(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105188933 B
(45)授权公告日 2017.09.19

(21)申请号 201480024954.4

(22)申请日 2014.05.02

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105188933 A

(43)申请公布日 2015.12.23

(30)优先权数据
PA201370251 2013.05.03 DK

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.11.02

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/DK2014/050117 2014.05.02

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2014/177157 EN 2014.11.06

(73)专利权人 莫迪利蒂康特公司
地址 丹麦哥本哈根

(72)发明人 雅各布·莫伦巴赫·拉森
斯滕·布罗赫·劳尔森

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
代理人 胡秋玲 郑霞

(51)Int.Cl.
B01L 3/00(2006.01)

(56)对比文件
WO 2012/126478 A1,2012.09.27,
WO 2012/126478 A1,2012.09.27,
Huibin WEI et al."Particle sorting using a porous membrane in a microfluidic device".《Lab on a Chip》.2010,第11卷(第2期),第238-245页.

审查员 刘陆

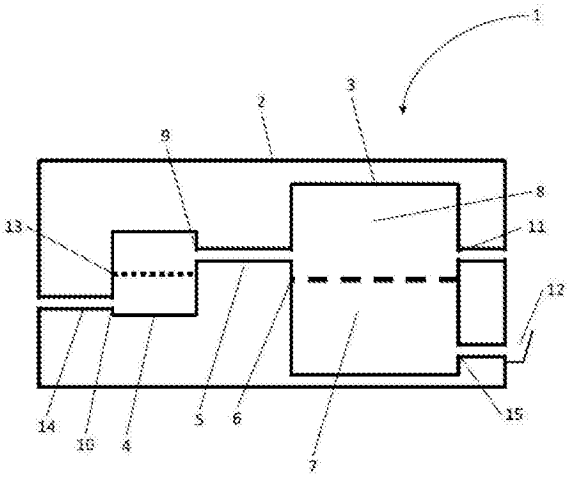
权利要求书3页 说明书20页 附图3页

(54)发明名称

用于分析细胞运动性的设备

(57)摘要

本发明涉及一种中型流体系统,其包括具有样品室和分析室的基体;所述样品室包括界定样品应用隔室和调节培养基隔室的细胞可透过的过滤器;所述样品室具有在所述样品应用隔室中的样品入口端口;所述分析室具有进入端口和离开端口;所述调节培养基隔室经由通道与所述分析室的进入端口流体连通;其中所述样品应用隔室在所述细胞可透过的过滤器的下方并且所述调节培养基隔室在所述细胞可透过的过滤器的上方。所述中型流体系统适用于分析样品中的细胞运动性。本发明还涉及评估样品中的运动细胞的数量的方法以及从非运动细胞中取出运动细胞的方法。



CN 105188933 B

1.一种用于将运动细胞与非运动细胞分离的中型流体系统，所述系统包括基体，所述基体具有样品室和分析室；所述样品室包括界定样品应用隔室和调节培养基隔室的细胞可透过的过滤器，所述细胞可透过的过滤器具有从1μm至20μm的范围内的孔尺寸；

所述样品室具有在所述样品应用隔室中的样品入口端口；

所述分析室具有进入端口和离开端口；

所述调节培养基隔室经由通道与所述分析室的所述进入端口流体连通，且所述调节培养基隔室还包括培养基入口端口，所述培养基入口端口相对于周围环境是开放的；

其中参照重力场，所述样品应用隔室在所述细胞可透过的过滤器的下方，并且所述调节培养基隔室在所述细胞可透过的过滤器的上方。

2.根据权利要求1所述的中型流体系统，其中所述分析室包括细胞滞留过滤器，所述细胞滞留过滤器具有面向所述进入端口的上游表面和面向所述离开端口的下游表面，所述细胞滞留过滤器具有滞留所述运动细胞的孔尺寸，所述孔尺寸小于所述细胞可透过的过滤器的孔尺寸且在从0.1μm至12μm的范围内。

3.根据权利要求2所述的中型流体系统，其中所述基体的至少一部分是透明的，允许可视化观察到所述细胞滞留过滤器的所述上游表面和/或所述下游表面。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的中型流体系统，其中所述分析室包括允许物理地进入所述分析室的可闭合构件。

5.根据权利要求1至3中任一项所述的中型流体系统，还包括提供液体驱动力以将液体从所述样品室移至所述分析室或从所述分析室移至所述样品室的装置。

6.根据权利要求5所述的中型流体系统，其中所述提供液体驱动力的装置包括注射器。

7.根据权利要求1-3和6中任一项所述的中型流体系统，还包括与所述样品应用隔室、所述调节培养基隔室或所述分析室流体连通的储器。

8.根据权利要求1-3和6中任一项所述的中型流体系统，还包括与所述样品入口端口流体连通的接收小室。

9.根据权利要求1-3和6中任一项所述的中型流体系统，其中所述通道具有在从10μm至4mm的范围内的最小尺寸。

10.根据权利要求1-3和6中任一项所述的中型流体系统，其中所述样品室和/或所述分析室具有在从100μm至20mm的范围内的深度。

11.根据权利要求2或3所述的中型流体系统，其中细胞滞留过滤器具有在从0.1μm至1.0μm的范围内的孔尺寸。

12.根据权利要求1-3和6中任一项所述的中型流体系统，还包括样品培养基、调节培养基和/或检测试剂，所述样品培养基包含营养素、盐、缓冲液和/或粘度改性剂，所述调节培养基包含营养素、盐、缓冲液和/或粘度改性剂。

13.一种将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，其包括以下步骤：

提供细胞可透过的过滤器，所述细胞可透过的过滤器具有允许所述运动细胞移动穿过所述细胞可透过的过滤器的孔尺寸；

将含有运动细胞的样品应用在所述细胞可透过的过滤器的下方；

允许所述样品中的运动细胞移动穿过所述细胞可透过的过滤器，以及

检测已经移动穿过所述细胞可透过的过滤器的运动细胞，或

取出已经移动穿过所述细胞可透过的过滤器的运动细胞。

14.根据权利要求13所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，其中在检测已经移动穿过所述细胞可透过的过滤器的运动细胞的步骤中，使用检测试剂检测所述运动细胞。

15.根据权利要求14所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，其中所述检测试剂是四唑染料。

16.根据权利要求14所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，其中在检测已经移动穿过所述细胞可透过的过滤器的运动细胞的步骤中，使用两种或更多种检测试剂。

17.根据权利要求13所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，还包括将包含营养素、盐、缓冲液和/或粘度改性剂的样品培养基应用在所述细胞可透过的过滤器的下方的步骤。

18.根据权利要求13所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，还包括将包含营养素、盐、缓冲液和/或粘度改性剂的调节培养基应用在所述细胞可透过的过滤器的上方的步骤。

19.根据权利要求13所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，其中所述细胞可透过的过滤器具有在从1μm至20μm的范围内的孔尺寸。

20.根据权利要求13所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，其中所述运动细胞是真核细胞。

21.根据权利要求20所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，其中所述真核细胞是哺乳动物精子细胞。

22.根据权利要求13所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，其中所述运动细胞是原核细胞。

23.根据权利要求13至22中任一项所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，其中所述细胞可透过的过滤器被包含在根据权利要求1至12中任一项所述的中型流体系统内。

24.根据权利要求23所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，还包括以下步骤：

将包含营养素、盐、缓冲液和/或粘度改性剂的调节培养基添加至所述样品室和所述分析室以及所述样品室与所述分析室之间的所述通道；

可选择地将检测试剂添加至所述样品室；

将所述样品添加至所述样品应用隔室；

允许所述样品的运动细胞移动至所述调节培养基隔室；

提供从所述样品室到所述分析室的液体驱动力；

定量所述分析室中的所述检测试剂，或从所述分析室中取出所述运动细胞。

25.根据权利要求15所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，其中所述四唑染料是MTT。

26.根据权利要求21所述的将样品中的运动细胞与非运动细胞分离的方法，其中所述哺乳动物精子细胞是人精子细胞。

27.一种具有多个部分的试剂盒，其包括根据权利要求1至12中任一项所述的中型流体系统、检测试剂、包含营养素、盐、缓冲液和/或粘度改性剂的样品培养基和包含营养素、盐、缓冲液和/或粘度改性剂的调节培养基。

28.根据权利要求27所述的试剂盒，其中所述检测试剂是四唑染料。

29.根据权利要求28所述的试剂盒，其中所述四唑染料是MTT。

30.一种用于确定细胞样品的细胞运动性的可量化测量结果的数值的计算机执行的方法，所述方法包括以下步骤：

接收图像数据，所述图像数据包括中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的至少一部分的图像；和

处理所述图像数据，以确定所述可量化测量结果的数值；

其中所述处理所述图像数据的步骤包括使用映射函数将所述图像数据映射为所述可量化测量结果的数值的步骤，所述映射函数被校准以将特定的根据权利要求1至12中任一项所述的中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的图像数据映射为所述可量化测量结果的数值。

31.根据权利要求30所述的计算机执行的方法，还包括预处理所述图像数据以确定所述图像数据是否可以用作所述映射函数的输入的步骤，其中如果确定所述图像数据不能用作输入，则产生出错信息。

32.根据权利要求30或31所述的计算机执行的方法，还包括在显示器上显示所确定的可量化测量结果的数值的步骤。

33.一种用于确定细胞样品的细胞运动性的可量化测量结果的数值的设备，所述设备包括用于捕捉中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的一部分的图像的照相机单元、用于处理所捕捉的图像的处理单元、用于显示细胞运动性的可量化测量结果的数值的显示器以及用户输入单元，其中，所述照相机单元、所述处理单元和所述显示器对所述用户输入单元的激活作出反应；

所述照相机单元被配置成捕捉中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的一部分的图像；并且

所述处理单元被配置成处理所捕捉的图像，以使用映射函数确定细胞运动性的可量化测量结果的数值，所述映射函数被配置成将捕捉的图像映射为可量化测量结果的数值，其中所述映射函数被校准以将特定的根据权利要求1至12中任一项所述的中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的图像数据映射为所述可量化测量结果的数值。

用于分析细胞运动性的设备

[0001] 本发明涉及一种中型流体系统，其用于分析样品中细胞的运动性，特别是精子样品中细胞的运动性。本发明还涉及评估样品中运动细胞的数量和质量的方法，以及从非运动细胞中取出运动细胞的方法，特别是使用所述中型流体系统从非运动细胞中取出运动细胞的方法。

现有技术

[0002] 意识到在过去几十年中男性生育能力下降已经很高，因此产生了分析精子样品的需求。特别是，已经知晓样品中运动精子细胞的浓度是关于评估样品可育性的最具有预测性的因素(Tomlinson等人，2013，Human Fertility，1-19)。目前，用于评定精子样品中细胞的数量和运动性的分析通常由专业人员在实验室环境中完成，并且在现有技术中用于评估男性生育能力的家庭诊断设备仅在有限范围内实现。这类家庭诊断设备应该优选易于使用，并且为了具有用后可丢弃的性质，其应该以低成本购买，而不需要辅助仪器例如显微镜、用于阻抗测量的电极或类似物。

