(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
2020 年 2 月 27 日 (27.02.2020)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2020/037684 A1

(51) 国际专利分类号:
C12M 1/00 (2006.01) *C12M 1/24* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2018/102346

(22) 国际申请日: 2018 年 8 月 24 日 (24.08.2018)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 深圳华大生命科学研究院 (BGI SHENZHEN) [CN/CN]; 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼, Guangdong 518083 (CN)。

(72) 发明人: 赵静 (ZHAO, Jing); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼及11栋2楼, Guangdong 518083 (CN)。 江媛 (JIANG, Yuan); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼及11栋2楼, Guangdong 518083 (CN)。 章文蔚 (ZHANG, Wenwei); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼及11栋2楼, Guangdong 518083 (CN)。 赵霞 (ZHAO, Xia); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼及11栋2楼, Guangdong 518083 (CN)。 陈奥 (CHEN, Ao); 中国广东省深圳市盐田区北山工业区综合楼及11栋2楼, Guangdong 518083 (CN)。

(74) 代理人: 深圳市赛恩倍吉知识产权代理有限公司 (SHENZHEN SCIENBIZIP INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO., LTD.); 中国广东省深圳市龙华新区龙观东路83号荣群大厦9楼, Guangdong 518109 (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, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS,

(54) **Title:** SEPARATION AND EXTRACTION DEVICE FOR CELLS AND BIOMOLECULES, AND TEST SYSTEM

(54) 发明名称: 细胞及生物分子分离提取装置及测试系统

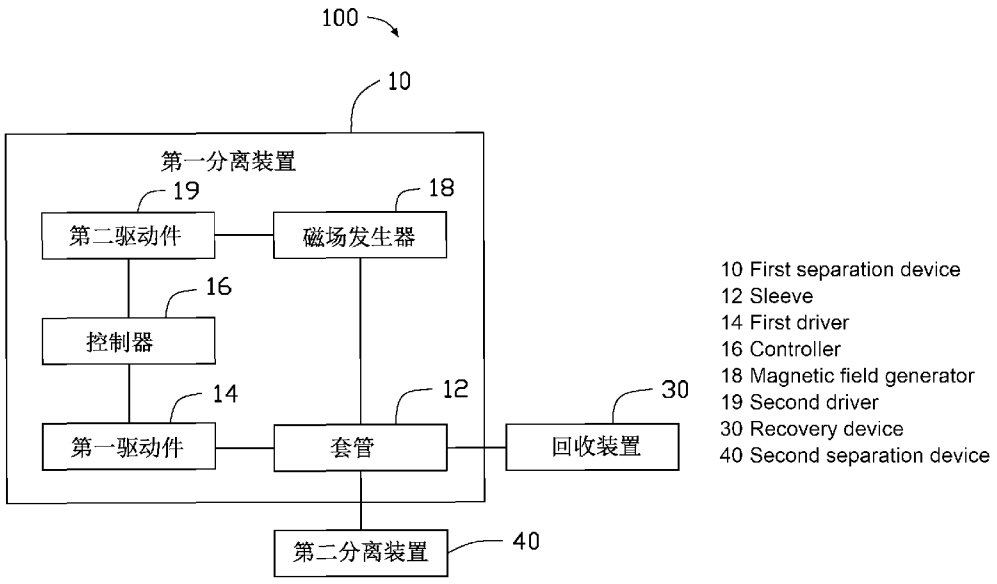


图 1

(57) **Abstract:** Provided is a separation and extraction device for cells and biomolecules, comprising: a sleeve, which is provided with through holes for the biological sample solution to flow out, the through holes having different apertures; and a plurality sets of magnetic beads, each set of the magnetic beads being used to identify and bind different cells or molecules in the biological sample solution, wherein the size of each set of the magnetic beads is different, the plurality of sets of the magnetic beads respectively flow out from the through holes having corresponding apertures. Provided is also a test system for cells and biomolecules including the above separation and extraction device, microfluidic system and gene sequencing system.

WO 2020/037684 A1

[见续页]

JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, 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, 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))。

(57) 摘要：本发明提供一种细胞及生物分子分离提取装置，包括：套管，所述套管开设有供生物样品溶液流出的通孔，所述通孔具有不同孔径；以及多组磁珠，每组磁珠用于识别并结合所述生物样品溶液中的不同细胞或分子，其中各组磁珠之间的尺寸各不相同，所述多组磁珠分别从对应孔径的所述通孔流出。本发明还提供一种包括上述分离提取装置、微流控系统以及基因测序系统的细胞及生物分子测试系统。

说 明 书

细胞及生物分子分离提取装置及测试系统

技术领域

本发明涉及生物技术领域，尤其涉及一种细胞及生物分子分离提取装置及测序系统。

背景技术

血液由血浆、白细胞、血小板和红细胞组成，血液样品是临床诊断中最易于获取造成创伤最小的活检样品。如果是肿瘤患者，其白细胞中可能混有 CTCs (circulating tumor cells，循环肿瘤细胞)和 CTM (circulating tumor microemboli，循环肿瘤微栓)，其血浆当中可能含有游离的 ctDNA (circulating tumor DNA，循环肿瘤 DNA)。ctDNA、CTC 和 CTM 的基因信息对于肿瘤辅助诊断，术后复发转移与监测及疗效评估和耐药性检测具有非常重要的作用。其次，白细胞中还有 T 细胞和 B 细胞，其对于研究自身免疫类疾病及炎症反应具有很重要的意义。最后从剩余的白细胞和血小板中，可以通过裂解细胞获得 gDNA（genomic DNA，基因 DNA），mRNA（messenger RNA，信使 RNA）和 miRNA（microRNA），从而对血液提供者有一个全面的基因信息了解。然而，现有的血液样品提取分离试剂盒，一般针对一种或几种样品进行分离，较难对多种样品同时进行分离。

