



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106536054 B

(45)授权公告日 2020.04.28

(21)申请号 201580036102.1

(72)发明人 R.维姆伯格-弗里伊德

(22)申请日 2015.06.29

J.H.M.内伊泽恩 A.范德斯托佩

(65)同一申请的已公布的文献号

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

申请公布号 CN 106536054 A

代理人 李静岚 陈岚

(43)申请公布日 2017.03.22

(51)Int.Cl.

B01L 3/00(2006.01)

(30)优先权数据

14175012.5 2014.06.30 EP

(56)对比文件

US 2003049833 A1,2003.03.13,

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

GB 2289222 A,1995.11.15,

2016.12.30

US 4966707 A,1990.10.30,

(86)PCT国际申请的申请数据

US 3634651 A,1972.01.11,

PCT/EP2015/064677 2015.06.29

US 3498909 A,1970.03.03,

(87)PCT国际申请的公布数据

JP 2006047191 A,2006.02.16,

W02016/001126 EN 2016.01.07

审查员 朱芳萍

(73)专利权人 皇家飞利浦有限公司

权利要求书2页 说明书10页 附图4页

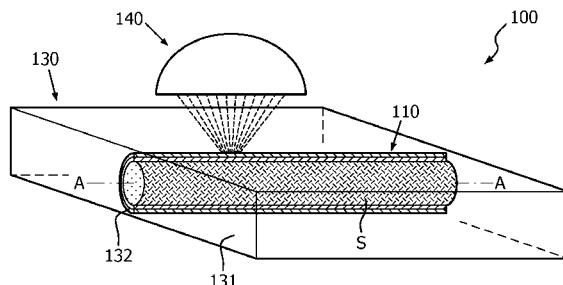
地址 荷兰艾恩德霍芬

(54)发明名称

用于生物样品的样品保持器

(57)摘要

本申请涉及一种样品保持器(110)和系统(100)。本申请还涉及用于处理生物样品(S)的方法和样品保持器或系统在分析方法或诊断方法中的使用。样品保持器(110)包括具有至少部分透明并且至少部分可渗透试剂的壁的管状构件(111)，其中所述管状构件(111)至少部分由透明材料构成。



1. 一种用于处理生物样品(S)的系统(100,200),所述生物样品是活检,所述系统包括样品保持器(110,210)和至少一个补充部件(120,130,150),所述样品保持器包括具有壁的管状构件(111,211),所述壁至少局部地透明并且包括一区域,在该区域所述壁可渗透试剂,使得试剂能够通过该区域到达管状构件(111,211)中的所述样品(S),其中所述管状构件(111,211)至少部分地由透明材料构成,并且所述至少一个补充部件(120,130,150)中的每个具有支座,所述支座能够耦合到所述样品保持器(110,210)的所述管状构件(111,211)的至少一部分。

2. 根据权利要求1所述的系统(100,200),

特征在于,所述管状构件(111,211)具有范围在0.2mm和2mm之间的内径(D)。

3. 根据权利要求1所述的系统(100,200),

特征在于,所述管状构件(111)至少部分由膜构成,和/或所述管状构件(211)包括流体通道,通过所述流体通道可接近在所述管状构件(211)内的样品(S)。

4. 根据权利要求3所述的系统(100,200),

特征在于,所述膜包括多孔聚合物膜。

5. 根据权利要求1到4中的任一项所述的系统(100,200),

特征在于

- 所述至少一个补充部件中的至少一个是用于将样品(S)从为芯针的提取设备(1)转移到所述样品保持器(110)内的转移设备,所述转移设备包括具有第一端和第二端(124)的转移通道(122),所述样品保持器(110)能够连接到所述第一端,所述提取设备(1)能够连接到所述第二端(124);或

- 所述系统包括用于从受检者提取样品(S)的提取设备(1),并且所述至少一个补充部件中的至少一个是用于将样品(S)从为芯针的提取设备(1)转移到所述样品保持器(110)内的转移设备,所述转移设备包括具有第一端和第二端(124)的转移通道(122),所述样品保持器(110)能够连接到所述第一端,所述提取设备(1)能够连接到所述第二端(124);和/或

- 所述至少一个补充部件中的至少一个是用于从受检者提取所述样品(S)的提取设备,所述提取设备具有用于容纳所述样品保持器(110)的支座(152),使得由所述样品保持器摄取所提取的样品;和/或

- 所述至少一个补充部件中的至少一个是具有用于可更换地或永久地容纳所述样品保持器(110)的支座(132,232)的容器。

6. 根据权利要求1到4中任一项所述的系统(100,200),

特征在于其包括用于产生在所述样品保持器(110)中的样品(S)的图像的光学装置(140)。

7. 根据权利要求1到4中任一项所述的系统(100,200),

特征在于,所述至少一个补充部件中的至少一个是具有用于可更换地或永久地容纳所述样品保持器(110)的支座(132,232)的容器,并且所述样品保持器(110)能够或是可旋转地容纳在所述容器中,和/或所述样品保持器(110)在所述容器内在轴向方向(A)上可动。

8. 根据权利要求1到4中任一项所述的系统(100,200),

特征在于,所述至少一个补充部件中的至少一个是具有用于可更换地或永久地容纳所述样品保持器(110)的支座(132,232)的容器,并且所述容器的所述支座(132,232)定义了

用于被至少部分地填充有流体并且用于摄取被浸没在所述流体中的所述样品保持器(110, 210)的腔。

9. 根据权利要求1到4中任一项所述的系统(100)，

特征在于，所述至少一个补充部件中的至少一个是具有用于可更换地或永久地容纳所述样品保持器(110)的支座(132, 232)的容器，并且所述容器包括具有定义了孔的支座(132)的基板(131)，所述孔具有所述样品保持器(110)的所述管状构件(111)的形状。

10. 根据权利要求1到4中任一项所述的系统(100, 200)，

特征在于，所述至少一个补充部件中的至少一个是具有用于可更换地或永久地容纳所述样品保持器(110)的支座(132, 232)的容器，并且所述容器包括用于控制围绕所述样品保持器(110, 210)的所述管状构件(111, 211)的流体流动的流体系统(133, 134, 135, 233, 234, 235)。

11. 一种用于处理生物样品(S)的方法，所述生物样品是活检，所述方法包括以下步骤：

- 将样品转移到具有管状构件(111, 211)的样品保持器(110, 210)，所述管状构件(111, 211)具有至少局部地透明的壁并且包括一区域，在该区域所述壁可渗透试剂，其中所述管状构件(111, 211)至少部分由透明材料构成；

- 将所述样品保持器(110, 210)暴露于至少一种试剂，使得试剂能够通过所述区域到达在所述管状构件(111, 211)中的所述样品(S)。

12. 根据权利要求11所述的方法，

特征在于，其进一步包括以下步骤中的至少一个：

- 在所述样品保持器(110)中的样品(S)的光学检查；
- 从所述样品保持器(110)提取所述样品(S)的兴趣区域(ROI)。

13. 根据权利要求11或12所述的方法，

特征在于，所述试剂包括固定试剂、透化试剂、洗涤试剂、抗淬灭试剂和/或染色试剂。

用于生物样品的样品保持器

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于保持生物样品(例如在其光学检查期间)的样品保持器。此外,它涉及用于处理生物样品的一种系统和一种方法。

