

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2024年12月26日 (26.12.2024)



(10) 国际公布号  
**WO 2024/259905 A1**

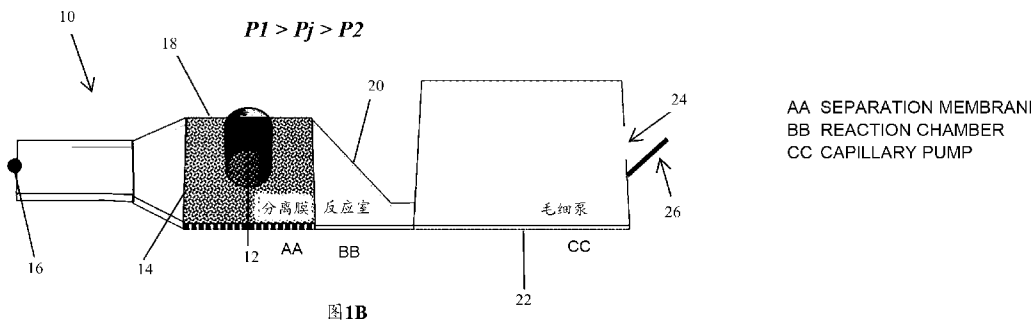
- (51) 国际专利分类号:  
**B01L 3/00** (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2023/136201
- (22) 国际申请日: 2023年12月4日 (04.12.2023)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
63/509,110 2023年6月20日 (20.06.2023) US  
18/490,160 2023年10月19日 (19.10.2023) US
- (71) 申请人: 香港城市大学 (CITY UNIVERSITY OF HONG KONG) [CN/CN]; 中国香港特别行政区九龙达之路83号, Hong Kong (CN)。
- (72) 发明人: 陈定璿 (CHEN, Ting-Hsuan); 中国中华人民共和国香港特别行政区九龙达之路83号香港城

市大学研究院1号P6415室, Hong Kong (CN)。陈根气 (HARTANTO, Hogi); 中国中华人民共和国香港特别行政区九龙达之路83号香港城市大学杨建文学术楼Y1618室, Hong Kong (CN)。

- (74) 代理人: 北京润平知识产权代理有限公司 (RUNPING & PARTNERS); 中国北京市海淀区北四环西路9号银谷大厦515室, Beijing 100190 (CN)。
- (81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,

(54) Title: MICROFLUIDIC DEVICE AND METHOD FOR EXTRACTING BLOOD PLASMA FROM WHOLE BLOOD

(54) 发明名称: 用于从全血中提取血浆的微流体装置和方法



(57) Abstract: A microfluidic device (10), comprising a blood sample inlet (12), a separation membrane (14), a manifold inlet (16) in fluid communication with the blood sample inlet (12) at a joint (18), a capillary pump (22) in fluid communication with the joint (18) and located downstream of the joint (18), and a vent hole (24) in fluid communication with the capillary pump (22). The separation membrane (14) comprises a top layer (28) adjacent to the sample inlet (12) and a bottom layer (30) distant from the sample inlet (12). The top layer (28) has an average pore size ranging from about 1  $\mu\text{m}$  to about 50  $\mu\text{m}$ . The bottom layer (30) has an average pore size ranging from about 0.05  $\mu\text{m}$  to about 20  $\mu\text{m}$ . The separation membrane (14) is arranged between the blood sample inlet (12) and the joint (18).

(57) 摘要: 一种微流体装置 (10), 包括血液样品入口 (12)、分离膜 (14)、在接头 (18) 处与血液样品入口 (12) 流体连通的歧管入口 (16)、与接头 (18) 流体连通并位于接头 (18) 下游的毛细泵 (22) 以及与毛细泵 (22) 流体连通的通气孔 (24)。分离膜 (14) 包含邻近样品入口 (12) 的顶层 (28) 和远离样品入口 (12) 的底层 (30)。顶层 (28) 具有直径为约1 $\mu\text{m}$ 到约50 $\mu\text{m}$ 的平均孔径。所述底层 (30) 具有直径为约0.05 $\mu\text{m}$ 到约20 $\mu\text{m}$ 的平均孔径。分离膜 (14) 设置在血液样品入口 (12) 和接头 (18) 之间。

SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,  
UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区  
保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,  
NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚  
(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE,  
BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR,  
HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO,  
PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,  
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN,  
TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

## 用于从全血中提取血浆的微流体装置和方法

### 技术领域

本发明涉及微流体装置和方法。更具体地，本发明涉及用于从血液样品中  
5 提取血浆的微流体装置和方法。

### 背景技术

定点护理（POC）诊断和治疗对于筛查各种病症和/或有效地提供健康护理  
变得越来越重要。已知从血液样品中分离的血浆是容易获得的生物标志物的储  
10 库，并且在分析之前，通常需要与诸如红细胞（RBC）、包括吞噬细胞的白细胞  
（WBC）等的其他血液成分进行物理分离。这种分离通常通过例如离心来进行，  
并且需要受过训练的实验室人员和特殊设备。此外，实验室离心机需要持续的  
电力供应，以使转子旋转，从而有效地将血浆与其他血液成分分离。

血浆分离和提取（BPSE）装置和方法是已知的，（参见 Mielczarek, et al.,  
15 “Microfluidic blood plasma separation for medical diagnostics: Is it worth it?”, Lab  
Chip, vol. 16, pp. 3441, 2016, and Gao, et al., “A simple and rapid method for blood  
plasma separation driven by capillary force with an amplification in protein  
detection”, anal. Met., vol. 12, pp. 2560-70, 2020); 然而，这样的方法通常需要，  
例如，长的提取时间、低的血浆提取体积、血液样品预处理等。

20 虽然血液过滤是众所周知的，但是手动或电动装置分别具有显著的缺点，  
例如，使用的连贯性和对电源的需要。因此，手动泵供电设备需要受过训练的  
专业人员来操作，而供电设备可能需要电源插座、电池等。已知有序排放（参  
见 Olanrewaju 和 Juncker, “Autonomous microfluidic capillarie circuits replicated  
from 3D-printed molds”, Lab Chip, vol. 16, p. 19, 2016)用于提供自动调节液体排  
25 放系统。

另外的微流体装置在例如以下文献中进行了描述：Wang 等人, Portable

microfluidic device with thermometer-like display for real-time visual quantitation of Cadmium (II) contamination in drinking water, *Analytica Chimica Acta*, 第 1160 卷, 338444, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338444>; Wu 等人, Cascade-Amplified Microfluidic Particle Accumulation Enabling Quantification of Lead Ions through Visual Inspection, *Sens & Actuators: B. Chemical*, 第 324 卷, 128727, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128727>; Jiang 等人, Microfluidic particle accumulation for visual quantification of copper ions, *Microchimica Acta*, 第 188 卷, 176, 2021, <https://doi.org/10.1007/s00604-021-04822-0>; Wu 等人, Visual quantification of silver contamination in fresh water via accumulative length of microparticles in capillary-driven microfluidic devices, *Talanta*, 第 235 卷, 122707, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122707>; Zhao 等人, Microfluidic bead trap as a visual bar for quantitative detection of oligonucleotides, *Lab Chip*, 2017, DOI: 10.1039/c7lc00836h 以及 Wang 等人, Microfluidic Particle Dam for Visual and Quantitative Detection of Lead Ions, *ACS. Sens.*, 第 5 卷, 第 19-23 页, 2020, DOI: 10.1021/acssensors.9b01945。

鉴于此, 对于便携式、简单的 POC 装置和方法仍有需求, 特别是无动力的 POC 装置, 用于更快、更有效的分离和/或筛选生物标志物, 特别是不需要血液样品稀释。进一步存在对以下的需求: 易于使用的装置, 其不要求经过专门训练的实验室人员来使用它们, 以及不需要主动泵就可以实现显著分离的装置, 主动泵诸如使用电力的泵。还需要一种可以根据血液样品自动诊断疾病的一体化装置。还对装置和方法存在需求, 该装置和方法允许从全血液样品中温和地分离血浆, 同时减少或避免细胞溶解/溶血。

## 发明内容

在本发明的一个实施方式中, 微流体装置包含血液样品入口、分离膜、在接头处与血液样品入口流体连通的歧管入口、与接头流体连通并位于接头下游的毛细泵、以及与毛细泵流体连通的通气孔。分离膜包含邻近样品入口的顶层

和远离样品入口的底层。所述顶层具有直径为约 1  $\mu\text{m}$  到约 50  $\mu\text{m}$  的平均孔径；或直径为约 3  $\mu\text{m}$  至约 20  $\mu\text{m}$ ；或直径为约 7  $\mu\text{m}$  至约 13  $\mu\text{m}$ 。所述底层具有直径为约 0.05  $\mu\text{m}$  到约 20  $\mu\text{m}$  的平均孔径；或直径为约 0.1  $\mu\text{m}$  至约 7  $\mu\text{m}$ ；或直径为约 1  $\mu\text{m}$  至约 3  $\mu\text{m}$ 。所述分离膜设置于所述血液样品入口和所述接头之间。