[0003] WO2012/126478中记载了一种用于在家中的舒适环境中测试精子样品的设备。WO2012/126478记载了一种中型流体系统，其能够基于运动细胞的运动性分离运动细胞，并允许检测和定量所述细胞。所述系统包括通过通道与另一分析室流体连通的第一分析室，其中所述通道具有与所述第一分析室流体连通的进入端口以及与所述另一分析室流体连通的离开端口，其中所述进入端口的横截面积大于所述离开端口的横截面积。每个分析室还包括固-液分离单元，其界定了面向所述分析室的上游表面和面向流出通道的下游表面，以便经由所述固-液分离单元允许所述分析室和所述流出通道之间的流体连通。所连接的分析室允许运动细胞从所述第一分析室移至下一个分析室，从而提供样品中细胞运动性的评估。

[0004] WO2012/126478还记载了中型流体系统的一个实施方案，所述中型流体系统还包括界定与调节培养基侧相对的样品应用侧的细胞可透过的过滤器(cell permeable filter)，其中所述细胞可透过的过滤器具有允许运动细胞游动穿过所述过滤器的孔尺寸。所述细胞可透过的过滤器被描述为将应用到样品应用侧的样品的液体与存在于或加入到调节培养基侧的调节培养基的混合最小化。因此，提供细胞可透过的过滤器以确保细胞不通过对流(convection)被从样品应用侧运输到调节培养基侧，以使存在于调节培养基侧的细胞将成为已经通过游动穿过细胞可透过的过滤器而横穿其的运动细胞。

[0005] 现有技术的设备存在一些缺点，其在评估运动细胞的数量时提供有限的准确度。特别地，甚至当并入细胞可透过的过滤器时，目前可购得的设备尚不能充分降低，例如非运动细胞的污染。这进而意味着，非运动细胞可能被包括在细胞运动性的评估结果中。此外，运动精子细胞穿过流体通道的迁移可能将定量的点的浓度降低到难以检测的水平。这对于包括一些串联连接的分析室的系统来说似乎特别正确。

[0006] 因此，本发明的目标是克服这些缺点并提供一种具有提高的评估准确性并同时符合可操作的家庭诊断设备的要求的中型流体系统。

发明内容

[0007] 本发明的第一个方面涉及一种中型流体系统，其包括具有样品室和分析室的基体；所述样品室包括界定样品应用隔室和调节培养基隔室的细胞可透过的过滤器；

[0008] 所述样品室具有在所述样品应用隔室中的样品入口端口；

[0009] 所述分析室具有进入端口和离开端口；

[0010] 所述调节培养基隔室经由通道与所述分析室的进入端口流体连通；

[0011] 其中所述样品应用隔室在所述细胞可透过的过滤器的下方并且所述调节培养基隔室在所述细胞可透过的过滤器的上方。

[0012] 根据本发明的中型流体系统可用于评估样品中特别是液体样品中的运动细胞的数量。通常，将样品添加至样品应用隔室，存在于样品中的运动细胞会从所述样品应用隔室游动穿过细胞可透过的过滤器进入存在于调节培养基隔室中的调节培养基中。调节培养基隔室中的液体可以被移至分析室，在所述分析室中可以对细胞进行分析例如定量。由于运动细胞与不能穿过细胞可透过的过滤器的非运动细胞分离，因此在分析室中被量化的细胞是运动细胞。

[0013] 对于本发明，手册“WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen”(第五版，World Health Organization，2010，ISBN978 92 4 154778 9)提供了关于精子细胞的背景信息，并且所述手册以引用的方式全文纳入本文。

[0014] 基体可以由任何合适的材料制成。样品室可具有任何合适的形状或尺寸，条件是样品室能够被细胞可透过的过滤器分为两个单独的隔室。细胞可透过的过滤器界定调节培养基隔室和样品应用隔室，并且因此细胞可透过的过滤器被认为具有分别面向调节培养基隔室和样品应用隔室的调节培养基侧和样品应用侧。在所述系统的一个设想的用途中，调节培养基被添加至调节培养基隔室。待分析的样品被添加至样品应用隔室。添加调节培养基和样品的顺序不重要，虽然在一个具体的实施方案中，在将调节培养基添加至调节培养基隔室之前将样品添加至样品应用隔室。因此，样品应用隔室和调节培养基隔室可以分别具有任何合适的尺寸。细胞可透过的过滤器通过跨越样品室界定样品应用隔室和调节培养基隔室，使得仅该两个隔室之间的流体连通(fluidic connection)通过细胞可透过的过滤器。细胞可透过的过滤器可以具有任何合适的设计、材料和形状，其允许待分析的运动细胞游动穿过所述过滤器，从而允许细胞从样品应用隔室行进到调节培养基隔室中。具体地，根据待分离的细胞的尺寸和其它特征，例如，根据细胞的尺寸相对于细胞可透过的过滤器的孔的尺寸来选择细胞可透过的过滤器。细胞可透过的过滤器，例如细胞可透过的过滤器的孔，可包括将运动细胞吸引至其的材料。样品应用隔室在细胞可透过的过滤器的下方，并且调节培养基隔室因此在细胞可透过的过滤器的上方。术语“下方”是参照重力场看的，使得将在从“上方”到“下方”的方向上施加重力。细胞可透过的过滤器可以以提供样品应用隔室在调节培养基隔室的下方的任何合适的方式跨越样品室。

[0015] 本发明人惊奇地发现，当样品应用隔室在细胞可透过的过滤器的下方并且调节培养基隔室在细胞可透过的过滤器的上方时，应用细胞可透过的过滤器的用于将运动细胞与非运动细胞分离的效果显著提高。在另一个方面，本发明涉及评估样品中运动细胞的数量的方法，所述方法包括以下步骤：提供细胞可透过的过滤器；

[0016] 将含有运动细胞的样品应用在细胞可透过的过滤器的下方；

[0017] 允许样品中的运动细胞游动穿过细胞可透过的过滤器；

[0018] 检测已经游动穿过所述过滤器的运动细胞。在一个另外的方面，本发明涉及从非运动细胞中取出运动细胞的方法，所述方法包括以下步骤：提供细胞可透过的过滤器；

[0019] 将含有运动细胞和非运动细胞的样品应用在细胞可透过的过滤器的下方；

[0020] 允许样品中的运动细胞游动穿过细胞可透过的过滤器；

[0021] 取出已经游动穿过所述过滤器的运动细胞。一般来说，为本发明的任何方面所描述的所有变化和实施方案都与本发明的任何其它方面相关，并且实施方案的特征可以自由组合。

[0022] 本发明的系统或方法可以采用存在于或添加到细胞可透过的过滤器下方的细胞调节培养基。在本发明的上下文中，“细胞调节培养基”是任何意欲支持样品中的细胞例如保持细胞有活力的液体，并且它可以视情况对于特定细胞而言含有例如营养素、盐、缓冲液和/或粘度改性剂。同样地，本发明的系统或方法可以采用存在于或添加到细胞可透过的过滤器的上方的样品培养基。“样品培养基”还可以视情况对于特定细胞而言含有营养素、盐、缓冲液和/或粘度改性剂，并且它可以与细胞调节培养基相同，或者样品培养基和细胞调节培养基可以具有不同组分。在某些实施方案中，细胞调节培养基和/或样品培养基可以包含检测试剂。在某一实施方案中，所述中型流体系统或所述方法不采用样品培养基。

[0023] 用于定量运动细胞的任何合适的方法可以应用在根据本发明的系统中，并且分析室可以具有任何合适的适应所选择的方法的形状或尺寸。分析室包括进入端口和离开端口。在本发明的上下文中，“端口”是任何合适的允许经由该端口的流体连通的开口。端口可以是默认开放的，或者它可以是闭合的，需要经由致动器(例如阀)打开。进入端口为液体提供入口，例如，含有运动细胞的调节培养基至分析室的入口。离开端口允许调节培养基离开分析室，并且进一步地还可以经由分析室的离开端口将调节培养基应用到调节培养基隔室。同样地，分析室的端口允许流体流动穿过本中型系统。进入端口和离开端口可以具有任何合适的提供该功能的设计，并且端口可以与流体通道流体连通。在一个具体的实施方案中，样品入口端口例如经由通道与用于接收样品例如精子样品的接收小室(receiving well)流体连通。

[0024] 因此，所述系统和方法改善了样品中运动细胞与非运动细胞的分离，然后可以在分析室中定量所述运动细胞。当通过细胞可透过的过滤器将样品应用隔室与调节培养基隔室分开时，样品液体与调节培养基的混合被最小化。本发明人认为，虽然细胞可透过的过滤器的应用不能完全防止例如非运动细胞从样品应用侧对流传递到调节培养基侧，但是他们已经在根据本发明的系统中(即当样品应用隔室在调节培养基隔室下方时)观察到跨越细胞可透过的过滤器的对流的显著减少。在本发明的上下文中，术语“对流”通常描述物质的任何被动传递，例如顺着液体流动携带液体成分的情况。本发明人认为，减少的对流以及扩散，可以至少部分地归因于作用在样品上的重力。即，在所有粒子例如样品中的细胞上施加向下的力，从而限制在向上方向的被动运动。没有办法对抗重力的非运动细胞较低程度地通过对流和扩散作用向上转移穿过细胞可透过的过滤器。另一方面，有办法在样品液体中以任何给定的方向主动自我转移的运动细胞可以容易地克服其上施加的重力，并且通过其自身游动转移穿过细胞可透过的过滤器。具体地，一旦运动细胞遇到细胞可透过的过滤器，

它们倾向于沿着所遇到的表面游动，从而游动穿过细胞可透过的过滤器。因此，样品在细胞可透过的过滤器下方的位置在更大程度上确保细胞不会经由对流从样品应用侧被动转移到调节培养基侧。因此，在根据本发明的系统中分析精子样品的过程中，存在于调节培养基侧的细胞会是已经通过游动穿过细胞可透过的过滤器而横穿其的运动细胞。本系统的一个另外的优势是与其中通过细胞在通道中的行进距离来测量运动性的系统相比，运动细胞将必须行进的距离是短的。因此，较短的距离导致较短的实施分析所需的时间。

[0025] 本发明人进一步观察到，本发明的中型流体系统和方法还降低了调节培养基隔室中调节培养基的污染。样品例如精子样品通常包括也可以穿过细胞可透过的过滤器并进入调节培养基的另外的粒子、细胞和分子。但是，在细胞可透过的过滤器下方应用样品还减少了样品的此类另外的成分的对流和扩散，所述对流和扩散另外可能降低后期调节培养基内含物的分析的质量。特别地，精子样品例如样品液体可能包含能对分析具有不利作用的酶，因此从包含所述酶的样品液体中分离运动细胞是特别有利的。

[0026] 因此，本发明人已经发现，例如通过提供具有在细胞可透过的过滤器下方的样品应用隔室和在细胞可透过的过滤器上方的调节培养基隔室的设备，将具有运动细胞的样品应用在细胞可透过的过滤器下方，使得由非运动细胞以及样品另外的污染性成分引起的调节培养基的污染降低。应确保只有运动细胞会进入分析室，这由此防止存在于样品中的非运动细胞、碎片和其它成分以假阳性和/或假阴性贡献的形式对测试结果具有不利影响。