背景技术

[0002] 生物样品(例如组织活检)通常通过在石蜡中包埋样品,切割它的节段,并将这些布置在显微镜载玻片上来制备。因为此流程是耗时且费力的,替代的方法已在文献中提出,在该文献中在载玻片上的粘合剂的帮助下样品被从活检转移到显微镜的载玻片(D.L. Troyer等人的“*A Novel Method for Preparing Histology Slides Without a Microtome*”,*Anat. Histol. Embryol.* 31, 129–131, 2002)。

[0003] JP 2006 047191A公开了一种由吸管状毛细管制成的样品容器,该毛细管具有均匀外径,并且其一个或两个孔边缘通过利用压力粘合工艺被封闭,以改进其可操纵性,并适当地和可再现地执行用于低温贮藏的冷却工艺。

[0004] GB 2 289 222 A公开了一种用于从人或动物受检者采集肠胃胀气气体的设备,该设备包括用于插入受检者的直肠的气密采集管和保持装置,保持装置包含可定位在受检者的括约肌内的凹槽中的一对O环,用于利用O环将该设备保持在受检者中,提供气密密封。插入受检者的管的端部是有孔的,并覆盖有纱布过滤器,以防止固体物质的侵入。采集管的该端部也覆盖有透气囊,而管的远端被连接到气密采集袋。

[0005] US5919356A公开了用于采样流体的便携式设备。该设备具有附着到具有内部和外部壁的壳体的穿刺设备。壳体与注射器流体连通,并且包含由至少一个U形中空纤维膜构成的过滤设备。该设备还包括采集室。此外,在该设备中是包括另外的中空纤维膜、分别连接到第一和第二插头的第一和第二端端的感测设备。每一插头接触壳体的内部壁。另外的中空纤维膜包含感测剂。该设备被布置成使得样品通过穿刺设备被采集,并穿过过滤设备,其中其穿过一个或多个U形中空纤维膜到该采集室。从采集室,其在穿到注射器之前穿过包含感测剂设备的中空纤维膜。

[0006] US2003/0049833A1公开了一种包括具有用于接收样品材料的开口和至少一个可压缩节段的小管的样品器皿,接收该小管的至少一部分的大体刚性容器;和与小管中的开口流体连通的接口。

[0007] US4966707公开了一种用于在微孔膜的一个表面处建立的在其之间的接口处将来自馈送液体流的溶质到提取到提取剂液体流的装置,该多孔膜可包括至少一个中空纤维。

[0008] US3498909公开了一种脱盐装置,其采用被布置在液密压力腔中的多个多孔玻璃细长毛细管膜。

[0009] US2007/0163942 A1公开了一种中空纤维膜模块,其包括包含在圆柱形箱中的大量中空纤维膜,其中,每个中空纤维膜的被保持敞开的一端固定到圆柱形箱,而中空纤维膜的另一端被分成多于一个小束,而包含在独立的小束中的端部被保持在一起并被堵塞。

[0010] US2008/0070295 A1公开了一种用于制备基于定影剂的细胞学悬浮液的烧瓶。该

烧瓶配备有至少部分地浸没在悬浮液中的过滤元件。过滤元件是以形成筐的过滤材料网的形式，其周边被固定在烧瓶上并且其中心被连接到管，管向烧瓶的开口延伸，与在烧瓶中的位置维持元件相关联并适于允许通过吸管汲取悬浮液。

发明内容

[0011] 鉴于上述情况，本发明的目的是提供一种允许替代和优选更简单的生物样品（例如活检）的处置的手段。

[0012] 这个目的是通过如在独立权利要求中定义的本发明来解决。优选实施例在从属权利要求中限定。

[0013] 本申请的第一方面涉及一种样品保持器，其用于保持应受到一定处理的生物样品，诸如组织切片和/或细胞团块。该处理可例如包括样品的固定、染色和/或检查。样品保持器包括管状构件，管状构件具有至少局部透明并且进一步至少局部地可渗透试剂的壁。管状构件至少部分由透明材料构成。

[0014] 样品保持器具有的优点是：其允许生物样品的简单且快速的处理。这是因为，这样的样品只是必须由样品保持器的管状构件摄取，以使其进入允许视觉检查并且同时可接近以暴露于试剂的条件。而且，样品保持器允许生物样品的高效处理，由于不需要切片或超薄切片并且不存在在样品处理期间的样品材料的损失。另外，样品保持器允许生物样品的环境友好的处理，由于石蜡处理是没有必要的并且环境危害减少。

[0015] 样品保持器可以基本上或者甚至完全由管状构件构成，这提供了简单且成本高效的设计。样品保持器还可以包括附加的部件，如壳体件或用于处置管状构件的装置。这允许样品保持器集成到其他设备中和/或样品保持器的更方便的处置。

[0016] 管状构件可以一般具有任何形状，只要提供可容纳生物样品的某个腔。通常，该管状构件将具有基本上直的细长腔，特别是圆柱形腔，其中管状构件和/或腔可以具有圆形、椭圆形、多边形或任意横截面。直腔可以容易地生产，例如通过挤压，并且其允许容易填充样品材料。管状构件的外形可以对应于所述腔的形状（在尺寸上通过壁的厚度增大），即其也可以是例如圆柱形的。管状构件的腔将通常在至少一端处对外界开放，以允许样品的摄取。优选，腔将在另一端也开放，以允许利用生物样品填充管状构件期间空气的排气。

[0017] 管状构件的壁（的一部分）的透明度应使得它允许内部的视觉检查，即容纳在样品保持器中的样品的视觉检查。为了最小化光学畸变，壁应优选具有在其透明性的区域中的规则和/或简单的几何形状，例如平面的或圆柱形的形状。

[0018] 管状构件的壁（的一部分）的渗透性应使得样品应被暴露于的试剂可从外部穿过壁通过并且到达在管状构件的内部腔中的样品。该渗透性优选使得流体试剂可以穿过壁（在一个或两个方向），例如气态试剂或在溶液中溶解的试剂，例如染色抗体，因为很多实际相关的试剂是流体。该壁可以包括多个孔或气孔，特别是具有小于约10nm，小于约100nm，小于约1μm，小于约10μm，或小于约100μm的直径的孔或气孔。上面提到的直径具有以下优点：实现对可以通过壁的成分的选择。另外或替代地，孔或气孔的空间密度可以优选为至少约1孔/mm²，至少约100孔/mm²，至少约10000孔/mm²，或最优选至少约1000000孔/mm²。所提到的密度具有以下优点：可实现穿过壁的高流率，同时维持壁的足够稳定性。