5 在不受理理论限制的情况下，典型的生物标志物比例如红细胞和白细胞（例如，包括吞噬细胞）小。因此，本发明可以从例如全血样品中分离例如红细胞、白细胞等，同时允许血浆和所期望的生物标志物通过分离膜并向下游流动到接头和毛细泵。本发明提供了一种新的血液分离装置和方法，其利用压力差穿过膜/多孔材料从全血中分离血浆。压力差可以使用各种设备来利用，诸如注射  
10 泵、静液压泵、蠕动泵等。这些装置的核心结构也可以是不同的形式，诸如注射器及其附加组件，以及弹性管，其装有有助于从全血样品中分离或纯化血浆的膜/多孔材料。可替代地，本文可以使用毛细泵以将血液从血液样品入口向下游抽吸。

在本发明的一个实施方案中，从血液样品中分离血浆的方法包括以下步骤：  
15 提供根据本申请所述的微流体装置；提供包含多个红细胞和血浆的血液样品；如果通气孔最初关闭，则在将血液样品添加到血液样品入口之前或之后打开通气孔；将血液样品添加到血液样品入口，接着将工作流体添加到歧管入口，通过歧管入口与血液样品入口的有序排放来提取血浆。有序排放使得血液样品从血液样品入口优先向下游流动到分离膜，从而从血液样品中过滤出红细胞，以  
20 及最后提取由分离膜分离的血浆。通气孔可以用通气孔盖例如可拆卸的密封件、贴片、塑料塞等封闭。

在不受理理论限制的情况下，本文的方法提供了一种简单、容易且易于操作的方法，用于将血浆和其中的任何生物标志物与导致阻塞和/或使进一步分析复杂化的 RBC、WBC、污物等分离。本发明的方法可以设计用于简单的测试试剂盒，或者可以，例如，放大用于更大规模的血液样品纯化和/或生物标志物分  
25 离和/或鉴定。

## 附图说明

图 1A 示出了模拟本发明装置的实施方案的流动阻力的电路图；

图 1B 示出了本发明的微流体装置的实施方案的顶部透视图；

图 1C 示出了图 1B 的实施方案的侧视图；

5 图 2 示出了本发明的微流体装置的实施方案的示意性部分分解图；

图 3A 显示了用 DiD 染色的红细胞的照片；

图 3B 显示了用 CMFDA 绿染色的白细胞的照片。

图 4 示出了血浆提取过程中在特定时间点的微流体装置的照片、相衬图像、  
Cy5、TXRED 和 FITC 荧光图像；

10 图 5A 是显示在本发明的实施方案中在全血中标记的 Cy5 染料的相对荧光强度的图；

图 5B 是显示在本发明的实施方案中在血浆中标记的 Cy5 染料的相对荧光强度的图；

图 6 示出了 TXRED 和 FITC 通道的平均相对荧光强度，表明在不同浓度的  
15 标记血浆中，在反应室内没有红细胞（RBC）和白细胞（WBC）渗漏和破裂的情况下提取血浆；和

图 7 是比较血浆和全血样品之间在不同预期血浆体积下提取血浆体积的图。  
这里的附图仅用于说明的目的，并且不一定按比例绘制。

## 20 具体实施方式

除非另有特别规定，否则此处的所有测试均在标准条件下进行，包括在室内和测试温度 25°C，海平面（1 个大气压）压力，pH 值为 7，无动力，所有测量均采用公制单位。此外，除非另有特别说明，否则所有百分比、比率等在本文中以重量计。应当理解，除非另有特别说明，否则材料化合物、化学品等在此描述的通常是可从世界各地的各种供应商获得的商品和/或工业标准品。  
25

如本文所使用的，术语“下游”是相对术语，其表示在朝向空气出口的方

向上。

如本文所用，术语“上游”是相对术语，其表示在远离空气出口的方向上，通常朝向血液样品入口和/或歧管入口。

在本发明的实施方案中，微流体装置包括血液样品入口、分离膜、在接头  
5 处与血液样品入口流体连通的歧管入口、与接头流体连通并位于接头下游的毛细泵、以及与毛细泵流体连通的通气孔。分离膜包含邻近样品入口的顶层和远离样品入口的底层。所述顶层具有直径为约 1  $\mu\text{m}$  到约 50  $\mu\text{m}$  的平均孔径；或直径为约 3  $\mu\text{m}$  至约 20  $\mu\text{m}$ ；或直径为约 7  $\mu\text{m}$  至约 13  $\mu\text{m}$ 。所述底层具有直径为约 0.05  $\mu\text{m}$  到约 20  $\mu\text{m}$  的平均孔径；或直径为约 0.1  $\mu\text{m}$  至约 7  $\mu\text{m}$ ；或直径  
10 为约 1  $\mu\text{m}$  至约 3  $\mu\text{m}$ 。所述分离膜设置于所述血液样品入口和所述接头之间。

在不受理论限制的情况下，典型的生物标志物比例如红细胞和白细胞（例如，包括吞噬细胞）小。因此，本发明可以从例如全血液样品分离例如红细胞、白细胞等，同时允许血浆和所期望的生物标志物通过分离膜并向下游流动到接头和毛细泵。

本文中的毛细泵通过例如芯吸、毛细作用等将流体抽吸通过装置。本文中的毛细泵可选自基于多孔材料的毛细泵、具有亲水表面的单个微通道、具有亲水表面的多个微通道、具有亲水微结构的腔室及其组合的组。在本文的实施方案中，基于多孔材料的毛细泵包括过滤器，例如滤纸。有用的滤纸材料包括例如纤维素、棉短绒衍生材料等。在一些实施方案中，来源或基于多孔材料的毛细  
15 泵由多孔材料制成，其通过毛细作用将流体流向下游抽吸。因此，在本文的实施方案中，不需要电力或主动泵。不受理论的限制，这种特征可以帮助减少或避免基于多孔材料的毛细泵在使用过程中的潜在堵塞。

在本文的实施方案中，本文的毛细泵可包含有助于抽吸流体通过装置的微结构。微结构可以包括例如微通道；或多个微通道，其具有或不具有多个微结  
25 构。

在本文的实施方案中，毛细泵是无动力的，这意味着它是自驱动的，并且

不消耗任何电力或不需要外部电源来抽吸流体通过该装置。

在本文的实施方案中，分离膜的顶层具有直径为约 7  $\mu\text{m}$  至约 13  $\mu\text{m}$  的平均孔径，底层具有直径为约 1  $\mu\text{m}$  至约 3  $\mu\text{m}$  的平均孔径。在不受理论限制的情况下，这些孔径被优化以从典型的人类血液样品中的血浆有效地滤出 RBC、WBC  
5 等。

在本文的实施方案中，分离膜还包括位于样品入口附近和顶层上方的附加层。在此情况下，附加层的平均孔径可为，例如，直径为约 20  $\mu\text{m}$  至约 100  $\mu\text{m}$ ；或直径为约 30  $\mu\text{m}$  至约 75  $\mu\text{m}$ ；或直径为约 40  $\mu\text{m}$  至约 50  $\mu\text{m}$ 。在不受理论限制的情况下，这种附加的过滤器可以去除血液样品中较大的污染物，例如，诸  
10 如污垢、聚集的血小板、皮肤细胞、组织、微生物/细菌等，否则这些污染物会降低顶部过滤器的有效性和/或堵塞顶部过滤器。

在本文的实施方案中，微流体装置还包含与分离膜流体连通的反应室，其中反应室在分离膜的下游。反应室的功能可以是为化学反应或物理反应提供位置，诸如检测生物标志物和例如用于反应的反应物，所述反应选自由以下组成  
15 的组：颜色反应、抗体反应、酶反应、电化学反应、荧光、化学发光及其组合；或颜色反应、抗体反应、酶反应及其组合。例如，反应室可以检测来自血浆的生物标志物。这种生物标志物可以是选自由以下组成的组：生物细胞、蛋白质生物标志物、有机分子、金属离子及其组合。在一些实施例中，生物标志物可以是例如铅离子、甲胎蛋白、SARS CoV-2 抗体、SARS CoV-2 抗原、血清白蛋  
20 白、前列腺特异性抗原、血肌酐、血胱抑素 C、糖化血色素及其组合。

微流体装置，特别是反应室，可以进一步包含捕获机构，例如固定的抗体、固定的抗原、固定的微粒及其组合，以有助于生物标志物的捕获。捕获机构可以是例如可逆的捕获机构，其可以例如在提供释放溶液并将释放溶液添加到反应室时释放捕获生物标志物。释放溶液可以通过例如利用与原始血液样品不同的  
25 离子强度、pH 等来实现这种生物标志物的释放。

例如，反应室可以在分离膜和毛细泵之间，或者甚至可以包含在毛细泵内。

在本文的实施方案中，反应室包括在毛细泵内。在替代的实施方案中，反应室从分离膜下游的微流体装置突出，例如，在毛细泵之后或平行于毛细泵，或者直接位于分离膜的下游。

因此，本发明的实施方式涉及一种血液分离装置和方法，其利用血液样品入口、歧管入口和毛细泵之间的压差来穿过分离膜从全血中分离血浆。本领域技术人员理解，可以使用各种设备来利用压差，例如注射泵、静液压泵、蠕动泵等，并且尤其是毛细泵。本领域技术人员还理解，核心结构也可以是不同的形式，例如注射器及其附件，以及配备有分离膜的弹性管，该分离膜有助于从全血液样品中分离或纯化血浆。

