



[12]发明专利申请公开说明书

[21]申请号 95197450.5

[43]公开日 1998年2月25日

[11]公开号 CN 1174515A

[22]申请日 95.12.1

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

[30]优先权

代理人 魏金玺 谭明胜

[32]94.12.2 [33]US[31]08 / 349,166

[86]国际申请 PCT / US95 / 15667 95.12.1

[87]国际公布 WO96 / 16713 英 96.6.6

[85]进入国家阶段日期 97.7.24

[71]申请人 布里斯托尔-迈尔斯斯奎布公司

地址 美国新泽西州

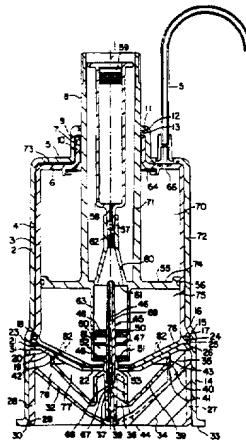
[72]发明人 N · E · 霍尔姆

权利要求书 5 页 说明书 17 页 附图页数 3 页

[54]发明名称 离心机的试剂释放系统

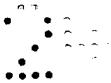
[57]摘要

一种利用围绕中心轴的离心作用分离血液成分例如纤维蛋白单体的装置，该装置包括由围绕旋转轴同心配置的圆筒外壁（72）和圆筒内壁（71）以及上壁（73）和下壁（74）限定的第一环形室（70），该室的下壁是由可在第一室内移动的活塞（55）构成的。该装置包括位于第一室之下且通过第一通道（4）与第一室相通的第二室（75），并且该室由第一室的圆筒外壁（72）、下壁（74）和另一个下壁（76）所限定。该装置还包括一个配置在第一室内的密封室（45），该密封室包括多个隔室，用于容纳有促进分离作用的相应组合物。



权 利 要 求 书

- 1、一种分离血浆成分的方法，该方法包括以下步骤：
将血浆加入密闭的反应室中，该反应室包括外壁、上壁和下壁；
使所示的反应室围绕其纵轴旋转；
- 5 打开所述反应室内预先装入试剂的释放密封室，以便在连续旋转过程中释放一种或多种预先装入的试剂，预先装入的这些试剂是在需要时被选择性地释放的以便从所述血浆中分离所述的成分。
- 2、权利要求1的方法，其中在收集所述的成分之前从所述的反应室中排除所述余下的血浆。
- 10 3、权利要求1的方法，其中所述的成分是纤维蛋白，并且至少一种所述的试剂是能将所述血浆中的纤维蛋白原转化为非交联的纤维蛋白聚合物的物质。
- 4、权利要求3的方法，其中所述用于转化纤维蛋白原的试剂，是在旋转过程中但在将血浆加入所述的反应室之前被释放的。
- 15 5、权利要求3的方法，其中所述用于转化纤维蛋白原的试剂，是在旋转过程中且在将血浆加入所述的反应室之后被释放的。
- 6、权利要求3的方法，其中所述的试剂是凝血酶或一种类凝血酶。
- 7、权利要求1的方法，其中所述的旋转是连续的，一直持续到所述旋转产生的离心力使所述的一种或多种试剂从所述的密封室中释放出来，然后，停止该方法所述的旋转，使所述的试剂与所述的血浆发生反应。
- 20 8、权利要求1的方法，其中在一种或多种试剂与血浆发生所述反应的过程中，所述的旋转是连续的，以便将所述的成分沉积在所述的外壁上。
- 25 9、权利要求8的方法，在所述的反应之后将一种溶剂加入所述的反应室中，以便分离和沉积所述的成分，从而制备出含有所述成分的溶液。
- 10、权利要求1的方法，其中第二种试剂是在第一种试剂与血浆反应之后，从所述的试剂释放密封室中选择性释放的。
- 30 11、权利要求10的方法，其中所述的第二种试剂对第一种试剂具有亲合力，以便结合和捕获所述的第一种试剂，便于从所需要的成分中除去所述的第一种试剂。



12、权利要求 11 的方法，其中所述的第一种试剂，是能将纤维蛋白原转化成非交联的纤维蛋白聚合物的生物素化的活质分子，而其中所述的第二种试剂是一种对生物素有亲合力的物质。

5 13、权利要求 12 的方法，其中所述的活质分子是凝血酶或一种类凝血酶。

14、权利要求 12 的方法，其中所述的第二种试剂是一种结合到惰性载体物质上的抗生物素蛋白。

10 15、权利要求 1 的方法，其中在流体上与所述反应室相通的分离室中，将全血分离成血浆部分和细胞部分，然后将其中所述的血浆部分加进所述的反应室中。

16、权利要求 2 或 9 的方法，其中从含所述成分的溶液中除去所述的一种或多种试剂。

15 17、权利要求 16 的方法，其中将含所述一种或多种试剂的所述成分的溶液从所述的反应室中转移到过滤室中，以便于从所述溶液中除去所述的一种或多种试剂。

18、权利要求 17 的方法，其中含有所述试剂的所述成分的溶液在过滤之前要经过能结合该试剂的第二种试剂处理，以便强化所述的过滤。

19、权利要求 18 的方法，其中所述的试剂释放密封室有两个试剂室，由一个能滑动的套筒封闭，其中

(a) 在初始位置，所述的套筒封闭所有所述的试剂室；

(b) 在第二位置，所述的套筒已向下滑动，以便打开第一试剂室，将所述的第一种试剂释放到所述的反应室中，而在此位置，所述的套筒还封闭着所述反应室和所述过滤室之间的所述流体通道；

25 (c) 在第三位置，所述的套筒已进一步下滑，以便打开第二试剂室，释放第二种试剂，并仍旧封闭反应室和过滤室之间的所述流体通道；和

(d) 在第四位置，所述的套筒已又进一步下滑，以便打开反应室和过滤室之间的所述流体通道。

20、一个配接装置在血液或血浆处理装置封闭反应室中的试剂释放系统，该系统包括：

一个或多个各自都装有所需试剂的试剂释放室，每个室都是由特殊安装在轴中枢上的圆盘构成的上壁和下壁限定的，以便在所述圆盘之间

再由外壁限定形成该室，该外壁包括一个安装在这些圆盘周边上的可滑动的封闭套筒。

21、一种分离血浆成分的装置，该装置包括：

将血浆加入反应室的装置；

5 由上壁、下壁和外壁限定的封闭的圆筒形反应室；

选择性地将一种或多种试剂释放到所述反应室中的装置，所述的装置包括在所述封闭反应室内的一个余下装入试剂、可选择性打开的封闭的试剂释放密封室，在所述的反应室绕轴旋转过程中，可从反应室外操纵该密封室；和

10 使所述的反应室绕其轴旋转的装置。

22、权利要求 21 的装置，其中所述的选择性释放装置包括：

一个或多个试剂释放室，每个室都装有所需要的试剂，每个室都由特殊安装在轴中枢上的圆盘构成的上壁和下壁限定的，以便在所述圆盘之间再由外壁限定形成该壁，该外壁包括一个安装在这些圆盘周边上的可滑动的封闭套筒。

15 23、权利要求 22 的装置，其中所述的密封室安装在所述反应室底部的中心，可通过一根杆操纵该密封室，该杆穿过或从所述反应室的上壁延伸到该反应室中，连接到所述的封闭套筒上并使其向下滑动，足以打开所述的一个或多个试剂室。

20 24、权利要求 23 的装置，该装置还包括一个在公共轴上与所述反应室排除一直线的圆筒形分离室，所述的分离室包括上壁、可与所述反应室共用的外壁，和同时起所述分离室下壁和所述反应室上壁作用的可移动的活塞，所述的活塞还包括通过所述的分离室和该室上壁向上延伸的轴，并且还包括在下方进入所述反应室的延伸段，该延伸段连接到所述试剂密封室的封闭套筒上并使其滑动。

25 25、权利要求 24 的装置，该装置还包括至少一个流体转移通道，该通道从所述反应室的底部通过该室的外壁延伸且通到所述的分离室中。

30 26、权利要求 25 的装置，其中所述的转移通道还通过所述分离室的外壁延伸到该室的顶部。

27、权利要求 23 或 24 的装置，该装置还包括一个在与所述反应室相通的流体通道上的过滤室。

28、权利要求 27 的装置，其中所述的过滤室在所述的反应室之下，并且该装置所述的流体通道包括所述反应室下壁上的一个开孔，该孔的形状和尺寸基本上相应于所述封闭套筒的横截面，以致可使所述的套筒向下滑动并封闭所述的流体通道。

