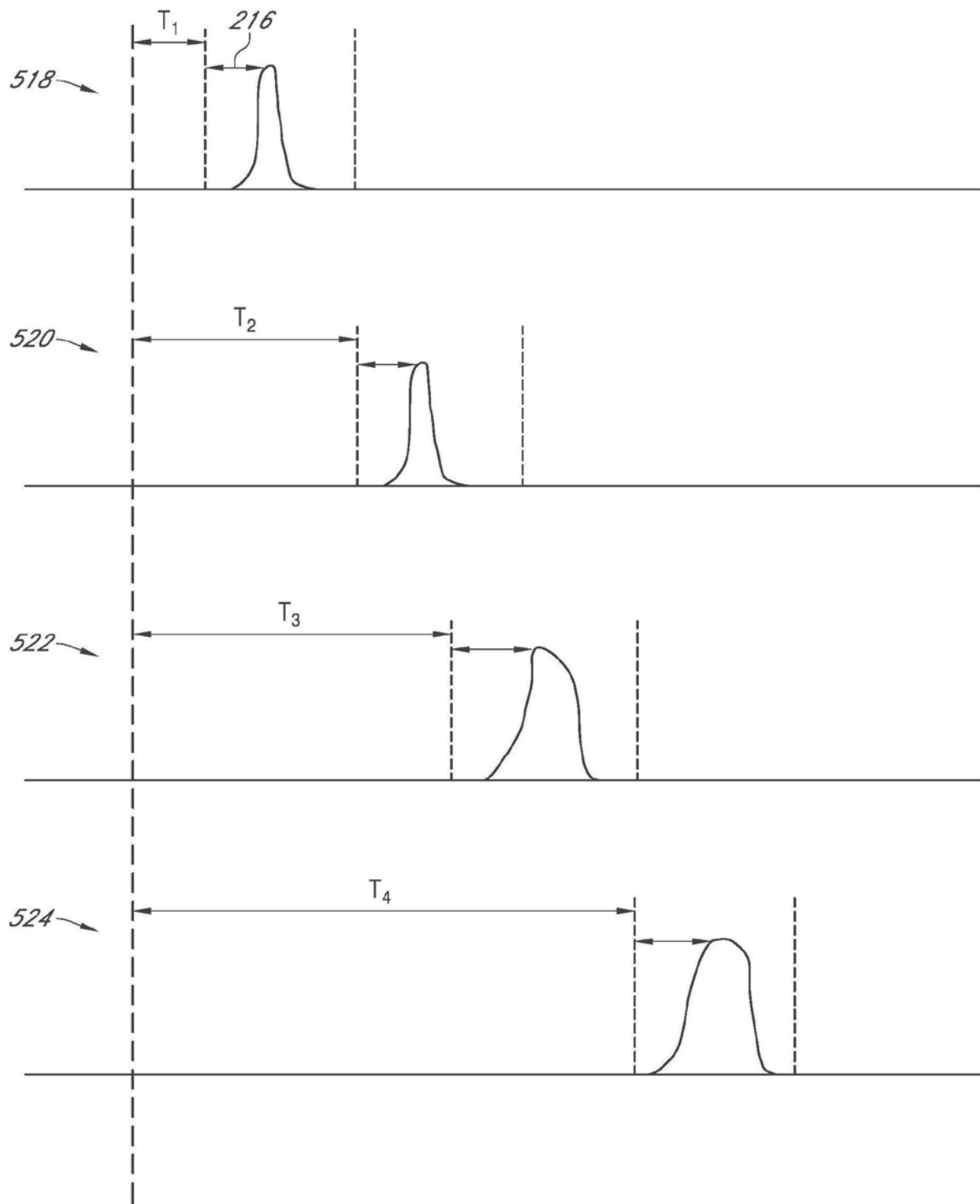


图5

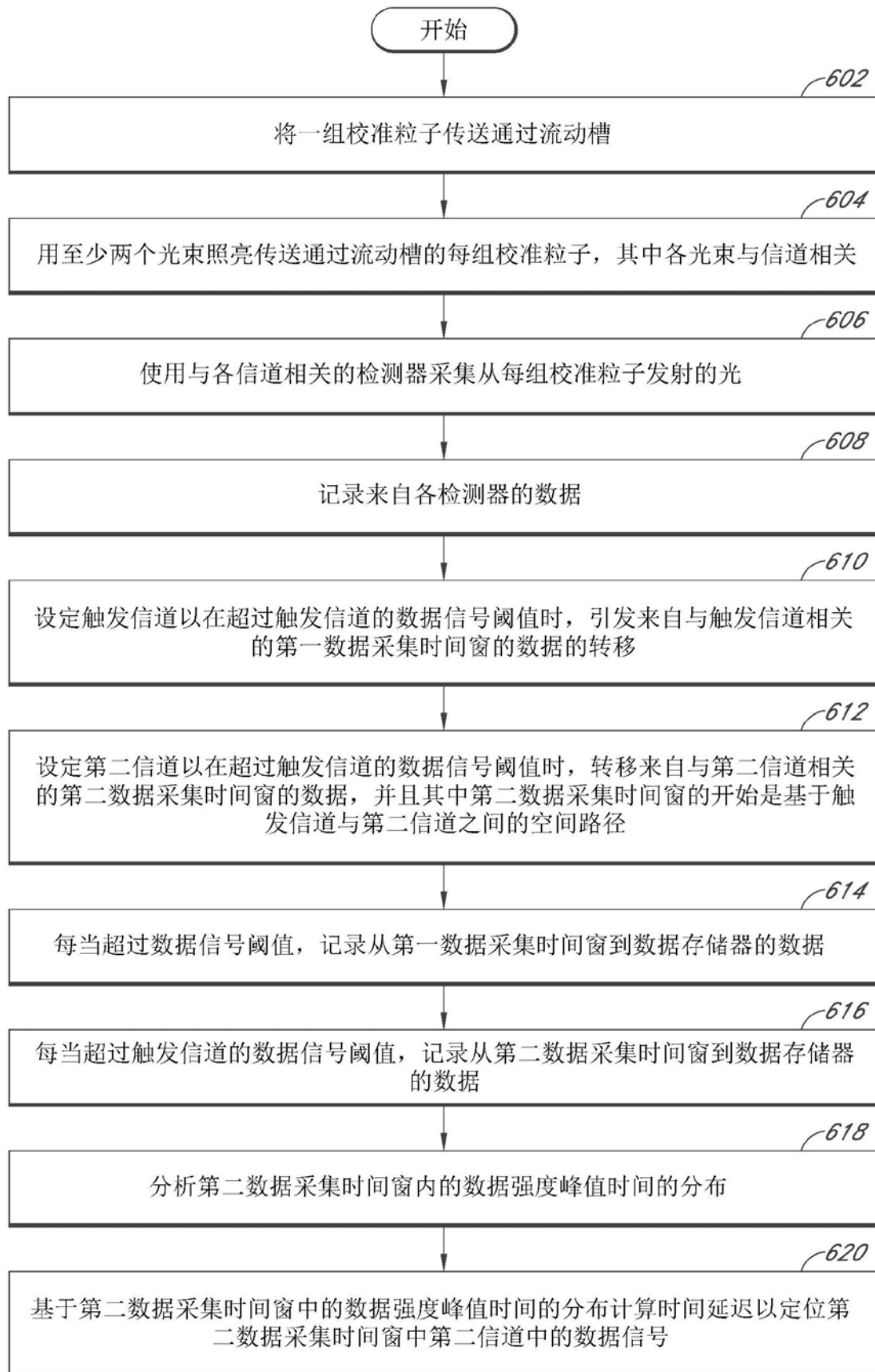


图6