10 本发明的实施方案涉及一种微流体装置，其具有跨越分离膜的毛细管驱动的压差。微流体装置可以包含用于流体的微通道或多个微通道，所述流体基于毛细管的润湿性通过流体芯吸机构沿路径向下游行进。典型的流体芯吸材料包括亲水性材料，诸如亲水性聚合物（PDMS、丙烯酸）和陶瓷（玻璃）。当与微通道/路径的几何构造接触时，毛细管驱动装置的压差可能来自流体界面。诸如多孔膜（滤纸、棉花、纤维膜、堆积的微粒）的允许微尺寸界面的这种材料  
15 可以产生压力梯度，当与分离多孔膜结合时该压力梯度允许流体流动穿过通道/路径。因此，它可以驱动流体通过分离多孔膜，从全血中分离血浆，全血中的大颗粒诸如 RBC、WBC 等被捕获在分离膜上。

在本发明的一个实施方案中，本文的微流体装置提供了使用毛细管引起的  
20 跨越分离膜的压差的血浆分离，其通过利用有序排放来确保从全血样品中自动地、无动力地和几乎完全地分离和提取血浆。诸如血液样品入口/通道、歧管入口/通道和反应室的装置部件具有特别设计的尺寸，当这些通道充满流体时，这些尺寸具有自身的压力和阻力。血液样品入口/通道、歧管入口/通道和反应室之间的压差被设计成使得来自血液样品入口的液体弯液面将首先被排出，而  
25 歧管入口处的液体将保持静止。来自歧管入口的液体弯液面将仅在血液样品入口中的液体完全排出时移动。这一原则确保了血浆的完全提取。此外，在提取

过程中，装置和方法持续性减小了穿过多孔膜的压降，以适应当血细胞被捕获时增加的流动阻力。因此，溶血（在其他方法中常见的问题）可以被极大地最小化。

## 5 有序排放参数计算

有序排放是在具有多个输入储库系统的情况下的自调节的液体排放，其允许操纵微通道内的液体。使用有序排放，我们可以确保在从其他储库排放流体之前，从一个储库优先完全排放液体。为了满足有序排放的条件，排放优先的入口上的液体弯液面压力（ $P_l$ ）、入口 1 和 2 之间的接头处的液体压力（ $P_j$ ）以及排放优先级较低的入口处的液体弯液面压力（ $P_2$ ）应遵循以下条件： $P_l > P_j > P_2$ （参见图 1A、图 1B 和图 1C）。入口上的液体弯液面压力和流动阻力可以使用以下公式来确定：

$$P = -\gamma \left[ \frac{(\cos\theta_l + \cos\theta_r)}{w} + \frac{(\cos\theta_t + \cos\theta_b)}{h} \right] \quad (\text{公式 1})$$

$$R = \frac{12\eta L}{h^3 w} \left[ 1 - 0.63 \frac{h}{w} \right]^{-1} \quad (\text{公式 2})$$

其中  $\cos\theta_{l,r,t,b}$  是分别由组成左、右、顶部和底部界限的材料接触角， $\gamma$  是流体的表面张力， $\eta$  是流体的动力粘度，而  $w, h, L$  是通道的宽度、高度和长度。见上文中的 Olanrewaju 和 Juncker。

为了找到压力平衡，使用电模型来模拟毛细管微流体（参见图 1A）。通过在线模拟服务（例如，CircuitLab <https://www.circuitlacom/>）和公式（1）和（2），可以通过逆向设计通道尺寸来重新调整通道的压力和阻力，以满足有序排放的先决条件。

## 装置制造

在本文的实施方式中，该装置可以包含由嵌段共聚物 PDMS（聚二甲基硅氧烷）制成的通道层和由玻璃（诸如，载玻片）制成的密封层。不受理论的限制，

载玻片是特别有用的，因为它允许使用者直接观察工作中的微流体装置（例如，参见图 4）。首先使用 AutoCAD 参考从有序排放计算资料中测量的尺寸来设计通道层模具。使用 3D 打印机（Phrozen Sonic Mini 8K，中国台湾新竹市 30091）和标准 UV 感光性树脂（ANYCUBIC，中国广东深圳）制造模具。在用异丙醇超声处理 5 分钟以清洁任何液体树脂残留物之后，然后将印刷的模具在 UV 室中固化 3 分钟。然后用六甲基二硅烷（HMDS；Sigma-Aldrich，美国新泽西州）通过化学气相沉积（CVD）5 分钟，以防止聚二甲基硅氧烷（PDMS；硅酮树脂，美国密歇根州）粘附到 3D 打印模具。

将二甲基硅氧烷-（60-70%亚乙基氧）嵌段共聚物 20 cSt（Gelest，Pennsylvania, USA）与 PDMS 预聚物（10：1）以 0.75%w/w 比率混合以形成混合物。将混合物倾倒在 3D 打印的模具上，并在 75℃ 下烘烤 4 小时，以固化并形成固化的嵌段共聚物 PDMS 装置。将固化的嵌段共聚物 PDMS 器件从模具上剥离，修整，并在指定的槽中安装分离膜。然后在 700mTorr 下，对嵌段共聚物 PDMS 装置和载玻片进行等离子体处理（Harrick Plasma PDC-001，美国纽约）3 分钟，然后通过轻微压紧进行结合以产生封闭的装置。然后将封闭的装置在 95℃ 下加热 5 分钟，以确保更紧密的结合并去除对嵌段共聚物 PDMS 和载玻片的等离子体亲水效应。然后将滤纸插入出口槽中，作为装置的毛细泵（参见图 1）。

### 从血液样品中分离血浆的方法

在本发明的实施方案中，用于从血液样品中分离血浆的方法包括以下步骤：提供根据本申请所述的微流体装置；提供包含多个红细胞和血浆的血液样品；如果通气孔最初是关闭的，在添加血液样品之前打开血液样品入口，或者在将血液样品添加到血液样品入口之后打开通气孔，将血液样品加入到血液样品入口，接着将工作流体添加到歧管入口，通过歧管入口与血液样品入口的有序排放来提取血浆。有序排放使得血液样品从血液样品入口优先向下游流动到分离膜，将分离膜分离的血浆提取出来。最初，微流体装置可以带有处于关闭状态

的通气孔；即，是封闭的通气口。通气孔可以用例如通气孔盖封闭，例如，可拆卸的密封件、贴片、塑料塞等。打开通气孔，以允许血液样品流过装置。

在不受理理论限制的情况下，本文的方法提供了一种简单、容易且易于操作的用于将血浆和其中的任何生物标志物与导致阻塞和/或使进一步分析复杂化的 RBC、WBC、污物等分离的方法。本发明的方法可以设计为用于简单的测试试剂盒，或者可以，例如，放大用于更大规模的血液样品纯化和/或生物标志物分离和/或鉴定。

在本文的实施方案中，血浆从分离膜向下游流到毛细泵，在毛细泵中可以收集血浆等。

在微流体装置还包括反应室的实施方案中，本文的方法还可以包括使生物标志物与反应室中的反应物反应的步骤。

参见附图，图 1A 示出了模拟本发明的装置的实施方案的流动阻力的电路图。在图 1A 中，血液样品入口具有 $-48.6\text{Pa}$  的压力  $P_1$ ，而歧管入口具有 $-196.7\text{Pa}$  的压力  $P_2$ 。来自血液样品入口和膜的电阻  $R_1$  为  $83.5\text{M}\Omega$ ，而来自歧管入口的电阻  $R_2$  为  $5\text{M}\Omega$ 。这在接头处提供了 $-189.2\text{Pa}$  的接头压力  $P_j$ ，并且满足条件  $P_1 > P_j > P_2$ 。反应室提供  $20\text{G}\Omega$  的电阻  $R_{rc}$ ，而毛细泵提供 $-4\text{kPa}$  的压力  $P_c$ 。

图 1B 示出了本发明的微流体装置 10 的实施方案的顶部透视图。微流体装置 10，包含连接到分离膜 14 的血液样品入口 12。单独的歧管入口 16 位于血液样品入口 12 的远端，并通过分离膜 14 在接头处 18 与血液样品入口 12 流体连通。反应室 20 位于接头 18 的下游，而毛细泵 22 与反应室 20 和接头 18 流体连通并且位于反应室 20 和接头 18 的下游。通气孔 24 在下游与毛细泵 22 流体连通，通气孔盖 26（在本例中为贴片）显示从通气孔 24 上剥离。通气孔可以一直打开或在使用之前保持关闭。对于后一种情况，通气孔盖 26 通常将覆盖并密封通气孔 24，并且在将血液样品添加到血液样品入口 12 之后，可以移除通气孔盖 26。一旦血液样品被添加到血液样品入口 12 并且已经通过分离膜 14，那么工作流体可以被添加到歧管入口 16，以便从分离膜 14 提取血浆。

