



(12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 207751770 U

(45)授权公告日 2018.08.21

(21)申请号 201721928557.7

(22)申请日 2017.12.30

(73)专利权人 广州阳普医疗科技股份有限公司

地址 510530 广东省广州市经济技术开发区
科学城开源大道102号

(72)发明人 王思娜 李思韵 韩建红 陈俊雅
曹肖文

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 罗满

(51)Int.Cl.

G01N 1/34(2006.01)

(ESM)同样的发明创造已同日申请发明专利

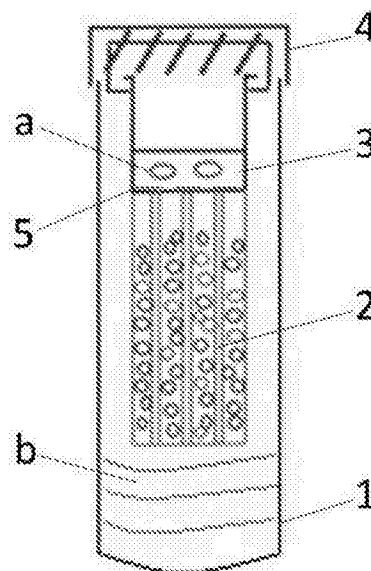
权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54)实用新型名称

一种筛选循环肿瘤细胞的采血装置

(57)摘要

本实用新型公开一种筛选循环肿瘤细胞的采血装置,包括外管、膜型血浆分离器、CTC富集器和安全帽,所述膜型血浆分离器可拆卸地设置于所述CTC富集器底端,所述膜型血浆分离器与所述CTC富集器连通,所述CTC富集器顶端与所述安全帽可拆卸连接,所述膜型血浆分离器嵌于所述外管内,所述安全帽卡接于所述外管顶端,且所述CTC富集器内置有预设孔径的滤膜,所述外管内腔预设设有真空负压。本实用新型所提供的采血装置,通过滤膜并利用重力和负压作用将CTC和血液中的其他成分有效分离,将CTC隔离于滤膜上表面,与现有技术相比,本装置在一支管内同时解决了CTC的富集和血浆的分离,不需要借助CTC分离仪器、离心机等其他大型设备,成本低,整个过程耗时极短。



1. 一种筛选循环肿瘤细胞的采血装置,其特征在于,包括外管(1)、膜型血浆分离器(2)、CTC富集器(3)和安全帽(4),所述膜型血浆分离器(2)可拆卸地设置于所述CTC富集器(3)底端,所述膜型血浆分离器(2)与所述CTC富集器(3)连通,所述CTC富集器(3)顶端与所述安全帽(4)可拆卸连接,所述膜型血浆分离器(2)嵌于所述外管(1)内,所述安全帽(4)卡接于所述外管(1)顶端,且所述CTC富集器(3)内置有预设孔径的滤膜(5),所述外管(1)内腔预设有真空负压。

2. 根据权利要求1所述的采血装置,其特征在于,所述滤膜(5)的孔径为 $8\mu\text{m}\sim 10\mu\text{m}$ 。

3. 根据权利要求2所述的采血装置,其特征在于,所述滤膜(5)呈多层叠放分布。

4. 根据权利要求3所述的采血装置,其特征在于,所述膜型血浆分离器(2)内置若干根中空纤维管,且所述纤维管的管壁上设置预设直径的滤孔,所述纤维管底部与所述外管(1)内腔连通。