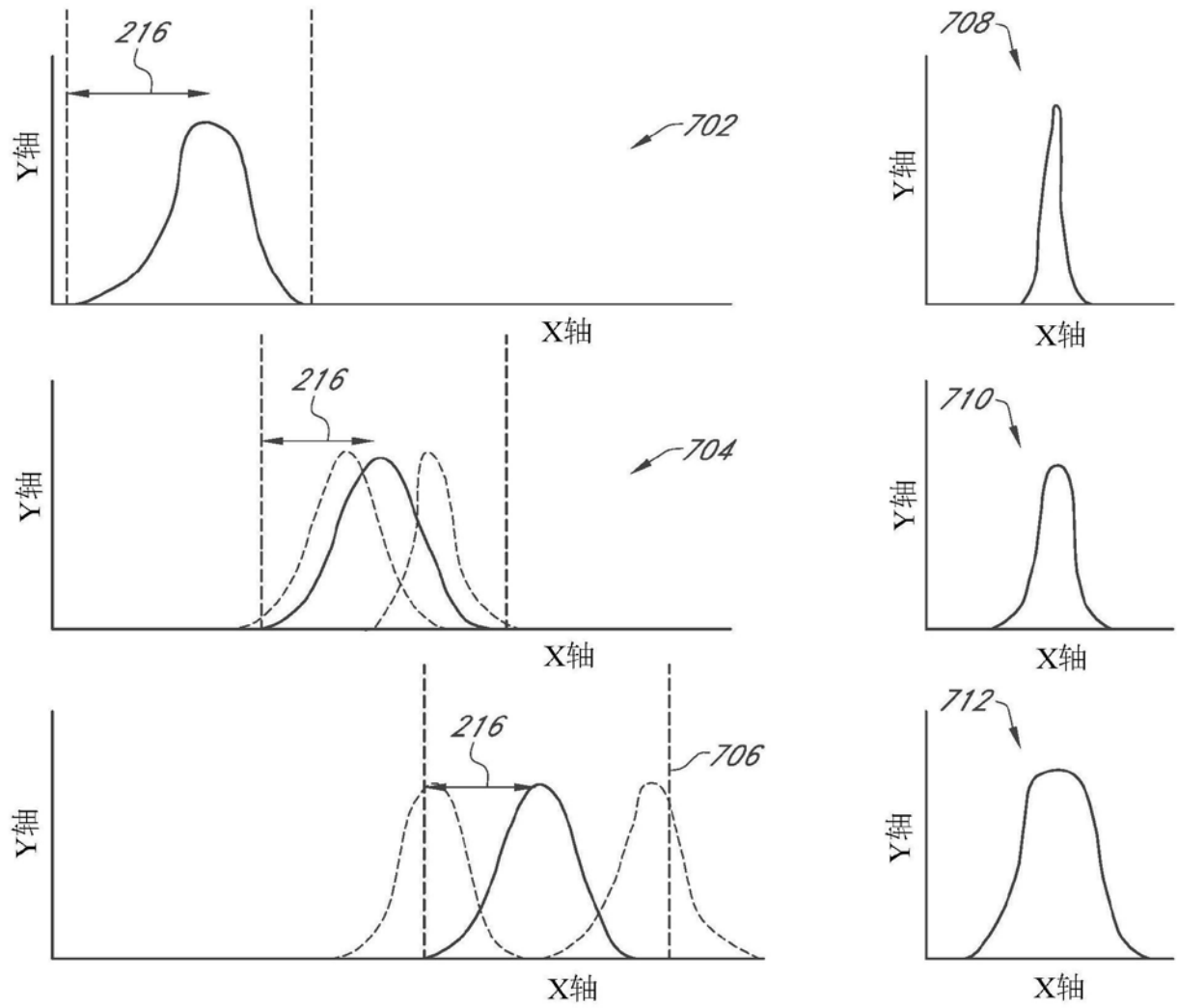


图7

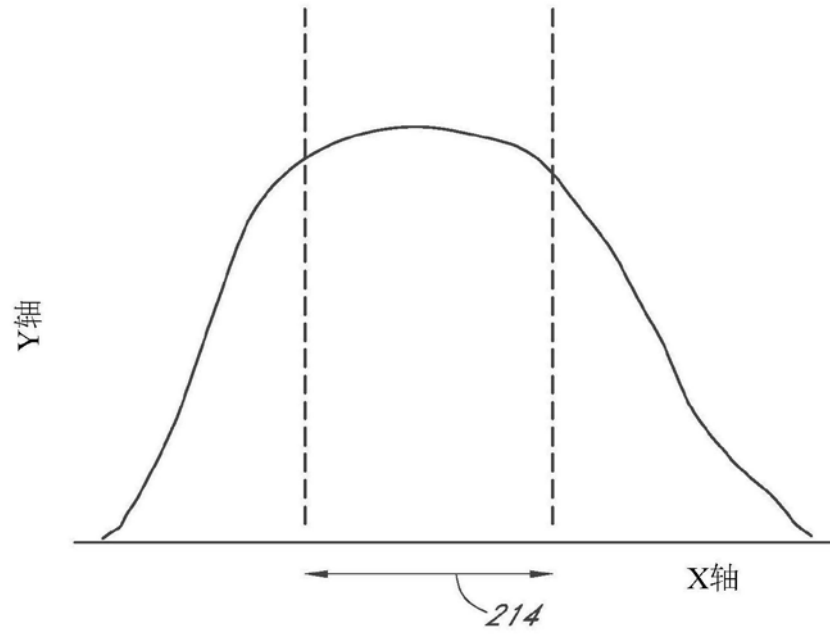


图8A

