



(12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 209485830 U

(45)授权公告日 2019.10.11

(21)申请号 201821323583.1

(22)申请日 2018.08.16

(73)专利权人 南方医科大学

地址 510000 广东省广州市广州大道北
1838号

专利权人 广东顺德南方医大科技园有限公
司

(72)发明人 黄颖冰 宁靖 邹和群 李小琳

刘爱群 周琴 邹子良

(74)专利代理机构 北京律诚同业知识产权代理
有限公司 11006

代理人 黄韧敏 朱远平

(51)Int.Cl.

G01N 1/34(2006.01)

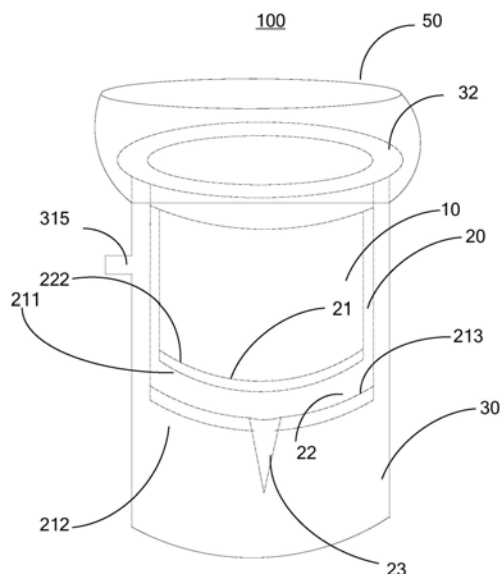
权利要求书2页 说明书7页 附图6页

(54)实用新型名称

医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置

(57)摘要

本实用新型装置适用于医疗技术领域,是一种医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,不需要离心机及其他本装置以外的辅助设备,可用于慢性疾病早期诊断的无创性液体活检,该装置包括:样本池,设置于所述装置的上端,所述样本池盛放欲过滤的尿液样本;纳米过滤器,包括至少一个过滤层和细胞外囊泡收集器;所述细胞外囊泡收集器设置于所述过滤层下端,所述细胞外囊泡收集器收集所述尿液细胞外囊泡;纳米过滤器废液收集器,具有尿液杂质收集腔;所述废液收集器侧壁上的真空吸气接口;负压组件,将所述废液收集器和所述纳米过滤器之间抽吸为预设的负压。借此,本实用新型装置实现了尿液细胞外囊泡便捷高效提取。