[0019] 其中管状构件的壁是透明的并且它是可渗透的所在区域可以是不同的或可以（至

少部分地)重叠。优选地,壁的相同区域是同时透明的和可渗透的。最优先的是,整个管状构件由透明和可渗透试剂的壁构成。这具有整个管状构件具有简单的设计并且可以用单一材料构建的优点。

[0020] 样品保持器可任选地是一次性元件,其例如仅使用一次用于单个样品的处理。因此可以防止样品和/或不同应用的试剂之间的污染。

[0021] 本申请的第二方面涉及一种用于处理生物样品的系统,所述系统包括本申请的第一方面的管状构件和至少一个“补充部件”,至少一个补充部件中的每个具有支座,该支座可以耦合到样品保持器的管状构件的至少一部分。

[0022] 该系统和样品保持器可以任选被认为不同的元件,尤其是当它们可以被独立制造、储存和/或出售时,其可独立地被要求保护。

[0023] 该系统的优点是,它的“补充部件”可以提供额外的功能,例如样品和/或试剂从外部源到样品保持器内的转移。该系统的另外优点与如上面关于根据本申请的第一方面的样品保持器所讨论的相同。

[0024] 该系统的支座到样品保持器的管状构件的“耦合”可包括相互机械附着。另外地或可替代地,它可以包括允许在管状构件和补充部件之间的材料(样品,试剂等)的交换的功能耦合。

[0025] 补充部件可以优先是可重复使用的元件或设备,这在经济上和生态上是有利的。

[0026] 本申请的第三方面涉及用于处理生物样品的方法,所述方法包括以下步骤:

[0027] - 将样品转移到具有管状构件的样品保持器(优先地本申请的第一方面的样品保持器)内,管状构件具有至少局部地透明并且至少局部地可渗透试剂的壁。

[0028] - 将样品保持器暴露于至少一种试剂,使得该试剂可通过管状构件的可渗透壁到达样品保持器内的样品。

[0029] 该方法具有以下优点,它允许生物样品的简单且快速的处理。该方法还允许生物样品的高效的、环境友好的处理。这些优点已在上面在本申请的第一方面中进行讨论。

[0030] 本申请的第四方面涉及根据第一和/或第二方面的样品保持器和/或系统在分析方法或诊断方法中的使用。

[0031] 使用根据第一和/或第二方面的样品保持器和/或系统允许简单的快速的分析方法或诊断方法。该使用还允许高效的、环境友好的分析方法或诊断方法。上文在本申请的第一方面中讨论类似的优点。

[0032] 该样品保持器、系统、方法以及使用基于以下概念:样品被容纳在至少局部透明且至少局部地可渗透的管状构件中,使得试剂可穿过所述壁到达样品。因此,提供用于这些方面之一的解释和优点对于其他方面也是类似有效的。

[0033] 在第一优先的实施例中,样品保持器的管状构件可具有内部直径,内部直径的范围为约0.2mm至约2mm之间,优先在约0.5mm和约1.5mm之间(其中,所述直径按照定义应是管状构件的中空腔的横截面的直径,所述横截面垂直于所述腔的延伸轴;在非圆形横截面的情况下,它的“直径”应被定义为横截面的边界上的两个点之间的最大距离)。直径的所述优先值允许通过光学方法对管状构件内的样品的深入检查。管状构件(在垂直于直径的方向上测得的)的长度典型地具有在约2mm和约50mm之间的范围。

[0034] 管状构件可以一般由具有在考虑中的应用所需的属性(例如足够的稳定性,与生

物材料的兼容性,透明性和/或渗透性)的任何材料或多个材料制成。优选地,管状构件至少部分由膜,特别是多孔聚合物膜构成。该膜可具有多个气孔和/或小于约0.2mm,优选小于约100μm,或优选小于约50μm的厚度。

[0035] 优选的材料包括微孔材料,过滤膜,径迹蚀刻的材料,通过相分离(例如热或反应诱导的相分离)制成的膜,或具有明确定义和常规气孔大小的微模制的膜材料。这样的材料可以是聚合物,陶瓷,玻璃和/或硅。玻璃和硅的多孔材料可通过蚀刻来制造,而聚合物膜通过复制或通过相分离来制造。一般的膜和特别列出的膜具有它们能够被容易地制造有期望的气孔大小和尺寸的优点。此外,它们通常与生物样品兼容。

[0036] 根据另一个实施例,样品保持器可包括至少一个流体通道,通过该流体通道可接近该管状构件中的样品。流体通道可特别具有约1μm至约1mm的直径。它可以是例如在管状构件的壁中的孔。最优选地,该管状构件具有多个流体通道(孔),其允许试剂基本上通过一区域接近样品。

[0037] 在上文提到的实施例中,可使用各种材料,其中在管状构件的壁中人为创建(微)流体通道。除了交联的聚合物,如硅树脂、丙烯酸酯、聚氨酯橡胶、环氧树脂、聚酰亚胺、环烯、甲基丙烯酸酯、丙烯酰胺等之外,用于此目的的合适的材料是玻璃,硅,硅橡胶热塑性聚合物,如聚丙烯、聚苯乙烯、聚甲基丙烯酸甲酯、聚碳酸酯、聚酯、聚酰胺、聚氨酯、环烯烃(共)聚合物,基于聚醚酯、酰胺或烯烃的热塑性弹性体。用于制造具有(微)流体通道的上文提到的材料的可能流程包括铸造,挤压,热成型,注射成型,微模制反应注射成型,激光机加工,层压。一般的具有流体通道的材料和特别列出的实施例具有的优点是,它们可以容易地与其他设备和部件,例如与外壳集成和/或整体制造。

[0038] 在根据本申请的第二方面的用于处理生物样品的系统中,至少一个“补充部件”中的至少一个可以是或包括转移设备,其用于将样品从提取设备转移到样品保持器内,其中所述转移设备包括具有第一端(它的“支座”)和第二端的转移通道,样品保持器可以连接到该第一端并且该提取设备可以连接到第二端。该系统可以包括或可以不包括用于从受检者提取生物样品的提取设备。提取设备可以是本领域中通常使用的用于从受检者提取生物样品的设备。可使用多种类型的这样的提取设备,包括针,例如活检针。最优选地,可以存在在样品保持器和第一端之间和/或在提取设备和第二端之间的封闭连接,以防止材料的逃逸。当提取设备被连接到第二端并且样品保持器被连接到第一端时,样品材料可以从提取设备经由设备的转移通道被转移到样品保持器中。在这样的转移之后,样品保持器可以从转移设备断开并且按需要在考虑的应用中使用。转移设备的使用具有的优点是,用于从提取设备转移样品到样品保持器内的装置可以被多次重复使用,同时样品保持器可以具有简单和成本高效的设计。

[0039] 上文提到的转移通道的第一端和/或第二端可特别包括分别对应于样品保持器(或者更具体地,它的管状构件)的或提取设备的形状的开口。而且,这些端部可以优选由可补偿公差并且提供密封连接的某弹性材料(例如橡胶)制成。