[0027] 在本发明的一个实施方案中，调节培养基隔室还包括可以与外界环境流体连通的培养基入口端口。培养基入口端口可以促进液体的进入，所述液体例如含有分析细胞所必需的成分的样品调节培养基，并且此外，因为培养基入口端口可以与外界环境流体连通，因此它可以提供压力释放功能。培养基入口端口从而确保当经由分析室的离开端口施加负相对压力时或者当经由培养基入口端口施加正相对压力时，样品应用隔室中的样品不会主动地转移穿过细胞可透过的过滤器并进入调节培养基隔室和/或分析室中，这是因为细胞可透过的过滤器处的压降比培养基入口端口处的压降显著更大。当经由分析室的进入端口或经由培养基入口端口向调节培养基隔室装载液体时或从调节培养基隔室移除液体时，会通过相对的端口释放施加的压力。因此，当通过例如分析室的进入端口将调节培养基装载到调节培养基隔室中时，由任何过量的调节培养基施加的压力会经由培养基入口端口释放。当通过分析室的进入端口从调节培养基隔室中移除调节培养基时，通过培养基入口端口释放压力，这从而防止将例如来自样品应用隔室的细胞抽吸穿过细胞可透过的过滤器。

[0028] 在本发明的一个优选的实施方案中，分析室包括细胞滞留过滤器，所述细胞滞留过滤器具有面向进入端口的上游表面和面向离开端口的下游表面。细胞滞留过滤器可以具有任何合适的设计、材料和形状，其允许当液体穿过过滤器时从含有悬浮细胞的液体中分离，(例如，滞留)细胞。细胞滞留过滤器跨越分析室使得分析室的进入端口和离开端口之间的流体连通只能通过细胞滞留过滤器。当从样品室中(例如经由与分析室的端口流体连通的流出通道)移除调节培养基隔室中的液体时，细胞被滞留在细胞滞留过滤器的上游侧，使得细胞被浓缩在分析室的液体中或细胞滞留过滤器的上游表面上。该浓缩效应会允许能够在例如细胞滞留过滤器的上游表面上可视地观察到样品中已经主动自我转移到调节培养基隔室中的液体(例如调节培养基)中的运动细胞。该结果还可见于细胞滞留过滤器的下游表面上。或者，细胞可以悬浮在分析室中的减少体积的残留液体中，以在分析室中提供与移

除液体之前液体中呈现的浓度相比更高浓度的细胞。

[0029] 在一个优选的实施方案中，细胞滞留过滤器相对于提供调节培养基隔室与分析室之间的流体连通的通道的位置允许在可视地观察细胞滞留过滤器的上游表面和/或下游表面。例如，用于使调节培养基隔室与分析室的进入端口流体流通的通道以转角或类似部为特征，使得细胞滞留过滤器的上游表面的观察需要沿着通道仅穿过在转角和细胞滞留过滤器之间的通道部分进行观察。因此，能够直接观察细胞滞留过滤器，并且这还促进易于与光学检测整合。

[0030] 在本发明的一个实施方案中，分析室是物理地可进入的。这允许从分析室中取出一个或更多个细胞，和/或它允许操作已经存在于所述室中的细胞。所述系统还可用于基于细胞的运动性分离细胞，意欲从含有所述细胞的样品中提供所述细胞的亚群。这对于用于辅助生殖技术(ART)的将具有高运动性的精子细胞与具有较低运动性的精子细胞分离方面特别有用。因此，可以在根据本发明的系统中进行分离，并且可以从分析室中取出运动细胞。

[0031] 在本发明的一个实施方案中，中型流体系统还包括提供液体驱动力以将液体从样品室移至分析室和/或从分析室移至样品室的装置。当将液体从样品室移动至分析室时，所述液体可以是包含运动细胞的调节培养基。在另一方面，当将液体从分析室移动至样品室时，所述液体可以是调节培养基。可以利用任何适用于在系统中提供液体驱动力的装置。

[0032] 在一个优选的实施方案中，提供液体驱动力的装置包括注射器。可以通过例如下压按钮或通过激活另一个致动器而容易地操作注射器，因此注射器的操作需要终端用户的最小努力。此外，注射器的机制是一个有助于所述系统整体稳定性的简单机械原理。注射器圆筒中的活塞的移动也可在通过中型流体系统的任一方向(即从调节培养基隔室至分析室，或反之亦然)上施加液体驱动力。因此，单个注射器可足以用于向系统装载调节培养基和移除通过系统的样品。

[0033] 在本发明的一个实施方案中，中型流体系统还包括样品培养基、调节培养基和/或检测试剂。在其他实施方案中，可以在中型流体系统的使用过程中添加样品培养基、调节培养基和/或检测试剂。在任何情况下，所述系统都符合易于使用的家庭诊断设备的要求，这是因为由于终端用户需要更少的步骤，它进一步降低了人为错误的风险。在一个具体的实施方案中，在一个或更多个单独的容器(capsule)、注射器或类似物中供应样品培养基、样品调节培养基和/或检测试剂，或者可以在系统中直接干燥或涂覆合适的成分，例如检测试剂或样品培养基或细胞调节培养基的成分。可以将单独的容器或注射器整合到中型流体系统中，或者其可以在中型流体系统的外部。在单独的容器或注射器中含有培养基和/或培养基的成分例如检测试剂，可以改善中型流体系统的货架期，因为可以在最优条件下保存单个培养基。

[0034] 本发明的另一个方面涉及用于评估样品中运动细胞的数量的方法，并且一个另外的方面涉及如上文概述的从非运动细胞中取出运动细胞的方法。在两种方法中，将含有运动细胞的样品应用在细胞可透过的过滤器的下方；含有运动细胞的样品还可以含有非运动细胞，能够将运动细胞与所述非运动细胞分离。在两种方法中，在所述过滤器上方的细胞调节培养基可存在于或被添加到细胞可透过的过滤器的上方，即在调节培养基侧，并且样品培养基可存在于或被添加到细胞可透过的过滤器的下方。细胞调节培养基和样品应用培养

基如上文所定义。与本发明的中型流体系统相关的任何检测原理也与本发明的方法的方面的任何实施方案相关，并且对于该方法的多个方面的任何实施方案，细胞可透过的过滤器可以是对于中型流体系统的任何实施方案而言的。在具体的实施方案中，根据本发明的中型流体系统中含有细胞可透过的过滤器。中型流体系统的任何实施方案与本发明的两个方法的方面相关。当采用中型流体系统时，所述方法可进一步包括以下步骤：将调节培养基添加至样品室和分析室以及它们之间的通道；可选择地将检测试剂添加至样品室；将样品添加至样品应用隔室；允许样品的运动细胞行进至调节培养基隔室；提供从样品室到分析室的液体驱动力；定量分析室中例如在细胞滞留过滤器(如果存在的话)上的检测试剂，或从分析室中取出运动细胞。因此，可以将中型流体系统预先充满培养基例如，样品培养基和/或细胞调节培养基，或者可以在使用过程中将这些培养基应用至中型流体系统。

[0035] 本发明人设想一种使用根据本发明的系统的方法，其中最初至少在样品室的调节培养基隔室中提供调节培养基。在某些实施方案中，当被提供给终端用户时，调节培养基可存在于储器(reservoir)中或样品室的调节培养基隔室中。具有培养基(例如样品培养基和/或细胞调节培养基)或者检测试剂的储器会与合适的室或隔室流体连通。在其它实施方案中，例如通过使用液体驱动力例如注射器通过分析室或经由调节培养基隔室的培养基入口端口将调节培养基添加至调节培养基隔室。取决于定量方法，可以将检测试剂添加至样品室。检测试剂可以是合适的染料，使得可以用检测试剂给运动细胞染色，这允许从染料的强度对分析室中的细胞群体进行检测和定量。检测试剂还可以是荧光染料，使得可以视情况从荧光信号的检测结果对细胞进行定量。检测试剂可以存在于储器中，或者它可以已经存在于样品室中，例如它可以在系统中直接干燥或涂覆。然后将样品添加至样品应用隔室，并允许一段时间用于样品的运动细胞行进至调节培养基隔室。然后借助于液体驱动力例如注射器将调节培养基拉出通过分析室。调节培养基中的运动细胞被滞留在分析室中，并定量被滞留的细胞。如果运动细胞被细胞滞留过滤器滞留，那么通常使用检测试剂，使得能够通过可视化的装置定量分析室中的细胞。

[0036] 因此，上述方法，例如使用本发明的中型流体系统的方法，促进精确评估样品中的运动细胞。因此，在没有在先经验并且没有任何先进技术知识的情况下，终端用户在家庭环境中通过在样品上实施所述方法而获得关于细胞运动性的信息是可能的。

[0037] 中型流体系统和方法的方面可以视情况而用于分析样品中运动细胞的数量和运动性，或用于基于运动细胞的运动性分离所述运动细胞，例如用于ART目的。运动细胞可以是原核细胞例如细菌细胞，或者真核细胞例如酵母细胞、阿米巴变形虫、微寄生物(microparasite)和大寄生虫(macroparasite)以及类似物，或者运动哺乳动物细胞类型。一个优选的细胞类型是精子细胞，特别是人精子细胞或其它哺乳动物精子细胞，例如家养动物的精子细胞，所述家养动物例如牛、马、绵羊、狗、猫等。

[0038] 在一个另外的方面，本发明涉及一种具有多个部分的试剂盒，其包括根据本发明的任一方面的中型流体系统、检测试剂、样品培养基和细胞调节培养基。检测试剂、样品培养基或细胞调节培养基可以存在于中型流体系统中，例如在储器中或在室中，或者它们可以被包含在与所述中型流体系统分开的容器中。所述试剂盒还可以包括用于使用所述试剂盒的说明书。所述试剂盒中一种优选的检测试剂是四唑染料，例如MTT。

[0039] 在一个另外的方面，本发明涉及一种用于分析样品中运动细胞的系统，所述系统

包括根据本发明的第一方面的中型流体系统和外部检测器设备，所述外部检测器设备包括：光学检测器；含有计算机程序代码的计算机可读存储介质，所述计算机程序代码被配置成定量中型流体系统的分析室中或细胞滞留过滤器(如果存在的话)上的检测试剂；用于执行计算机程序代码的数据处理器。

[0040] 在另一个方面，本发明涉及移动用户终端，例如含有计算机程序代码的智能手机，所述计算机程序代码被配置成定量根据本发明的第一方面的中型流体系统的分析室中的或细胞滞留过滤器(如果存在的话)上的检测试剂。

[0041] 在另一个方面，本发明涉及一种用于确定细胞样品的细胞运动性的可量化测量结果的数值的计算机执行的方法，所述方法包括以下步骤：

[0042] 接收图像数据，所述图像数据包括中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的至少一部分的图像；和

[0043] 处理所述图像数据，以确定可量化测量结果的数值，

[0044] 其中处理所述图像数据的步骤包括使用映射函数将图像数据映射为可量化测量结果的数值的步骤，所述映射函数被校准以将特定的关于本发明的第一方面公开的中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的图像数据映射为可量化测量结果的数值。