在图 1B 中，本领域技术人员理解，分离膜 14 位于血液样品入口 12 的下游，并且接头 18 位于分离膜 14 的下游。类似地，接头 18 位于歧管入口 16 的下游。相反，歧管入口 16 位于接头 18 的上游。

图 1C 示出了图 1B 的实施方案的侧视图。微流体装置 10 具有血液样品入口 12、分离膜 14、歧管入口 16、接头 18、反应室 20、毛细泵 22 和通气口 24。  
5 在该视图中，可以看到分离膜 14 包含邻近血液样品入口 12 的顶层 28。分离膜 14 还包含远离血液样品入口 12 的底层 30。顶层 28 与底层 30 流体连通，并且在  
10 在该实施方案中，顶层 28 直接位于底层 30 的上游。顶层 28 的上游是任选的附加层 32，其可以进一步在血液样品流到顶层 28 之前帮助去除不需要的材料，  
例如较大的颗粒。

图 2 示出了本发明的微流体装置 10 的实施方案的示意性部分分解图。微流体装置 10 沿与图 1B 的方向相反的方向定向，并且包含血液样品入口 12、分离膜 14、歧管入口 16、反应室 20 和毛细泵 22。分离膜 14 从微流体装置 10 中分离出来，并且特写示出了具有 10 $\mu$ m 的不同孔径的顶层 28 和具有 2 $\mu$ m 孔径  
15 的底层 30。图 2 还示出了可以固定到微流体装置 10 上的载玻片 34。

图 3A 示出了用 DiD 染色的红细胞的照片，其中红色表示红细胞的存在。

图 3B 示出了用 CMFDA 绿染色的白细胞的照片，其中绿色表示白细胞的存在。

图 4 示出了在特定时间点的血浆提取过程中的微流体装置的照片、相衬图  
20 像、Cy5、TXRED 和 FITC 荧光图像。第一行照片显示了在正常光照条件下的微流体装置的实施方案。第二行（从顶部开始）示出了反应室和毛细泵边缘的特写的相位对比。第三行示出了 Cy5 染色的血浆通过反应室和毛细泵边缘的特写。第四行示出了 DiD 染色的红细胞通过反应室和毛细泵边缘的特写。第五行示出了 CMFDA 染色的白细胞通过反应室和毛细泵边缘的特写。

25 为了制备微流体装置，将具有 Cy5-染色的血浆（第 3 行）、DiD-染色的 RBC（第 4 行）或 CMFDA-染色的 WBC（第 5 行）的血液样品加入到血液样品入口中，

并将工作流体加入到歧管入口中。

所有行的第一（左）列指示零时间点；即，在释放工作流体接触毛细泵之后的 0 分钟。所有行的第二列表示工作流体接触毛细泵之后的 1 分钟时间点。所有行的第三列表示工作流体接触毛细泵之后的 9 分钟时间点。所有行的第四  
5 （右）列表示工作流体接触毛细泵之后的 15 分钟时间点。

如图 4 所示，在零时间点，在反应室或毛细泵中没有可见的血浆、RBC 或 WBC。在 1 分钟时间点，可以看到 Cy5 染色的血浆通过反应室并开始并在毛细管室中积聚，而没有 RBC 或 WBC 通过反应室或在毛细管室中积聚。在 9 分钟的时间点，图 4 示出了增加的 Cy5 染色的血浆通过反应室并在毛细管室中积聚，而  
10 没有 RBC 或 WBC 通过反应室或在毛细管室中积聚。在 15 分钟时间点，图 4 示出了 Cy5 染色的血浆已完全通过反应室并全部积聚在毛细管室中，而没有 RBC 或 WBC 通过反应室或积聚在毛细管室中。图 4 照片因此示出血浆在 15 分钟内快速且完全地流过血液样品入口、分离膜、接头和反应室，并在毛细泵中积聚。然而，同样清楚的是，RBC 和 WBC 不通过分离膜，因此从不进入接头、反应室  
15 或毛细泵。此外，从图 4 可以看出，在分离膜中捕获的 RBC 和 WBC 不会阻碍血浆向下游的流动，因为其全部被捕获在毛细泵中。

图 5A 是示出在本发明的实施方案中在全血中标记的 Cy5 染料的相对荧光强度的图。这表明 Cy5 染色的全血的峰值荧光强度为约 6 分钟，即使在 15 分钟后也能够容易地检测出染色。

20 图 5B 是示出在本发明的实施方案中在分离后的血浆中标记的 Cy5 染料的相对荧光强度的图。这表明 Cy5 染色的血浆的峰值荧光强度为约 6.5 分钟，并且血浆的标准化荧光强度高于全血的标准化荧光强度（图 5A）。

图 6 示出了 TXRED 和 FITC 通道的平均相对荧光强度，表明在不同浓度的标记血浆中，在反应室内没有 RBC 和 WBC 的渗漏和破裂的情况下提取血浆。

25 图 7 是比较血浆和全血样品之间在不同预期血浆体积下提取血浆体积的图。因此，本文的微流体装置提供了从全血中有效且几乎完全的血浆分离。

## 实施例 1

### 全血成分标记

5 将人血液样品离心以分离红细胞 (RBC) 和白细胞 (WBC)。然后将分离的细胞用 1×PBS 缓冲液洗涤 3 次, 然后与含有用于 RBC 的 100 μg/mL DiD (亲脂性染料羰花青 1, 1'-二十八烷基-3, 3, 3', 3'-四甲基吡啶二碳花青, 4-氯苯磺酸盐固体 (DiD; Lumiprobe, Hunt Valley, Maryland, USA) 和用于 WBC 的 1 μg/mL CellTracker™绿 (5-氯甲基荧光素二乙酸酯 (a. k. a., CMFDA, Lumiprobe, 10 Hunt Valley, Maryland, USA) 的溶液混合, 体积比 1:1, 并在室温下连续混合培养 30 分钟。

将染色的血细胞再次用 1×PBS 缓冲液洗涤 3 次, 并将从离心步骤分离的血浆重新引入到血细胞比容 (HCT) 分数为 50% 的染色的血细胞中。用 Texas Red/TXRED 通道检测经 DiD 染色的 RBC (见图 3A), 并且用 FITC Green 通道检测经 CMFDA 绿染色的 WBC (见图 3B)。

15 为了模拟血浆提取, 用不同浓度 (0、10、20、50、100 μg/ml) 的花青 5 胺 (Cy5; Lumiprobe) 荧光染料标记血浆。然后在明视场和荧光显微镜下观察标记的全血样品, 以确保所有成分都被正确染色。

### 20 血浆分离和提取

为了确定血浆分离和提取的性能, 通过将 10 μL 全血样品 (Hct 50%) 注入装置, 然后通过歧管入口注入 20 μL 缓冲液, 进行延时研究。每 30 秒对明视场、Cy5 红、FITC 绿和 TXRED 通道拍摄图像, 持续 20 分钟, 以监测通过有序排放提取的血浆的流动以及在过滤过程中红细胞和白细胞泄漏或破裂的可能性。参见图 4, 然后在 ImageJ (National Institute of Health (NIH), 25 Bethesda, 美国马里兰) 中处理延时图像, 以获得反应室中的荧光图像强度。

通过将原始强度值除以背景值来标准化强度值。Cy5 的强度决定了血浆的提取体积与时间的关系。DiD 和 CMFDA 绿强度与明视场图像一起用于观察 RBC 和 WBC 泄露和破裂。

## 5 体积计算

为了获得提取的血浆的重量体积，通过使用天平称量已知体积来计算全血样品、分离的血浆和歧管缓冲液的密度。实验组在血液样品入口注入全血样品或分离后的血浆，歧管则注入缓冲液工作流体。相对地，对照组则当仅将歧管缓冲液注入装置。在提取过程之前和之后，对用于毛细管的各个多孔膜进行称  
10 重。上述实验组称重值将减去对照组的重量值。然后使用相应流体的密度将减去的重量值转换为体积。

## 结果

在不受理论限制的情况下，当本文的装置成功地实现有序排放时。用全血  
15 样品和食用染料测试该装置，以使有序排放可被观察。正如所预期的，来自样品入口的全血优先通过分离膜提取血浆，而歧管入口中的弯液面保持在原位。只有当血浆完全排出时，歧管弯液面才开始排放。在图 6 中，在 15 分钟时，当所有流体从通道中排空时，该过程完成。相比之下，我们还可以观察到，从明视场图像以及来自 TXRED 和 FITC 通道的图像中可以看到，在过滤过程中没  
20 有血细胞泄漏。

通过延时研究，可以观察到血浆提取在歧管缓冲液注射后 1 分钟发生，并在 15 分钟后完成，由反应室中 Cy5 荧光强度的相应增加和减少的变化表示。我们还研究了全血和分离后纯血浆样品的提取之间的比较。基于图 5A 和 5B，标记血浆样品具有更快的达到峰值的完成率，并以快速的速度下降。相比之下，  
25 全血样品提取具有较低的峰值，似乎更像是一个平台。这是由于在分离膜中含有被过滤的血细胞，其充当过滤的阻力。