5. 根据权利要求4所述的采血装置,其特征在于,所述滤孔的直径为 $1\mu\text{m}\sim 5\mu\text{m}$ 。

6. 根据权利要求5所述的采血装置,其特征在于,所述膜型血浆分离器(2)顶端与所述CTC富集器(3)底部螺纹连接。

7. 根据权利要求6所述的采血装置,其特征在于,所述CTC富集器(3)内壁上设置有抗凝剂。

8. 根据权利要求6所述的采血装置,其特征在于,所述外管(1)内壁上设置有核酸酶抑制剂。

一种筛选循环肿瘤细胞的采血装置

技术领域

[0001] 本实用新型涉及医疗器械领域,特别涉及一种筛选循环肿瘤细胞的采血装置。

背景技术

[0002] 近年来肿瘤的患病率逐年增高,肿瘤相关的实验室检测和影像学检查得到了长足的发展,为了提高肿瘤治愈率,新的治疗手段和药物不断出现,早发现、早诊断变得至关重要。病理组织切片是肿瘤诊断与病理类型准确性最高的方法,无论是手术中切取或细针穿刺吸取,都是有创的检测,有引起肿瘤转移的风险。利用人体体液来获取相关疾病信息的液体活检技术,以其副作用小、操作简便、可重复取样、成本低、有效应对肿瘤异质性等优点倍受青睐。其中,血液是最传统,而又被赋予最多创新希望的体液样本。

[0003] 循环肿瘤细胞(CTC,Circulating Tumor Cell)是存在于外周血中的各种肿瘤细胞的统称,因自发或诊疗操作从实体肿瘤病灶(原发灶、转移灶)脱落,大部分CTC在进入外周血后发生凋亡或被吞噬清除,少数能够逃逸并发展为转移灶,增加恶性肿瘤患者死亡的风险。血中游离DNA,是指循环血中游离于细胞外的降解了的机体内源性DNA,而其中与肿瘤细胞有相同基因突变的部分被称为循环肿瘤DNA(ctDNA,Circulating Tumor DNA)。血液中共存在的CTC和ctDNA能够提供所有肿瘤来源的遗传信息,可以全面追踪基因组进化机会,但是这些物质在外周血中十分稀有,给检测带来巨大的困难,因此外周血液标本中CTC和ctDNA的富集十分有意义。

[0004] 目前,循环肿瘤细胞检测技术瓶颈有三:其一,灵敏度低。CTC在肿瘤患者的外周血中是以个计算,一般认为患者10ml血中仅有1-10个CTC,而10ml血液里面有500亿个红细胞和上亿个白细胞,因此要将患者外周血中的CTC完全筛选出来难度非常大。其二,操作繁琐。随着越来越多的医院和医生将CTC检测作为肿瘤诊断、快速评估疗效及监测肿瘤耐药与复发的有效手段,简便的操作流程或自动化高通量处理大量临床标本已成为最迫切的需要,但是,目前的循环肿瘤细胞采集很困难。其三,筛查出CTC之后的分子检测的可行性。随着人们对CTC了解的不断加深,国内外广大医务工作者及科研人员已不仅仅满足于对CTC的计数,而是将目光锁定在对于具有不同临床意义(如药敏、耐药、转移、复发等)的CTC亚类细胞进行全面的基因分析上,以期能够加深对肿瘤的发生、生长、转移等多方面的了解,并寻找出新的肿瘤标志物(包括蛋白及核酸),从而为肿瘤的防治提供更好的客观依据。

[0005] 因此,如何提供一种循环肿瘤细胞富集效率高,同时操作简单的循环肿瘤细胞采集装置,是本领域技术人员亟待解决的技术问题。

实用新型内容

[0006] 本实用新型的目的是提供一种筛选循环肿瘤细胞的采血装置,循环肿瘤细胞富集效率高,同时操作简单,为循环肿瘤细胞的富集提供了方便,工作准确率高,大大提高了医务工作的效率,减少了工作程序和时间,进一步为肿瘤患者带来福音。

[0007] 为解决上述技术问题,本实用新型提供一种筛选循环肿瘤细胞的采血装置,包括

外管、膜型血浆分离器、CTC富集器和安全帽,所述膜型血浆分离器可拆卸地设置于所述CTC富集器底端,所述膜型血浆分离器与所述CTC富集器连通,所述CTC富集器顶端与所述安全帽可拆卸连接,所述膜型血浆分离器嵌于所述外管内,所述安全帽卡接于所述外管顶端,且所述CTC富集器内置有预设孔径的滤膜,所述外管内腔预设有真空负压。