[0045] 因此，可量化测量结果可以是自动确定的并且不依赖于操作者的。

[0046] 所述方法的所有步骤可以在单个数据处理系统上进行，所述数据处理系统例如用户终端，例如智能手机。所述单个数据处理系统还可以是固定系统，例如临床设备。或者，所述步骤中的一些可以在远程计算机服务器上进行，例如处理图像数据的步骤可以在远程计算机服务器上进行。

[0047] 可量化测量结果可以为绝对测量结果例如样品中运动细胞的数目、相对测量结果例如样品中运动细胞的百分数。可量化测量结果还可以描述例如“好”、“正常”、“平均”、“低”等的状态。WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen的附录1提供了精子分析的参考数值，并且WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen的附录1以引用的方式纳入本文。

[0048] 可以通过使用特定的中型流体系统和常规技术例如基于人工显微镜的技术分析大量样品的运动性，完成映射函数的校准。用于显微镜分析精子细胞的程序记载于WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen的第2章例如2.7和2.8中，其以引用的方式纳入本文。

[0049] 在一些实施方案中，所述方法进一步包括预处理所述图像数据以确定图像数据是否可以用作映射函数的输入的步骤，其中如果确定图像数据不能用作输入，则产生出错信息。

[0050] 在一些实施方案中，所述方法进一步包括在显示器上显示所确定的可量化测量结果的数值的步骤。

[0051] 在一个另外的方面，本发明涉及包括程序代码设置的计算机程序产品，所述程序代码设置适用于当所述程序代码设置在数据处理系统上执行时引起所述数据处理系统进行之前公开的计算机执行的方法的步骤。

[0052] 在一些实施方案中，计算机程序产品包括其上已经存储了程序代码设置的计算机可读介质。

[0053] 数据存储介质可以是可移动介质，例如DVD、U盘或类似物。或者，数据存储介质可以是与计算机网络连接的计算机服务器上的硬盘，例如所述数据可以通过互联网服务例如Dropbox™或使用云存储来存储。

[0054] 又在另一个方面，本发明涉及用于确定细胞样品的细胞运动性的可量化测量结果的数值的设备，所述设备包括用于捕捉中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的一部分的图像的照相机单元、用于处理捕捉的图像的处理单元、用于显示细胞运动性的可量化测量结果的数值的显示器以及用户输入单元，其中，对用户输入单元的激活作出反应；

[0055] 照相机单元被配置成捕捉中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的一部分的图像；并且

[0056] 处理单元被配置成处理捕捉的图像，以使用映射函数确定细胞运动性的可量化测量结果的数值，所述映射函数被配置成将捕捉的图像映射为可量化测量结果的数值，其中映射函数被校准以将特定的关于本发明的第一方面公开的中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的图像数据映射为可量化测量结果的数值。

[0057] 照相机单元可以是任何能够收集适当图像数据的单元，例如数码照相机、激光扫描器、CCD读码器、光电二极管扫描仪或类似物。

[0058] 显示器和用户输入单元可组合在单个单元中，例如在触摸屏中。

[0059] 在一个具体的实施方案中，所述设备包括用于容纳本发明的中型流体设备的容纳室。容纳室可以被构造成控制中型流体设备周围的发光条件，例如容纳室可以排除外部光。容纳室还可以装有能够提供具有受控组成(例如关于波长和强度)的光的灯，例如发光二极管。容纳室还可以被构造成界定中型流体设备和照相机单元之间的特定距离，或者可以例如使用台(stage)或类似物控制所述距离。

[0060] 在一个另外的方面，本发明涉及包括计算机可读代码的数据存储介质，其中所述计算机可读代码被配置为对包括处理单元、显示器和用户输入单元的用户终端进行编程以成为上面所述的设备。

[0061] 用户终端可以为智能手机或平板电脑。用户终端还可以是便携式计算机例如膝上型计算机，或者固定型计算机。因此，计算机可读代码可以为被配置成对智能手机或平板电脑编程的应用程序，例如Apple ®IOS app、Windows ®Mobile App和/或Google ® Android App。或者，计算机可读代码可以是被配置成对用户终端编程的网页，例如web app。

[0062] 附图简述

[0063] 下文将在实施方案的实施例的帮助下并参照示意图更加详细地解释本发明，在所述示意图中，

[0064] 图1示出了本发明的中型流体系统的示意性的横截面。

[0065] 图2示出了根据本发明的实施方案用于确定细胞样品的细胞运动性的可量化测量结果的数值的设备的示意图。

[0066] 图3示出了对于精液样品的滴定的数据。

[0067] 图4示出了本发明的中型流体设备的细胞滞留过滤器在使用后的照片。

[0068] 应理解，还设想了多个实施方案中的特征的组合，并且可以将多个特征、细节和实施方案组合成其它实施方案。特别地，设想了所有关于中型流体系统、评估样品中运动细胞

的数量的方法和或从非运动细胞中取出运动细胞的方法的定义、特征、细节和实施方案都可以平等地彼此互相应用。

[0069] 参照附图是为了解释本发明，并且不应该被理解为这些特征被限于所描绘的具体实施方案。

[0070] 发明详述

[0071] 本发明涉及一种中型流体系统，其能够基于运动细胞的运动性分离运动细胞，例如将运动细胞与非运动细胞以及与样品液体分离，并且涉及一种评估样品中运动细胞的数量的方法，并且涉及从非运动细胞中取出运动细胞的方法。该系统可用于分析已知或预期含有运动细胞的样品中的细胞的含量或数量以及运动性。所述系统还可用于基于细胞的运动性分离细胞，意欲从含有所述细胞的样品中提供细胞的亚群。这对于用于辅助生殖技术(ART)的将具有高运动性的精子细胞与具有较低运动性的精子细胞分离方面特别有用。

[0072] 在本发明的上下文中，术语“运动”和“运动性”是指能够不依赖于任何液体流动而在液体中移动的细胞。具体地，运动细胞能够在非流动液体中移动。运动细胞还可被说成是“行进”或“游动”等等。运动性可以被认为是随机的，或者细胞可以通过游动(例如通过朝向或远离一定条件游动)而对刺激产生反应。常见的刺激可以使运动细胞响应于化学梯度(“趋化性”)、温度梯度(“趋温性”)、光梯度(“趋光性”)、磁场线(“趋磁性”)或电场(“趋电性”)而移动。相关的刺激是本领域技术人员已知的。在某些实施方案中，可以通过提供与感兴趣的运动细胞相关的刺激而引起细胞运动，以使细胞从其添加位点朝向系统中随后的分析室游动。例如，可将趋化因子或其它化学品置于调节培养基隔室(例如调节培养基)或者分析室中以吸引添加到样品应用隔室中或添加到接收小室的运动细胞。

[0073] 在本发明的上下文中，术语“中型”意欲覆盖一系列尺寸，其中通道的最小直径在约10μm至约4mm的范围内，例如约100μm至约3mm，通常为约2mm，然而所述通道也可有收缩。同样地，室的深度可以为约100μm至约20mm或者更多，例如约500μm至约2mm，例如约500μm或约1mm，且最大水平尺寸可为约1mm至约50mm，例如约1mm至约30mm或约1mm至约20mm，或约1mm至约10mm，例如约2mm至约6mm。接收小室(如果存在的话)的尺寸应足以容纳样品液体，以用流体充满样品室的样品应用隔室，用于进行分析，然而还考虑可以将样品在接收小室中稀释以充满样品应用隔室。通常可以说中型流体系统中的流体在层流状态下流动，并且只要系统中含有的流体在层流状态下流动，具有不同于上文定义的那些的通道或室的流体系统就可以被很好地描述为“中型”。

[0074] 现在参照附图，图1中描绘了根据本发明的中型流体系统，所述中型流体系统1包括具有样品室3和分析室4的基体2；所述样品室包括界定样品应用隔室7和调节培养基隔室8的细胞可透过的过滤器6；样品室3具有在样品应用隔室7中的样品入口端口15；分析室4具有进入端口9和离开端口10；调节培养基隔室8通过通道5与分析室4的进入端口9流体连通；其中样品应用隔室7在细胞可透过的过滤器6的下方，并且调节培养基隔室8在细胞可透过的过滤器6的上方。中型流体系统1还可包括与样品应用隔室7流体连通的接收小室12。分析室可包括细胞滞留过滤器13。

[0075] 根据本发明的“过滤器”从广义上理解为能够分离固体(例如细胞)和液体的单元。因此，所述过滤器可以为例如滤纸、滤膜等、滤网、粒子填充床(packed bed of particles)。本系统包括细胞可透过的过滤器，其允许细胞穿过过滤器。可选择地，本系统

还包括细胞滞留过滤器，其允许液体穿过并滞留细胞。因此，所述两种类型的过滤器的特征为不同的孔尺寸，这取决于待分析的细胞。细胞可透过的过滤器6例如可具有1μm至20μm的孔尺寸，例如1μm至3μm，例如1、3、5、8、10、12、15μm等，其允许运动细胞游动穿过所述细胞可透过的过滤器，同时提供跨越过滤器的压降。优选的孔尺寸是约10μm。在一个实施方案中，细胞可透过的过滤器6是核孔过滤器。用于细胞滞留过滤器13的恰当材料可具有例如约0.1μm至约20μm的尺寸截断(size cut-off)，例如0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9或1.0μm，然而更大的截断尺寸也可以是适当的，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或12μm。优选的截断尺寸为0.2μm、0.45μm、1μm和3μm。具体地，细胞可透过的过滤器6和细胞滞留过滤器13的截断尺寸被选择为使得感兴趣的运动细胞能够游动穿过细胞可透过的过滤器6同时被细胞滞留过滤器13滞留。在一个实施方案中，细胞滞留过滤器是混合性纤维素酯过滤器。

[0076] 本发明的中型流体系统与调节培养基一起使用。术语“调节培养基”不意欲进行限制，但是“调节”是指所述培养基可含有用于分析运动细胞以及也用于保持细胞有活力所需的成分。因此，调节培养基可含有适用于感兴趣的细胞类型的pH缓冲液、盐、营养物。调节培养基还可含有检测试剂，或者检测试剂可被单独地添加到系统的调节培养基中或以干燥形式存在于通道或室中。