[0040] 根据另一实施例,该系统的至少一个“补充部件”中的至少一个可以是或包括提取设备(例如活检针),用于提取来自受检者的样品,其中所述提取设备特征在于用于容纳样品保持器的支座,使得所提取的样品被摄取到样品保持器内。因此,来自提取设备的样品(例如活检)到保持器内的额外转移不是必要的。优选地,样品保持器(带有样品)可以在提

取流程之后被从提取设备移除以用于进一步处理(例如染色、光学调查等)。

[0041] 根据另一实施例,该系统可以(另外地或可替代地)包括用于产生在样品保持器中的样品的图像的光学装置。光学装置可以例如包括用于由用户进行视觉检查的显微镜,特别是具有用于产生样品的图像的数字扫描显微镜。图像可以例如通过在静止或移动的样品保持器中的样品的共焦显微镜检查来产生。因为管状构件的透明性,与这样的光学系统结合的样品保持器的使用是可能的。

[0042] 在又一实施例中,该系统的至少一个“补充部件”中的至少一个可以是或包括带有用于可更换地或永久地容纳样品保持器的支座的容器。样品保持器的尺寸和设计特征然后可以被减少到容纳样品的功能所必需的最小值,同时附加的功能可以由容器提供。这个功能例如可以包括通过提供可由用户把持的部件更好地处置样品保持器。另外地或可替代地,功能可包括样品保持器到检查装置(如显微镜)的光学适配。容器可以设计成容纳仅一个样品保持器或同时容纳两个或更多的样品保持器。此外,该样品保持器可以可更换地被容纳,即,使得它可以由用户有意引入和/或从容器移除。可替代地,样品保持器可永久地容纳在容器中,例如如果它是其集成部分的话。

[0043] 在上述实施例的任选的进一步发展中,样品保持器被容纳在容器中,使得其可相对于容器围绕其延伸轴旋转。另外或可替代地,样品保持器可以在容器内的轴向上(即在其延伸轴的方向)可移动。在这些情况下,容器可保持静止(例如附着到显微镜桌子),同时可以通过相对于容器旋转和/或移位样品保持器来检查在样品保持器中的样品的所有部分。

[0044] 在具有容器的系统的另一优选实施例中,所述容器的支座包括用于摄取样品保持器的腔,其中样品保持器被包埋在填充腔(的其余部分)的流体中。腔的流体填充空间可以例如包括样品保持器中的样品应被暴露于的试剂,从而允许试剂与样品保持器的良好控制交换。在这种情况下,将优选存在用于引入(新鲜)试剂到腔内的装置和/或用于从腔去除(用过的)试剂的装置。在优选的实施例中,试剂流体通过泵送装置致动,以增强样品的穿透。流体线路可被设计为微流体设备,以在只使用少量的试剂的同时实现高对流。在另一示例中,腔可以填充有用于调整管状构件和/或容器的壁(或壁的透明部分)的光学折射率的折射率匹配流体,使得便于样品的光学检查。

[0045] 该容器可以一般具有适合容纳样品保持器的任何形状。它可以例如包括两个平板(其中至少一个应是至少部分透明的),两个平板被布置为间隔开一距离,并在之间(优选在填充有折射率匹配流体的空间中)夹持样品保持器。这提供了通常可以用标准部件来实现的容器的简单设计。在另一个实施例中,容器可以包括具有带有孔的支座的基板,该孔具有样品保持器的管状构件的形状和尺寸(包括一定适当过尺寸以允许游隙并补偿样品保持器的尺寸中的公差)。管状构件的外侧和所述孔的壁之间的剩余间隙可任选地填充有流体,特别是折射率匹配流体。这提供了具有可容易处置的较少部件(特别是单件)的容器设计。

[0046] 在另一个实施例中,容器可以包括用于控制围绕样品保持器的管状构件的流体流动的流体系统。因而例如可以实现不同试剂的受控顺序提供,或强制对流的应用,以增强试剂输送。

[0047] 在涉及用于处理生物样品的方法的本发明的第三方面中,该方法可以任选地进一步包括在样品保持器中的样品的光学检查的步骤。这个检查可以例如在显微镜的帮助下完成,其中样品保持器可直接放置在显微镜下或间接地在上述种类的容器内。

[0048] 样品保持器可被暴露于的试剂可包括固定/透化试剂,洗涤溶液和/或染色试剂,和/或抗淬灭溶液。固定、透化和染色是制备用于进一步分析(尤其是在显微镜下的光学分析)的生物样品的重要步骤。样品保持器中的样品可以例如暴露于固定试剂以便“冻结”在样品中的生物过程和避免生物分子的降解。此后,样品可以附加地被透化并暴露于一个或多个染色试剂,允许检测感兴趣的组织成分,例如肿瘤细胞。通常,染色可以利用如在组织病理学、细胞病理学、免疫组织化学和原位杂交中,特别是肿瘤诊断(例如癌细胞或细胞中生物标志物的识别)中所用试剂和实验方法来完成。

[0049] 该方法可以进一步任选地包括从样品保持器中的样品提取感兴趣区域的步骤。该相应感兴趣区域可以例如在显微镜的帮助下被识别,在该显微镜下检查样品保持器。样品的提取部分然后可以通过分子诊断技术(如测序)进行调查,以识别在样品的细胞(例如癌细胞)中的分子变化。从样品提取感兴趣区域可以包括以下步骤:识别样品的兴趣区域的位置和轴向延伸,标记该区域的边缘,通过在预定位置切割样品来物理去除该区域。分离的兴趣区域可以被放置在容器中并暴露于用于核酸提取、纯化、扩增和检测的流程。切割可在管状构件保持样品的情况下完成。这可以利用用于支撑的管状构件的保持设备来促进。切割可以利用解剖刀或类似的设备来完成。

[0050] 在涉及如上所述的样品保持器和/或系统在分析方法或诊断方法中的使用的本申请的第四方面中,该分析方法或诊断方法可以是例如生物样品分析,分子诊断,化学样品分析,食品分析,和/或法医分析。在生物样品分析(优选分子诊断)期间,疾病或优选癌症可被诊断。

[0051] 在其中生物样品是活检的实施例中,不存在于诊断方法期间的活检损失。因此,从受检者取得的活检的量减少,并且因而取活检的疼痛减小。

附图说明

[0052] 本发明的这些和其它方面将根据并且参考下文描述的实施例变得清楚并得以阐明。在附图中:

[0053] 图1示意性地示出了穿过具有活检样品的针的节段;

[0054] 图2示意性示出了穿过图1的针和根据本发明的实施例的样品保持器所耦合到的转移设备的横截面;

[0055] 图3示意性示出了用于通过旋转和逐步轴向移动样品保持器来对样品进行光学检查的系统的实施例;

[0056] 图4示意性示出了具有用于在显微镜调查期间容纳样品保持器的容器的系统的实施例;

[0057] 图5示意性示出在显微镜共焦扫描期间穿过具有样品保持器的容器的截面;