发明内容

鉴于上述状况，有必要提供一种能够同时提取分离多种样品的细胞及生物分子分离提取装置及测序系统。

本发明提供一种细胞及生物分子分离提取装置，包括第一分离装置，所述第一分离装置包括：套管，用于盛装生物样品溶液，所述套管开设有供生物样品溶液流出的通孔，所述通孔具有不同孔径；以及多组磁珠，每组磁珠用于识别并结合所述生物样品中的不同细胞或分子，其中各组磁珠之间的尺寸各不相同，所述多组磁珠分别从对应孔径的通孔流出。

作为一种优选方案，所述套管包括内管以及套设于所述内管上的外管，所述内管的周壁上开设有第一珠孔，所述外管的周壁上开设有第二珠孔，所述第二珠孔和所述第一珠孔的位置一一对应，每一第二珠孔和相应的第一珠孔相连通形成所述通孔。

作为一种优选方案，所述第一分离装置进一步包括第一驱动件，所述外管和所述内管能够相对转动，所述第一驱动件与所述外管和所述内管中的一个相连接，用于驱动所述外管和所述内管中的一个相对另一个转动，以改变所述第二珠孔与相应的第一珠孔的交叠面积，从而形成不同孔径的所述通孔。

作为一种优选方案，所述第一分离装置进一步包括控制器，所述控制器与所述第一驱动件相连接，用于控制所述第一驱动件驱动所述外管或内管转动。

作为一种优选方案，所述套管进一步包括导管，所述外管的底部开设有导引孔，所述导管与所述导引孔相连通。

作为一种优选方案，所述第一分离装置进一步包括磁场发生器，用于搅拌盛装于所述套管中的生物样品溶液，所述磁场发生器发出磁场作用于所述套管内部；

优选地，所述第一分离装置进一步包括第二驱动件，所述第二驱动件与所述磁场发生器相连接，用于驱动所述磁场发生器进入及移出

所述套管。

作为一种优选方案，所述多组磁珠包括：

第一组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 ct/cfDNA；

第二组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 B 细胞；

第三组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 T 细胞；

第四组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 gDNA；

第五组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 mRNA；以及

第六组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 miRNA；

优选地，在所述第一组磁珠结合 ct/cfDNA，所述第二组磁珠结合 B 细胞，以及所述第三组磁珠结合 T 细胞后，所述第二驱动件驱动所述磁场发生器进入所述套管；在所述磁场发生器吸附所述第一组磁珠、第二组磁珠以及第三组磁珠后，所述第二驱动件驱动所述磁场发生器移出所述套管；在所述第四组磁珠结合 gDNA，所述第五组磁珠结合 mRNA，所述第六组磁珠结合 miRNA 后，结合有 ct/cfDNA 的第一组磁珠、结合有 B 细胞的第二组磁珠以及结合有 T 细胞的第三组磁珠被注入所述生物样品溶液中；

优选地，所述磁场发生器产生的磁场为电磁场，在所述第四组磁珠结合 gDNA，所述第五组磁珠结合 mRNA，所述第六组磁珠结合 miRNA 后，所述第二驱动件驱动所述磁场发生器再次进入所述套管，所述磁场发生器产生的电磁场被去除，使得吸附在所述磁场发生器上的第一组磁珠、第二组磁珠以及第三组磁珠被释放于所述套管中。

作为一种优选方案，进一步包括回收装置，用于回收由所述套管流出的第一组磁珠、第二组磁珠、第三组磁珠、第四组磁珠、第五组磁珠以及第六组磁珠；

优选地，所述回收装置设置有多个通道，所述多个通道分别与所

述多个通孔一一连通。

作为一种优选方案，进一步包括第二分离装置，用于分离所述生物样品中的 CTCs 和 CTM；

优选地，所述第二分离装置为滤膜。

一种细胞及生物分子测试系统，包括上述任一细胞及生物分子分离提取装置、微流控系统以及基因测序系统，所述微流控系统与所述细胞及生物分子分离提取装置相结合，所述基因测序系统与所述微流控系统相结合。

本发明提供的分离提取装置通过不同尺寸的磁珠结合不同尺寸的细胞及生物分子，使得不同尺寸的磁珠通过所述通孔流出进行分离，从而对所述生物样品中的多种细胞及生物分子同时进行分离。本发明提供的细胞及生物分子测试系统，实现了自动化，提高了加工效率。

附图说明

图 1 为本发明提供的分离提取装置的功能模块图。

图 2 为图 1 所示套管的结构示意图。

图 3 为本发明提供的测试系统的功能模块图。

主要元件符号说明

分离提取装置	100
第一分离装置	10
套管	12
入口	121
通孔	124

内管	122
外管	123
第一珠孔	125
第二珠孔	126
第一驱动件	14
控制器	16
导管	128
磁场发生器	18
第二驱动件	19
回收装置	30
第二分离装置	40
测试系统	200
微流控系统	210
基因测序系统	230

如下具体实施方式将结合上述附图进一步说明本发明。

具体实施方式

在下面的描述中阐述了很多具体细节以便于充分理解本发明，但是本发明还可以采用其他不同于在此描述的其它方式来实施，本领域技术人员可以在不违背本发明内涵的情况下做类似应用，因此本发明不受下面公开的具体实施例的限制。

需要说明的是，当一个组件被认为是“连接”另一个组件，它可以是直接连接到另一个组件或者可能同时存在居中组件。当一个组件被认为是“设置于”另一个组件，它可以是直接设置在另一个组件上或者可能同时存在居中组件。

请参阅图 1 ,图 1 为本发明第一实施方式提供的分离提取装置 100 的功能模块图。所述分离提取装置 100 用于分离提取生物样品中的多种细胞，例如 B 细胞和 T 细胞，以及多种核酸分子，例如 ct/cfDNA、gDNA、mDNA 和 miRNA。具体地，本发明中的生物样品为血液样品，可以理解的是，所述生物样品还可以为其他动物、植物、组织、细胞等处理得到的样品。