[0077] 为了检测和定量，调节培养基通常会包括检测试剂。所述检测试剂可为或包含染料或对于用染料标记的细胞的结合配偶体，例如抗细胞上的表面标志物的抗体，所述抗体用染料或放射性同位素或类似物标记。合适的染料可为荧光染料或其它染料；染料能够与感兴趣的细胞类型特异性或非特异性结合。示例性的用于定量精子细胞用作检测标签的染料包括考马斯蓝、台盼蓝、结晶紫、尼罗蓝、尼罗红、苏木精、酸性品红、曙红(Eosin)、番红(Safranin)、尼格罗黑、吖啶橙、吉姆萨、藻红(Erythrosin)、帕帕尼古劳染剂(Papanicolaou)、亚甲蓝、中性红、酚红、烟酸己可碱染料(Hoechst stain)、刃天青(Resazurin)、俾斯麦棕(Bismarck Brown)、四唑染料、橘黄G、过碘酸希夫(Periodic acid-Schiff)、RoWright’s染剂、詹纳血液染剂(Jenner’s stain)、利什曼染剂(Leishman stain)、吉姆萨染剂(Giemsa stain)、Romanowsky染剂、苏丹染剂、碘化丙锭(propidium iodide)和溴乙菲啶(ethidium bromide)。优选的染料是任意四唑染料，例如水溶性或非水溶性四唑盐或化合物，例如3-(4,5-二甲基噻唑-2基)-2,5-二苯基四唑(MMT)、2-(4-碘苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-苯基-2H-四唑(INT)，例如作为它们的溴化物或氯化物盐，2,3-双-(2-甲氧基-4-硝基-5-磺苯基)-2H-四唑-5-甲酰胺(XTT)、3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑(MTS)、2,3,5-三苯基-2H-四唑(TTC)，例如作为氯化物盐，或二甲基四唑。四唑染料和它们的相应试验是本领域内熟知的。当将所述中型流体系统用于分离样品中的运动细胞例如用于ART时，优选不存在染料或标签。在具体的实施方案中，采用两种或更多种不同的检测试剂，其中额外的检测试剂可检测或定量运动细胞的其它特征，例如，根据需要，所述两种或更多种检测试剂，例如不同检测试剂，可定量所述检测试剂的两个或更多个特征，特别是两个或更多个不同特征。例如，恰当地标记的抗体可用作额外的检测试剂，以检测或定量运动细胞上的特异性表面抗原。额外的检测试剂还可用作阴性对照，以确保特定的成分不存在于分析室中或细胞可透过的过滤器的调节培养基侧。一般来说，本发明的任何实施方案都可以采用两种或更多种检测试剂。

[0078] 当数种细胞类型存在于样品中时，检测试剂能够有利地特异性地并且还可能选择

性地与感兴趣的细胞结合。优选地，检测试剂在与特定细胞类型例如活的运动精子细胞结合后，会改变颜色。因此，优选的检测试剂当不与细胞结合时不会具有可见的颜色，但是与细胞结合后其会变为具有可检测的例如可见的颜色。优选地，检测试剂不会给细胞带来不利影响。在一个优选的实施方案中，含有检测试剂的调节培养基包含在储器例如接收小室中，而分析室和通路内的液体不含有检测试剂。这会允许不需要洗涤分析室中的或细胞滞留过滤器的表面上的运动细胞就可以用于检测，因为分析室中仅有的检测试剂已由运动细胞带到那里。或者，在添加样品后，将检测试剂添加到含有不含检测试剂的调节培养基的接收小室中。这会达到相同的效果。在另一个实施方案中，具体地，当未用调节培养基充满中型流体系统时，检测试剂可以以干燥的形式存在于通道或室中或细胞可透过的过滤器中，或者检测试剂可存在于细胞滞留过滤器中，或者中型流体系统可含有吸附在垫(pad)或类似物中的检测试剂。例如，检测试剂可被涂覆到室或通道的壁上。具有干燥形式的检测试剂会允许终端用户易于操作所述系统，因为检测试剂会以正确的剂量存在，并且在应用样品调节培养基之后会被容易地重新溶解。未结合的检测试剂通常会被洗涤通过细胞滞留过滤器，同时结合细胞的染料会被滞留。在其它实施方案中，具有特定功能的试剂可以以例如干燥的形式存在于分析室或通路中。

[0079] 在一个实施方案中，检测试剂是染料，所述染料被溶解在调节培养基中，或在滞留过滤器中被干燥并且当将调节培养基加入到系统中时被溶解。在另一个实施方案中，检测试剂是染料，所述染料以干燥的形式被置于接近培养基入口端口11或通道5的隔室中，并且当充满调节培养基隔室时被溶解。

[0080] 在使用中，将含有运动细胞的样品引入样品室3的样品应用隔室7中，任选地通过接收小室12。然后允许细胞行进至样品室3的调节培养基隔室8。添加样品后的允许时间将取决于运动细胞的类型，但是通常为约10分钟至约1小时，然而也可以使用更短或更长的时间。当所述系统与精子细胞一起使用时，允许时间可构成约10分钟、约20分钟、约30分钟或约40分钟。当时间已经耗尽时，可以从样品室3的调节培养基隔室8和分析室4中移除调节培养基。然后可以检测和/或定量分析室4中的细胞，或者使用例如移液器从分析室4中移除细胞。细胞滞留过滤器13上或分析室4中的运动细胞的检测可以通过比较观察到的色彩强度(例如，细胞滞留过滤器的上游表面上的色彩强度)并将其与细胞数目和染料强度之间的相关性指示(例如，在基体2上提供的相关性指示，或者来自可选的对照室的相关性指示)进行比较，而容易地实施。

[0081] 细胞可透过的过滤器6还可含有将细胞吸引到细胞可透过的过滤器6并使细胞游动穿过所述细胞可透过的过滤器6的化合物，例如透明质酸。调节培养基侧与分析室4连接。细胞可透过的过滤器6还可最小化或者甚至防止应用到样品应用侧的样品的液体与存在于或加入到调节培养基侧的调节培养基的混合。因此，细胞可透过的过滤器6会确保不会通过对流或扩散将细胞从样品应用侧运到调节培养基侧，以使存在于调节培养基侧的细胞是已经通过游动穿过细胞可透过的过滤器6而横穿它的运动细胞。

[0082] 本发明的中型流体系统1包括可由任何便利材料，例如聚合物、玻璃、金属、陶瓷材料或这些材料的组合制成的基体2。基体2是通过具有顶部和底部以及适用于包括中型流体结构例如室和通道的高度的实心结构界定的。合适的话，所述中型流体结构的室可以是例如，对于外界环境开放的或密闭的。例如，上文定义的端口可以是使用例如阀可闭合的，或

者室还可包括其它开口。室可以在顶部永久闭合，或者系统可以以任何类型的可闭合构件为特征，所述可闭合构件例如滑动或铰接盖或者可拆卸盖。这类用于进入的装置可应用于整个系统或者单独的室和/或通道和/或结构。在上下文中，术语“物理进入”，例如关于分析室4，意指可以将工具插入到分析室4中的液体中，以操作该室4的内含物。该操作可以是从分析室4中取出一个或更多个细胞，或者其可以包括操作已经存在于室4中的细胞。这种类型的物理进入还可对样品室提供。

[0083] 在一个实施方案中，基体2具有最类似于平行六面体的形状。基体2界定了底面和样品室3、分析室4和所述室之间的通道5的一个或更多个侧壁。所有所述结构都被界定在基体2中。当从上方观察基体2时，侧壁可以形成为每个室界定它们的形状的周界(perimeter)。所述形状可以为圆形、正方形、多边形或长方形(oblong)等。在一个优选的实施方案中，周界形成的形状是圆形。类似的，当从上方观察时，通道5可具有任何便利的形状。如果基体2在顶部是闭合的，那么所使用的材料优选为透明的。优选地，只有一部分材料是透明的，仅允许观察系统的相关部分，而其余材料是不透明的，例如白色。本发明的中型流体系统1优选由具有亲水表面的基本上透明的材料构建，然而也可以使用很好界定的具有疏水表面的区域。在某些实施方案中，中型流体系统1可包括具有超亲水表面的部分，以允许易于使用水性液体润湿样品室、分析室和通路。中型流体系统1还可由非透明例如白色的材料构造而成。构造材料优选为一种或更多种热塑性聚合物，然而也可以使用其它材料，例如玻璃、硅、金属、弹性聚合物。

[0084] 样品室3可以具有任何合适的形状，条件是样品室3能够被分为两个单独的隔室7、8。在一个典型的实施方案中，样品室3由被压到基体2中的形状界定，其中所述形状的主体具有至少一个底部基座(bottom base)和界定样品室3的中空空间的至少一个壁。被压到基体2中的形状优选被截短以使其不会完全穿过基体2的底部。样品室3的形状可以为例如圆柱形、截头圆锥形、立方体、长方体等。在本发明的一个实施方案中，样品室3由被压到基体2中的圆柱形形状界定，其中圆柱形形状的主体具有平行圆形基座和具有基本上恒定的圆形横截面的壁，并且其中圆形基座与至少基体2的底平面平行。样品室3在顶部可以是开放的或闭合的。在一个具体的实施方案中，样品室3相对于外部环境是开放的，例如向上开放，允许培养基和类似物添加到调节培养基隔室8中；该实施方案可进一步包括用于闭合样品室3的盖子。同样可以应用于分析室4。

[0085] 在一个实施方案中，样品室3被细胞可透过的过滤器6分成隔室7、8，其中细胞可透过的过滤器6界定了跨越样品室3的片状横截面，并且其中细胞可透过的过滤器6基本上与基体的至少底平面平行。在某一实施方案中，其中样品室3由被压到基体2中的圆柱形形状界定，样品室3被细胞可透过的过滤器6分成隔室7、8，所述细胞可透过的过滤器6界定了与至少底平面平行的圆形横截面，以形成将样品室3分成两个隔室的盘的形状。在一个具体的实施方案中，从样品室3的底部例如“地面”到细胞可透过的过滤器6的距离是约100μm至约5mm，例如约4mm或约2mm，因此界定了样品应用隔室7的高度。该实施方案尤其适用于分析运动细胞；在一个用于预备性的纯化运动细胞的实施方案中，该距离可以更大，例如约30mm。本发明人已经发现，当样品应用隔室7的高度低于5mm时，运动细胞与非运动细胞的分离特别有效。认为高度低于5mm，例如2mm，提高了运动细胞遇到细胞可透过的过滤器6的表面的机会，从而被引导游动穿过细胞可透过的过滤器6并进入调节培养基隔室中。在一个具体的

实施方案中，样品应用隔室具有4.4mm的深度，并且调节培养基隔室具有13.2mm的深度；样品室的直径为9.4mm。

[0086] 样品应用隔室7在细胞可透过的过滤器6的下方，并且调节培养基隔室8在细胞可透过的过滤器6的上方。本发明应该被理解为包含任何实施方案，其中一般性原则是提供位于调节培养基隔室下方的样品应用隔室，所述隔室被细胞可透过的过滤器分开。即，样品室可以被细胞可透过的过滤器分成隔室，所述细胞可透过的过滤器以相对于设备底部倾斜的方式跨越样品室3。因此，本发明人设想细胞可透过的过滤器6可以以例如部分球形部分为特征，所述部分球形部分相对于隔室7、8中任一个是凹面的或凸面的。在本发明的另一个实施方案中，细胞可透过的过滤器6基本上水平跨越样品室3。当从样品应用隔室7的底部到细胞可透过的过滤器6的距离一致时，例如当底部和细胞可透过的过滤器二者都是水平的时，已经观察到改善的运动细胞与非运动细胞的分离，特别是当样品应用隔室7与细胞可透过的过滤器6之间的距离低于5mm时。

[0087] 样品室3应具有用于将样品保持在样品应用隔室7中和将调节培养基保持在调节培养基隔室8中的合适的容积。本领域技术人员将容易地知晓样品室3含有样品所需的尺寸。样品应用隔室7和调节培养基隔室8可以具有大约相等的容积，然而样品应用隔室通常比调节培养基隔室大，例如大2至5倍。这些比率对于分析运动细胞特别相关。对于预备性纯化运动细胞，该比率可以甚至更大。