1. 一种医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,其特征在于,包括:
样本池,设置于所述装置的上端,所述样本池盛放欲过滤的尿液样本;
纳米过滤器,设置于所述样本池与废液收集器之间,包括至少一个过滤层和细胞外囊泡收集器;所述细胞外囊泡收集器设置于所述过滤层下端,所述细胞外囊泡收集器收集所述尿液细胞外囊泡;
纳米过滤器废液收集器,具有尿液杂质收集腔,并且所述废液收集器套接于所述纳米过滤器的外侧;所述废液收集器侧壁上的真空吸气接口;
负压组件,连接于所述真空吸气接口,将所述废液收集器和所述纳米过滤器之间抽吸为预设的负压。
2. 根据权利要求1所述的医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,其特征在于,所述过滤层包括:
初始过滤层,包括滤膜支撑架和初始滤膜,所述初始滤膜内嵌于滤膜支撑架上;
纳米过滤层,包括纳米膜支撑架和纳米滤膜;所述纳米膜支撑架内嵌于所述纳米过滤器的底部,与所述纳米过滤器的侧壁连接;所述细胞外囊泡收集器设置于所述纳米过滤层的中央处,并且所述细胞外囊泡收集器与所述纳米膜支撑架可拆卸连接。
3. 根据权利要求2所述的医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,其特征在于,所述真空吸气接口设置于所述废液收集器的侧壁上部,所述真空吸气接口用于连接负压组件;
所述装置的顶端具有托沿,并且所述托沿与所述废液收集器的顶端管口为封闭结构;
所述装置还包括盖帽,盖设于所述样本池的顶端,与所述废液收集器的外侧壁可拆卸连接或者与所述托沿可拆卸连接。
4. 根据权利要求2所述的医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,其特征在于,所述滤膜支撑架包括多个第一支架条,多个第一支架条的一端分别与所述样本池的侧壁的底部连接,其另一端连接在一起;
所述纳米膜支撑架包括多个第二支架条,多个第二支架条的一端分别与所述纳米过滤器的侧壁的底部连接,其另一端连接在一起。
5. 根据权利要求2所述的医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,其特征在于,所述初始滤膜具有多个第一过滤孔,所述第一过滤孔孔径的大小为2微米;所述纳米滤膜具有多个第二过滤孔,多个所述第二过滤孔孔径的大小为20纳米;
所述细胞外囊泡收集器的容量为5~20毫升。
6. 根据权利要求5所述的医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,其特征在于,所述初始过滤层为过滤包括细胞碎片和大于细胞外囊泡的尿液杂质的初始过滤层;所述纳米过滤层为截留大于纳米膜滤过孔径的尿液细胞外囊泡,而过滤包括可溶性蛋白的尿液杂质的纳米过滤层;经过所述初始过滤层和所述纳米过滤层过滤获得的所述尿液细胞外囊泡收集于所述细胞外囊泡收集器中。
7. 根据权利要求2所述的医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,其特征在于,所述初始过滤层的纵向截面为V字型或者圆弧形;所述纳米过滤层的纵向截面为V字型或者圆弧形。
8. 根据权利要求1所述的医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,其特征

在于,所述样本池、纳米过滤器以及所述废液收集器的外形均呈圆柱体形;
所述样本池、纳米过滤器以及所述废液收集器的外壁由透明材质制成;
所述废液收集器的底部与所述废液收集器的外壁可拆卸连接。

9. 根据权利要求8所述的医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,其特征在于,所述样本池、纳米过滤器以及所述废液收集器的外壁上均设置有刻度线,并且这些所述刻度线不在横向方向上的同一直线上;

所述废液收集器的底部的内壁和所述废液收集器的外壁分别设置有对应的内、外螺纹。

10. 根据权利要求3所述的医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,其特征在于,所述装置还包括:

用于盛放超纯水的冲洗杯,设置于所述废液收集器体外,所述冲洗杯的材质为透明材料,并且所述冲洗杯上设置有刻度线,所述冲洗杯的容量为200毫升;

用于吹打所述纳米滤膜上的截留液的移液器,设置于所述废液收集器体外;以及
所述负压组件为真空泵。

医院及家庭用均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置

技术领域

[0001] 本实用新型涉及医疗器械技术领域,尤其涉及一种医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,用于慢性疾病早期诊断的无创性液体活检。

背景技术

[0002] 尿液作为一种最常用的检测不同疾病特异生物标记物,用于诊断不同疾病的标本来源,取材方便,可克服血液标本等有创检查方法不易于被患者接受、更不容易被普通人群健康筛查所接受的缺点。但是尿液中有大量的生理性蛋白(如Tamm-Horsfall蛋白)等高丰度成分的干扰,使我们不容易检测到低丰度但有诊断价值的反应疾病变化程度的尿液成分。尿液EVs细胞外囊泡(Extracellular Vesicles, EVs)中的蛋白、脂质、核酸等成分,虽然可作为鉴别不同疾病的生物标记物,但大多也是低丰度成分,迫切需要研发一种富集装置,通过富集EVs,从而显著提高EVs低丰度成分的检出率。本实用新型属于生物技术及临床检验技术领域,尤其涉及一种可供家庭和社区应用的纳米膜富集尿液细胞外囊泡用于早期诊断多种慢性疾病的装置。