所述分离提取装置 100 包括第一分离装置 10，用于分离生物样品中的 ct/cfDNA、B 细胞、T 细胞、ctDNA、gDNA、mDNA 和 miRNA。本实施例中，所述第一分离装置 10 基于免疫磁分离技术进行分离。具体地，所述第一分离装置 10 包括套管 12 以及多组磁珠。

请一并参阅图 2，图 2 为图 1 所示套管 12 的结构示意图。所述套管 12 用于盛装生物样品溶液。所述套管 12 的一端具有入口 121，生物样品溶液经由所述入口 121 流入所述套管 12 内。所述套管 12 上开设有多个通孔 124，用于供流入所述套管 12 内的生物样品溶液流出。具体地，所述通孔 124 开设于所述套管 12 的周壁上。

每组磁珠用于识别并结合所述生物样品中不同的细胞或分子 ,其中各组磁珠之间的尺寸各不相同 ,用于结合具有不同尺寸的细胞或分子，并分别从不同孔径的通孔 124 流出。具体地，所述多组磁珠包括第一组磁珠、第二组磁珠、第三组磁珠、第四组磁珠、第五组磁珠以及第六组磁珠。所述第一组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 ct/cfDNA。所述第二组磁珠 ,用于识别并结合所述生物样品中的 B 细胞。所述第三组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 T 细胞。所述第四组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 gDNA。所述第五组磁珠 ,用于识别并结合所述生物样品中的 mRNA。所述第六组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 miRNA。所述第一组磁珠、第二

组磁珠、第三组磁珠、第四组磁珠、第五组磁珠以及第六组磁珠置于所述生物样品溶液中后，分别结合所述生物样品中的 ct/cfDNA、B 细胞、T 细、gDNA、mDNA 和 miRNA，再经由所述不同孔径的通孔 124 流出所述套管 12 外，从而对所述生物样品中的 ct/cfDNA、B 细胞、T 细、gDNA、mDNA 和 miRNA 进行分离。

可以理解的是，每组磁珠可包括尺寸相同的多个磁珠。所述磁珠包括经过表面化学修饰的磁性纳米粒子以及结合在所述磁性纳米粒子表面的特异性分子。其中，表面化学修饰技术包括羟基化、氨基化、羧基化等处理方法，用于在所述磁性纳米粒子表面键合活性基团，使其具有良好的生物相溶性，通过与生物活性物质中的配基偶联，能够识别并结合相应的抗原、抗体或核酸。所述磁性纳米粒子的材料为铁磁性材料或顺磁性材料。顺磁性材料包括铝、镁、铂等仅较弱地被强磁体吸引的材料。铁磁性材料包括镍、钴、纯铁、铁合金等受磁体强力吸引的材料。所述特异性分子为能够结合 ct/cfDNA、B 细胞、T 细、gDNA、mDNA 或 miRNA 的分子。本实施例中，用于结合 B 细胞和 T 细胞的磁珠上的特异性分子为免疫抗体，用于结合 ct/cfDNA、gDNA、mDNA 和 miRNA 的磁珠上的特异性分子为寡头（Oligo）。

优选地，所述套管 12 包括内管 122 以及套设于所述内管 122 上的外管 123。所述内管 122 以及外管 123 大致呈柱状。可以理解的是，在其他实施例中，所述内管 122 以及外管 123 还可呈球状，或其他任意形状。所述内管 122 以及外管 123 的同一端分别开设有开口，所述内管 122 的开口与所述外管 123 的开口大致平齐设置。所述内管 122 经由开设于所述外管 123 上的开口插入所述外管 123 中，并收容于所述外管 123 中。所述内管 122 的开口作为所述套管 12 的入口 121。所述内管 122 的周壁上开设有多个第一珠孔 125。所述外管 123 的周

壁上开设有多个第二珠孔 126。所述多个第二珠孔 126 的位置与所述多个第一珠孔 125 的位置一一对应，每一第二珠孔 126 和相应的第一珠孔 125 相连通的部分形成所述通孔 124。具体地，每一第二珠孔 126 和相应的第一珠孔 125 相互交叠的部分共同形成所述通孔 124。本实施例中，所述第二珠孔 126 的尺寸和所述第一珠孔 125 的尺寸大致相同。

优选地，所述外管 123 和所述内管 122 能够相对转动。所述第一分离装置 10 进一步包括第一驱动件 14。所述第一驱动件 14 与所述内管 122 和所述外管 123 中的一个相连接，用于驱动所述内管 122 和所述外管 123 中的一个相对另一个转动，以改变所述第二珠孔 126 与相应第一珠孔 125 的交叠面积，进而改变所述通孔 124 的孔径，使得所述通孔 124 的孔径分别与所述第一组磁珠、所述第二组磁珠、所述第三组磁珠、所述第四组磁珠、所述第五组磁珠以及第六组磁珠的尺寸相对应。需要说明的是，通孔 124 的孔径与磁珠的尺寸相对应指的是，所述通孔 124 的孔径与相应的细胞或分子结合的磁珠的尺寸大致相同，或者所述通孔 124 的孔径大于相应的细胞或分子结合的磁珠的尺寸但小于其他待分离的细胞或分子结合的磁珠的尺寸。具体地，所述外管 123 转动套设于所述内管 122 上；所述第一驱动件 14 与所述外管 123 相连接，用于驱动所述外管 123 相对所述内管 122 转动。可以理解的是，在其他实施例中，所述内管 122 可转动地设置于所述外管 123 中；所述第一驱动件 14 与所述内管 122 相连接，用于驱动所述内管 122 相对所述外管 123 转动。

当需要分离 ct/cfDNA 时，所述第一驱动件 14 驱动所述外管 123 转动，改变所述第二珠孔 126 与相应第一珠孔 125 的交叠面积，使得所述通孔 124 的孔径与结合有 ct/cfDNA 的第一组磁珠的尺寸相配合，