[0058] 图6示意性示出了包括用于产生试剂流体的对流的流体系统的容器;

[0059] 图7示意性示出了包括流体系统和永久集成样品保持器的容器;

[0060] 图8示意性示出了具有可在样品的摄取期间容纳图2的样品保持器的提取设备的系统的实施例;

[0061] 图9示出在样品保持器的随后排出期间的图8的系统。

[0062] 通过100的整数倍区分的相似参考数字或(多个)数字在图中指相同或类似的部

件。

具体实施方式

[0063] 患者材料(例如组织和细胞)的病理诊断调查是许多处置决定的基础,特别是在肿瘤学中。通常,来自活检的薄切片被呈现在显微镜载玻片上并根据某些实验方法被染色来可视化组织的形态,例如通过苏木精-伊红染色(H&E)。较近地,针对疾病特定的生物标记物的原位染色正被开发用于靶向药物的伴随诊断,其基于抗体对在组织中存在的抗原(例如蛋白质)的特定结合,所谓的免疫组织化学(IHC),和核苷酸的设计序列到染色体或基因的部分的杂交(原位杂交,ISH)。

[0064] 随着对基因突变在肿瘤细胞中的角色的增加理解,分子诊断("MDx")正在成为用于选择靶向治疗和预测处置响应的病理的必要部分。这可以通过在组织上的q-PCR微阵列和/或测序(Sanger或下一代)来完成。对于MDx分析的敏感性和特异性,仅选择组织切片的相关区域具有必不可少的重要性。被非癌组织/细胞的稀释导致误诊。缺乏足够的肿瘤材料是导致假阴性或无效的结果的相关问题。

[0065] 利用超薄切片机切割活检以用于染色后的视觉检查产生了在病理实验室中的很多工作,并且导致有价值的(和通常低量的)组织的损失。在检查后,节段需要被选择用于通过分子诊断技术的进一步分析。样品选择要求样品相对于肿瘤细胞内容含量的足够量和纯度。从切片开始是指从用于足够输入的多个节段选择。随着每患者的减小的活检尺寸和增加的活检数目以及每个样品的增加的MDx测试数量,该问题变得更大。尤其来自芯针的小活检或来自细针吸出物的细胞可能产生以下问题:在通过超薄切片机的所需切片期间,相对大量样品被损失或浪费。这限制了做出多次MDx测试的可能性和/或MDx测试的质量,并且增加了输入材料的采集的工作。替代方案将是使用较大的活检芯,然而这是对患者是非常有影响的,例如痛苦的。超薄切片组织的必要性产生对冷冻或可替代的石蜡包埋的需要。这两个流程都有其缺点,要么是实践性质,如需要特殊的技能并且未保存组织用于较长期的存储的冷冻,要么是产生显著工作和使用有害溶剂的环境影响的石蜡包埋,以及导致不允许直接反馈例如用于外科流程的长产出时间。此外,当算法被用于(定量)解析染色时(例如在使用数字病理系统的情况下),固定/透化和染色流程应被标准化,否则基于算法的化验结果变得不可靠。

[0066] 为了解决上述问题,在这里建议一种方法,其可以在特定的实施例中包括以下步骤:从针或某个其它提取设备将感兴趣活检转移到可渗透流体的“样品保持器”的薄壁、圆柱形管状构件中。具有活检在内部的样品保持器然后可被浸渍于试剂(如固定液体)中,或者可替代地,流体通过耦合的微流体通道流过。由于固定剂穿过管状构件的壁并且在样品内的扩散,实现了固定。在固定后,可将样品保持器转移到期望的染色台。染色实验方法和探针依赖于应用。通常,此流程可以被遵循用于晚期癌症诊断(包括晚期染色和/或分子诊断测试),并且在用于癌症诊断的例行活检流程之上。染色实验方法通常包括利用探针的孵化,接着是洗涤步骤。

[0067] 图1-6、8和9示意性地示出了包括上述种类的样品保持器110的实施例的系统100。

[0068] 特别地,图1示出了沿着包含生物样品S(如取自某个感兴趣组织的活检)的芯针1的延伸轴的截面。可以通过活塞2的移动将样品S移动到针1的腔内。

[0069] 图2示出了根据本发明的实施例的样品S从芯针1到样品保持器110内的转移。转移在包括主体121的“转移设备”120的帮助下发生，主体121特征在于转移通道122，转移通道122具有第一端123和第二端124。第一端123被设计成支座，以允许到样品保持器110(或者，更具体地，到这样的样品保持器的管状构件111)的封闭连接。第二端124被设计为允许到外部提取装置(如针芯1)的液密连接。

[0070] 当针芯1和样品保持器110两者被连接到它们各自的端部时，可通过推活塞2将样品S从芯针1经由转移通道122转移到样品保持器110的管状构件111的内部腔内。在该转移完成后，样品保持器110可从转移设备被断开。

[0071] 管状构件111的壁可渗透液体。它们可以由光学透明的膜材料制成。一个例子是径迹蚀刻的聚碳酸酯(例如美国EMD Millipore的Isopore)。光学透明度仅在光学检查期间在湿状态中是需要的。为了提高的透明度，可引入折射率匹配液体。该膜的渗透性应该对于在处理期间使用的试剂是高的。试剂进入和在样品标本内部的穿透主要由扩散来确定。膜材料的渗透性应该具有与在样品内的扩散速率类似的量级，以不显著增加处理时间。微多孔材料是优选的。过滤膜可以以不同厚度和孔直径和密度获得。对径迹蚀刻材料的替代是由相分离，例如由热和反应诱导相分离制成的膜，或具有明确定义和常规孔径的微模制膜材料。

[0072] 在样品保持器110内的活检S可被直接浸入固定缓冲液(在水中的缓冲福尔马林)以保存形态和冻结生物分子过程。由于小尺寸，固定是快速的。在固定后，在样品保持器中的活检可以直接转发到病理学染色。石蜡包埋是没有必要的，因为调查将在样品保持器内的整个活检上执行并且没有超薄切片被完成。由于与4-8微米的标准切片不同的几何形状，染色流程需要针对相关孵化和洗涤步骤被调整。增加的厚度将导致流程的更长的时间尺度。然而，根据显微镜调查的类型，染色的穿透深度也可以限制在几微米。在优选的实施例中，利用线照明和样品的旋转，样品被调查作为圆柱形标本。这在图3被指示为示例。

[0073] 图3示意性示出了包括样品保持器110和用于样品保持器110内部的样品S的光学调查的显微镜140的系统100。在本实施例中，样品保持器110可围绕其延伸轴A旋转，同时在一点或沿一条线被光学监测。而且，样品保持器110可在轴向方向A逐步被移动以允许样品的不同轴向截面的连续检查。