5 29、权利要求 28 的装置，其中使所述的过滤室适合在所述的套筒滑动到其最低位置时容纳整个该套筒，以使所述反应室和所述过滤室之间的流体通道打开。

10 30、一个利用围绕中心旋转轴的离心作用分离液体中密度不同的成分的装置，且该装置包括由围绕旋转轴同心配置的圆筒外壁和圆筒内壁以及上壁和下壁限定的第一环形室，该室的上壁或下壁是由可在第一室内移动的活塞体构成的，所述的装置还包括通过第一通道与所述第一室相通的第二室，且该室由围绕旋转轴同心配置的圆筒外壁、所述第一室的下壁以及另一个下壁所限定，在离心过程中，该装置的第二室配接位于第一室之下，且所述的装置还包括将液体加入第一室中的液体加入装置和将一种或多种试剂加入第二室中的试剂加入装置，所述的试剂加入装置包括一个配置在第二室中的密封室，且该密封室包括多个隔室以便容纳能促进分离的相应组合物，而且该密封室还包括封闭所述隔室的封闭装置，且在活塞的作用下，依次打开隔室以便释放其中的试剂。

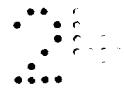
15

20 31、权利要求 30 的装置，其特征在于密封室包括一个同轴安装在第二室内的中枢，该中枢带有三个相互有间距的径向圆盘，它们构成这些隔室的隔板，且具有基本相同的外圆周形状，该装置的特征还在于封闭装置是由一个围绕这些径向圆盘的可移动的密封的套筒形外壳构成的。

25 32、权利要求 31 的装置，其特征在于活塞包括一个与密封室的套筒形外壳协同动作的向下的裙板，以便使所述套筒形外壳逐步移动，从而该外壳依次打开以便释放密封室内所述隔室中的试剂。

30 33、权利要求 31 的装置，其特征在于将密封室配置在与通到附近第三室的轴向通到连通的位置上，密封室套筒形外壳的外侧至少在外壳开始移动之后与轴向通道的侧壁密封连接，因而在活塞作用下，使套筒形外壳做最后移动，在它脱离了与最低隔板周边的配接之后，密封室的最低隔板使流体从第二室自由地流入第三室。

34、权利要求 33 的装置，其特征在于第三室包括一个内环形隔室



和一个外环形隔室，这两个隔室都围绕旋转轴同轴延伸，且该装置的特征还在于内、外环形隔室通过径向延伸的圆形通道互相连通，在该通道内装有防止含有所述酶类的液体通过的环形过滤器。

35、权利要求 34 的装置，其特征在于密封室的中枢包括一个轴向的直通道，且固定在位于较低的第三室底部中央向上凸出的部分上，底部的所述直通道通过一个通道系统与第三室环形外隔室在液体上相通，该装置的特征还在于中枢的上端适合与活塞体内的轴向通道密封连接，以便使中枢与可固定到轴向通道上的液体接受容器连接。

说 明 书

离心机的试剂释放系统

技术领域

5 本发明涉及从血浆中分离血液成分，例如纤维蛋白单体的离心装置，所述的方法包括用一种或多种试剂处理血浆，其中采用一种新颖的试剂释放系统将所述的这些试剂释放到一个装有所述血浆的适宜的反应室中。

背景技术

10 EP - PS 592,242 叙述了一些用于一种全新的纤维蛋白密封胶的方法及组合物，其中包括使所需要的部位与包含纤维蛋白单体的组合物接触，并在接触的同时将这种单体转化成纤维蛋白聚合物。“纤维蛋白”这一术语被规定为纤维蛋白 I、纤维蛋白 II、和/或命名符为 BB 纤维蛋白。

15 从 EP 0654669 得知还有一种分离血液成分，例如纤维蛋白单体的方法。这种分离含有几种比重不同成分的液体中各种成分的方法，包括将血液集中在装置第一室中的一些步骤，该室由基本上是轴对称的外壁和内壁限定的。借助于装置围绕该室对称轴的旋转使血液经受离心作用，以便在血液的成分之间形成同轴界面。然后在该装置继续离心的过程中，优选通过减少第一室容积的方法，使血液的至少一种成分例如血浆转移到该装置的第二室中。第一室具有基本上是轴对称的内壁，以确保所有的血液都经受进行分离所必需的离心旋转。这一内壁具有适应所需旋转速度的半径。

20 在第二室中，借助适宜的酶从血浆中分离出含有非交联纤维蛋白聚合物的部分，然后将其重新溶解成纤维蛋白单体，并利用减少第二室的容积使其通过过滤器转移到注射器中。

25 然而已经证明，只采用在上述类型的装置中过滤的方法，分离血液成分，例如纤维蛋白单体，不能得到令人满意的结果。这主要是由于很难保证能令人满意地分离第二室中含有纤维蛋白单体的部分，因而在该方法的下一个步骤中，在接着将流体部分从第二室转移到第一室的过程中，血液中相当多的纤维蛋白损失了。

30 在早期的纤维蛋白单体法中，也用适宜的酶对血浆中的纤维蛋白原

作上述的处理，在第二室的底部以浓稠的凝胶状物质的形态生产非交联纤维蛋白聚合物。为了提供所需的纤维蛋白单体溶液，需要大量的用于再溶解的缓冲溶液以及伴随再溶解的强烈搅拌。这样就产生了几个缺点。第一，优选的纤维蛋白单体法，例如用作 EP 592,242 中纤维蛋白密封胶，需要纤维蛋白单体的浓溶液，而为了溶解凝胶状物质需要大量再溶解缓冲溶液或溶剂，所形成的稀溶液不能使用。其次，将凝胶状物质溶解成纤维蛋白单体溶液需要强烈搅拌，这会造成装置和纤维蛋白本身的损坏。

一项与其同时提交的题目为“从血液中分离一种成分例如纤维蛋白 I 的方法和装置”的共同未决的专利申请公开了一项发明，该发明包括一种在离心过程中从圆筒形室里的血浆部分中分离非交联的纤维蛋白聚合物的方法，利用这种方法，非交联的纤维蛋白聚合物沉积在该室的外壁上，然后从该室除去余留在其中的流体部分，再通过加入溶剂和离心搅拌作用使留在该室中、基本上沉积在壁上的含有非交联纤维蛋白聚合物的部分溶解。

由于用酶处理血浆是在连续的离心过程中进行的，所以作用在所产生的非交联纤维蛋白聚合物上的离心力能使其沉积成凝胶薄膜，该薄膜基本上贴在该室周围的壁上。在离心作用停止时，余下的血浆流体沉积在该室的底部，并可利用任何简便的方法除去。然后通过向该室中加入适宜的再溶解缓冲溶液和使沉积有凝胶层的室中的缓冲溶液经受离心搅拌作用，来制备所需要的纤维蛋白单体溶液。这种方法与现行方法相比具有一些优点。首先，利用缓冲溶液再溶解非交联的纤维蛋白凝胶是极其有效的，其部分原因是由于相同体积的纤维蛋白凝胶膜比用一些现行方法制备的纤维蛋白凝胶状物质的表面积大。因此可用少量的再溶解缓冲溶液来溶解凝胶以得到所需要的纤维蛋白单体浓溶液。其次，对沉积有凝胶层的室中的缓冲溶液的离心搅拌是比较缓和的方法，对设备或纤维蛋白单体产品不会造成任何损坏。所得的高浓度纤维蛋白单体溶液，每 ml 溶液含 10 – 30mg 纤维蛋白单体，优选为约 25mg/ml。

这项共同未决的发明还包括一种优选在抗凝血剂存在下将血液加入装置的第一环形室中的方法，在该装置中，环形室是由围绕公共轴同轴延伸的圆筒形外壁和圆筒形内壁以及上壁和下壁限定的，而上壁或下壁是由第一室内可移动的活塞体构成的，所述的方法还包括该装置围绕