[0088] 样品入口端口15应从广义上理解为用于将样品放置于样品应用隔室7中的装置。样品被置于细胞可透过的过滤器6的下方。在一个优选的实施方案中，样品入口端口15包括提供来自外部并进入样品室3的样品应用隔室7的流体连通的通道。中型流体系统1还可有利地包括与样品入口端口15流体连通的接收小室12。本发明人还设想替代性的用于将样品置于样品应用隔室7的内部的装置。替代性地，接收小室12可以是抽屉或者类似物的形式，其具有允许与外界环境流体连通的样品应用位置以及允许与样品应用隔室7流体连通的样品分析位置。例如，当接收小室在外界环境位置时，可以将样品添加到接收小室。当接收小室(例如含有样品的接收小室)被移至样品分析位置时，接收小室与样品应用隔室7流体连通但是不再与外界环境流体连通。

[0089] 在一个优选的实施方案中，设备1包括与样品入口端口15流体连通的接收小室12。接收小室12会提供用于添加待分析的样品的位置。

[0090] 在一个优选的实施方案中，细胞滞留过滤器13相对于提供调节培养基隔室和分析室之间的流体连通的通道的定位允许细胞滞留过滤器的上游表面和/或下游表面被可视地观察到。例如，基体2或盖子(当使用时)可以是透明的，意味着例如用裸眼或使用显微镜或类似物可以观察到分析室4的内含物。但是，除了对可见光透明之外，基体2或盖子还可以对其它波长例如紫外光或红外光透明。对紫外光透明允许能够使用适当的光源激发某些荧光分子例如染料或标签。其余的基体2可以同样是透明的。基体2和盖子可以具有相同或不同的关于透明性的特征。但是，在某些实施方案中，基体2可包含针对波长范围的过滤器，以帮助激发和观察荧光染料。例如，基体2的一部分可以对激发波长是透明的但对发射波长不是透明的，并且另一部分可以反过来对发射波长是透明的但对激发波长不是透明的。在某些实施方案中，在分析室4上方的基体2或盖子包括放大透镜。这会允许更加容易地观察分析室4的内含物，并且优选还更加容易地观察细胞滞留过滤器13。放大透镜是技术人员公知

的。

[0091] 在本发明的一个实施方案中，中型流体系统1还包括提供液体驱动力的装置，以将液体从样品室3特别是调节培养基隔室8移至分析室4或者从分析室4移至样品室3。可以通过将正相对压力施加到培养基入口端口11上来提供液体驱动力，以将液体从调节培养基隔室8分散到分析室4中。或者，经由离开端口10从分析室4施加到通道5的负相对压力会产生相同效果，即，将液体从样品室3的调节培养基隔室8移至分析室4，并且进一步经由细胞滞留过滤器13(当存在时)从分析室4中移除液体。基本上所有的液体都可以从分析室4中移除，以使存在于分析室4中的运动细胞浓缩在细胞滞留过滤器13的表面上，以允许细胞的检测。提供液体驱动力的装置可以被整合到中型流体系统1的内部或外部。

[0092] 在一个优选的实施方案中，提供液体驱动力的装置包括注射器。注射器允许终端用户容易地操作设备1而不需要辅助泵或类似物。注射器优选被设计成可手动操作的。注射器可以具有预先定义的设置的活塞，以帮助用户操作所述设备。例如，注射器可以具有两个设置，其中第一设置定义了“开始位置”，且第二设置定义了“终止位置”。在一个实施方案中，将样品应用于接收小室12中，同时调节培养基隔室8充满调节培养基；在这种情况下，注射器的活塞位于开始位置；将活塞移至终止位置会产生驱动力以将来自调节培养基隔室8的液体经由分析室4移动穿过细胞滞留过滤器13并进入流出通道14。或者，注射器可含有调节培养基，将活塞从开始位置移至终止位置能够充满调节培养基隔室8。将样品应用至接收小室12或样品应用隔室7之后，将活塞从终止位置返回到开始位置会产生从调节培养基隔室8经由分析室4穿过细胞滞留过滤器13并进入流出通道14的液体驱动力。活塞还可以具有两个以上的预先定义的设置，开始位置和终止位置之间的中间设置对应于设备1的操作的不同阶段。

[0093] 提供设备中液体流动的其它装置也是可能的。例如，以作用在流出通道上的蠕动功能的形式。或者，可以将系统连接至外部辅助泵或真空容器。

[0094] 在本发明的一个实施方案中，中型流体系统1还包括样品培养基、调节培养基和/或检测试剂。因此，在一个具体的实施方案中，中型流体系统1被预先充满调节培养基。调节培养基可以存在于分析室4、样品室3，特别是调节培养基隔室8、以及通路5、14中。中型流体系统1还可包括单独的用于样品调节培养基和/或检测试剂的储器。当在运动细胞分析的不同阶段需要不同反应物时，中型流体系统1还可包括多个单独的储器。储器视情况与样品室3特别是调节培养基隔室8或分析室4流体连通，即可以经由室或隔室将调节培养基应用至系统1。在本发明的一个实施方案中，在一个单独的容器、注射器或类似物中提供样品调节培养基。在一个这样的实施方案中，中型流体系统1可包括具有外部流体应用端口的单独的通道，所述通道与分析室4或样品室3，特别是调节培养基隔室8直接流体连通。但是，外部流体应用端口可以是分析室4的离开端口10或者调节培养基隔室8的培养基入口端口11。容器和外部流体应用端口可以安装有互补的连接设备。容器可以由柔性材料制成，允许调整(例如减小)容积以将容器的内含物注射到流体应用端口中。如果储器中包含调节培养基，储器可以经由通道或类似物与样品室3的调节培养基隔室8或者分析室4流体连通。所述通道可以包括阀或膜或类似结构，所述阀或膜或类似结构防止通道中的流动直至阀或膜被激活以允许流动。这将确保防止调节培养基过早进入室中。例如，致动器可允许通道打开，用于液体从储器流至样品室3特别是调节培养基隔室8。因此，在一个实施方案中，最初在储器中含

有样品调节培养基，而样品室3和分析室4不含有液体。通道打开以流动之后，调节培养基会从储器流到样品室3和分析室4中。一旦样品室3的调节培养基隔室8和分析室4含有液体，运动细胞可以从样品应用隔室7行进至调节培养基隔室8。在一个替代性的实施方案中，可为分析室4提供液体，所述液体可以是与存在于储器中的液体相同的液体或不同的液体。在另一个实施方案中，在中型流体系统1中未提供液体，但是在样品分析之前将液体添加至系统。

[0095] 细胞滞留过滤器13的下游表面可以与流出通道14流体连通。中型流体系统1优选仅包括单个流出通道14，允许可以采用提供液体驱动力的单个装置例如泵或注射器移除来自样品室3和分析室4的液体。流出通道14将具有中型尺寸，以使得液体在流出通道14中的流动会是上文定义的层流。通常，流出通道14的直径是约500μm至约3mm，例如约1mm。一般来说，需要流出通道14的直径不会在通道内引起过度压降，以使得可以使用简单装置例如注射器容易地从样品室3和分析室4移除液体。

[0096] 在某一实施方案中，中型流体系统1包括调节温度的装置，特别是将温度增加到标准室温以上。因此合适的调节温度的装置可包括加热元件例如导电线线圈、珀尔帖元件、用于加热和/或冷却液体的管，或类似物。应注意的是，如果需要的话，珀尔帖元件还可用于冷却系统。

[0097] 可以通过连接包括对应于通道和室的结构的第一基体与第二基体而形成本发明的中型流体系统1的通道、室、通路和其它结构。在下文中，这类特征通常被称为“通道和室”，但是这不应该被认为具有限制性。因此，可以在以层的形式连接基体之后，在两个基体之间形成通道和室。中型流体系统不局限于两个基体层。在某些实施方案中，可以使用多个基体层，其中每个基体层可视情况包括用于通道和室的结构。具体地，细胞可透过的过滤器6和细胞滞留过滤器13可以每个都包含在单个层中，并且同样地通道5、14可以每个都形成于两个基体层之间。然后连接这些多个基体层以装配成为中型流体系统1。

[0098] 可以使用任何合适方法产生基体中对应于通道和室的结构。在一个优选的实施方案中，基体材料是热塑性聚合物，并且合适的方法包括铣削、微铣削、钻孔、切割、激光烧蚀、热模压、注射模塑和微注射模塑和3D打印。这些和其它技术是本领域公知的。还可以用其它基体材料使用合适的方法产生通道，所述方法例如铸造、模塑、软光刻等。还可以采用不同类型的材料例如热塑性材料、玻璃、金属等制造单个中型流体系统。可以使用任何合适的方法连接基体材料。在一个优选的实施方案中，基体材料是热塑性聚合物，并且合适的连接方法包括粘合、溶剂结合、夹紧、超声波焊接和激光焊接。其它相关的方法是用螺丝或其它紧固装置来固定。

[0099] 在本发明的另一个实施方案中，中型流体系统包括具有样品室和两个或更多个分析室的基体；样品室包括界定样品应用隔室和调节培养基隔室的细胞可透过的过滤器；样品室具有在样品应用隔室中的样品入口端口；所述两个或更多分析室每个具有进入端口和离开端口；其中样品应用隔室在细胞可透过的过滤器的下方，并且调节培养基隔室位于细胞可透过的过滤器的上方，并且其中调节培养基隔室包括一个或更多个额外的界定调节培养基隔室8的两个或更多个子隔室的细胞可透过的过滤器，并且其中调节培养基隔室8的两个或更多个子隔室中的每个都经由通道与对应的分析室的进入端口流体连通。在一个优选的实施方案中，所述一个或更多个额外的细胞可透过的过滤器在平行于界定样品应用室7

和调节培养基隔室8的第一细胞可透过的过滤器6的平面中跨越样品室。所述一个或更多个额外的细胞可透过的过滤器界定调节培养基隔室8的至少两个子隔室，从而产生一系列在彼此上方的子隔室。然后运动细胞可从样品应用隔室7行进到调节培养基隔室8的第一子隔室中，串联地连接的子隔室进一步允许运动细胞从第一子隔室行进至第二子隔室，然后继续至第三子隔室等。具有最高运动性的运动细胞将行进到更远的子隔室中，并且然后可以在与各个子隔室连接的各个分析室中检测到在每个子隔室中积累的细胞。然后可以从每个分析室中的细胞数目评估细胞群体的运动性。因此，对运动细胞的评估被分解成额外小部分(fraction)的运动性。在某些实施方案中，中型流体系统1可以具有调节培养基隔室8的多于三个的子隔室和相应数量的分析室，例如中型流体系统1可具有3、4、5、6、7、8、9或10个或甚至更多子隔室和分析室。

[0100] 在本发明的另一个实施方案中，中型流体系统包括用于平行评估总细胞计数的另外的分析室。所述另外的分析室可被设计成类似于用于分析运动细胞的分析室。在一个实施方案中，该另外的分析室包括进入端口和离开端口。该另外的分析室可通过进入端口经由通道与样品应用隔室流体连通。或者另外的分析室可以通过进入端口经由通道与额外的样品室流体连通，其中样品室3和额外的样品室可以可选择地与同一接收小室12流体连通。