从而使得仅结合有 ct/cfDNA 的第一组磁珠由所述通孔 124 流出，从而分离出结合有 ct/cfDNA 的一磁珠。类似地，当需要分离 B 细胞时，所述第一驱动件 14 驱动所述外管 123 转动，改变所述通孔 124 的孔径，使得仅结合有 B 细胞的第二组磁珠能够由所述通孔 124 流出；当需要分离 T 细胞时，所述第一驱动件 14 驱动所述外管 123 转动，改变所述通孔 124 的孔径，使得仅结合有 T 细胞的第三组磁珠能够由所述通孔 124 流出；当需要分离 gDNA 时，所述第一驱动件 14 驱动所述外管 123 转动，改变所述通孔 124 的孔径，使得仅结合有 gDNA 的第四组磁珠能够由所述通孔 124 流出；当需要分离 mRNA 时，所述第一驱动件 14 驱动所述外管 123 转动，改变所述通孔 124 的孔径，使得仅结合有 mRNA 的第五组磁珠能够由所述通孔 124 流出；当需要分离 miRNA 时，所述第一驱动件 14 驱动所述外管 123 转动，改变所述通孔 124 的孔径，使得仅结合有 miRNA 的第六组磁珠能够由所述通孔 124 流出。可以理解的是，为使结合有 ct/cfDNA、B 细胞、T 细胞、gDNA、mDNA 以及 miRNA 的磁珠能够按照从小到大的顺序依次从所述通孔 124 流出，应依照先 B 细胞、T 细胞、miRNA、ct/cfDNA、mRNA，最后 gDNA 的顺序进行分离。

可以理解的是，在其他实施例中，可以直接在所述套管 12 上开设具有不同孔径且可控制开闭的多个通孔 124，例如设置可封盖通孔 124 的盖体，通过盖体的打开/关闭控制通孔 124 的开闭。所述多个通孔 124 的孔径分别与结合有 ct/cfDNA、B 细胞、T 细胞、gDNA、mDNA 或 miRNA 的磁珠的尺寸相配合，通过控制不同孔径通孔 124 的开闭，使得分别结合有 ct/cfDNA、B 细胞、T 细胞、gDNA、mDNA 以及 miRNA 的磁珠按照从小到大的顺序依次从所述通孔 124 流出。

可以理解的是，在其他实施例中，所述通孔 124 的数量可为一个

或两个，相应的所述第一珠孔 125 和第二珠孔 126 的数量分别为一个或两个。

优选地，所述第一分离装置进一步包括控制器 16。所述控制器 16 与所述第一驱动件 14 相连接，用于控制所述第一驱动件 14 驱动所述外管 123 或内管 122 转动，进而控制改变所述通孔 124 的孔径。所述控制器 16 进一步控制所述通孔 124 的孔径变化的频率。所述控制器 16 控制所述通孔 124 的孔径由小变大，从而使得具有不同尺寸的磁珠能够按照从小到大的顺序依次单独从所述通孔 124 流出。

优选地，所述套管 12 进一步包括导管 128。所述外管 123 的底部开设有导引孔，所述导管 128 与所述导引孔相连通，用于将溢出于所述外管 123 与所述内管 122 之间的缝隙中的生物样品溶液导出。

优选地，所述第一分离装置 10 进一步包括磁场发生器 18，用于产生磁场。所述磁场发生器 18 产生的磁场作用于所述内管 122 内部，使得所述磁珠在所述磁场的作用力下吸附于所述磁场发生器 18 上。所述磁场发生器 18 用于搅拌所述生物样品溶液，使得所述多个磁珠能够由所述通孔 124 顺畅地流出。本实施例中，所述磁场发生器 18 产生的磁场为电磁场，例如所述磁场发生器 18 为电磁棒。可以理解的是，在其他实施例中，所述磁场发生器 18 产生的磁场还可为恒磁场，例如所述磁场发生器 18 为铷铁磁棒。

优选地，所述第一分离装置 10 进一步包括第二驱动件 19。所述第二驱动件 19 与所述磁场发生器 18 相连接，用于驱动所述磁场发生器 18 进入或移出所述内管 122，以及驱动所述磁场发生器 18 搅拌所述生物样品溶液。所述第二驱动件 19 进一步与所述控制器 16 相连接，所述控制器 16 控制所述第二驱动件 19 驱动所述磁场发生器 18。

使用时，所述第一组磁珠、第二组磁珠以及第三组磁珠被注入所

述生物样品溶液中，在所述第一组磁珠结合 ct/cfDNA，所述第二组磁珠结合 B 细胞，以及所述第三组磁珠结合 T 细胞后，所述第二驱动件 19 驱动所述磁场发生器 18 进入所述内管 122 中，所述第一组磁珠、第二组磁珠以及第三组磁珠在磁场力的作用下被吸附于所述磁场发生器 18 上；所述第二驱动件 19 驱动所述磁场发生器 18 移出所述内管 122。所述第四组磁珠、第五组磁珠以及第六组磁珠被注入所述生物样品溶液中，在所述第四组磁珠结合 gDNA，所述第五组磁珠结合 mRNA，所述第六组磁珠结合 miRNA 后，结合有 ct/cfDNA 的第一组磁珠、结合有 B 细胞的第二组磁珠以及结合有 T 细胞的第三组磁珠被注入所述生物样品溶液中。当所述磁场发生器 18 产生的磁场为电磁场时，在所述第四组磁珠结合 gDNA，所述第五组磁珠结合 mRNA，所述第六组磁珠结合 miRNA 后，所述第二驱动件 19 驱动所述磁场发生器 18 再次进入所述内管 122，所述磁场发生器 18 产生的电磁场被去除，例如通过切断电源的方式，使得吸附在所述磁场发生器 18 上的结合有 ct/cfDNA 的第一组磁珠、结合有 B 细胞的第二组磁珠以及结合有 T 细胞的第三组磁珠被释放于所述生物样品溶液中。当所述磁场发生器 18 产生的磁场为恒磁场时，在所述第二驱动件 19 驱动所述磁场发生器 18 移出所述内管 122 后，吸附于所述磁场发生器 18 上的结合有 ct/cfDNA 的第一组磁珠、结合有 B 细胞的第二组磁珠以及结合有 T 细胞的第三组磁珠在外力作用下脱离所述磁场发生器 18；在所述第四组磁珠结合 gDNA，所述第五组磁珠结合 mRNA，所述第六组磁珠结合 miRNA 后，直接将结合有 ct/cfDNA 的第一组磁珠、结合有 B 细胞的第二组磁珠以及结合有 T 细胞的第三组磁珠注入生物样品溶液中。