[0008] 优选地,所述滤膜的孔径为8 μ m~10 μ m。

[0009] 优选地,所述滤膜呈多层叠放分布。

[0010] 优选地,所述膜型血浆分离器内置若干根中空纤维管,且所述纤维管的管壁上设置预设直径的滤孔,所述纤维管底部与所述外管内腔连通。

[0011] 优选地,所述滤孔的直径为1 μ m~5 μ m。

[0012] 优选地,所述膜型血浆分离器顶端与所述CTC富集器底部螺纹连接。

[0013] 优选地,所述CTC富集器内壁上设置有抗凝剂。

[0014] 优选地,所述外管内壁上设置有核酸酶抑制剂

[0015] 本实用新型所提供的筛选循环肿瘤细胞的采血装置,主要包括外管、膜型血浆分离器、CTC富集器和安全帽,膜型血浆分离器可拆卸地设置于CTC富集器底端,膜型血浆分离器与CTC富集器连通,CTC富集器顶端与安全帽可拆卸连接,膜型血浆分离器嵌于外管内,安全帽卡接于外管顶端,且CTC富集器内置有预设孔径的滤膜,外管内腔预设有真空负压。本实用新型提供的循环肿瘤细胞的采血装置,设置有外管、CTC富集器以及滤膜,通过滤膜并利用重力和负压作用将CTC和血液中的其他成分有效分离,将CTC隔离于滤膜上表面,血液其他成分隔离于滤膜下表面以及外管的管间区域,与现有技术相比,本装置在一支管内同时解决了CTC的富集和血浆的分离,不需要借助CTC分离仪器、离心机等其他大型设备,成本低,节省空间和人力;整个过程耗时极短,采血后,将采血管垂直放于试管架上等待片刻即可实现CTC及血浆的分离;富集的CTC可兼容下游的免疫荧光、FISH、分子检测等多种检测,具有较高的细胞活性,可进行细胞培养及药敏实验;分离出的血浆可以长期运输和保存,也可直接保存于-20℃或-80℃,解决现有产品保存过程中溶血的问题,满足ctDNA检测需要。

附图说明

[0016] 为了更清楚地说明本实用新型实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本实用新型的实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据提供的附图获得其他的附图。

[0017] 图1为本实用新型所提供的一种具体实施方式的整体结构示意图;

[0018] 图2为图1所示结构的爆炸示意图。

[0019] 其中,图1-图2中:

[0020] 外管—1,膜型血浆分离器—2,CTC富集器—3,安全帽—4,滤膜—5,a—CTC,b—血浆。

具体实施方式

[0021] 下面将结合本实用新型实施例中的附图,对本实用新型实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本实用新型一部分实施例,而不是全部的

实施例。基于本实用新型中的实施例，本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例，都属于本实用新型保护的范围。

[0022] 请参考图1，图1为本实用新型所提供的一种具体实施方式的整体结构示意图。

[0023] 在本实用新型所提供的一种具体实施方式中，筛选循环肿瘤细胞的采血装置主要包括外管1、膜型血浆分离器2、CTC富集器3和安全帽4，膜型血浆分离器2可拆卸地设置于CTC富集器3底端，膜型血浆分离器2与CTC富集器3连通，CTC富集器3顶端与安全帽4可拆卸连接，膜型血浆分离器2嵌于外管1内，安全帽4卡接于外管1顶端，且CTC富集器3内置有预设孔径的滤膜5，外管1内腔预设有真空负压。

[0024] 其中，滤膜5放入CTC富集器3底面，并在CTC富集器3内壁喷入抗凝剂，例如：EDTA.K2、EDTA.K3、EDTA.Na2、或者枸橼酸钠等，CTC富集器3与外管1的胶塞之间以卡扣方式扣紧，膜型血浆分离器2旋入CTC富集器3的下端，CTC富集器3设置于膜型血浆分离器2的顶端，形成关键功能组件，外管1内部可喷入核酸酶抑制剂等核酸保护剂，将关键功能组件置于外管1中，对外管1抽真空进行压塞，然后在外管1上边缘组装安全帽4，即可完成该装置的安装，需要说明的是，CTC富集器3内壁上设置有抗凝剂。