[0003] 细胞外囊泡是一类起源于内吞体系统、由细胞多囊体通过质膜融合的方式而分泌的膜性囊泡,直径为30-1000nm, EVs内含有多种蛋白质、脂质、各种RNA(ribonucleic acid, 核糖核酸)成分等,可由多种不同类型的细胞分泌,广泛分布在各种体液中,能够作为细胞间的载体,通过货物载体功能传递各种生理和病理信息,具有参与细胞内信号转导、免疫调节、建立肿瘤逃逸机制、介导再生和退化过程等功能,是具有高度发展潜力的临床诊断和治疗的新靶点,不同疾病时细胞外囊泡的分泌量以及其内含成分如蛋白质、脂质、RNA等可产生变化,这些变化既和不同疾病的发病机制有关,检测细胞外囊泡的分泌量及内含成分的差异可以用于不同疾病的鉴别诊断。

[0004] 尿液作为一种最常用的检测不同疾病特异生物标记物,用于诊断不同疾病的标本来源,取材方便,可克服血液标本等有创检查方法不易于被患者接受、更不容易被普通人群健康筛查所接受的缺点。

[0005] 在现有的技术方案中,包括以下几种:

[0006] (1) 超速离心法,利用不同的超速离心速度或者密度梯度离心进行样本EVs的分离及提取,是目前仅在科研院所里应用的、昂贵的EVs分离提取方法。超速离心法所得到的EVs虽然纯度高,但由于需要配有价格昂贵的超高速离心机及相应耗材,并且整个提取过程耗时漫长,仅适用于少量样本的处理。

[0007] (2) 依靠免疫亲和性捕获的磁珠吸附法,利用含有特定抗体的磁珠与样本一起孵育反应,与样本中膜表面含有对应抗原的EVs结合,再通过磁力吸附将磁珠-EVs联合体分离出来。磁珠吸附法尽管提取分离特定EVs纯度高,可区分亚型,但需要对磁珠进行特殊加工处理,试剂耗材消耗量大,而且产量和产率低下。

[0008] (3) 基于共沉淀的试剂盒提取方法,诸如Exo-Quick、Exo-Spin等的商业化试剂盒利用聚合共沉淀原理,在样本里加入试剂抑制EVs的水合作用,使其易于沉淀下来,然后通

过后续低速离心富集得到EVs的沉淀。基于共沉淀的试剂盒提取方法的缺点在于会产生聚合微粒、脂蛋白、RNA复合物等杂质,所得的EVs纯度较低,而且试剂盒价格昂贵,无法大规模应用在临床。

[0009] 综上可知,现有技术在实际使用上,都需要普通医院并不具备的专业技术人员和专用设备,不能在大多数医院推广,更不可能供家庭使用,所以有必要研发简便易行的新型技术装置。

实用新型内容

[0010] 针对上述的缺陷,本实用新型的目的在于提供一种医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,以实现不需要离心机及其他本装置以外辅助设备的尿液细胞外囊泡的提取,在医院及家庭均可使用。

[0011] 为了实现上述目的,本实用新型提供一种医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置,包括:

[0012] 样本池,设置于所述装置的上端,所述样本池盛放欲过滤的尿液样本;

[0013] 纳米过滤器,设置于所述样本池与废液收集器之间,包括至少一个过滤层和细胞外囊泡收集器;所述细胞外囊泡收集器设置于所述过滤层下端,所述细胞外囊泡收集器收集所述尿液细胞外囊泡;

[0014] 纳米过滤器废液收集器,具有尿液杂质收集腔,并且所述废液收集器套接于所述纳米过滤器的外侧;所述废液收集器侧壁上的真空吸气接口;

[0015] 负压组件,连接于所述真空吸气接口,将所述废液收集器和所述纳米过滤器之间抽吸为预设的负压。

[0016] 根据所述的装置,所述过滤层包括:

[0017] 初始过滤层,包括滤膜支撑架和初始滤膜,所述初始滤膜内嵌于滤膜支撑架上;