优选地，所述分离提取装置进一步包括回收装置 30，用于回收

由所述套管 12 流出的第一组磁珠、第二组磁珠、第三组磁珠、第四组磁珠、第五组磁珠以及第六组磁珠。具体地，所述回收装置 30 设置有多个通道，所述多个通道分别与所述多个通孔 124 一一连通，以对由所述通孔 124 流出的磁珠一一进行回收。可以理解的是，在其他实施例中，所述回收装置 30 可仅设置一个通道，经由所述多个通孔 124 流出的磁珠经所述通道回收于所述回收装置 30 中。

优选地，所述分离提取装置 100 进一步包括第二分离装置 40，用于分离所述生物样品中的 CTCs 和 CTM。所述第二分离装置 40 基于肿瘤细胞大小的分离法（ISET，isolation by size of epithelial tumor cells）进行过滤。具体地，所述第二分离装置 40 为滤膜，所述滤膜容置于所述套管 12 的内管 122 中，并将所述内管 122 的内腔分隔为上、下两部分，用于过滤所述生物样品溶液中的 CTCs 和 CTM。在滤掉 CTCs 和 CTM 后，对所述生物样品中的溶液中的 ct/cfDNA、B 细胞、T 细胞、ctDNA、gDNA、mDNA 和 miRNA 进行分离。可以理解的是，在其他实施例中，所述滤膜还可以设置于所述套管 12 的上方或者入口处。所述滤膜可以为聚碳酸酯（Track-etched）膜、微筛（Micro Sieve）膜、微栅（TEM Grid）膜等任何可用于过滤的薄膜。本实施例中，所述滤膜的孔径为 2.6~10um。CTCs 一般是大于 25um，核质比例很高，染色体及细胞核的形态异常的细胞。CTM 是一团黏连在一起的肿瘤细胞，其尺寸较大。经过所述滤膜过滤后，尺寸较大的 CTCs 和 CTM 富集于所述滤膜上，从而分离出 CTCs 和 CTM。分离后的 CTCs 和 CTM 可取出，用于进行染色鉴定。

优选地，在其他实施例中，所述第二分离装置 40 为过滤装置。所述第二分离装置 40 与所述第一分离装置 10 相连通，在所述生物样品中的 CTCs 和 CTM 经由所述第二分离装置 40 分离后，所述生物样

品溶液注入所述第一分离装置 10 以对生物样品中的 ct/cfDNA、B 细胞、T 细胞、ctDNA、gDNA、mDNA 和 miRNA 进行分离。所述第二分离装置 40 包括滤瓶以及滤膜。所述滤膜容置于所述滤瓶中，并将所述滤瓶的内腔分隔为上、下两部分，用于过滤所述生物样品溶液中的 CTCs 和 CTM。将血液样品中的红细胞裂解后，注入所述滤瓶中，并通过所述滤膜过滤后流入所述滤瓶的底部。可以理解的是，所述滤瓶可一体成型，也可由可拆卸地两部分组装形成。

优选地，所述第二分离装置 40 进一步包括压力检测装置以及压力泵。所述压力泵与所述滤瓶位于所述滤膜下方的部分相连通，用于调节所述滤瓶内位于所述滤膜下方的腔体的压力，进而调节生物样品经由所述滤膜的过滤速度。所述压力检测装置用于检测所述滤瓶内位于所述滤膜下方的腔体的压力。所述压力泵依据所述压力检测装置的检测结果对所述滤瓶内位于所述滤膜下方的腔体的压力进行自动调节。

可以理解的是，在其他实施例中，所述第二分离装置 40 还可通过使用表面功能化的膜或管道系统吸附，从而进行 CTCs 分离。CTCs 高表达 EpCAM（epithelial cell adhesion molecule，上皮细胞黏附分子），同时也表达 Cytokeratin's 4-6，8，10，13 或 19（细胞角蛋白 4-6，8，10，13 或 19）。在膜或管道表面偶联抗 EpCAM、Cytokeratin's 4-6，8，10，13 或 19 抗体，当生物样品流经膜或管道表面时，CTCs 的表面抗原即可与相应的抗体结合，从而实现 CTCs 的捕获。由于 CTCs 不表达 CD45，还可利用 CD45 负向筛选的方法进行 CTCs 分离。可以理解的是，在其他实施例中，所述第二分离装置 40 还可以利用迪恩涡流力学原理分选的方法进行 CTCs 分离。

本发明提供的分离提取装置 100 通过不同尺寸的磁珠结合不同

尺寸的细胞及生物分子，且通过第一驱动件 14 驱动外管 123 转动以调节所述通孔 124 的孔径，使得不同尺寸的磁珠能够依次单独通过所述通孔 124，从而对所述生物样品中的多种细胞及生物分子同时进行分离。

请一并参阅图 3，图 3 为本发明提供的细胞及生物分子测试系统 200 的模块图。所述测试系统 200 包括上述任一种的分离提取装置 100、微流控系统 210 以及基因测序系统 230。所述微流控系统 210 与所述分离提取装置 100 相结合，用于利用所述分离提取装置 100 分离出的核酸分子进行测序文库构建。所述基因测序系统 230 与所述微流控系统 210 相结合，用于对分离出的不同核酸分子进行碱基序列检测。