公共轴的离心作用，以便将血液基本分离成细胞部分和血浆部分，然后在活塞体的作用下，将产生的血浆部分转移到由圆筒外壁限定的第二室中，该壁与所述的公共轴同轴延伸，从而在加入适宜的酶时，能使含有非交联的纤维蛋白聚合物的部分在第二室中得到分离。这种方法的特征
5 在于，含有纤维蛋白原的血浆部分在离心过程中经受酶的作用，以致使所得到的非交联的纤维蛋白聚合物沉积在所述第二室的圆筒形外壁上，然后在活塞体的作用下，将集中在第二室底部的流体部分转移到第一室，该方法的特征还在于，通过加入溶剂和离心搅拌作用使留在第二室中基本上沉积在圆筒形壁上的含有非交联的纤维蛋白聚合物的部分
10 溶解。如果需要，然后可以除去酶，并把用这种方法生产的纤维蛋白单体溶液转移到任一所需要的接受容器中。

因此，很容易保持收集溶液的无菌条件。正如现有技术所述，在纤维蛋白单体再溶解之后，可将其转移到接受容器例如注射器中备有。在转移之前，可用任何简便的方法将酶除去。

15 上述共同未决的专利申请还公开了一种利用中心旋转轴周围的离心作用分离成分的装置，该装置包括由围绕旋转轴同心配置的圆筒外壁和圆筒内壁以及上壁和下壁限定的第一环形室，其中下壁是由在所述第一室内可移动的活塞体构成的，所述装置还包括一个通过第一通道与第一室连通的第二室，该室是由围绕旋转轴同心配置的圆筒外壁和所述的活塞体以及下壁限定的，这里所述的第二室在离心过程中配接位于第一室的下方，而此处所述的装置还包括将血液加入第一室的血液加入装置
20 和加入能促进分离的组合物的组合物加入装置以及与至少一个液体接受容器相连的接受装置，此处的接受装置通过第二通道与第二室相通。在优选的实施方案中，活塞杆构成第一室的内壁。

25 为实现根据共同未决的发明的方法，本发明的装置的特征在于第一通道包括在第一室上壁开孔和第二室下壁开孔之间延伸的至少一个通道。

因此提供一种比较简单且与活塞位置无关的装置，确保能容易快速地将上述各部分从一个室转移到另一个室中，特别是在分离出含纤维蛋白-I的部分之后，能保证容易、快速地将流体部分从第二室转移到第一室中。后一种情况，特别是在离心作用停止时，由于流体自动地集中在第二室底部，因而通过活塞的移动，能很容易地将其转移到第一室



中。

根据共同未决的发明，特别优选所述的至少一个通道在第一和第二室的圆筒外壁的内部延伸，因而该装置特别简单且容易制造。

另外，第二室下壁上的通道开孔可以设置在该室的中央，与下壁形
5 成的凹槽连通。因此，上述的流体部分很容易且迅速地直接被导入该通道的入口孔。另一个方案，每条通道都可由贯穿活塞体的直管构成，而其两端分别固定在第一室上壁和第二室下壁上，与在相应室中终止的各段通道相通。

此外，第一室和第二室可以包括一个以一种特别简单的方式由一个
10 外圆筒和一个密封装配在其中的内圆筒构成的公共圆筒外壁，且在外圆筒和内圆筒之间限定了一条轴向延伸的通道，这两个圆筒的一端可由端壁终止，端壁上有一个能使与活塞体连接的活塞杆通过的开孔，所述的活塞体构成了第一室的下壁，并将所述的第一室与第二室隔开，且圆筒
15 终止端的通道在这两个圆筒的端壁之间延伸，直至紧靠或邻近活塞杆处的开孔。

在采用这种装置和方法时，预先将有利于分离和处理血浆中所需成分的一些适宜的试剂加大第二室中。例如，EP592,242 叙述了生物素 -
20 抗生物素蛋白捕获系统可以方便地用于从所需要的溶液中除去类凝血酶。在第二室中需要有生物素类凝血酶存在，以便与血浆中的纤维蛋白原反应并使其转化成纤维蛋白单体（纤维蛋白单体立即转化成一种纤维蛋白聚合物）。然后为了使用生物素 - 抗生物素蛋白系统捕获生物素化的类凝血酶，在第二室里还必须存在被结合的例如被束缚在琼脂糖上的
25 抗生物素蛋白。在使用密闭、自动化的离心装置的情况下，需在血液加工之前将这些试剂装入该装置。预先将生物素化的类凝血酶和抗生物素蛋白琼脂糖加入同一个室有些困难，因为抗生物素蛋白对生物素的高亲合力（对酶的捕获依赖于高亲合力）阻止了足够量的酶首先与所需要的纤维蛋白原反应。

发明概述

本发明的目的在于提供一种能很容易地将一种或多种试剂放入反
30 应室内，并能按所要求的顺序释放这些试剂的装置。优选将试剂例如酶和酶 - 捕获组合物用于前述共同未决的专利申请所述的这类装置中时，这些试剂能按要求被释放出来。为了达到上述目的，根据本发明提

供了一种装置，该装置的特征在于在第二室中配置了一个密封室，且该密封室包括多个隔室，以便容纳促进分离的适宜组合物，该装置的特征还在于该密封室具有封闭所述隔室的封闭装置，并在活塞的作用下，使封闭装置依次打开，释放隔室里的试剂。

5 这种密封室能够以简单容易的方式加进分离纤维蛋白 I 所必需的物质，优选在密封室中事先装入这些物质。此外，所设置的这些隔室能按不变的预定比例分配上述物质的数量。如果在使用类凝血酶后能利用抗生物素蛋白很容易地捕获类凝血酶，就优选将类凝血酶放在与生物素发生化学反应的一个隔室里，所以将抗生物素蛋白放在与较大的颗粒状的
10 琼脂糖发生化学反应的第二隔室中。生物素对抗生物素蛋白的高亲合力，为随后容易通过过滤从纤维蛋白 I 溶液中除去络合的生物素化的类凝血酶/抗生物素蛋白琼脂糖颗粒提供条件。将这两种物质放在它们相应的隔室里，还能在需要时在活塞的作用下很容易地投放这些物质。可以以任何方便的形式例如冻干的粉末状态使用上述的物质或组合物，它们
15 分别为生物素 - 类凝血酶和抗生物素蛋白 - 琼脂糖。

根据本发明，特别优选密封室包括一个同轴安装在第二室内部的中枢，它带有三个相互有间距的径向圆盘，它们构成这些隔室的隔板，且具有基本相同的外圆周形状，还特别优选封闭装置由一个密封围绕在径向圆盘周围的可移动套筒形外壳构成。

20 为了驱动可移动的套筒形外壳，根据本发明，活塞包括一个与密封室上的套筒形外壳同时动作的、向下的裙板是有利的，以便使所述的套筒形外壳逐步位移，借此，所述的外壳依次打开，以便释放密封室内所述隔室中的试剂。

根据本发明，可使密封室与通向邻近的第三室的轴向通道连通配
25 置，至少在密封室套筒形外壳开始移动之后其外壁与轴向通道的侧壁密封连接，从而在活塞的作用下使套筒形外壳做最后移动并脱离了与最低隔板周边的配接之后，密封室的最低隔板使液体从第二室自由流入第三室。这种类型的密封室也是简便型装置的部件，在分离纤维蛋白单体的过程中，它有助于该装置的后续操作。为了后一目的，第三室包括围绕
30 旋转轴同轴延伸的一个内环形隔室和一个外环形隔室是有利的，且内、外环形隔室可通过径向延伸的圆形通道互相连通，通过内有一个环形过滤器以便防止含有所述酶的液体通过。

另外，为了制成该装置的整体部件，根据本发明密封室的中枢可包括一个轴向直通通道，并可固定在位于较低的第三室底部中央向上的凸出部分上，在底部的所述直通通道通过一个通道系统与第三室的外环形隔室在液体上相通，并可使中枢的上端与活塞体的轴向通道密封连接，以便与可固定到该轴向通道上的液体接受器连接。

本发明的一些方法涉及分离和离析单一血液成分或含有这种成分的溶液的一些改进的工艺。然而本方法适合适用于圆筒形离心机的任一工艺，在这些工艺中是在离心过程中用一种或多种催化剂或试剂处理初始溶液。能从这种方法中获益的其它血液处理方法包括但不限于分离任一血液成分，例如