[0101] 在中型流体系统1的一个实施方案中，用盖子覆盖接收小室12、分析室4和通路，并且其中覆盖分析室4的盖子的至少一部分是透明的。在中型流体系统的另一个实施方案中，盖子的透明部分构成智能手机软件应用可读的显示器。

[0102] 在另外的方面，本发明涉及用于分析样品中的运动细胞的系统，所述系统包括根据本发明的第一方面的中型流体系统和外部检测器设备，所述外部检测器设备包括：光学检测器；含有计算机程序代码的计算机可读存储介质，所述计算机程序代码被配置成定量中型流体系统的分析室中或细胞滞留过滤器(如果存在的话)上的检测试剂；用于执行计算机程序代码的数据处理器。外部检测器设备还可以包括用于向操作者呈现定量结果的显示器。例如，结果可以表示为具有表示为绝对数量或相对数量的每个分析室中的细胞估计数量的表格，例如分析室中细胞的相对分布的估计数量，或者结果可以表示为描述样品的总体结果，例如样品可以被描述为“好”、“正常”、“平均”、“低”等。光学检测器可以是任何能够从中型流体系统读取结果的检测器，例如定量细胞滞留过滤器上的检测试剂。特别有用的光学检测器是用于扫描条形码或类似物的那些光学检测器，并且在某一实施方案中，光学检测器选自包括以下的组：照相机、激光扫描器、CCD读码器、光电二极管扫描仪或类似物。在一个优选的实施方案中，外部检测器设备是移动用户终端。“移动用户终端”意指任何便携式计算设备，例如移动电话、智能手机、个人数字助理、便携式计算机、平板电脑或类似物。移动用户终端优选为利用Apple iOS、Android、Symbian、Windows Phone或类似操作系统的计算设备。

[0103] 本发明的另一方面涉及移动用户终端，例如智能手机，所述移动用户终端包含配置成定量根据本发明的第一方面的中型流体系统的细胞滞留过滤器上的检测试剂的计算机程序代码。

[0104] 在一个实施方案中，通过使用智能手机作为外部检测器设备进行运动精子细胞的定量。在该实施方案中，用盖子覆盖中型流体系统的接收小室、分析室和通路，其中覆盖分析室的盖子的至少一部分是透明的，并且构成智能手机可读的显示器。通过使用设置有数

码照相机的智能手机和能够使智能手机处理由照相机获得的数据的计算机程序代码例如app，可以读取显示内容，并能够获得用于运动精子细胞的定量和定性(运动性)目的的数据，从而给予智能手机使用者指示性的结果值，例如精子细胞的浓度和运动性的方面的结果值。数据可以存储在智能手机中，并用于与来自在先测试的数据进行比较。在一个具体的实施方案中，计算机程序代码被配置成将结果上传到数据库，以允许与数据库中的结果进行比对，所述数据库中的结果例如来自其他使用者或来自在先测试的结果。上传到数据库的数据可以被存储在数据库中用于将来的比较。

[0105] 本发明的一个实施方案涉及中型流体系统的使用，其中精子样品的装载包括以下步骤：1)将精子样品收集在精子收集杯中；2)通过合适的装置例如使用巴斯德移液器将精子样品从样品杯转移到根据本发明的中型流体系统。

[0106] 图2示出了根据本发明的一个实施方案的设备220的示意图，所述设备220用于确定细胞样品的细胞运动性的可量化测量结果的数值。设备220包括用于捕捉中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的一部分的图像的照相机单元221、用于处理捕捉的图像的处理单元222、用于显示细胞运动性的可量化测量结果的数值的显示器223以及用户输入单元224。对用户输入单元224的激活作出反应；

[0107] 照相机单元221被配置成捕捉中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的一部分的图像；和

[0108] 处理单元222被配置成处理捕捉的图像，以使用映射函数225确定细胞运动性的可量化测量结果的数值，所述映射函数225被配置成将捕捉的图像映射为可量化测量结果的数值。映射函数225被校准以将特定的本发明的中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器的图像数据映射为可量化测量结果的数值。

[0109] 显示器223和用户输入单元224可以组合在单个单元中例如在触摸屏226中。

[0110] 为了确定特定细胞样品的细胞运动性的可量化测量结果的数值，可以将包含所述样品的本发明的中型流体系统布置在设备220附近。这可以通过将设备220和中型流体系统布置在共用的对准单元(alignment unit)中来实现。或者，可以用手将设备220保持在中型流体系统的上方，照相机单元指向中型流体系统的分析室和/或细胞滞留过滤器。下一步，对用户输入单元224的激活作出反应，照相机单元221捕捉中型流体系统的分析室和/或细胞保持过滤器的一部分的图像，并且处理单元222处理捕捉的图像以确定细胞运动性的可量化测量结果的数值。

[0111] 这允许自动分析中型流体系统的可视化输出。这可以提高精度，特别是当中型流体系统用于自行测试时，即当使用者不是专业的医疗服务人员时。

[0112] 在本发明的一个实施方案中，精子收集杯是设备的一个整合部分。可以在射精之后将精子收集杯连接至所述设备，从而装载精子样品。在本发明的另一个实施方案中，样品应用隔室7包括确保在系统中提供精确样品体积的装置，以给出更加准确的结果。在某一实施方案中，确保精确样品体积的装置是浮动系统(over float system)。

[0113] 实施例1

[0114] 进行实验以对使样品应用隔室在细胞可透过的过滤器下方并使调节培养基隔室在细胞可透过的过滤器上方的效果与之前的其中样品应用隔室在调节培养基隔室的例如侧面或上方的细胞可透过的过滤器的应用进行比较。

[0115] 对使样品应用隔室在细胞可透过的过滤器的上方和下方的情况进行了比较。

[0116] 使用仅含有非运动细胞的精液样品。然后将所述样品分成两份样品用于测试。

[0117] 样品应用隔室在细胞可透过的过滤器的上方

[0118] 将一份样品应用至具有在细胞可透过的过滤器上方的样品应用隔室和在所述过滤器下方的调节培养基隔室的系统。用移液管将调节培养基吸到调节培养基隔室中，并用移液管将精液样品吸到样品应用隔室中。抽取调节培养基的样品，并在下表1中提供的时间间隔内对所述样品进行分析。

[0119] 表1

[0120]

时间	细胞计数(百万/ml)
5min	0.1
10min	0.7
15min	0.7

[0121] 明显地，结果表明非运动细胞已经横穿细胞可透过的膜，并且本发明人将该结果归因于重力的影响。

[0122] 样品应用隔室在细胞可透过的过滤器的下方

[0123] 将所述样品的第二部分应用至具有在细胞可透过的过滤器下方的样品应用隔室和在所述过滤器上方的调节培养基隔室的系统。用移液管将调节培养基吸至调节培养基隔室中，并用移液管将精液样品吸到样品应用隔室中。抽取调节培养基的样品，并在下表2中提供的时间间隔内对所述样品进行分析。

[0124] 表2

[0125]

时间	细胞计数(百万/ml)
5min	0
10min	0
15min	0

[0126] 本发明人发现，当将所述样品置于过滤器下方时，没有细胞已横穿细胞可透过的过滤器。

[0127] 实施例2

[0128] 将来自本发明的中型流体设备的图像的图像数据的RGB值的色彩强度的动态范围与滴定的精液样品的人工计数相关联。将每毫升含有185000000个运动精子的精液样品用精浆2倍系列稀释。将样品应用到测试设备，使用标准温育参数，使用浓度为0.5mg/ml的MTT作为检测试剂。使用Microsoft生活数码照相机获得结果的照片并测量色彩强度(RGB值)。中型流体设备包括细胞滞留过滤器，并且对于每个用于分析的图像，将所述中型流体设备置于灯箱中，以始终确保相同条件。灯箱由箱组成，并包括距离目标约55mm定位的照相机和12伏特的卤素灯泡。照相机属性由定制的Labview程序控制。进行测试的条件是：温度20℃±1.5℃，湿度：38％RH。

[0129] 结果示于图3中，图3示出了所获得的滴定曲线的动态范围。在色彩强度和样品中运动精子浓度的对数之间存在线性关系。测试设备中斑点的色彩强度与通过光学分析和人

工目测测量的存在于样品中的运动精子的数目高度相关。

[0130] 实施例3

[0131] 测试了两种检测试剂MTT和结晶紫对精子细胞的运动性可能产生的影响。制备分别为5mg/ml和1mg/ml的MTT和结晶紫的储备液，并将这些储备液做两倍系列稀释。将检测试剂溶液与精子样品以50:50的比率混合，所述精子样品总共包含60000000个运动细胞/毫升和72000000个细胞/毫升(表示为60/72)，并在用显微镜分析细胞之前将所述混合物在室温下温育60分钟。

[0132] 表3

[0133]

MTT(mg/ml)	细胞	结晶紫(mg/ml)	细胞
0	60/72	0	60/72
5	18/64	1	40/63
2.5	30/63	0.5	27/43
1.25	34/65	0.25	32/56
0.625	48/77	0.125	37/56

[0134] 从表3明显可知，MTT对细胞运动性有影响。在较高的浓度下运动细胞对非运动细胞的比率(%运动)降低，而该比率不受结晶紫的影响。但是，在低于2.5mg/ml的MTT浓度下，未观察到对运动性的影响(未示出)。因此，两种检测试剂都可以使用，并且在标准条件内，例如温育时间<30min，MTT为0.5mg/ml，未观察到对运动性的影响。应该注意的是，这些影响只有在允许细胞迁移穿过细胞可透过的过滤器之前将检测试剂与样品混合的实施方案中有意义。

[0135] 实施例4

[0136] 使用精子样品测试本发明的中型流体设备。该系统包括具有13mm直径和10μm孔尺寸的细胞可透过的过滤器。细胞可透过的过滤器的厚度为10μm。样品应用隔室的容积约为600μl，并且从样品应用隔室的底部到细胞可透过的过滤器的距离是4.25mm。样品杯与样品应用隔室流体连通。将精子细胞应用至样品杯，导致600μl的样品体积进入样品应用隔室。应用样品之后，使用注射器注射调节培养基(包含0.5mg/ml MTT)经由分析室的离开端口穿过细胞滞留过滤器并进入(容积为300μl的)调节培养基隔室。将设备温育30分钟。温育后，使用注射器从样品应用隔室移除现在包括运动细胞的液体，以捕获细胞滞留过滤器上的运动细胞。

[0137] 使用从精液样品制备的样品进行测试，其中用显微镜定量运动细胞的浓度，并且将其稀释以含有从600000/毫升至20000000/毫升的范围内的细胞。来自所述设备的细胞滞留过滤器的照片示于图4中，该图表明在所述浓度范围内，能够容易地将5000000个运动细胞/毫升与更低浓度区分开。

[0138] 实施例5

[0139] 对比称为SpermCheck的商购测试条测定，测试本发明的中型流体设备。SpermCheck声称能够区分高于或低于总共20000000个精子/ml，而本设备具有5000000个行进性精子细胞(progressive sperm cell)的截断值(WHO 2010准则，WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen)。具体地，该测试的目的