提取的血浆、TXRED 和 FITC 通道的 Cy5 的标准化荧光强度指示 RBC 和 WBC 的泄露和破裂。结果显示，随着血浆的提取，Cy5 通道是唯一显示增加的通道，而其他通道保持未检测到（图 6）。由此，我们可以确认该装置可以完全过滤 RBC 和 WBC，而不会在提取过程中破裂。

5        反应前后称重液体的体积结果表明，该方法可提取 8  $\mu\text{L}$ 、10  $\mu\text{L}$ 、12  $\mu\text{L}$  和 15  $\mu\text{L}$  全血样品原始体积的 50%，这分别是 4  $\mu\text{L}$ 、5  $\mu\text{L}$ 、6  $\mu\text{L}$  和 7.5  $\mu\text{L}$  的预期血浆体积。该值也对应了一般全血样品的血细胞比容计数 50%，表明从全血样品中完全提取了血浆（图 7）。此外，该值也类似于基于裸血浆样品制备的 4  $\mu\text{L}$ 、5  $\mu\text{L}$ 、6  $\mu\text{L}$  和 7.5  $\mu\text{L}$  的体积，这意味着该提取的血浆体积可全数由  
10 全血中提出，不受血细胞存在的影响。

应当理解，以上仅示出和描述了可以实施本发明的实施例，并且在不脱离本发明的精神的情况下可以对其进行修改和/或变更。

还应当理解，为了清楚起见，在单独的实施方案的上下文中描述的本发明的特定特征也可以在单个实施方案中组合提供。相反，为了简洁起见，在单个  
15 实施方案的上下文中描述的本发明的各种特征也可以单独提供，或者以任何合适的子组合提供。

在本文中具体引用的所有参考文献均通过参考全文引入。然而，这种参考文献的引用或结合不一定是承认其作为对于/针对本发明的现有技术的适当性、可引用性和/或可用性。

20

## 权利要求书

1. 一种微流体装置，包括：

A. 血液样品入口；

B. 分离膜，包括：

5           i. 邻近样品入口的顶层，所述顶层具有直径为约  $1\ \mu\text{m}$  至约  $50\ \mu\text{m}$  的平均孔径；和

          ii. 远离所述样品入口的底层，所述底层具有直径为约  $0.05\ \mu\text{m}$  至约  $20\ \mu\text{m}$  的平均孔径；

C. 在接头处与所述血液样品入口流体连通的歧管入口；

10          D. 与所述接头流体连通并位于所述接头的下游的毛细泵；以及

E. 与毛细泵流体连通的通气孔，

其中，所述分离膜设置在所述血液样品入口和所述接头之间。

2. 根据权利要求 1 所述的微流体装置，其中，所述顶层具有直径为约  $3\ \mu\text{m}$  至约  $20\ \mu\text{m}$  的平均孔径，所述底层具有直径为约  $0.1\ \mu\text{m}$  至约  $7\ \mu\text{m}$  的平均孔径。

15          3. 根据权利要求 1 或 2 所述的微流体装置，其中，所述分离膜还包括附加层，其中，所述附加层位于所述样品入口附近并且在所述顶层上方，特别地，所述附加层具有直径为约  $20\ \mu\text{m}$  至约  $100\ \mu\text{m}$  的孔径。

4. 根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的微流体装置，还包括与所述分离膜流体连通以检测所提取血浆中的生物标志物的反应室，其中所述反应室在所述  
20 分离膜的下游。

5. 根据权利要求 4 所述的微流体装置，其中，所述生物标志物选自由以下组成的组：生物细胞、蛋白质生物标志物、有机分子、金属离子及其组合。

6. 根据权利要求 4 所述的微流体装置，其中，所述反应室包括选自由以下组成的组的捕获机构：固定的抗体、固定的抗原、固定的微粒及其组合。

25          7. 根据权利要求 4 所述的微流体装置，其中，所述反应室包含用于反应的反应物，所述反应选自由以下组成的组：颜色反应、抗体反应、酶反应、电化

学反应、荧光、化学发光及其组合。

8. 根据权利要求 1 至 7 中任一项所述的微流体装置，其中，所述毛细泵选自由以下组成的组：基于多孔材料的毛细泵、具有亲水表面的单个微通道、具有亲水表面的多个微通道、具有亲水微结构的腔室及其组合。

5 9. 根据权利要求 1 至 8 中任一项所述的微流体装置，其中，所述毛细泵包括过滤器，特别地，所述过滤器包括纤维素、棉短绒及其组合。

10. 一种从血液样品中分离血浆的方法，包括以下步骤：

A. 提供根据权利要求 1-9 中任一项所述的微流体装置，其中，所述通气孔是关闭的通气孔或打开的通气孔；

10 B. 提供其中包含多个红细胞和血浆的血液样品；

C. 将所述血液样品加入所述血液样品入口；

D. 允许所述血液样品从所述血液样品入口流到分离膜中；

E. 将工作流体添加到所述歧管入口；

F. 通过有序排放从所述血液样品中过滤出所述红细胞来提取血浆。

15 11. 根据权利要求 10 所述的方法，其中，所述血浆从所述分离膜向下游流动至所述毛细泵。

图1A

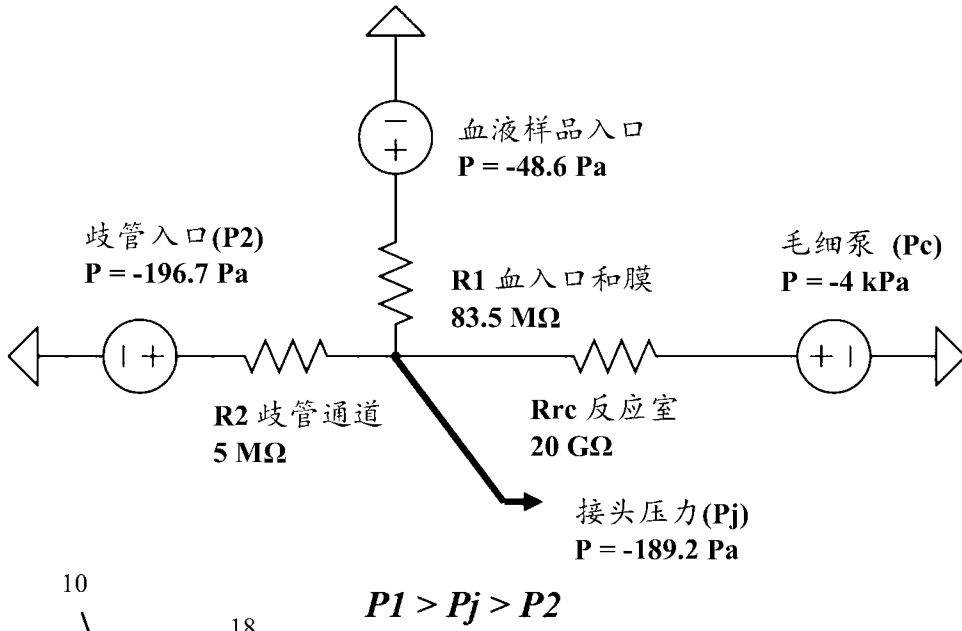


图1B

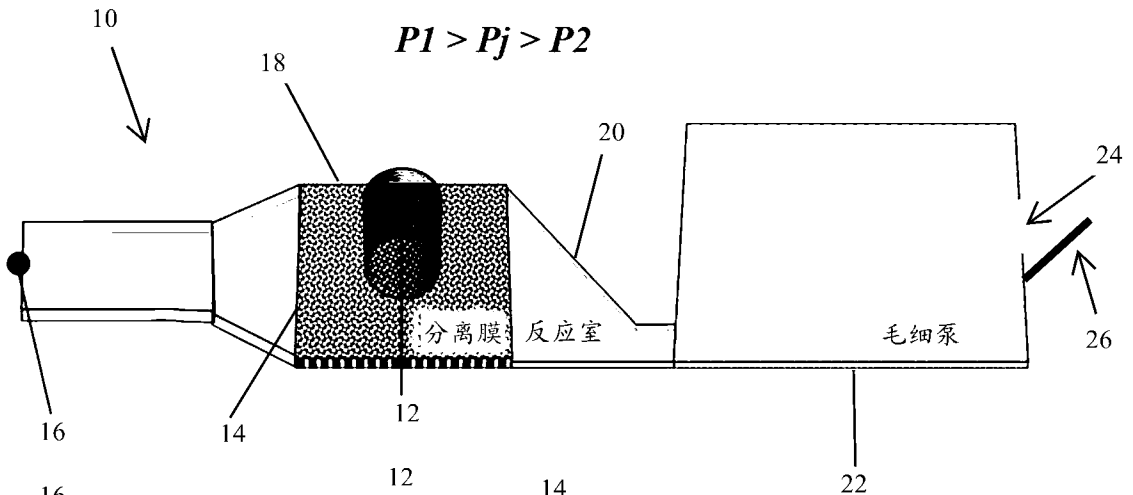
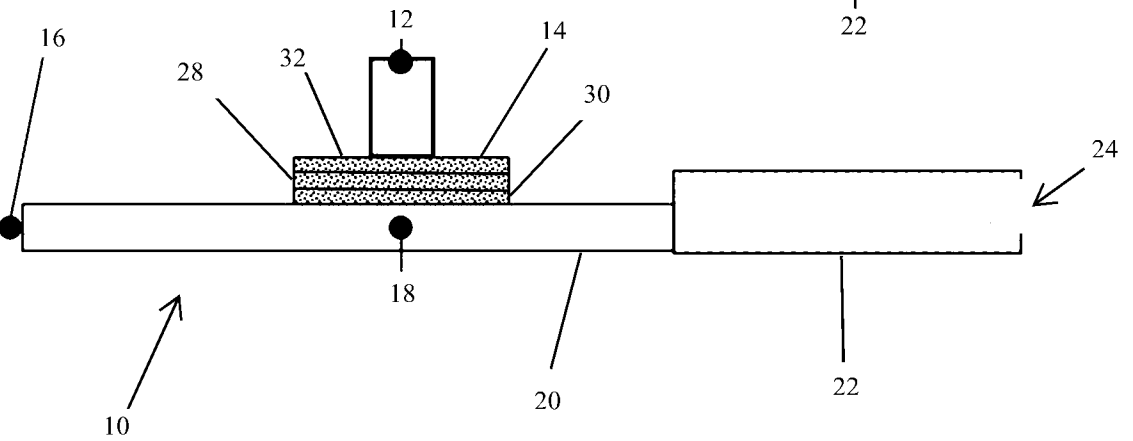