本发明提供的细胞及生物分子测试系统 200 操作中，无需人工的上样、上机等操作，实现了自动化，提高了加工效率。

以上实施方式仅用以说明本发明的技术方案而非限制，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发明的精神或范围的情况下，在其它实施例中实现。因此，本发明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。

权 利 要 求 书

1.一种细胞及生物分子分离提取装置，包括第一分离装置，其特征在于，所述第一分离装置包括：

套管，用于盛装生物样品溶液，所述套管上开设有供生物样品溶液流出的通孔，所述通孔具有不同孔径；以及

多组磁珠，每组磁珠用于识别并结合所述生物样品中的不同细胞或分子，其中各组磁珠之间的尺寸各不相同，所述多组磁珠分别从对应孔径的所述通孔流出。

2.如权利要求 1 所述的细胞及生物分子分离提取装置，其特征在于，所述套管包括内管以及套设于所述内管上的外管，所述内管的周壁上开设有第一珠孔，所述外管的周壁上开设有第二珠孔，所述第二珠孔和所述第一珠孔的位置一一对应，每一第二珠孔和相应的第一珠孔相连通形成所述通孔。

3.如权利要求 2 所述的细胞及生物分子分离提取装置，其特征在于，所述第一分离装置进一步包括第一驱动件，所述外管和所述内管能够相对转动，所述第一驱动件与所述外管和所述内管中的一个相连接，用于驱动所述外管和所述内管中的一个相对另一个转动，以改变所述第二珠孔与相应的第一珠孔的交叠面积，从而形成不同孔径的所述通孔。

4.如权利要求 3 所述的细胞及生物分子分离提取装置，其特征在于，所述第一分离装置进一步包括控制器，所述控制器与所述第一驱动件相连接，用于控制所述第一驱动件驱动所述外管或内管转动。

5.如权利要求 2 所述的细胞及生物分子分离提取装置，其特征在于，所述套管进一步包括导管，所述外管的底部开设有导引孔，所述导管与所述导引孔相连通。

6.如权利要求 1 所述的细胞及生物分子分离提取装置，其特征在于，所述第一分离装置进一步包括磁场发生器，用于搅拌盛装于所述套管中的生物样品溶液，所述磁场发生器发出磁场作用于所述套管内部；

优选地，所述第一分离装置进一步包括第二驱动件，所述第二驱动件与所述磁场发生器相连接，用于驱动所述磁场发生器进入及移出所述套管。

7.如权利要求 6 所述的细胞及生物分子分离提取装置，其特征在于，所述多组磁珠包括：

第一组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 ct/cfDNA；

第二组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 B 细胞；

第三组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 T 细胞；

第四组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 gDNA；

第五组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 mRNA；以及

第六组磁珠，用于识别并结合所述生物样品中的 miRNA；

优选地，在所述第一组磁珠结合 ct/cfDNA，所述第二组磁珠结合 B 细胞，以及所述第三组磁珠结合 T 细胞后，所述第二驱动件驱动所述磁场发生器进入所述套管；在所述磁场发生器吸附所述第一组磁珠、第二组磁珠以及第三组磁珠后，所述第二驱动件驱动所述磁场发生器移出所述套管；在所述第四组磁珠结合 gDNA，所述第五组磁珠结合 mRNA，所述第六组磁珠结合 miRNA 后，结合有 ct/cfDNA 的第一组磁珠、结合有 B 细胞的第二组磁珠以及结合有 T 细胞的第三组磁珠被注入所述生物样品溶液中；

优选地，所述磁场发生器产生的磁场为电磁场，在所述第四组磁珠结合 gDNA，所述第五组磁珠结合 mRNA，所述第六组磁珠结合

miRNA 后，所述第二驱动件驱动所述磁场发生器再次进入所述套管，所述磁场发生器产生的电磁场被去除，使得吸附在所述磁场发生器上的第一组磁珠、第二组磁珠以及第三组磁珠被释放于所述套管中。

8.如权利要求 1 所述的细胞及生物分子分离提取装置，其特征在于，进一步包括回收装置，用于回收由所述套管流出的第一组磁珠、第二组磁珠、第三组磁珠、第四组磁珠、第五组磁珠以及第六组磁珠；

优选地，所述回收装置设置有多个通道，所述多个通道分别与所述多个通孔一一连通。

9.如权利要求 1 所述的细胞及生物分子分离提取装置，其特征在于，进一步包括第二分离装置，用于分离所述生物样品中的 CTCs 和 CTM；

优选地，所述第二分离装置为滤膜。

10.一种细胞及生物分子测试系统，其特征在于，包括权利要求 1-9 中任一项所述的细胞及生物分子分离提取装置、微流控系统以及基因测序系统，所述微流控系统与所述细胞及生物分子分离提取装置相结合，所述基因测序系统与所述微流控系统相结合。