[0018] 纳米过滤层,包括纳米膜支撑架和纳米滤膜;所述纳米膜支撑架内嵌于所述纳米过滤器的底部,与所述纳米过滤器的侧壁连接;所述细胞外囊泡收集器设置于所述纳米过滤层的中央处,并且所述细胞外囊泡收集器与所述纳米膜支撑架可拆卸连接。

[0019] 根据所述的装置,所述真空吸气接口设置于所述废液收集器的侧壁上部,所述真空吸气接口用于连接负压组件;

[0020] 所述装置的顶端具有托沿,并且所述托沿与所述废液收集器的顶端管口为封闭结构;

[0021] 所述装置还包括盖帽,盖设于所述样本池的顶端,与所述废液收集器的外侧壁可拆卸连接或者与所述托沿可拆卸连接。

[0022] 根据所述的装置,所述滤膜支撑架包括多个第一支架条,多个第一支架条的一端分别与所述与样本池的侧壁的底部连接,其另一端连接在一起;

[0023] 所述纳米膜支撑架包括多个第二支架条,多个第二支架条的一端分别与所述与纳米过滤器的侧壁的底部连接,其另一端连接在一起。

[0024] 根据所述的装置,所述初始滤膜具有多个第一过滤孔,所述第一过滤孔孔径的大小为2微米;所述纳米滤膜具有多个第二过滤孔,多个所述第二过滤孔孔径的大小为20纳米;

[0025] 所述细胞外囊泡收集器的容量为5~20毫升。

[0026] 根据所述的装置,所述初始过滤层为过滤包括细胞碎片和大于细胞外囊泡的的尿液杂质的初始过滤层;所述纳米滤膜层为截留大于纳米膜特定滤过孔径的尿液细胞外囊泡,而过滤包括可溶性蛋白等的尿液杂质的纳米滤膜层;经过所述初始过滤层和所述纳米滤膜层过滤获得的所述尿液细胞外囊泡收集于所述细胞外囊泡收集器中。

[0027] 根据所述的装置,所述初始过滤层的纵向截面为V字型或者圆弧型;所述纳米过滤层的纵向截面为V字型或者圆弧型。

[0028] 根据所述的装置,所述样本池、纳米过滤器以及所述废液收集器的外形均呈圆柱体形;

[0029] 所述样本池、纳米过滤器以及所述废液收集器的外壁由透明材质制成;

[0030] 所述废液收集器的底部与所述废液收集器的外壁可拆卸连接。

[0031] 根据所述的装置,所述样本池、纳米过滤器以及所述废液收集器的外壁上均设置有刻度线,并且这些所述刻度线不在横向方向上的同一直线上;

[0032] 所述废液收集器的底部的内壁和所述废液收集器的外壁分别设置有对应的内、外螺纹。

[0033] 根据所述的装置,所述装置还包括:

[0034] 用于盛放超纯水的冲洗杯,设置于所述废液收集器体外,所述冲洗杯的材质为透明材料,并且所述冲洗杯上设置有刻度线,所述冲洗杯的容量为200毫升;

[0035] 用于吹打所述纳米滤膜上的截留液的移液器,设置于所述废液收集器体外;以及

[0036] 所述负压组件为真空泵。

[0037] 本实用新型通过将医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置设置为包括样本池、纳米过滤器及废液收集器,纳米过滤器的底部设有纳米膜,纳米过滤器内部形成EVs纳米富的集器腔,废液收集器内部及纳米过滤器下方之间形成尿液杂质的废液收集腔,纳米过滤器的顶端边缘设有托沿,该托沿与废液收集器顶端管口间为封闭结构,废液收集器侧壁设有真空泵吸气管接口,通过吸气管与真空泵连接。由此,可以通过真空泵进行负压抽气,利用静水压及滤膜两侧压力对尿液标本进行过滤,得到EVs,且无需复杂操作,无需离心机和本装置以外的其他实验仪器及试剂处理,操作简单快捷。本装置便于携带,采用耗材成本价格低廉,适合在家庭及社区医院大规模推广使用。