图1C



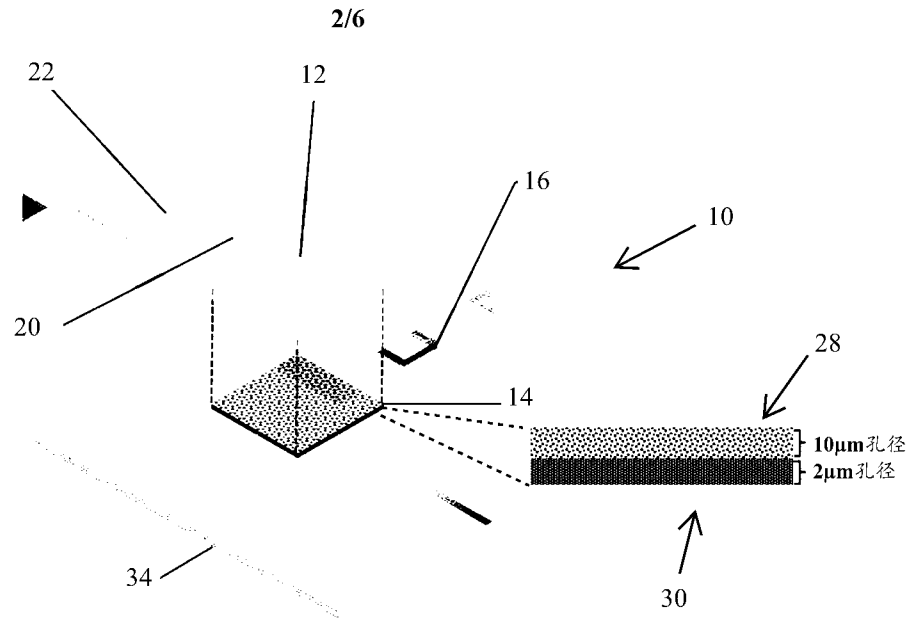


图2

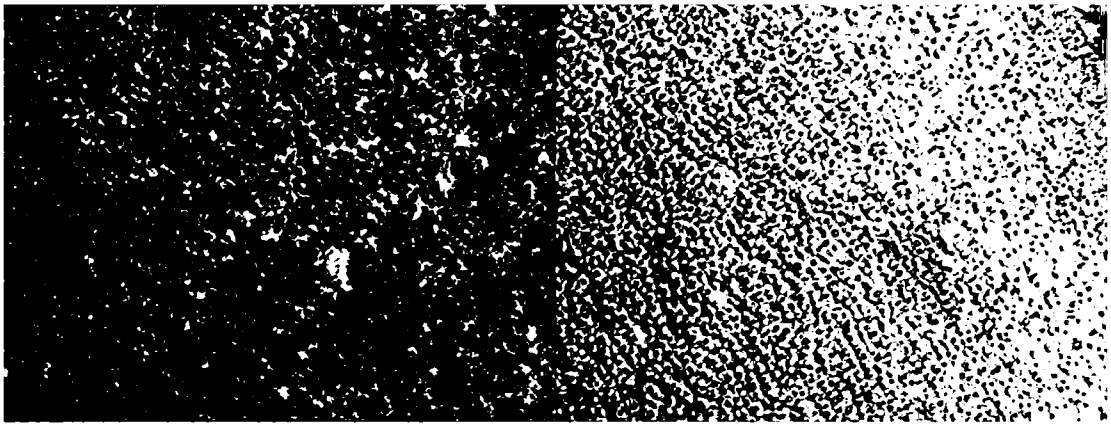


图3A

图3B

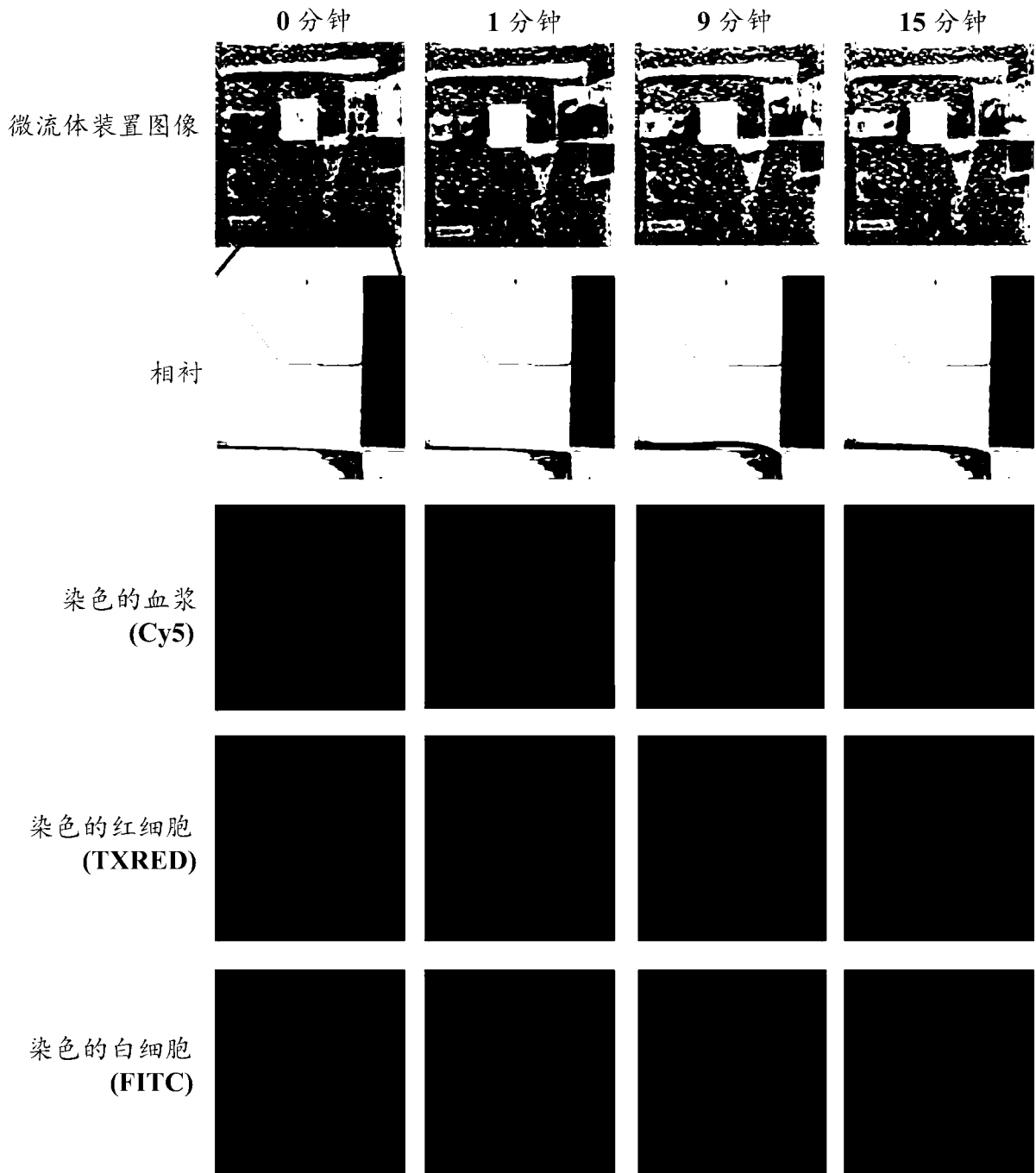


图4

标记的全血样本

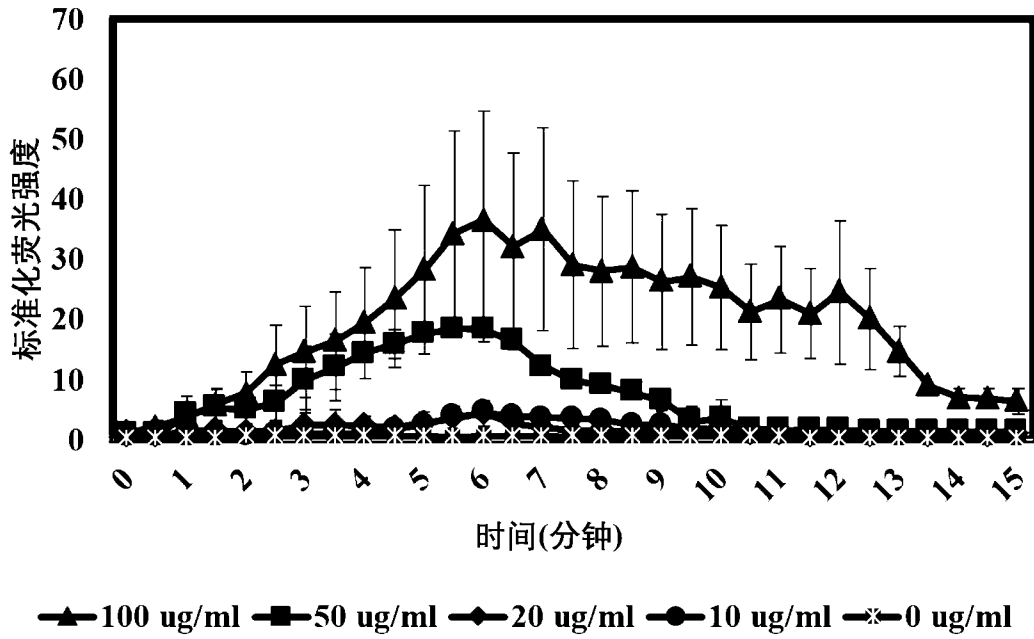


图5A

标记的血浆样本

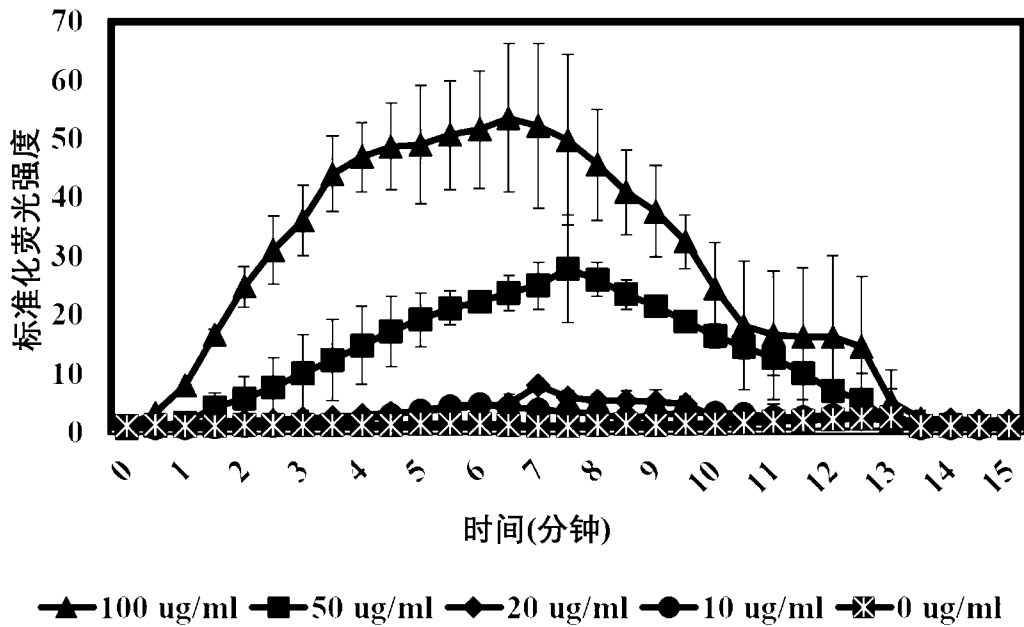


图5B

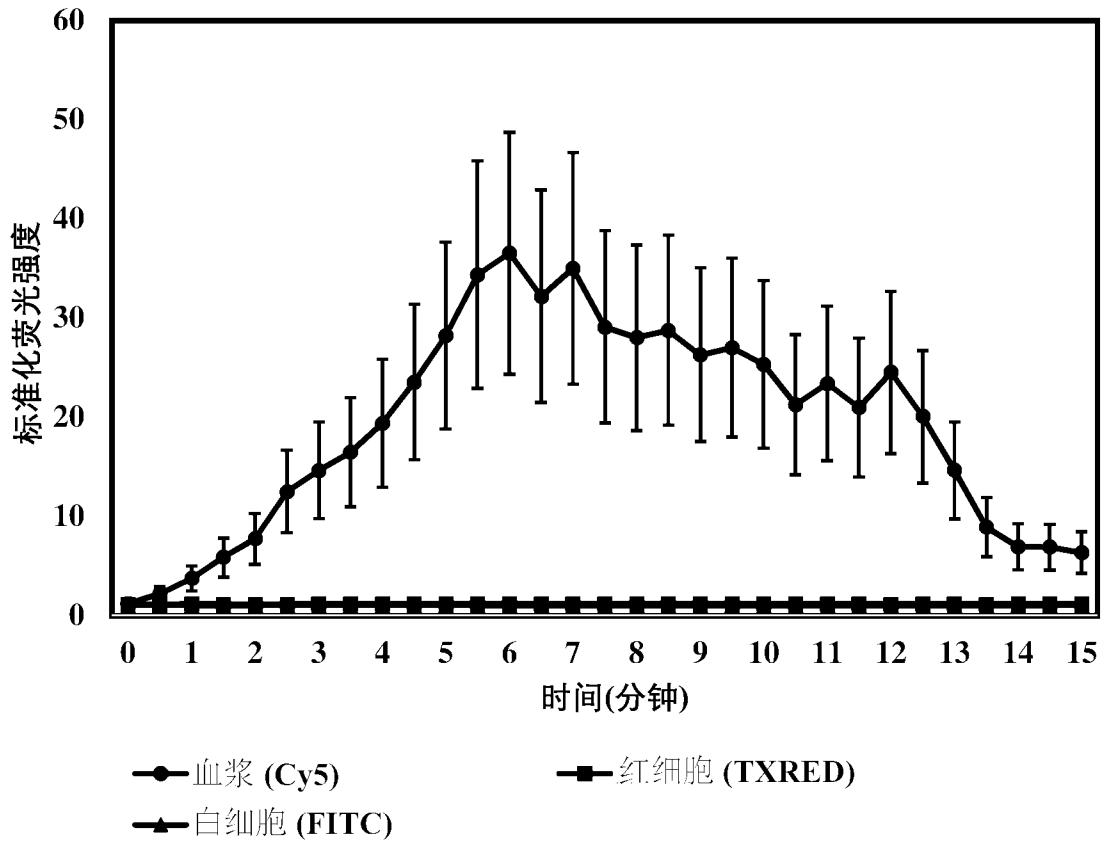


图6

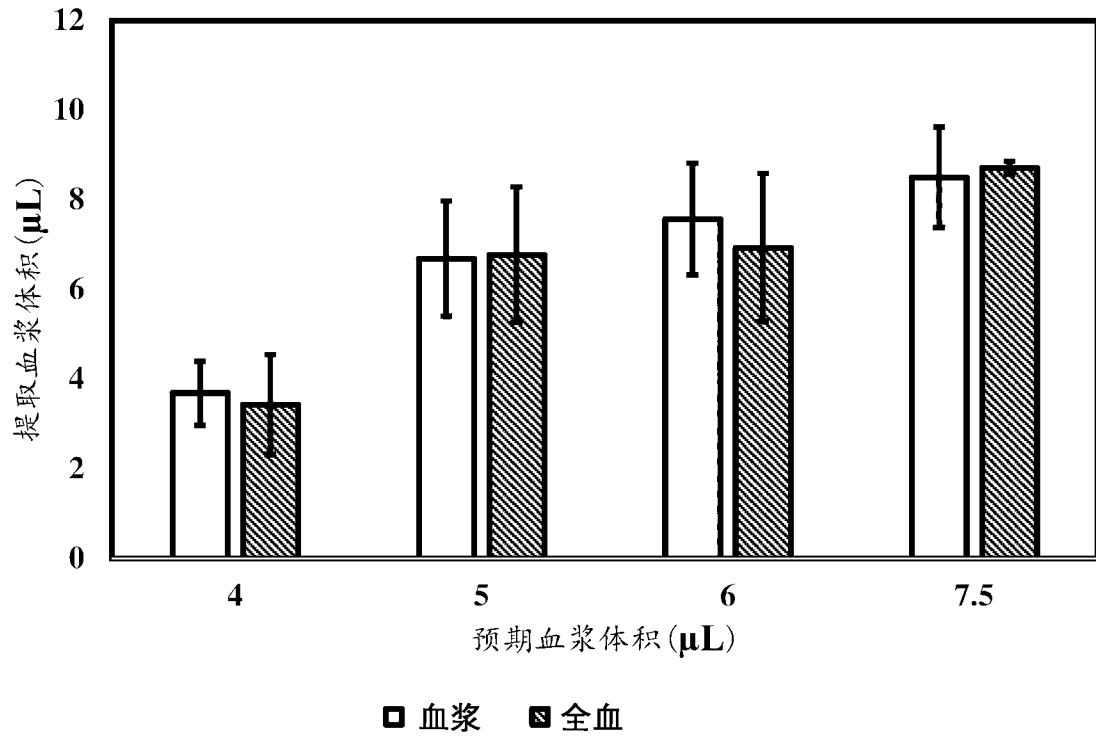


图7

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/136201

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> B01L3/00(2006.01)i  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) B01L  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS, CNTXT, DWPI, EPTXT, USTXT, WOTXT, ENTXTC, CNKI, Patentics: 香港城市大学, 陈定璿, 陈根气, 血液, 血清, 血浆, 毛细, 芯吸, 微流体, 微流控, 微结构, 微通道, 微流道, 芯片, 提取, 分离, 过滤, 膜, 纤维, 纸, 多孔, 亲水, 棉, 毛细泵, 缓冲液, 弯月, 月牙, 弯液, 新月, 毛细作用, 毛细力, 毛细效应, 有序, 顺序, 先后, 依次, 顺次, 排放, 排出, plasm+, blood, separat+, capillar+, buffer+, sequence+, oder+, meniscus		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 101965225 A (KONINKLIJKE PHILIPS ELECTRONICS N.V.) 02 February 2011 (2011-02-02) description, paragraphs 68-89, and figures 1-14	1-11
Y	CN 105050720 A (UNIVERSITY OF WASHINGTON CENTER FOR COMMERCIALIZATION) 11 November 2015 (2015-11-11) description, paragraphs 101-123, and figures 1-16	1-11
Y	KR 20080051011 A (ELECTRONICS AND TELECOMMUNICATIONS RESEARCH INSTITUTE) 10 June 2008 (2008-06-10) description, specific embodiments, and figures 1-5	1-11
A	CN 109925884 A (NANJING LANYU BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 25 June 2019 (2019-06-25) entire document	1-11
A	CN 113167785 A (CAPITAINER AB) 23 July 2021 (2021-07-23) entire document	1-11
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search <b>21 February 2024</b>		Date of mailing of the international search report <b>27 February 2024</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088</b>		Authorized officer   Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2023/136201**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	101965225	A	02 February 2011	WO	2009112982	A1	17 September 2009
				EP	2254699	A1	01 December 2010
				US	2011005341	A1	13 January 2011
				US	8475734	B2	02 July 2013
				CN	101965225	B	30 April 2014
-----							
CN	105050720	A	11 November 2015	US	2019134637	A1	09 May 2019
				US	11098346	B2	24 August 2021
				EP	2948249	A1	02 December 2015
				WO	2014116756	A1	31 July 2014
				US	2015361487	A1	17 December 2015
				US	11098346	B2	24 August 2021
-----							