[0074] 通过改变焦点深度，可以创建样品S的3D图像。图像的分析可以提供感兴趣的区域或体积(ROI)用于分子诊断。这将通常是可以通过切割从管状构件111容易地去除的在轴向方向的节段。以这种方式，针对MDx分析，没有样品被损失，不管活检是多么微小。子节段可以被制成用于多个分析。保留活检的整体完整性允许图像在从中取得活检的肿瘤的位置上的精确映射。另外地或可替代地，样品保持器可任选地包括在其左端和右端之间的中间位置的窗(未示出)。然后可通过在轴向方向上适当地移动整个样品来将兴趣区域ROI定位在该窗，并且它可以通过所述窗被去除，而不影响样品的其余部分。

[0075] 如上所解释的，图像采集可以在染色后直接在管状构件111上完成。然而此构件的弯曲形状可以影响在直接观察时的焦点质量。为了减少该影响，管状构件111可以插入在两个平面基板之间，具有在两者之间的折射率匹配液体，或替代地在基板中，该基板具有包含与该管的直径相匹配的开口(孔)的支座。以这种方式常规显微镜或数字扫描仪可以用于图像采集，并且显微调查可以在其中执行x、y扫描的更常规共焦布置中进行。

[0076] 图4示出了包括由平面基板131形成的容器130的系统100的这样的延伸,该平面基板131具有包括圆柱孔的支座132,样品保持器110可插入圆柱孔用于利用显微镜140调查。基板131优选地由透明材料制成,特别是具有与样品保持器110的管状构件111类似的折射率的材料制成。最优先的是,在样品保持器110和支座132的孔之间的间隙可以被填充有折射率匹配流体,以允许改进的光学质量。

[0077] 图5示意性示出了在垂直于样品保持器的延伸轴A的方向穿过具有样品保持器110的容器130的截面。它示出了指示圆柱形活检S中的可能焦平面P的共焦扫描。多个焦平面可以被扫描以获取活检的准3D图像。从图像能够得到感兴趣的区域,指示例如肿瘤细胞的高浓度。此感兴趣区域可以容易地转化为感兴趣的体积或转化为可以从容器内部的圆柱形活检容易地去除的感兴趣区域。该方法的优点是,与从显微镜载玻片上的各个切片的常规选择对比,没有材料从感兴趣体积损失。

[0078] 样品保持器110的管状构件111典型地具有在内部约0.2mm至约2mm的直径D。与在载玻片上的组织切片相比,这可能意味着更长的扩散时间。然而,它不要求将在管状构件111中的样品S染色到全深度,而是到在图像获取中所用的焦点的深度。

[0079] 如在图4和5中所描绘的具有容器的布置也可以用于标本的固定和染色,其中折射率匹配液体由固定或染色溶液更换。

[0080] 图6在这方面示出了穿过容器130的优选实施例的中间平面的截面。如上述,该容器包括具有孔的支座132,具有标本S的样品保持器110被放置在该孔中。此外,它包括:容纳样品保持器110(或其至少一部分)的流体系统133。流体系统133包括流体入口/出口135和用于产生试剂流体围绕样品保持器110的对流的泵送设备134。支座132和流体系统133之间的过渡优选被密封(未示出)。

[0081] 图7示出具有样品保持器210和容器230的系统200的可替代实施例。该容器230包括流体系统233,其具有入口/出口235、泵送设备234,和样品保持器210的管状构件211被永久地集成在内的腔232。管状构件211可以例如包括圆柱形壁,其与容器的材料集成,并且包括多个孔或流体通道,该试剂通过该多个孔或流体通道可到达样品保持器210内部中的样品S。永久壁211因此扮演在上述实施例中的膜的角色。

[0082] 图8和9示出了系统100的另一可选实施例。在本实施例中,系统100另外地或可替代地包括具有用于容纳在图2-6中描述的样品保持器110的支座152的提取设备(在这里是活检针150)。通过缩回提取设备的活塞151,样品S因此可以直接被吸入到样品保持器110。这个过程在图8中示出。

[0083] 图9示出了连同来自提取设备150的样品S一起的样品保持器110的后续排出。该排出可以例如利用活塞151的帮助来实现。根据需要可以随后使用样品保持器110,例如将其转移到用于光学检查的容器130。

[0084] 通过流体通道的适当布置,该溶液能够被积极地轴向或径向泵送穿过样品。该通道尺寸可以保持很小,以减少试剂消耗并且实现强对流来增强扩散。该容器130可被设计为微流体盒,具有用于液体供应(例如管和储液器)和致动(例如,气动致动或注射器)的必要接口。

[0085] 总之,允许在不切片的情况下对组织的病理调查的方法和设备的实施例已被描述。活检被从例如针芯转移到专用管以保存形状并且避免破裂。该管优选地由光学透明材

料制成,该材料可渗透化学试剂,以允许组织的固定和染色。利用完全完整活检执行染色反应。在染色后,可以在明视野或荧光或数字扫描显微镜中通过光学显微镜检查来调查活检。这可以通过例如在线照明的情况下旋转圆柱形样品以调查大区域来完成,或者可以利用常规手段将该管插入具有折射率匹配流体的基本上平坦的基板来用于光学调查。焦点深度可以变化,以从活检的表面之下的层获得信息和/或获得3D信息。通过具有封闭在管中的活检,石蜡处理是没有必要的,并且不需要切片,这减少了工作量、环境危害和得到结果的时间并且增加小样品的有效使用。选择样品用于进一步的分子诊断测试是更有效的,因为没有材料通过切片被损失。

[0086] 该方法可特别地适用于在组织病理学、活检取得、组织处理、分子病理学,特别是基于癌细胞的分子变化的识别的肿瘤学中的患者分层。

[0087] 虽然已经在附图和前面的描述图示并详细描述本发明,但是这样的图示和描述将被认为是说明性的或示例性的而非限制性的;本发明不局限于所公开的实施例。公开的实施例的其他变型,可以由本领域的技术人员在实践所要求保护的发明中,根据对附图、公开内容和所附权利要求的研究来理解和实现。在权利要求中,词语“包括”不排除其他元件或步骤,并且不定冠词“一”或“一种”并不排除多个。单个处理器或其他单元可以实现权利要求中记载的若干项的功能。某些措施被记载在相互不同的从属权利要求中这一起码事实并不表示这些措施的组合不能被有利地使用。权利要求中的任何附图标记不应当被解释为限制范围。