富血小板血浆，
血小板浓缩物，
低温沉淀纤维蛋白原，

血浆中的其它蛋白质如凝血酶和 fibronectin 等的离析。优选血液来自单一供体，最优先血液来自将对其提供这种血液成分的同一个人。

尽管下文就生产纤维蛋白单体溶液来叙述本发明的一些方法，但本领域的技术人员会理解，本发明的范围不受此限制。

本文所用的术语“离心搅拌”是指装置的转动，在该装置中加入再溶解缓冲液，以便从室的外壁上将中间产物再溶解下来，例如非交联的纤维蛋白聚合物凝胶。这种转动或离心搅拌可包括确保凝胶暴露的所有表面都能受到再溶解溶液作用的离心作用，而且优选包括后接按同一方向进行停止 - 启动旋转和/或按相反的方向停止 - 启动旋转的这种离心作用。典型的离心搅拌包括但不限于在 2,000 - 5,000RPM 下，在任何所需时间内重复正向/反向旋转，每次旋转 5 - 30s，优选旋转 5 - 10s。在本发明的这些方法中，优选在约 3,000 RPM 下重复正向/反向旋转 1 - 2min，每次正反旋转各 5 - 10s。如上所述起初为了分散溶剂，在重复正向/反向旋转之前，可旋转稍长一点时间例如 20s 或更长。

本文所用的术语“纤维蛋白”是指纤维蛋白 I、纤维蛋白 II 或命名符为 BB 纤维蛋白。

本装置设有本文公开的试剂释放系统，这为向离心机反应室释放一种或多种试剂提供有效而准确的方法。这对于在需将二种或多种试剂依次加入反应室中的血液分离技术上所用的密闭配套的自动化离心机是

特别重要的。在本文所述用于制备例如用于新型纤维蛋白密封胶的含纤维蛋白单体的溶液的一些优选的方法和装置中，按序先向装有血浆的室中加入生物素化的类凝血酶，接着加入抗生物素蛋白琼脂糖，是制备这种溶液的一种非常先进的方法。

5 在优选的实施方案中，释放密封室还控制离心的第一室和第二室之间以及第二室和第三室之间流体的流动，下面用附图详细说明。

附图简述

现参照附图来叙述本发明的装置和方法的一些优选的实施方案，其中

10 图 1 是根据本发明的装置的优选实施方案的轴向剖面图。

图 2 说明根据本发明的装置的第二个实施方案。

图 3 说明根据本发明的装置的第三个实施方案。

本发明的装置是单一的密闭可自动化的装置，它能将全血转化成所需的血液成分，例如纤维蛋白密封胶，优选转化成自体（autologous）成分。

15 根据本文的叙述，该装置可方便地用在一个驱动单元内，驱动单元可以固定和调整该装置。使其按需要围绕其轴转动并驱动活塞和推杆，推杆被认为有利于活塞的移动等。

本发明优选实施方案的叙述

20 优选将本发明的试剂释放系统与在上述共同未决的专利申请中所涉及的装置一起使用，因此在下文中与这种装置同时叙述环形离心过滤系统。然而应当理解，它可以用在任何需要除去一种或多种试剂的反应装置中。

25 根据本发明，图 1 的装置由基本上是旋转对称的部件构成的，这意味着可用一种本来已知的简易方法将该装置放置在离心设备中，以便围绕中心轴 1 离心。在图 1 中，该装置的优选实施方案包括一个外容器 2 和一个内容器 3，它们彼此完全吻合地装配在一起，且除了具有轴向延伸的中间通道 4 的部分以外，它们之间的每一处都是封闭邻接的。在内容器 3 上加工的沟槽构成通道 4。2 和 3 这两个容器分别包括它们各自的顶部 5 和 6，它们的顶部限定使活塞杆 8 通过的中心孔 7。这两个容器分别包括轴向延伸段 9 和 10，这两个延伸段围绕在孔 7 的周围，且在离开这两个容器内部的方向上紧靠着空心活塞杆 8 延伸。外容器 2 沿

径向延伸的短凸缘 11 与空心活塞杆邻接，短凸缘上有一个容纳密封环 13 的凹槽 12。

如图 1 所示，通道 4 在内外容器之间是连续的，从内容器和外容器的圆筒外壁起沿着顶部 5、6 和轴向部分 9 和 10，一直到就在开孔 7 中密封环 13 下面的开孔。内容器 3 与开孔 7 邻接的轴向部分 10 的尺寸，使空心活塞杆 8 的周围有一条狭窄的自由通道通到容器 2、3 的内部。

外容器 2 包括一个直径相同的圆筒部分，参见图 1。沿附图往下看时，该圆筒部分通过一个形成截头锥体内表面 16 的短过渡部分 15 延伸成一个直径稍大的圆筒部分 14。内容器 3 终止在外容器 2 的过渡部分 15 延伸成直径较大的圆筒部分 14 的位置。内容器 3 的下端包括截头锥体形状的外表面 17，它与外容器 2 内侧截头锥体表面 16 的形状相吻合。就在内容器 3 下端的下面分别装设一个外圆盘 19 和一个内圆盘 20，内容器 3 终止于径向面 18。除了在这两个圆盘之间由中心孔 22 至外容器 2 内侧的轴向平面上的通道 21 之外，它们彼此之间是紧密邻接的。此处的通道 21 通过轴向延伸部分 23 与外容器 2 和内容器 3 之间的通道 4 相通。通道 21 和轴向通道部分 23 适合由内圆盘 20 对着外圆盘 19 一侧上的凹槽形成。19 和 20 这两个圆盘被加工成倾斜状，以使它们基本上构成内、外截头圆锥的表面（见图 1），且因此朝着中心孔 22 向下倾斜。图 1 还示出，内圆盘 20 有径向面 24，它与内容器 3 上相近的径向面 18 邻接。内圆盘 20 的径向面 24 上有一个容纳密封环 26 的凹槽 25。

用一个在下部封闭外容器的盖 27，将 19 和 20 这两个圆盘保持在与内容器 3 的径向面 18 对接的位置上。盖 27 包括一个适合与外容器 2 的内侧紧密邻接的圆筒部分 28，并用适当的方式，例如采用套筒 28 外侧上的周边凸缘 29 和外容器 2 内侧周边上的相应凹槽 30 之间相接的压紧作用将其固定到外容器 2 上。利用外圆盘 19 外边缘上的周边凹槽 32 中的密封环 31 确保密封连接。盖 27 还包括一个相当薄的壁 32，它适合在图 1 所示的位置上构成该装置的下底。壁 32 基本上沿着与外圆盘 19 和内圆盘 20 平行的方向延伸，即壁 32 从套筒 28 的内侧与圆盘 19 和 20 的邻近处起向下延伸至一个基本上与外容器 2 的下边沿 33 在同一水平面上的部位。为了加强这个较薄的壁 32，按一定间隔装有起加强作用的径向加强肋 34，图 1 中只出现一个所述的加强肋。加强肋 34 是成形加工的，其一部分在壁 32 之外，而另一部分在壁 32 之内（见图 1）。

后一部分用图号 35 表示，它被制成能与外圆盘 19 的底侧邻接的形状，从而它有助于将圆盘 19 和 20 保持在可靠的位置上。

隔板装置 36 夹在外圆盘 19 和盖 27 之间，这个隔板装置 36 包括中心管段 37。这个中心管段安装在一个沿轴向向内突出的短轴 38 上，该 5 短轴与盖 27 的壁 32 被加工成形为一体。这个管段 37 与从该管向外延伸的圆盘壁 39 加工成形为一体，使圆盘壁 39 起初朝向盖 27 的壁 32 稍微向下倾斜，然后有一段沿短轴方向延伸，以便再沿着基本上平行于盖 10 壁 32 的方向继续延伸。圆盘 39 终止于径向伸展的短周缘 40，短周缘 40 靠着盖 27 上的加强肋 35 的台肩 41。环形过滤单元 42 夹在圆盘壁 15 39 的外周缘 40 和外圆盘 19 的底侧之间。这个环形的过滤单元 42 与在相邻的外圆盘 19 外侧上基本上呈径向的加工成形表面 43 邻接。采用这种环形过滤器的一种装置和一些方法是一项同时提交的题为“具有环形过滤器的离心机”的共同未决的专利申请的主题。

为了确保隔板装置 36 的稳定性，还在管段 37 和圆盘壁 39 之间配置有编号 44 所表示的径向加强肋。

本发明的试剂释放系统包括总编号 45 所表示的密封室，它固定在隔板装置 36 的管段 37 与盖 27 相反的一端上。该密封室适合选择性地将试剂释放到第二室 75 中。这个密封室包括一根细长的管段 46，该管段与径向环 47 被加工成形为一体且带有两个附加的径向环 48 和 49。20 用压配合的方法将 48 和 49 这两个径向环固定到它们在固定环 47 的相应侧。利用圆形台肩 50 和 51 将松动环 48 和 49 分别按它们与固定环 47 相应的间距配置在管段 46 上。47、48 和 49 三个圆盘有完全相同的外径并带有一个沿着它们相应的边缘的圆形套筒 52，该套筒被安装成可移动式的。