KR	20080051011	A	10 June 2008	KR	100897524	B1	15 May 2009
-----							
CN	109925884	A	25 June 2019	EP	3808434	A1	21 April 2021
				EP	3808434	A4	22 September 2021
				US	2021205524	A1	08 July 2021
				WO	2020220157	A1	05 November 2020
				MA	52905	A	19 May 2021
-----							
CN	113167785	A	23 July 2021	EP	3847458	A1	14 July 2021
				EP	3847458	A4	15 June 2022
				JP	2022504018	A	13 January 2022
				JP	7409693	B2	09 January 2024
				US	2021316300	A1	14 October 2021
				WO	2020050770	A1	12 March 2020
-----							

<p>A. 主题的分类</p> <p>B01L3/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>B01L</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS, CNTXT, DWPI, EPTXT, USTXT, WOTXT, ENTXTC, CNKI, Patents: 香港城市大学, 陈定璿, 陈根气, 血液, 血清, 血浆, 毛细, 芯吸, 微流体, 微流控, 微结构, 微通道, 微流道, 芯片, 提取, 分离, 过滤, 膜, 纤维, 纸, 多孔, 亲水, 棉, 毛细泵, 缓冲液, 弯月, 月牙, 弯液, 新月, 毛细作用, 毛细力, 毛细效应, 有序, 顺序, 先后, 依次, 顺次, 排放, 排出, plasm+, blood, separat+, capillar+, buffer+, sequence+, oder+, meniscus</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width:10%;">类型*</th> <th style="width:70%;">引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th style="width:20%;">相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align:center;">Y</td> <td>CN 101965225 A (皇家飞利浦电子股份有限公司) 2011年2月2日 (2011 - 02 - 02) 说明书第68-89段, 图1-14</td> <td style="text-align:center;">1-11</td> </tr> <tr> <td style="text-align:center;">Y</td> <td>CN 105050720 A (华盛顿大学商业化中心) 2015年11月11日 (2015 - 11 - 11) 说明书第101-123段, 图1-16</td> <td style="text-align:center;">1-11</td> </tr> <tr> <td style="text-align:center;">Y</td> <td>KR 20080051011 A (KOREA ELECTRONICS TELECOMM.) 2008年6月10日 (2008 - 06 - 10) 说明书具体实施方式, 图1-5</td> <td style="text-align:center;">1-11</td> </tr> <tr> <td style="text-align:center;">A</td> <td>CN 109925884 A (南京岚煜生物科技有限公司) 2019年6月25日 (2019 - 06 - 25) 全文</td> <td style="text-align:center;">1-11</td> </tr> <tr> <td style="text-align:center;">A</td> <td>CN 113167785 A (卡皮台内尔公司) 2021年7月23日 (2021 - 07 - 23) 全文</td> <td style="text-align:center;">1-11</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	Y	CN 101965225 A (皇家飞利浦电子股份有限公司) 2011年2月2日 (2011 - 02 - 02) 说明书第68-89段, 图1-14	1-11	Y	CN 105050720 A (华盛顿大学商业化中心) 2015年11月11日 (2015 - 11 - 11) 说明书第101-123段, 图1-16	1-11	Y	KR 20080051011 A (KOREA ELECTRONICS TELECOMM.) 2008年6月10日 (2008 - 06 - 10) 说明书具体实施方式, 图1-5	1-11	A	CN 109925884 A (南京岚煜生物科技有限公司) 2019年6月25日 (2019 - 06 - 25) 全文	1-11	A	CN 113167785 A (卡皮台内尔公司) 2021年7月23日 (2021 - 07 - 23) 全文	1-11
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