是使非专业人员通过本发明的中型流体设备产生的测试结果置于两个类别“差”或“正常”。获得45个精子样品，并用显微镜对其进行分析，然后将所有样品应用至本发明的中型流体设备或应用至SpermCheck测试条。分析后，对所有设备和测试条拍照，将照片展示给5个不同的人(2个来自SDU的大学生和3个来自2C工程公司的工程师；在下方的表4和表5中，受试者被称为A至E)，所述5个人被指示根据类别“差”和“正常”对照片进行分类。由内部人员进行相同处理(表示为“对照”)。表4和表5示出了实验的结果。

[0140] 表4

[0141]

发明	A	B	C	D	E	平均值	对照
灵敏度(%)	75	71	75	80	79	76	88
特异性(%)	89	89	84	89	89	88	84
PPV (%)	90	89	86	91	90	89.2	88
NPV (%)	74	71	73	76	77	74.2	84

[0142] 表5

[0143]

SpermCheck	A	B	C	D	E	平均值	对照
灵敏度(%)	51	41	69	79	56	59.2	51
特异性(%)	100	100	100	75	100	95	100
PPV (%)	100	100	100	97	100	99.4	100
NPV (%)	17	15	25	27	43	25.4	17

[0144] 非专业用户测试结果接近于我们在内部做所述测试时得到的结果。有趣的是，被错放的测试结果在全部5个非专业人员之间非常相似。重要的是，80％的错放测试结果非常接近于5000000行进性运动精子细胞/ml的截断值。SpermCheck测试条的灵敏度相当差，即该测试不能正确鉴定具有正常精子质量的男士，并且NPV非常低，即如果事实上精子计数低，该测试不能告知用户负面测试结果。

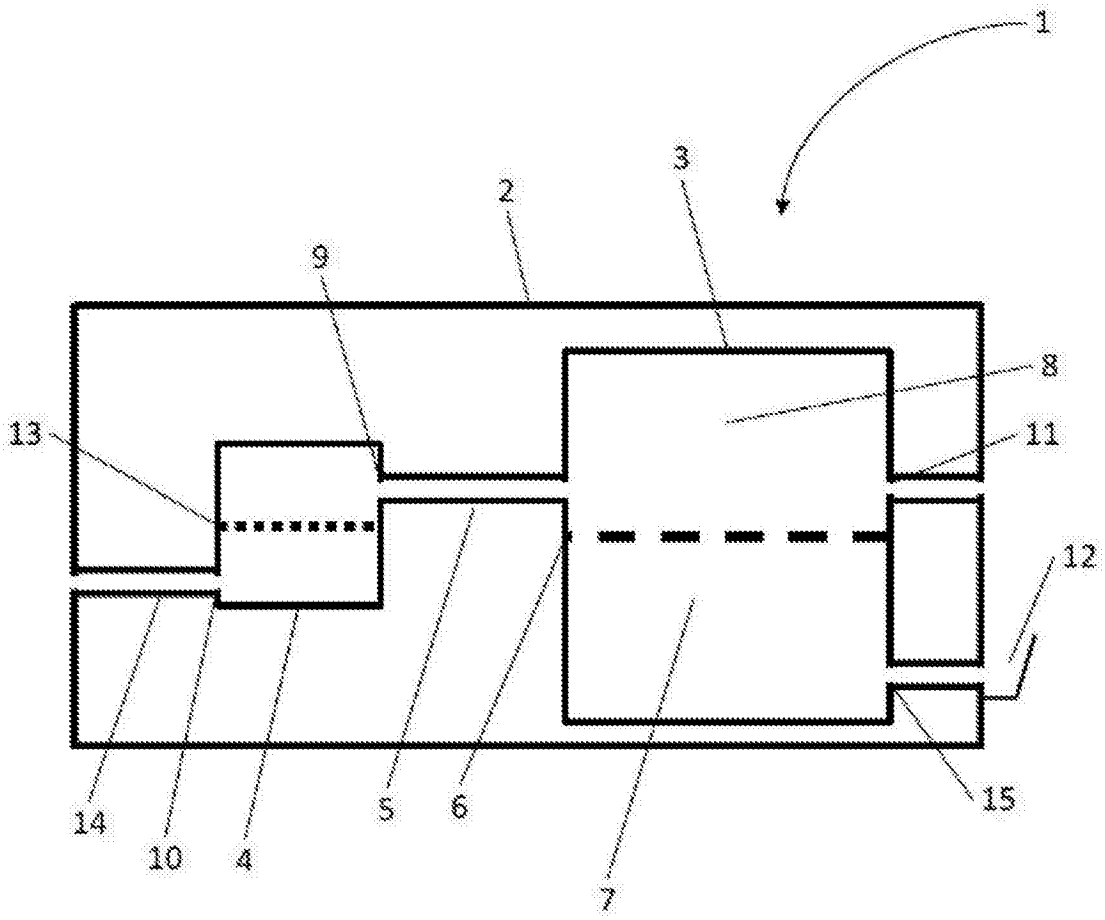


图1

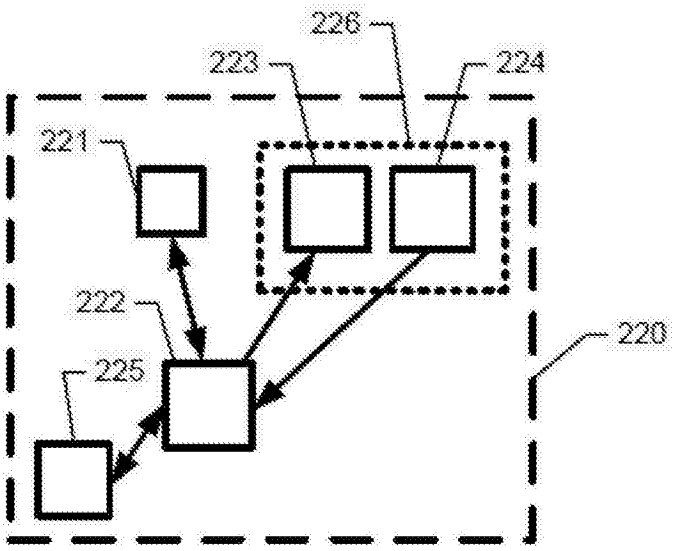


图2

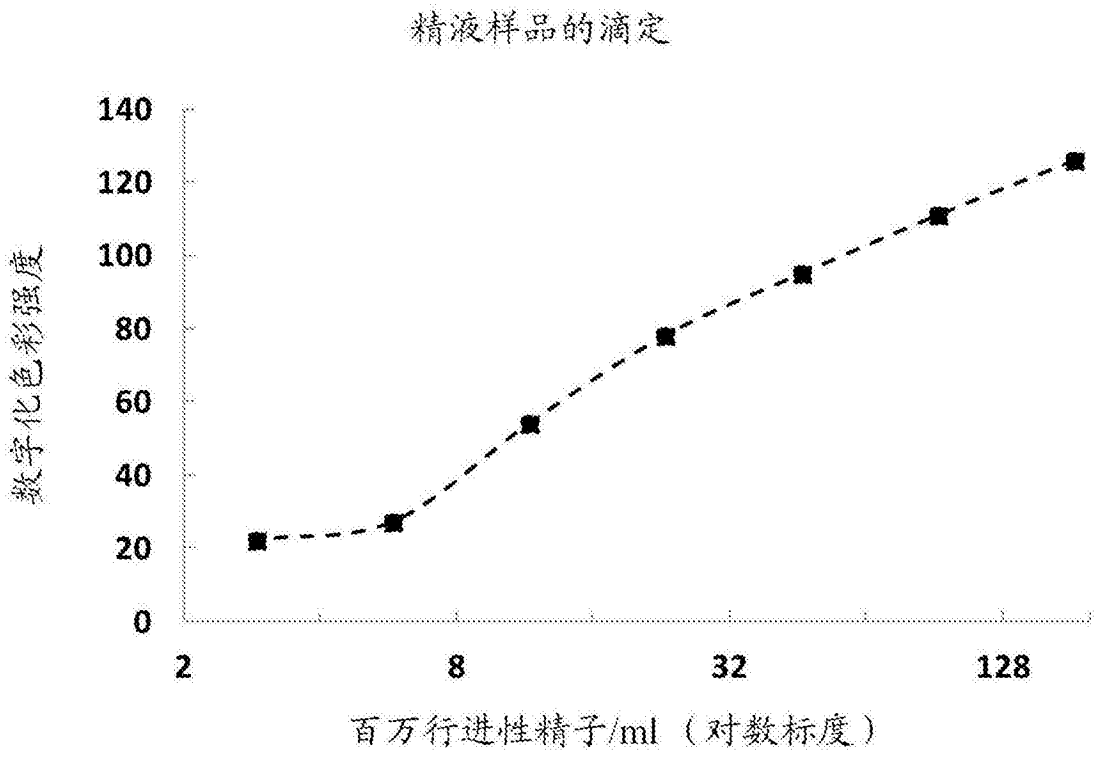

精液样品的滴定
数字化色彩强度
140
120
100
80
60
40
20
0
2
8
32
128
百万行进性精子/ml（对数标度）

图3

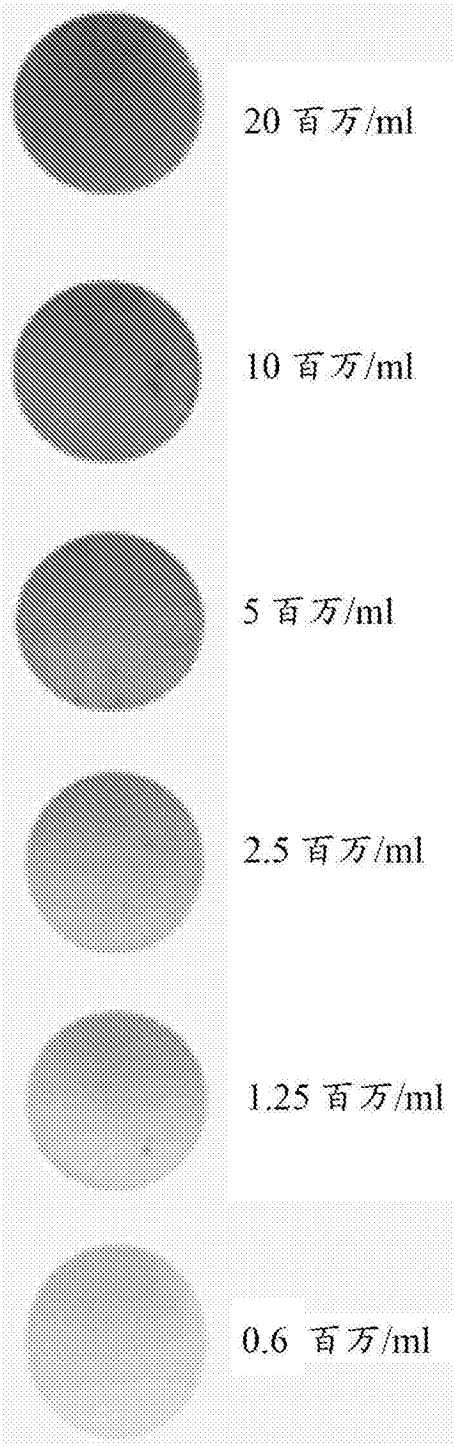


图4