[0025] 具体的，在实际的使用过程中，CTC富集器3上表面设置有滤膜5，当血液经过这一区域时，由于血细胞中有型成分，如红细胞和血小板，可以轻松通过膜上的滤孔，而白细胞具有较好的变形性，在负压作用下，大多数可以穿过滤膜5，只留体积较大而且变形能力较差的CTC和少量白细胞在膜上；膜型血浆分离器2中，包含有若干根中空纤维材料（例如：聚乙烯乙醇、聚砜膜、醋酸纤维素膜），此纤维材料上密布微孔，上述微孔只允许血液中的血浆b通过，而其他有型成分不能通过，留在管间区域，血浆b通过中空纤维管导入到外管1中被收集；在采血过程中，血液在负压作用下进入CTC富集器3，与抗凝剂接触后通过滤膜5，CTCa被截留在滤膜5上，其他血液成分进入膜型血浆分离器2的纤维管间隙。血浆b穿过纤维管上的微孔进入纤维管内，导入外管血浆收集区，其余血液成分被留在纤维管间隙中，富集完成的血液具有层次分明的特点，将CTCa、血浆b以及血液其他成分单独分离，完成后，可将采集器的管盖打开，弃掉膜型血浆分离器2部分，将收集到的血浆和CTC进行下一步的运输以及检测工作。与现有技术相比，本装置在一支管内同时解决了CTC的富集和血浆的分离，不需要借助CTC分离仪器、离心机等其他大型设备，成本低，节省空间和人力；整个过程耗时极短，采血后，将采血装置垂直放于试管架上等待片刻即可实现CTC及血浆的分离；富集的CTC可兼容下游的免疫荧光、FISH、分子检测等多种检测，具有较高的细胞活性，可进行细胞培养及药敏实验。

[0026] 请参考图2，图2为图1所示结构的爆炸示意图。

[0027] 为了优化上述实施例中采血装置分离富集CTCa的效果，将滤膜5的孔径设计为 $8\mu\text{m} \sim 10\mu\text{m}$ 。临床实验证明，CTCa的平均直径 $8\mu\text{m}$ ，而滤膜5孔径具体数值化的设计，将CTCa完全隔离于滤膜5上表面，使得CTCa的富集更加有效。

[0028] 进一步地，将滤膜5呈多层叠放分布，如此多层叠放的形式，可以使CTCa更加有效地被富集到滤膜5上表面，可以增强CTCa的过滤筛选效果。

[0029] 基于此，膜型血浆分离器2内置若干根中空纤维管，且纤维管的管壁上设置预设直径的滤孔，纤维管底部与外管1内腔连通，纤维管的滤孔直径为 $1\mu\text{m} \sim 5\mu\text{m}$ 。除了外周血中的CTC，血浆中的成分也具有极大的诊断意义。膜型血浆分离器2内置若干根中空纤维管，且纤

维管的管壁上设置有直径为1um~5um的滤孔,尤其是1um的滤孔。通过临床实验证明,人体血液的有型成分中,只有血浆可以通过直径1um的滤孔,因此,膜型血浆分离器2设置有直径1um~5um的滤孔,可以使血液中的血浆更加有效地分离,血小板等被收集于膜型血浆分离器2中,血浆则导入到外管1中被收集。上述设计,可以使血液分离更加有层次,除了CTC分离作用之外,还可以进行血浆的分离,有利于对患者进行血液分析。

[0030] 另外,膜型血浆分离器2顶端与CTC富集器3底部以螺纹连接方式配合安装,易于生产组装,同时储存血浆的外管1内壁上设置有核酸酶抑制剂。膜型血浆分离器2与CTC富集器3螺纹连接方式以及储存血浆的外管1内壁上核酸酶抑制剂的设计,可以使收集的浆更加方便地进行下一步实验目的,分离出的血浆可以长期运输和保存,也可直接保存于-20℃或-80℃,解决现有产品保存过程中溶血的问题,满足ctDNA检测需要。

[0031] 对于CTC分离效果做跟踪式实验记录,并列举出实验结果等数据。

[0032] 在临床应用中,带有绿色荧光蛋白 (Green Fluorescent Protein,GFP) 的人非小细胞肺癌细胞系A549作为CTC的代表,制成细胞悬液后进行计数,加入到新鲜采集的健康志愿者外周静脉血内充分颠倒混匀。将静脉采血针的一端插入该血液样品中,另一端插入本实用新型产品的1号管,具体操作步骤如前所述。

[0033] 用镊子将滤膜从CTC富集区取出,放在荧光显微镜下观察,计数整张膜上A549细胞的数量。如表1CTC富集效率所示,该实用新型的CTC富集效率分布在70%-96%,平均值为88%。说明该实用新型能够有效便捷的富集外周血中CTC。