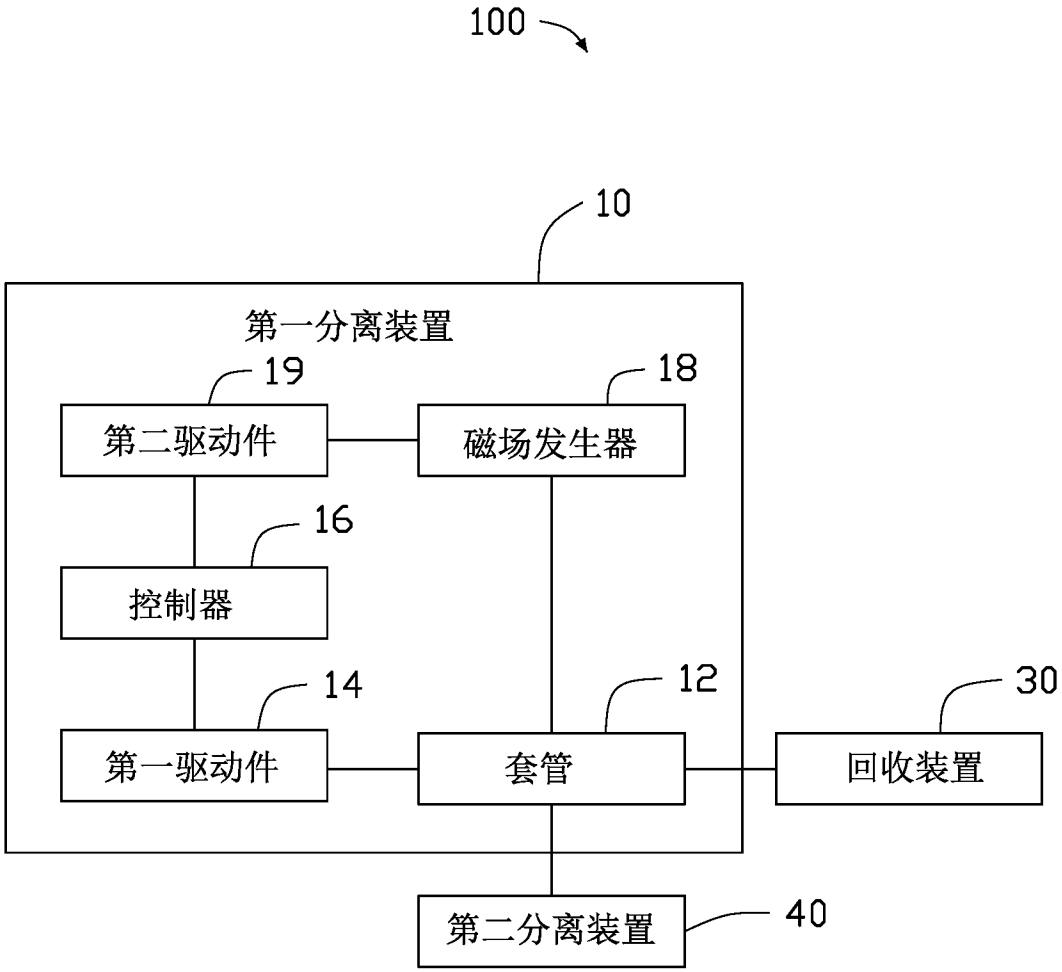

100
10
第一分离装置
19
18
第二驱动件
磁场发生器
16
控制器
14
12
30
第一驱动件
套管
回收装置
第二分离装置
40

图 1

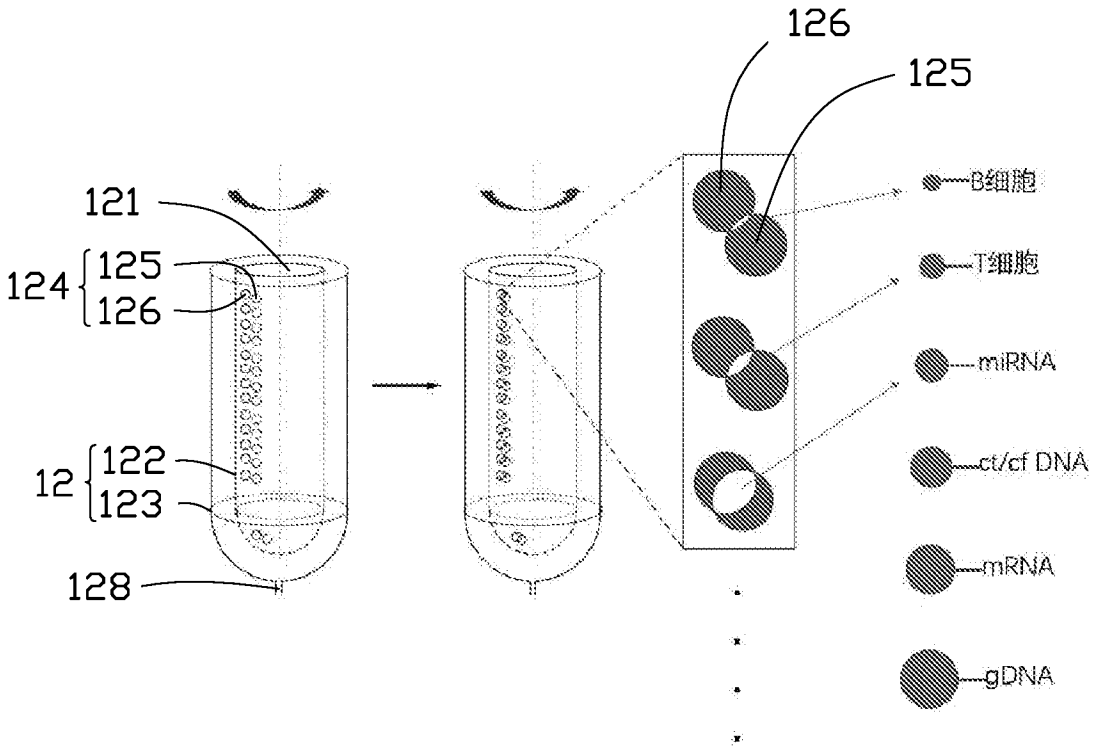

126
125
121
124
125
126
12
122
123
128
B细胞
T细胞
miRNA
ct/cf DNA
mRNA
gDNA

图 2

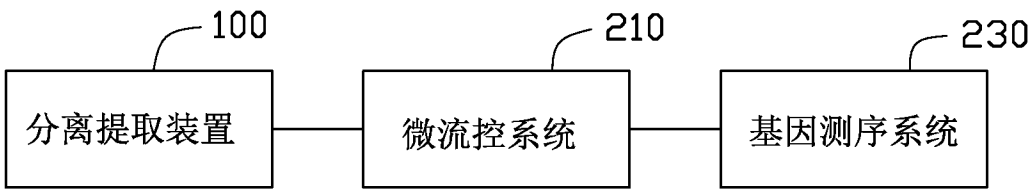


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2018/102346

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M 1/00(2006.01)i; C12M 1/24(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12M