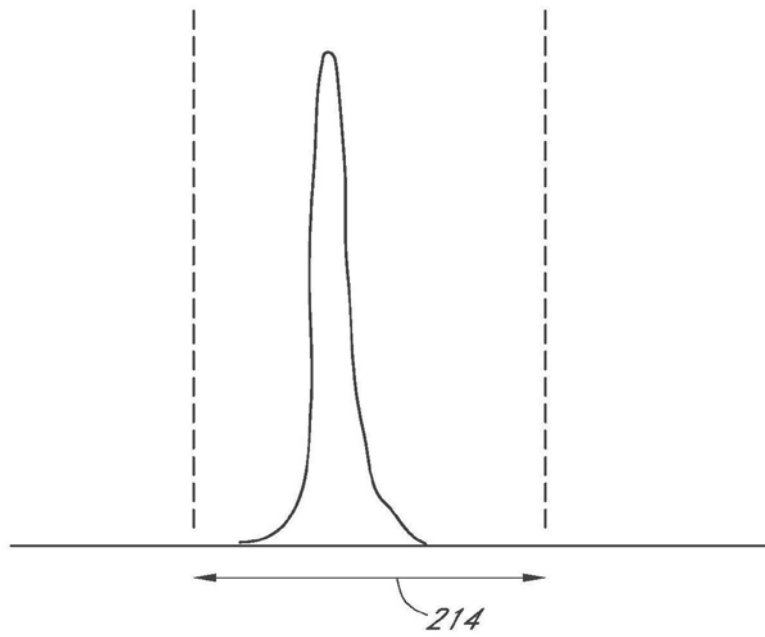


图8B

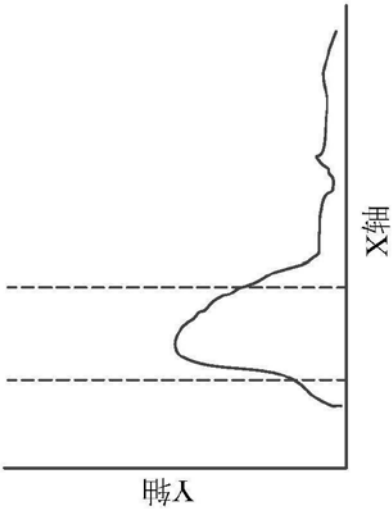


图9A

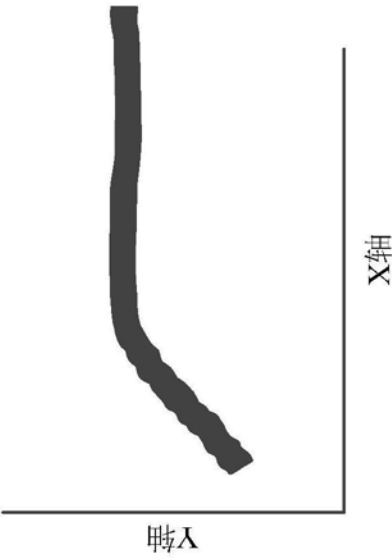