Y	CN 101965225 A (皇家飞利浦电子股份有限公司) 2011年2月2日 (2011 - 02 - 02) 说明书第68-89段, 图1-14	1-11																		
Y	CN 105050720 A (华盛顿大学商业化中心) 2015年11月11日 (2015 - 11 - 11) 说明书第101-123段, 图1-16	1-11																		
Y	KR 20080051011 A (KOREA ELECTRONICS TELECOMM.) 2008年6月10日 (2008 - 06 - 10) 说明书具体实施方式, 图1-5	1-11																		
A	CN 109925884 A (南京岚煜生物科技有限公司) 2019年6月25日 (2019 - 06 - 25) 全文	1-11																		
A	CN 113167785 A (卡皮台内尔公司) 2021年7月23日 (2021 - 07 - 23) 全文	1-11																		
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																				
<table style="width:100%;"> <tr> <td style="width:50%; vertical-align: top;"> <p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> </td> <td style="width:50%; vertical-align: top;"> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&amp;” 同族专利的文件</p> </td> </tr> </table>			<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p>	<p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&amp;” 同族专利的文件</p>																
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p>	<p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&amp;” 同族专利的文件</p>																			
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p style="text-align:center;">2024年2月21日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p style="text-align:center;">2024年2月27日</p>																		
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p>		<p>授权官员</p> <p style="text-align:center;">黄鑫</p> <p>电话号码 (+86) 010-53962758</p>																		

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/136201

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	101965225	A	2011年2月2日	WO	2009112982	A1	2009年9月17日
				EP	2254699	A1	2010年12月1日
				US	2011005341	A1	2011年1月13日
				US	8475734	B2	2013年7月2日
				CN	101965225	B	2014年4月30日
-----							
CN	105050720	A	2015年11月11日	US	2019134637	A1	2019年5月9日
				US	11098346	B2	2021年8月24日
				EP	2948249	A1	2015年12月2日
				WO	2014116756	A1	2014年7月31日
				US	2015361487	A1	2015年12月17日
				US	11098346	B2	2021年8月24日
-----							
KR	20080051011	A	2008年6月10日	KR	100897524	B1	2009年5月15日
-----							
CN	109925884	A	2019年6月25日	EP	3808434	A1	2021年4月21日
				EP	3808434	A4	2021年9月22日
				US	2021205524	A1	2021年7月8日
				WO	2020220157	A1	2020年11月5日
				MA	52905	A	2021年5月19日
-----							
CN	113167785	A	2021年7月23日	EP	3847458	A1	2021年7月14日
				EP	3847458	A4	2022年6月15日
				JP	2022504018	A	2022年1月13日
				JP	7409693	B2	2024年1月9日
				US	2021316300	A1	2021年10月14日
				WO	2020050770	A1	2020年3月12日
-----							