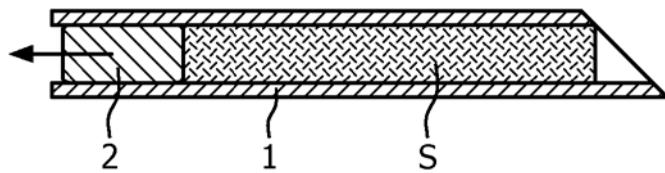


图 1

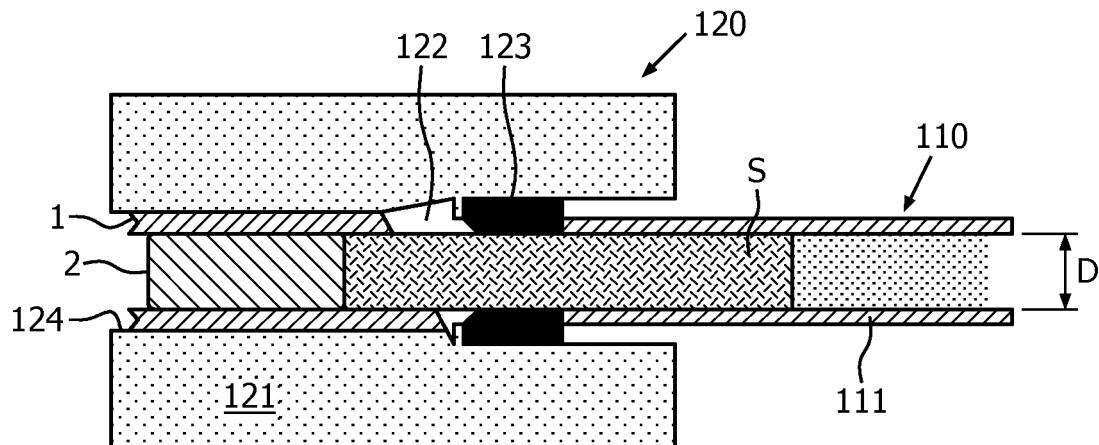


图 2

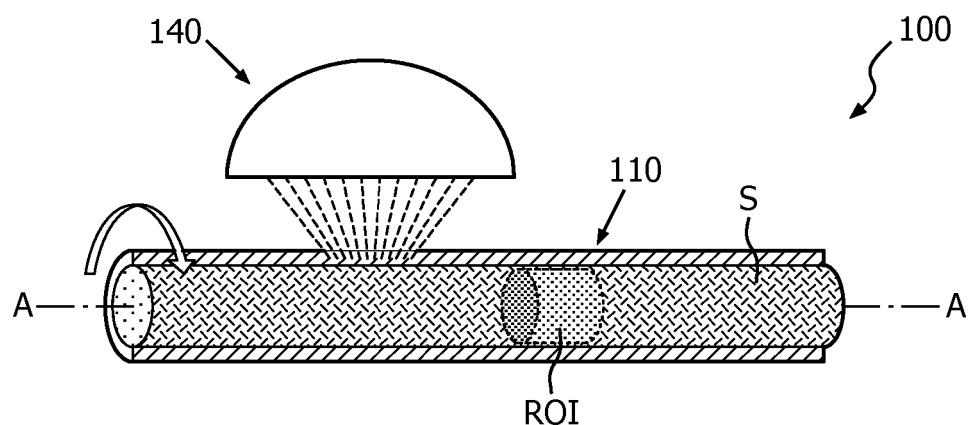


图 3

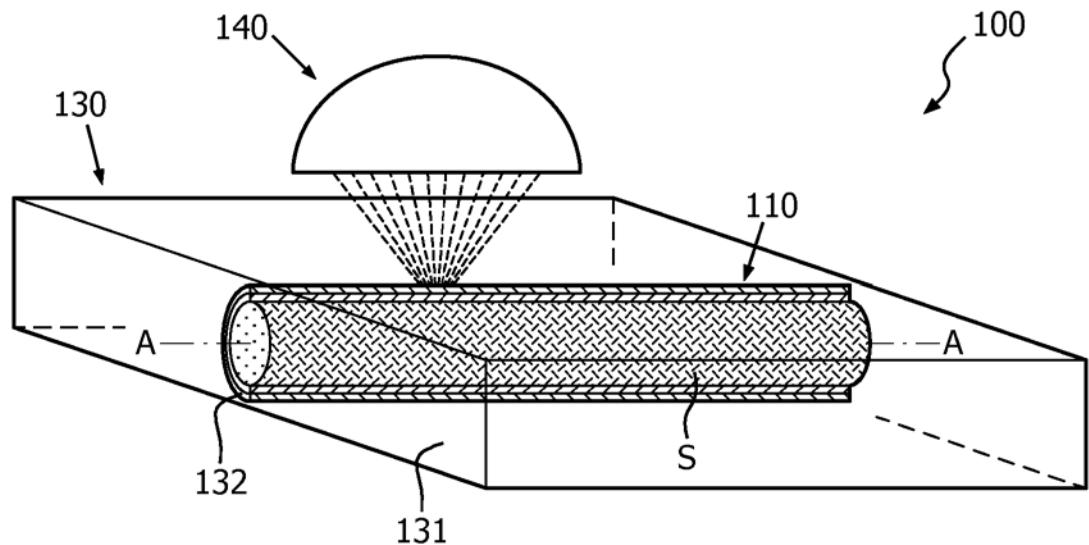


图 4

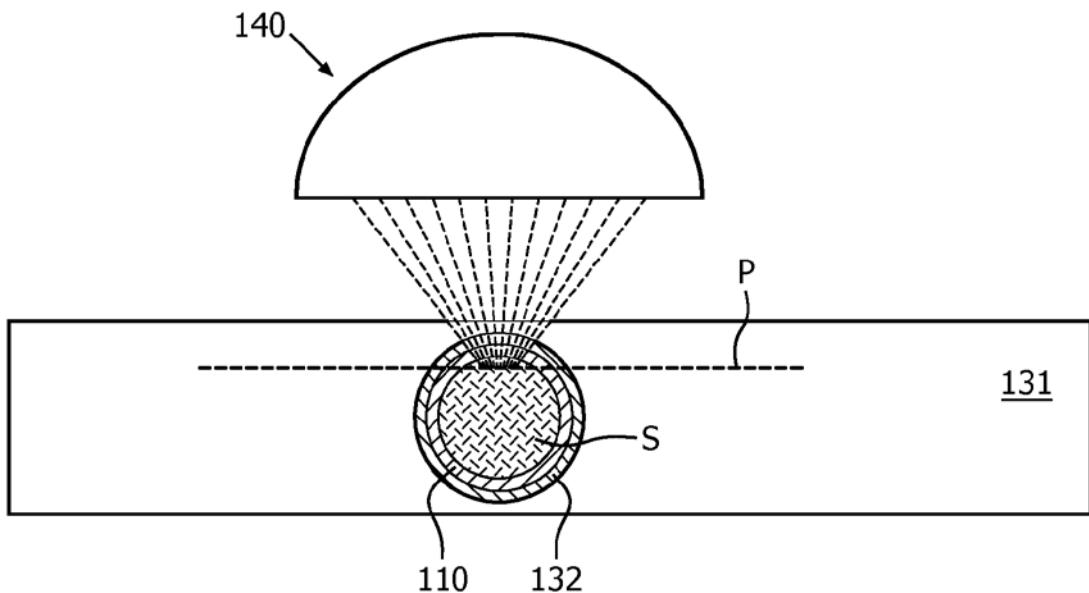