如附图所示，下圆盘 49 与隔板装置 36 的管段 37 的上端邻接，从而确定了密封室 45 的轴向位置。该位置还可由当密封室的可移动的套筒 52 在轴向上位移时，借助其下端（见附图）与外圆盘 19 在中心孔 22 内的最内边缘 53 达到密封邻接来确定。在套筒 52 的这个位置上，在围绕该套筒的内圆盘 20 以内的空间与通向外圆盘 19 和内圆盘 20 之间的通道 21 的入口孔之间仍然相通。可移动套筒 52 应当有适当的轴向长度，以致当所述套筒 52 向下做轴向移动时，在套筒 52 的上端（见附图）30 脱离固定环 47 之前，该套筒 52 与外圆盘 20 相连接。套筒 52 的内径还

与隔板装置 36 的圆盘壁 39 的轴向延伸部分的外径相匹配，以致套筒 52 朝着盖 27 继续向下移动到脱离外圆盘 19 时就与隔板装置 36 相连不再移动。隔板装置 36 轴向部分的长度也与套筒 52 的轴向长度相适应，以致所述套筒 52 处在最低位置时，基本上完全被隔板装置 36 所容纳。

5 如附图所示，空心活塞杆 8 包括在外容器 2 和内容器 3 内的圆形活塞 55，所示活塞 55 通过密封环 56 与内容器 3 的内侧密封连接。

在空心活塞杆内加工成形一个陆尔联轴器（Luer-Coupling）57，用以容纳常规注射器 58 以及对注射器 58 的内容物起活塞作用的活塞 59。联轴器 57 基本上被加工成形为通过截头圆锥部分 60 与活塞 55 内的中心孔连通的管段。该管段 57 具有一个在径向上朝内凸出的缩颈 62，用以引导注射器 58 中的流体从轴向路径离开，且从而绕过在其下方的密封室 45 内的管段 46。后一管段 46 的长度和其它尺寸以活塞 55 处在其接近盖 27 的最低位置时，它能与活塞杆 8 内的管段 57 密封连接为准。为了加强上述的密封连接，管段 57 内侧的直径朝着接近活塞 55 的一端逐渐减小。

20 轴向伸出的裙板 63 与围绕所述活塞中心孔 61 的活塞 55 构成一个整体。该裙板 63 被加工成形的直径和长度，以其能通过活塞 55 的适当移动，推动密封室 45 的可移动套筒 52 做上述移动进入所述的位置，即与穿过两个圆盘 19 和 20 的中心孔 22 的内边缘 53 连接，随后与隔板装置 36 连接的位置为准。

一个有弹性的带唇环形密封装置 64 按所示固定在容器 2、3 顶部内侧空心活塞的周围（见图 1）。这个带唇密封装置 64 适于防止流体从容器 2、3 内部不按要求流入通道 4，但当通过活塞 55 施加一个力时，它可以使流体通过。

25 如图 1 上部所示，在外容器 2 和内容器 3 的相应开孔 66 上有一个挠性管 65 的接头。这种接头已为人们所知，因此没有详细示出，但如果需要，该接头能使与挠性管的连接中断。另外，用常规方法装设一个带有适宜过滤器的排气孔，因此既没有表示出，也不做详细说明。

30 有一条通道 69 从隔板装置 36 和盖 27 之间的区域一直向上通过隔板装置 36 的管段 37 的内部以及密封室 45 的管段 46 的内部。当后一管段 46 与活塞杆 8 内部的管段 57 联结时，这个通道 69 就能使流体从所述的区域转移到注射器 58 中。在盖 27 的短轴 38 的最下部设有通道 66，

该通道是通过将所述的短轴 38 加工成具有一个轴向的平面形成的，所述短轴的横截面基本上是圆形的。因此，在短轴和管段 37 内侧靠近短轴的部分之间形成一个空隙。就在短轴 38 的上面有一个区域 67，在该处，隔板装置 36 的内径稍微缩小。用这种方法就能把一个小过滤器 68 放在所述区域的正上方（见图 1），因此在流体进入密封室 45 的管段 46 之前必先通过所述的过滤器。

所述的装置包括第一环形室 70，也可称作分离室，该室在内部是由空心活塞 8 构成的圆筒形内壁 71 限定的，而在外部是由外容器 2 和内容器 3 构成的圆筒形外壁 27 限定的。若在一般使用的位置上（见图 1），在上部，环形室 70 是由外容器 2 和内容器 3 相应的底 5 和 6 构成的上壁 73 限定的。在下部环形室 70 是由活塞 55 构成的下壁 74 限定的。第二室 75 也是称作反应室，被限定在活塞 55 以下，在外部，该室是由和第一室 70 相同的圆筒形外壁 72 限定的。在下部，第二室 75 是由外圆盘 19 和内圆盘 20 形成的第二下壁 76 限定的。密封室 45 配置在第二室 75 内部的中央。在所述第二下壁 76 的下面设有第三室 77，该室是由隔板装置 36 和环形过滤单元 42 限定的。此外，这个第三室 77 也可称作过滤室，通过由外圆盘 19 和内圆盘 20 中心孔 22 形成的通道与第二室 75 相通。最后，在隔板装置 36 的下面设有第四室 78，该室也可称作收集室，在下部由盖 27 的壁 32，以及盖 27 的套筒部分 28 和外圆盘 19 的底侧限定的。

如上所述，所述的装置主要适合于分离血液成分，例如从血液中分离纤维蛋白单体，且为此目的，第二室 75，且优选密封室 46 的上室 80，事先充满适宜的酶例如类凝血酶（Batroxobin）。正如从 EP - PS 592,242 所了解的，可以使用任一种类凝血酶。这类酶包括凝血酶本身或具有类似活性的任一种其它物质，例如蛇毒蛋白制剂（Ancrod）、Acutin、Venymme、Asperase、Botropase、Crotabase、Flavorxobin、Gabonase 和优选的类凝血酶。类凝血酶可与生物素发生化学结合，生物素是一种合成的物质，能使人们以一种已知的常规方法利用抗生物素蛋白-琼脂糖组合物中的抗生物素蛋白捕获类凝血酶。因此，在密封室最下面的室 81 中有抗生物素蛋白-琼脂糖存在。在将所述的密封室放置在该装置中之前，将生物素-类凝血酶组合物和抗生物素蛋白-琼脂糖组合物装入密封室 45 内相应的室 80 和 81 中是比较容

易的。

最后，配置注射器 58，所述的注射器装有再溶解溶液，例如用乙酸稀释乙酸盐配制的 pH - 4 的缓冲溶液，该注射器适合接受纤维蛋白 I。

5 也可以使用现有技术中已知的其它缓冲剂。用于再溶解的缓冲剂可以是任一种酸性缓冲溶液，优选的缓冲溶液 pH 为 1 - 5。一些适宜的实例包括乙酸、琥珀酸、葡萄糖醛酸、磺基丙氨酸、巴豆酸、衣康酸、戊烷二酸（glutonic acid）、甲酸、天冬氨酸、己二酸以及这些酸的盐类。琥珀酸、天冬氨酸、己二酸和乙酸盐类例如乙酸钠是优选的。也可采用
10 离液序列高的（chaotropic）试剂在中性 pH 下进行溶解。适宜的试剂包括尿素、溴化钠、盐酸胍、KCNS、碘化钾和溴化钾。这类酸性缓冲剂或这类离液序列高的试剂的浓度和体积与 EP - PS 592,242 所述的相同。

15 在血液加入过程中或就在血液加入之后，将活塞杆 8 向该装置的内部推进，以致使密封室 45 的可移动套筒 52 向下移动，进入通过下壁 76 到第二室 77 的直通通道上的密封连接处。因此，同时打开密封室上室 80 中的生物素 - 类凝血酶组合物的通路。