[0034] 表1

[0035]	样本编号	每3ml血液中 加入 A549 数 量 (个)	CTC 富 集 区 滤 膜 上 A549 数量 (个)	富集效率
	1	10	7	70%
	2	10	9	90%
	3	50	48	96%
	4	50	45	90%
	5	100	93	93%
	6	100	87	87%

[0036] 对于血浆分离效果做跟踪式实验记录,并列举出实验结果等数据。

[0037] 在临床应用中,分别用EDTA真空采血管和本实用新型的1号管采集静脉血3ml。分别在采血当天和采血后第3天分离血浆。EDTA真空采血管使用离心机离心分离血浆,而本实用新型的产品按照前述操作步骤进行血浆分离的操作。分别量出所收集到的血浆体积并测量血浆中血红蛋白含量。

[0038] EDTA真空采血管血浆分离步骤:1、将EDTA真空采血管置于离心机内1600g离心10分钟,在生物安全柜内,用移液器将上层血浆小心吸出移入2ml离心管内;2、将离心管放入离心机内16000g离心10分钟后,将上层血浆转入新的离心管内,并记录收集到的血浆体积,

测量各实验组所收集到的血浆的游离血红蛋白含量,并记录于下表2血浆体积和表3血浆游离血红蛋白含量。

[0039] 表2

[0040]

血浆体积 (mL)		
样本编号	EDTA 真空采血管	本实用新型产品 (采血当天)

[0041]

	采血当天	采血后第 3 天	采血当天	采血后第 3 天
1	1.153	1.051	1.258	1.308
2	1.096	0.874	0.913	1.007
3	1.114	1.028	1.307	1.311
4	1.088	1.077	1.273	1.215
5	1.034	0.919	1.136	1.192
6	1.017	0.906	1.011	1.079

[0042] 表3

[0043]

血浆游离血红蛋白含量 (mg/L)				
样本编号	EDTA 真空采血管		本实用新型产品	
	采血当天	采血后第 3 天	采血当天	采血后第 3 天
1	28	59	27	28
2	35	62	37	35
3	28	47	28	30
4	27	63	27	26
5	30	52	27	26
6	32	67	30	30

[0044] 基于表2和表3中的实验结果表明,EDTA真空采血管与本实用新型产品所收集到的血浆在采血当天,体积和游离血红蛋白含量没有明显差异。说明本实用新型产品所分离到的血浆在质量和数量上,与EDTA真空采血管无差异,能够分离优质血浆。EDTA真空采血管在采血后第3天分离到的血浆体积有下降的趋势,血红蛋白含量增高,也说明有发生溶血。本实用新型产品分离的血浆体积和血红蛋白含量在采血后第3天,没有发生明显的变化。说明本实用新型产品更有利于血液样本的长期储存。

[0045] 综上所述,本实施例所提供的筛选循环肿瘤细胞的采血装置主要包括外管、膜型血浆分离器、CTC富集器和安全帽,膜型血浆分离器可拆卸地设置于CTC富集器底端,膜型血

浆分离器与CTC富集器连通,CTC富集器顶端与安全帽可拆卸连接,膜型血浆分离器嵌于外管内,安全帽卡接于外管顶端,且CTC富集器内置有预设孔径的滤膜,外管内腔预设有真空负压。本实用新型提供的循环肿瘤细胞的采血装置,设置有外管、CTC富集器以及滤膜,通过滤膜并利用重力和负压作用将CTC和血液中的其他成分有效分离,将CTC隔离于滤膜上表面,血液其他成分隔离于滤膜下表面以及外管的管间区域,与现有技术相比,本装置在一支管内同时解决了CTC的富集和血浆的分离,不需要借助CTC分离仪器、离心机等其他大型设备,成本低,节省空间和人力;整个过程耗时极短,采血后,将采血管垂直放于试管架上等待片刻即可实现CTC及血浆的分离;富集的CTC可兼容下游的免疫荧光、FISH、分子检测等多种检测,具有较高的细胞活性,可进行细胞培养及药敏实验;分离出的血浆可以长期运输和保存,也可直接保存于-20℃或-80℃,解决现有产品保存过程中溶血的问题,满足ctDNA检测需要。