图 5

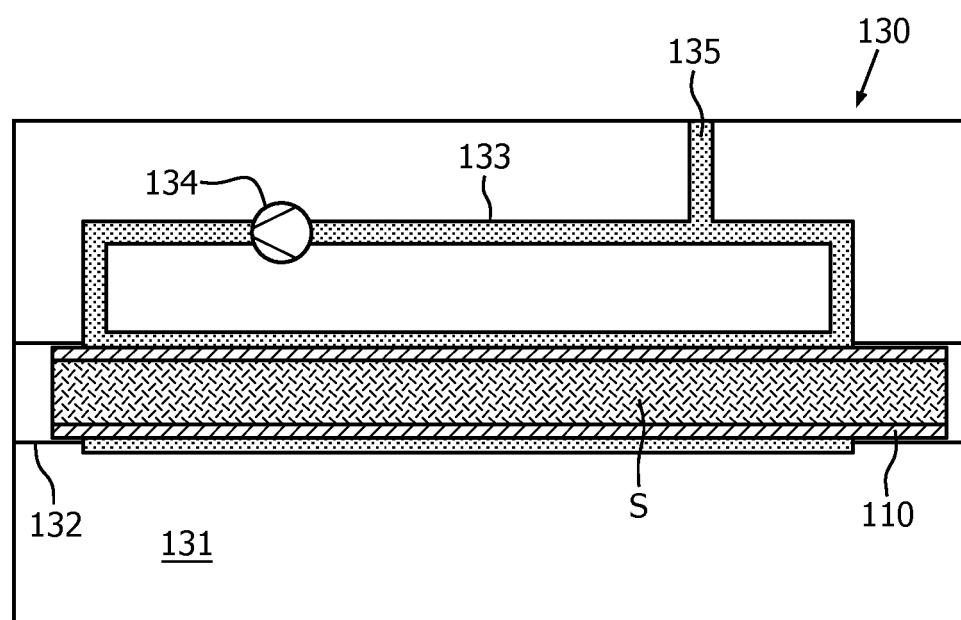


图 6

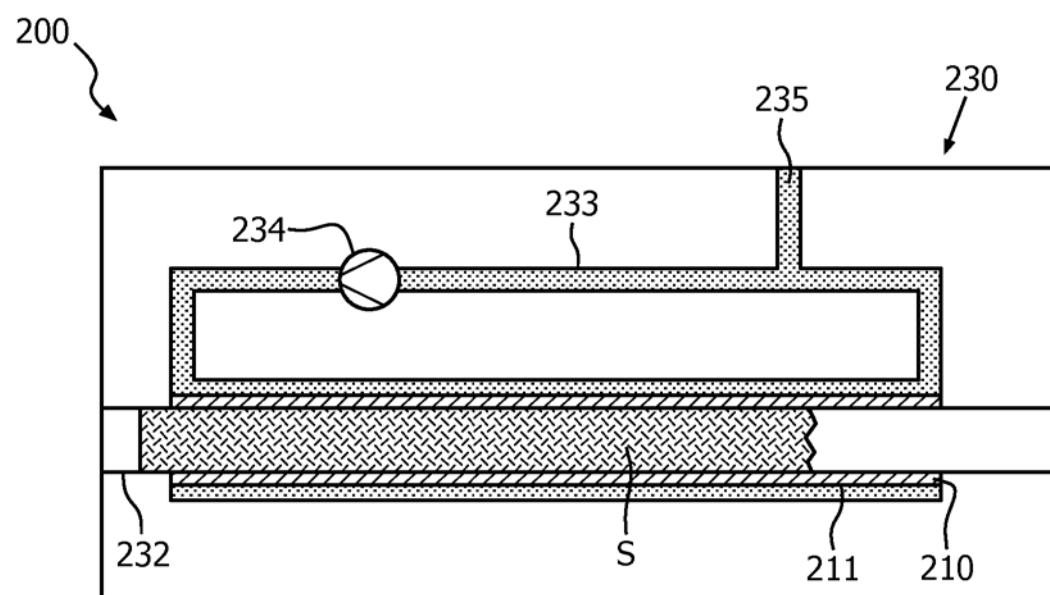


图 7

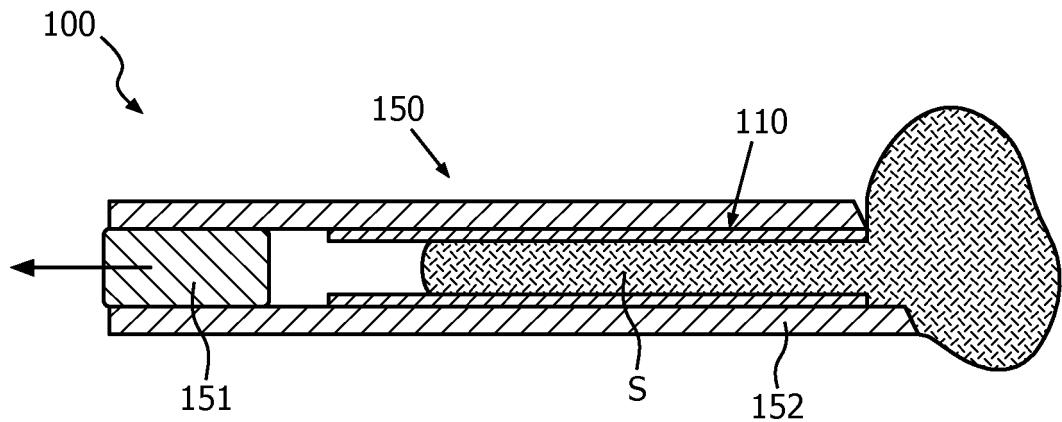


图 8

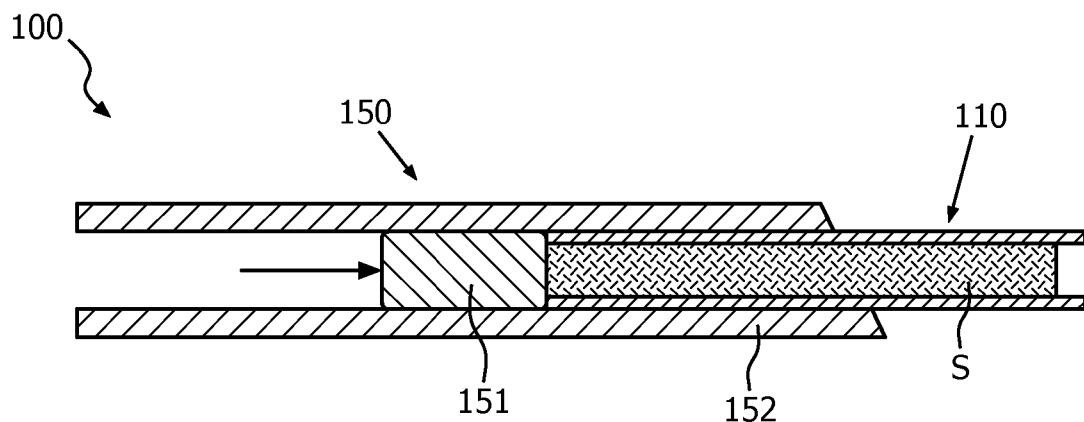


图 9