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; SIPOABS; CPRSABS; CNKI; CNTXT; 百度学术; BAIDU; and Key Terms: 细胞,分子,核酸, 分离, 提取, 孔, 套管, 磁场, 磁力, 磁珠, 内孔, 外孔, 微流控, 基因测序等; DWPI; SIPOABS; EPTXT; USTXT; WOTXT; JPTXT; PUBMED; WEB OF SCIENCE; and Key Terms: cell, molecule, nucleic acid, segregat+, extract+, pick+, aperture, bore, port, tube, magnetic field, magnetism, bead, inner tube, outer tube, microfluidic, gene sequenc+等

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 105219641 A (BEIJING ZIYOUDU SCIENCE MACHINERY CO., LTD.) 06 January 2016 (2016-01-06) see claims 1-9, description, paragraphs [0007]-[0009], and figures 1-6	1, 6-10
Y	CN 102690786 A (WUHAN GELAN LIFU TECHNOLOGY CO., LTD.) 26 September 2012 (2012-09-26) see claims 14-17, description, paragraphs [0028]-[0030], and figures 1-9	1, 6-10
Y	CN 104560950 A (SHENZHEN HAPLOX BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 29 April 2015 (2015-04-29) see description, paragraphs [0029]-[0042]	10
A	CN 103923829 A (GENMAG BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 16 July 2014 (2014-07-16) see description, paragraphs [0006]-[0050]	1-10
A	CN 206902125 U (CHONGQING BIOWAVELET TECHNOLOGY CO., LTD.) 19 January 2018 (2018-01-19) see description, paragraphs [0042]-[0048]	1-10

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ 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

"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	Date of mailing of the international search report
23 April 2019	**23 May 2019**

Name and mailing address of the ISA/CN	Authorized officer
National Intellectual Property Administration, PRC (ISA/CN) **No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088** **China**	
Facsimile No. **(86-10)62019451**	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2018/102346

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 207646191 U (GENEREACH BIOTECHNOLOGY CORP.) 24 July 2018 (2018-07-24) see description, paragraphs [0006]-[0015]	1-10
A	CN 105062888 A (EASTWIN SCIENTIFIC EQUIPMENTS INC.) 18 November 2015 (2015-11-18) see description, paragraphs [0007]-[0022]	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2018/102346

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	105219641	A	06 January 2016	CN	105219641	B	12 December 2017
				US	2017191914	A1	06 July 2017
				EP	3150695	A1	05 April 2017
				WO	2015180561	A1	03 December 2015
				EP	3150695	A4	17 January 2018
CN	102690786	A	26 September 2012	CN	102690786	B	12 February 2014
CN	104560950	A	29 April 2015		None		
CN	103923829	A	16 July 2014	CN	103923829	B	26 August 2015
CN	206902125	U	19 January 2018		None		
CN	207646191	U	24 July 2018		None		
CN	105062888	A	18 November 2015	CN	105062888	B	15 September 2017

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2018/102346

A. 主题的分类

C12M 1/00(2006.01)i; C12M 1/24(2006.01)i

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

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C12M

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

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））

CNABS; SIPOABS; CPRSABS; CNKI; CNTXT; 百度学术和检索词：细胞,分子,核酸，分离，提取，孔，套管，磁场，磁力，磁珠，内孔，外孔，微流控，基因测序等; DWPI; SIPOABS; EPTXT; USTXT; WOTXT; JPTXT; PUBMED; WEB OF SCIENCE和检索词：cell，molecule， nucleic acid，segregat+，extract+，pick+， aperture， bore， port，tube，magnetic field ， magnetism，bead，inner tube，outer tube，microfluidic，gene sequenc+等

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 105219641 A (北京自由度科学机器有限公司) 2016年 1月 6日 (2016-01-06) 参见权利要求1-9，说明书第[0007]-[0009]段，图1-6	1，6-10
Y	CN 102690786 A (武汉格蓝丽富科技有限公司) 2012年 9月 26日 (2012-09-26) 参见权利要求14-17，说明书第[0028]-[0030]段，图1-9	1，6-10
Y	CN 104560950 A (深圳市海普洛斯生物科技有限公司) 2015年 4月 29日 (2015-04-29) 参见说明书第[0029]-[0042]段	10
A	CN 103923829 A (北京金麦格生物技术有限公司) 2014年 7月 16日 (2014-07-16) 参见说明书第[0006]-[0050]段	1-10
A	CN 206902125 U (重庆微浪生物科技有限公司) 2018年 1月 19日 (2018-01-19) 参见说明书第[0042]-[0048]段	1-10
A	CN 207646191 U (瑞基海洋生物科技股份有限公司) 2018年 7月 24日 (2018-07-24) 参见说明书第[0006]-[0015]段	1-10

☑ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

"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）

"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

"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

"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

"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

"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

"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2019年 4月 23日	2019年 5月 23日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	受权官员 穆飞航 电话号码 (86-10) 62412295

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2018/102346

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 105062888 A（苏州东胜兴业科学仪器有限公司）2015年 11月 18日（2015-11-18） 参见说明书第[0007]-[0022]段	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2018/102346

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	105219641	A	2016年 1月 6日	CN	105219641	B	2017年 12月 12日
				US	2017191914	A1	2017年 7月 6日
				EP	3150695	A1	2017年 4月 5日
				WO	2015180561	A1	2015年 12月 3日
				EP	3150695	A4	2018年 1月 17日
CN	102690786	A	2012年 9月 26日	CN	102690786	B	2014年 2月 12日
CN	104560950	A	2015年 4月 29日		无		
CN	103923829	A	2014年 7月 16日	CN	103923829	B	2015年 8月 26日
CN	206902125	U	2018年 1月 19日		无		
CN	207646191	U	2018年 7月 24日		无		
CN	105062888	A	2015年 11月 18日	CN	105062888	B	2017年 9月 15日