图9B

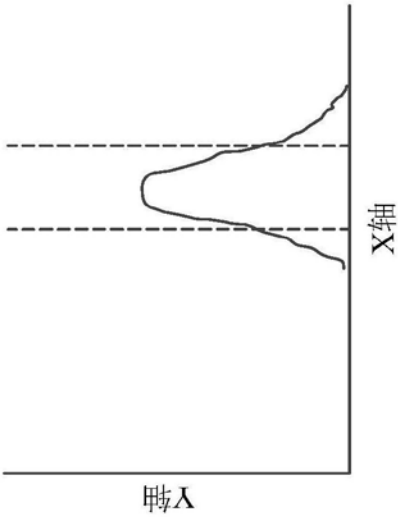


图9C

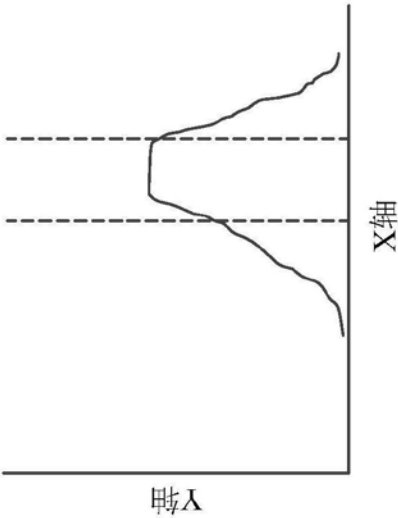