[0046] 对所公开的实施例的上述说明,使本领域专业技术人员能够实现或使用本实用新型。对这些实施例的多种修改对本领域的专业技术人员来说将是显而易见的,本文中所定义的一般原理可以在不脱离本实用新型的精神或范围的情况下,在其它实施例中实现。因此,本实用新型将不会被限制于本文所示的这些实施例,而是要符合与本文所公开的原理和新颖特点相一致的最宽的范围。

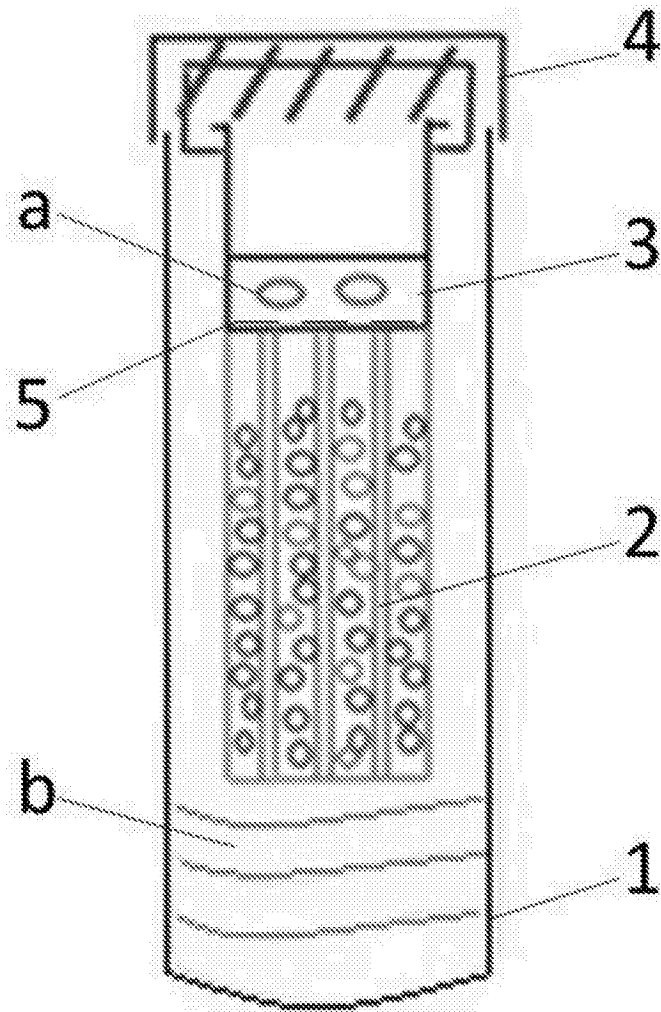


图1

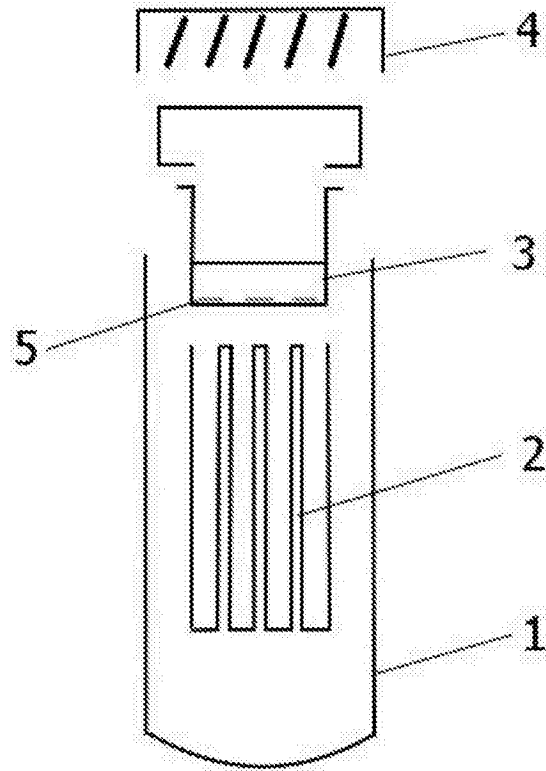


图2