20 当该装置准备使用时，用常规方法通过未示出的一根针和挠性管 65 把血液样品加入第一室中，还优先用常规方法往血液样品中混入抗凝血剂。在通过挠性管 65 和开孔 66 将血液加入第一室 70 内部的过程中，用常规方法从该室排出空气。在加完血液之后，拆下挠性管 65，且将开孔 66 封闭。然后将装有血液的这个装置放在离心机里，离心机特别有助于压紧密封各个部件。离心机使该装置围绕旋转轴 1 旋转。由于离心作用，血液在第一室 70 中分离出血浆部分，这部分血浆径向澄清在血液其余部分的内侧，余下的这部分血液含有红血细胞和白血细胞。正如 EP - PS 592,242 所述，根据需要改变离心的速度和时间，可使血小板存在于任一部分之中。如本文和 EP 654669 所述，采用本装置的离心速度一般为 2,000 - 10,000RPM，且可在过程中的不同阶段根据需要改变。

30 当血浆和血液其余部分之间的界面达到稳定时，即当分离完全时，向外拉活塞杆 8 及活塞 55 来减少第一室 70 的容积。因此，一个可能存在的内部空气层首先通过通道 4 和 21 进入第二室 75，且活塞 55 的进

一步移动意味着血浆也进入第二室 75。当全部血浆层被压入第二室 75 之后，即在血浆部分和血液其余部分之间的界面达到第一室 70 的内壁 71 之后，停止活塞 55 的移动。

在第二室 75 中，血浆部分与类凝血酶发生接触，因而从血浆部分 5 释放出的纤维蛋白单体立即聚合成非交联的纤维蛋白聚合物。这一过程是在该装置连续离心时进行的，因而纤维蛋白聚合物能有效地与血浆的其余部分分离，所述的纤维蛋白聚合物是由生物素 - 类凝血酶组合物的反应生成的，且沿着圆筒形外壁 72 沉积成一层粘稠层。在完成这一分离 10 之后，停止离心，因而通过先将活塞 55 提起，使空气从第一室 70 转移到第二室 75，然后压下所述的活塞 55，可以很容易地把余下的比较容易流动的血浆部分压回到第一室 70 中。纤维蛋白聚合物可能仍然留在外壁上或可能从外壁上滑下来，但在这种情况下聚合物的下滑要壁多条的液体慢得多，因此在含纤维蛋白聚合物的粘稠层达到通道 21 的开口 15 之前，这种流体的转移可能进行得相当容易、相当快。为了防止粘稠层过快地到达通道 21 的入口，可任选地采取进一步的措施，例如在底 76 上装设一个向上凸出的齿形环 82（点线所示的）。这种离心/排放步骤可根据需要进行两次或多次，以便从纤维蛋白聚合物中得到尽可能多的血浆流体。

只要从第二室 75 中挤出其余部分的血浆，就使密封室 45 的可移动 20 套筒 52 再向下移动，以打开最下面的室 81 的通路。在套筒后一次移动的同时或与其联动，利用主轴的外部作用将注射器 58 的柱塞 49 完全压下，这样就将 pH - 4 的缓冲剂输送到第二室 75 中，这一过程可与离心搅拌同时进行。加入 pH - 4 的缓冲溶液，使纤维蛋白聚合物在其中溶解，而在密封室 45 下室 81 中存在的抗生物素蛋白 - 琼脂糖组合物，使 25 生物素 - 类凝血酶组合物以常规方式被抗生物素蛋白结合。活塞 55 的继续移动使密封室 45 上的可移动套筒 52 与隔板装置 36 连接并脱离下壁 76，因而提供了进入第三室 77 的自由通路。因此，第二室 75 的内容物可以自由向下流进第三室 77 中。优选在离心搅拌过程中进行再溶解，离心搅拌包括离心以及一系列正向/反向搅动的停止/启动。

继续离心为能通过环形过滤单元 42 截留较大颗粒的琼脂糖和通过生物素 - 抗生物素蛋白捕获系统结合到琼脂糖上的类凝血酶，在第三室 30 分离纤维蛋白单体溶液创造条件。当纤维蛋白单体溶液由于上述的离心

作用已经进入最下面的第四室 78 时，停止所示的离心，且在密封室 45 的管段 46 的最上段同与注射器 58 连接的管段 47 相连时，很容易通过重新撤回活塞 59 将纤维蛋白 - I 溶液转移到注射器 58 中。

在继续离心过程中，在从第二室 75 的血浆部分分离出纤维蛋白聚合物以及利用离心作用在第三室 77 中分离出纤维蛋白单体溶液的情况下，从上述的血样中分离纤维蛋白单体可以达到相当高的产率。

已参照优选的实施方案叙述了本发明。然而在不超出本发明范围的情况下可做许多改进。

图 2 说明了这类改进的例子，例如所述的图 2 说明了本发明的第二个实施方案，它与图 1 所示的本发明的实施方案多少有些相似。图 2 的实施方案包括由活塞 92 隔开的第一室 90 和第二室 91，活塞 92 包括在内壁限定第一室的空心活塞杆 93。在外部，这两个室是由基本上是圆筒形的构件 94 的一部分以及这两个室 90 和 91 的外圆筒壁 95 限定的。在上部，第一室 90 是由上壁 85 限定的，该上壁又是由顶盖构成的，该顶盖借助一个拧进所述的圆筒形构件 94 内的环 96，固定在该构件上。上壁 85 限定用作空心活塞杆 93 通路的贯穿孔。在下部，第二室 91 是由下壁 96 限定的，该下壁是由圆筒形构件 94 内的圆形内凸缘构成的。圆筒形构件 94 在第二室 91 的一侧上有截头圆锥面 97，该锥面离开活塞 92 向第二室 91 的中心倾斜。下壁 96 限定了通向第三室 99 的中央直通道 98。第三室 99 是由隔板装置 100 和环形过滤单元 101 限定的，该过滤单元插在下壁 96 和隔板装置 100 之间且通到第四环形室 102。第四室 102 被限定在用螺纹固定在圆筒形构件 94 上的杯形盖 103 内。所述的盖的 103 通过中间肋 103 使隔板装置 100 位于圆筒形构件 94 内部的中央，同时压住环形过滤单元 101。

密封室 105 固定在位于隔板装置 100 的中央、向上凸出的短轴 104 上。密封室 105 包括带有盘形环 107、108 的管状部分 106，这两个盘形环松动地连接在管状部分上，且借助于所配置的可移动套筒，限定用于容纳分别由字母 BB 和 AA 表示的所述酶的两个室。利用在管段 106 上成形加工的台肩以及管状构件 106 的外径从下向上逐渐减小的形状，使这些盘形环按所需要的间距固定在管段 106 上。

从第一室 90 的顶部到第二室 91 的底部设置有直通道 115 和 116。这两条通道分别是利用它们各自的固定管段 117 和 118 形成的，

它们平行于该装置的旋转轴延伸，其两端被固定在上壁 95 和下壁 96 内的连接孔上。分别由一些适当的孔和固定在其中的柱塞构成这些管段和这些室之间的通道连接。管段 117 和 118 穿过它们在活塞 92 上相应的开孔延伸。为了防止泄漏，各处全都装有密封环。

5 联接器 120 固定在活塞 92 内侧的中央，用于空心活塞杆 93 内的注射器 121 与密封室 105 的管段 106 上端的联接。联接器 120 带有一个伸进第二室 91 且对密封室 105 的可移动套筒 110 起作用的裙板 122。如图所示，该套筒 110 的外径与向下通入第三室 49 的直通道 98 的直径相匹配，以使套筒 110 受下壁 96 引导并保持在任一位置上，因而也能使其保持在最低的位置上，套筒 105 处在该位置时，不与密封室内最下面的盘形环 109 连接，且使流体从第二室 91 向下流入第三室 99。通道 123 从第四室 102 开始延伸，并从中心向上穿过隔板装置 100 上的短轴 104，然后再向上穿过密封室 105 的管状构件 106，从而使流体可以从第四室 102 进入注射器 121。

15 图 2 的装置和图 1 的装置的使用方法完全相同，自然它也设置有联接装置，用以连接加入血液的挠性管。

图 3 示出了另一个实施方案，该方案有许多与图 1 和 2 相同的基本部件。流体转移通道 4 优选由一个装配在另一个之内的内、外容器 2、3 中任一个上的狭槽构成的。如图 3 所示，通道 4 先向上再向内延伸到相应的顶部 5 和 6 之间，并通入台肩区 300，而不继续在轴向延伸的部分 9 和 10 内延伸（如图 1 所示）。弹性带唇密封装置 64 直接靠在台肩区 300 上，使通过带唇密封装置 64 转移的所需流体（例如血浆）直接进入顶部 5 和 6 之间通道 4 的开口，而不能在轴 8 和轴向延伸的内部部件 10 之间穿过。