图9D

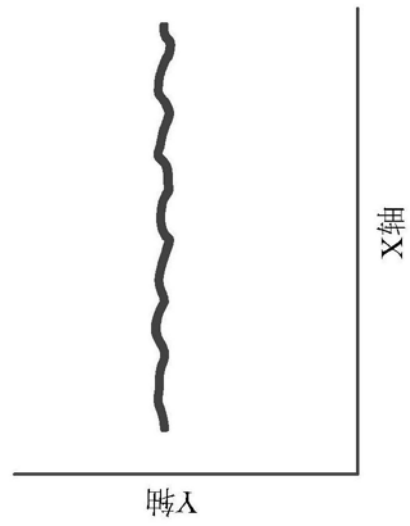


图9E

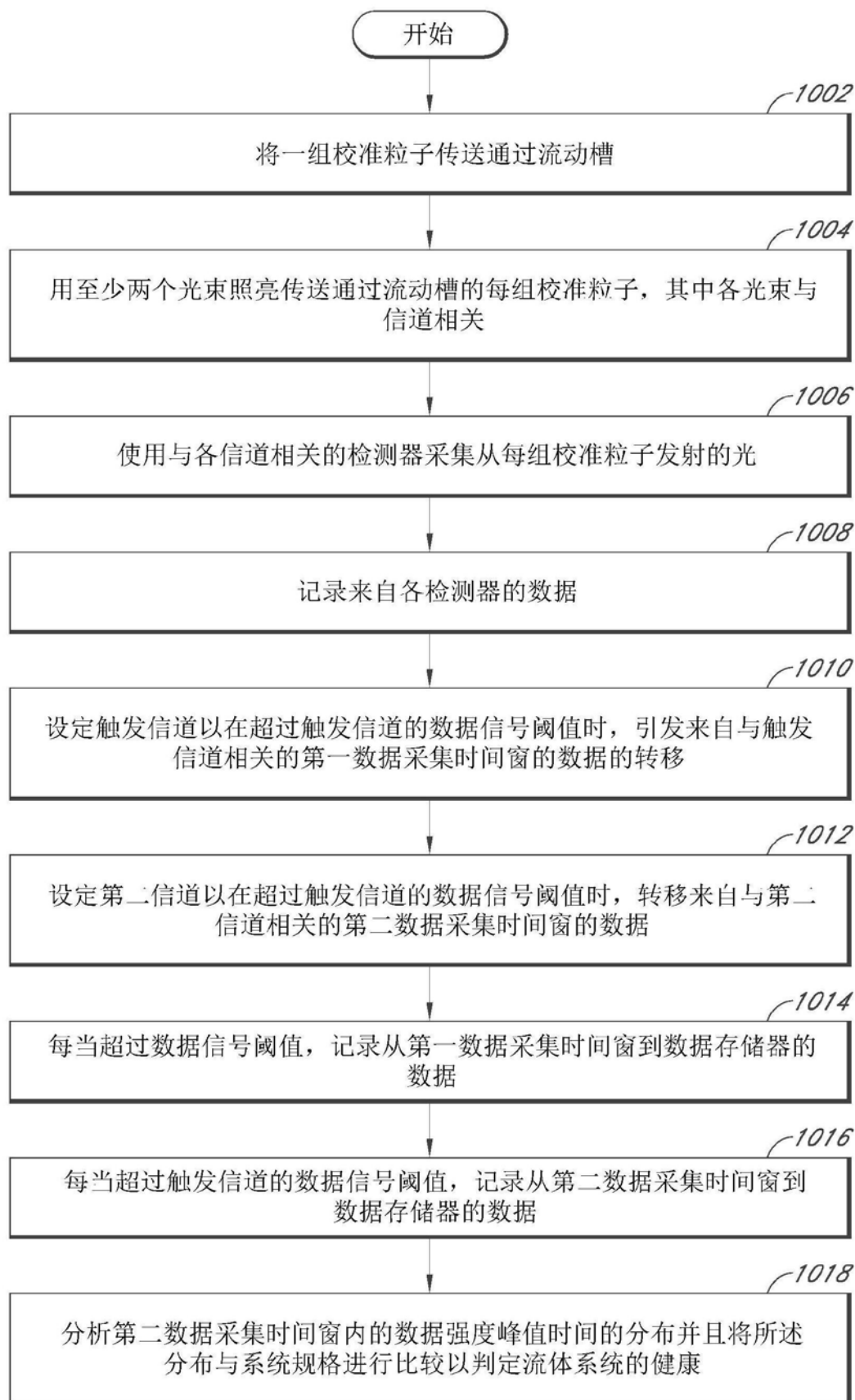


图10