25 在图 3 所给的另一项改进中，图 1 所示的齿 82 已用“纤维蛋白过滤器” 310 代替，它是一组以环形方式（例如在一个框或圆环上）配置在靠近第二室 70 底部的密封室 45 周围的齿或尖齿。过滤器 310 有一处或多处与下壁 76 连接，但在靠近下壁 76 处它基本上是敞开的，以使多余的液体能更有效地排出。这种配置有助于减缓使用图 1 装置出现的下述情况，当由齿 82 按要求阻滞纤维蛋白聚合物时，但也会有过多的液体被挡在纤维蛋白单体的后面。

图 3 还说明了另一些改进，特别是对注射器 50 的改进，从图中可

以看到，保护套 320 基本上围绕着注射器 58，保护套 320 优选圆筒形的或通常是与注射器 58 相同的形状。注射器 58 的套帽 322 安装在保护套 320 的顶部，可以松脱，并装有一个便于在加工后从装置上拆下注射器 58 和保护套 320 的手柄，以保证在注射器内有所需的全部产品（例如纤维蛋白单体溶液）。保护套 320 可由塑性或刚性聚合材料制造，以便在处理过程中保护注射器 58。另外，由于操作人员不直接接触注射器，可将其转移到更远的使用场所而不致于被污染。保护套 320 也可以采用可拆卸的底帽（未示出），特别是在与本装置成套提供预先消过毒的带有保护套 320 并装有所需酸性缓冲溶液的注射器 58 的场合。在图 3 中还示出了注射器联接器 324，它在例如一个向上和向下移动的杆（未示出）作用下，可在帽 322 内做轴向滑动，移动杆可以是该装置驱动机构的部件。柱塞 59 适合以锁紧和未锁紧两种方式接受联接器 324。这可通过例如在柱塞 59 内超出水平接受部分 328 开一个凹槽 326 来实现，该凹槽相应于联接器 324 轴上的凸起 330。这些部件的尺寸和形状的选择，是以用一个微小的力就能把联接器 324 推向下方，使柱塞 59 向下移动而不使凸起 330 通过水平部分 328 为准。这样就能使联接器返回向上移动，而不改变柱塞 59 的位置。在联接器 324 连到柱塞 59 上时，如果对它向下施加稍大的力，凸起 330 就锁进凹槽 326 中，使柱塞 59 随联接器 324 在适当位置上移动。

图 3 还示出轴向伸出的裙板 63，它是紧密装配在活塞 55 底部内的一个特殊部件。

所述各装置成形加工部分的零件很容易用注模法由适宜的塑料制造，因此上述这些装置也是很便宜的且适合一次性使用。

因此可以使用任一种所需要的材料。优选采用在医疗器械工业上已知的对 γ 辐射稳定的聚合材料。在一个优选的实施方案中，外容器和活塞是聚碳酸酯的，注射器套、帽和柱塞是聚丙烯的，过滤器是聚乙烯的，注射器是玻璃的，O 形环是硅酮的，其它部件是苯乙烯丙烯腈的。

已参照该装置优选的实施方案叙述了本发明。然而，根据本发明的方法可以很容易地在实验室中利用一个可加盖密闭的杯子在无菌条件下进行。将血浆和酶装入杯中，先混合然后离心，使非交联的纤维蛋白聚合物分离到上述的杯底或杯壁上。在移去余下的血浆部分之后，通过加入溶剂以及利用上述的离心搅拌作用将非交联的纤维蛋白聚合物重

新溶解。

实施例

将 140ml 全血和 20ml 硝酸钠抗凝血剂（美国药典）加入上述装置的第一室 70 中。将这种混合物在约 6,000RPM 下离心 2 min，以分离血浆和血细胞。当继续离心进行主分离时，将活塞提起，以便将最里边的相，即血浆转移进第二室 75。转移的血浆约 60ml。将其用 30 个单位的生物素化的类凝血酶处理，生物素化的类凝血酶是通过前述的密封室 45 的上室 80 加入第二室 75 的。血浆和类凝血酶先在低速下，例如在约 2,000 至 3,000 RPM 下混合，然后在 9,000 RPM 下离心 9 min。

10 非交联的纤维蛋白聚合物凝胶在圆筒壁上沉积成一薄层，然后停止转动。随后把余下的血浆流体（血清）往回转移到第一室 70。此后在 9,000 RPM 下再进行两次 1 min 的离心，以尽可能多地分离出凝胶中的血清。在每次 1 min 离心之后，将多出的血清转移到第一室 70 中。

15 然后，用注射器 58 将 3.5 ml 含有 24 mM 氯化钙的 0.2 M 乙酸钠（pH 4.0）缓冲溶液加入第三室 75 中。同时，在约 3,000 RPM 下每次旋转 5 - 10s，重复进行正转/反转离心搅拌 2 min，以便溶解纤维蛋白聚合物凝胶并制备含纤维蛋白单体的溶液。通过密封室 45 的下室 71 将抗生物素蛋白琼脂糖加入所制备的溶液中。此后再在约 3,000 RRM 下，每次旋转 5 - 10s，重复进行正转/反转离心搅拌 5 min。产生的溶液含纤维蛋白单体以及抗生物素蛋白 - 琼脂糖：生物素 - 类凝血酶络合物。

20 将该溶液转移到第三室 77 中，并在 9,000 RPM 下通过 20 μ m 波雷克斯（Porex）环形过滤器过滤 1 min。将产生的纤维蛋白单体溶液收集到前述的注射器 58 中，其中含约 25mg/ml 纤维蛋白单体。

25 将如此制成的纤维蛋白单体溶液（在这种情况下是纤维蛋白 I）与 0.75 M 碳酸钠/碳酸氢钠缓冲剂按纤维蛋白 I : 缓冲剂为 5 : 1 的比例同时施加在需要这种密封胶的部位，它就重新聚合而成纤维蛋白密封胶。

说 明 书 附 图

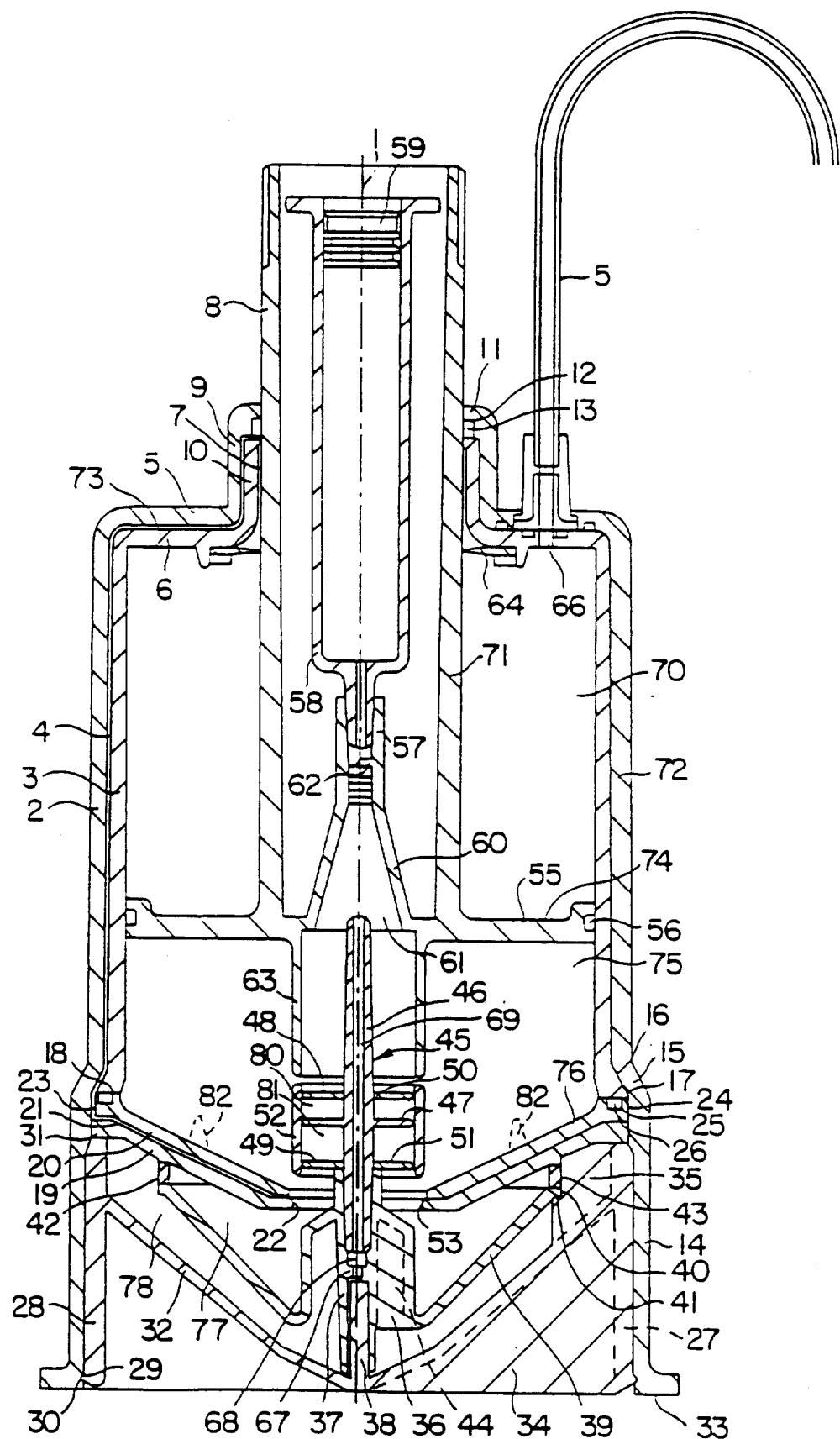


图 1
1

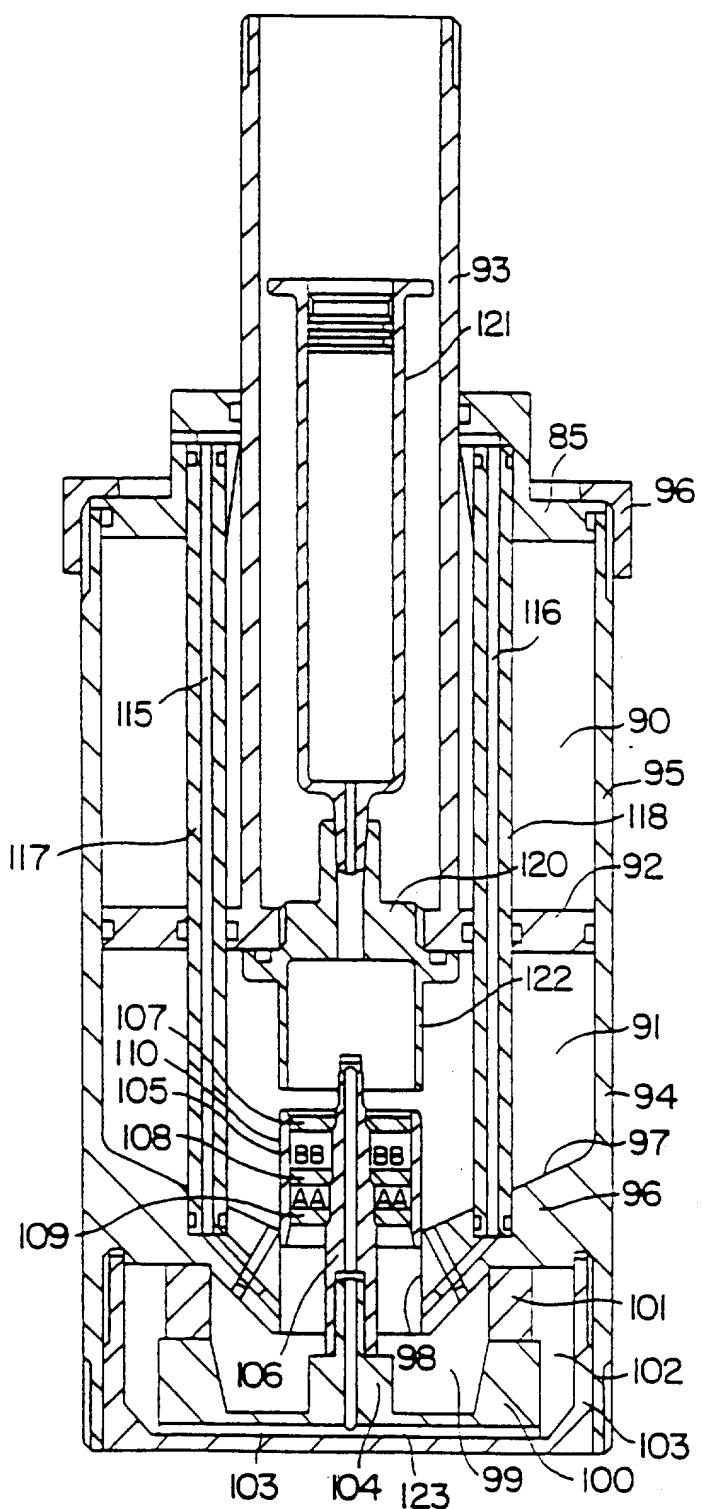
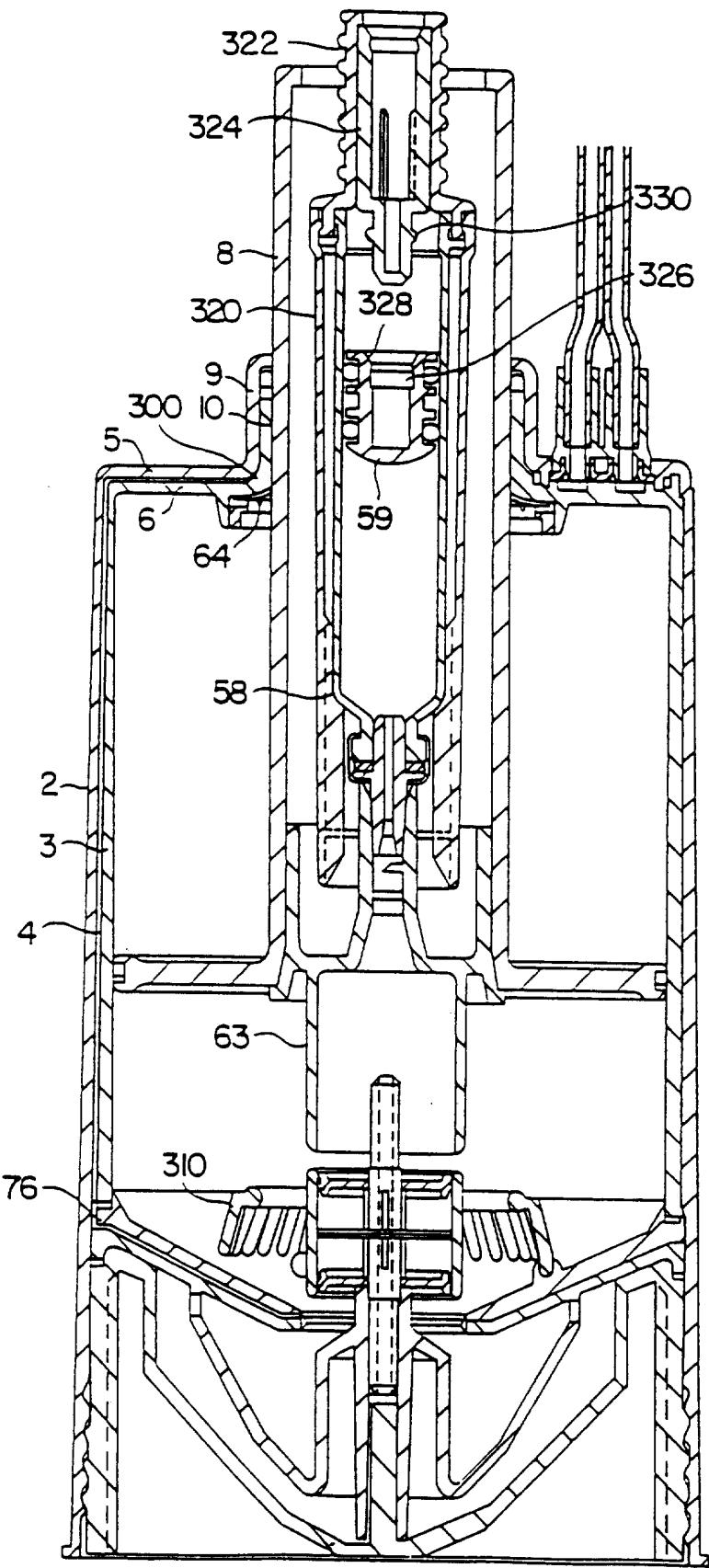


图 2



3

3