附图说明

[0038] 图1是本实用新型实施例提供的医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置结构示意图;

[0039] 图2是本实用新型实施例提供的医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置结构示意图;

[0040] 图3是图2所示的医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置结构简图;

[0041] 图4A是本实用新型实施例提供的医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置中的滤膜支撑架结构示意图;

[0042] 图4B是本实用新型实施例提供的医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置中的滤膜支撑架结构示意图;

[0043] 图5A是本实用新型实施例提供的医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置中的纳米膜支撑架结构示意图；

[0044] 图5B是本实用新型实施例提供的医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置中的纳米膜支撑架结构示意图；

[0045] 图6是本实用新型实施例提供的医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置富集尿液细胞外囊泡的检验结果示意图。

具体实施方式

[0046] 为了使本实用新型的目的、技术方案及优点更加清楚明白，以下结合附图及实施例，对本实用新型进行进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本实用新型，并不用于限定本实用新型。

[0047] 参见图1~图3，在本实用新型的一个实施例中提供了一种医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置100，包括：

[0048] 样本池10，设置于所述装置的上端，所述样本池10盛放欲过滤的尿液样本；

[0049] 纳米过滤器20，设置于所述样本池10与废液收集器30之间，包括至少一个过滤层和细胞外囊泡收集器23；所述过滤层与所述细胞外囊泡收集器23连接，细胞外囊泡收集器23设置于过滤层下端，细胞外囊泡收集器23收集所述尿液细胞外囊泡；

[0050] 废液收集器30，具有尿液杂质收集腔，并且所述废液收集器30套接于所述纳米过滤器20的外侧；废液收集器30侧壁上的真空吸气接口315；

[0051] 负压组件，连接于所述真空吸气接口315，将废液收集器30和纳米过滤器20之间抽吸为预设的负压。

[0052] 在该实施例中，医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置100包括样本池10、纳米过滤器20以及废液收集器30。其中样本池10是用于放置欲过滤的尿液样本的；纳米过滤器20包括至少一个过滤层和细胞外囊泡收集器23，过滤层具有过滤膜，可以过滤掉尿液样本中的尿液杂质，将尿液细胞外囊泡提取，并存放在细胞外囊泡收集器23中。该医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置100成本低廉，操作简单，耗时短，所得细胞外囊泡产率和纯度高且结构完整，无需离心机和在本装置以外的其他仪器设备，可供家庭和社区大规模推广使用。医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置100可供家庭和社区应用，通过对细胞外囊泡提取可用于早期诊断多种慢性疾病的进一步检测分析。改预设的负压以能实现富集目的为准。

[0053] 参见图1~图3，在本实用新型的一个实施例中，过滤层21包括：

[0054] 初始过滤层21，包括滤膜支撑架211和初始滤膜222；滤膜支撑架211与样本池10的底部连接，初始滤膜222内嵌于滤膜支撑架211上；

[0055] 纳米过滤层22，包括纳米膜支撑架212和纳米滤膜213；纳米膜支撑架212设置于纳米过滤器20的底部，与纳米过滤器20的侧壁连接；纳米滤膜213内嵌于纳米膜支撑架212上；细胞外囊泡收集器23设置于纳米过滤层22的中央处；并且细胞外囊泡收集器23与纳米膜支撑架212可拆卸连接，如在细胞外囊泡收集器23的顶部设置有弹性卡接件，而在纳米膜支撑架212的中央处设置有与所述弹性卡接件对应的卡接位，由此可以便捷的将细胞外囊泡收集器23安装及取出。样品池10的底部为向中部倾斜的滤膜支撑架211，滤膜支撑架211内侧

嵌有初始滤膜222;纳米过滤器20的底部为向中部倾斜的纳米膜支撑架212,纳米膜支撑架212内侧嵌有纳米滤膜213,纳米过滤器20中央形成截面为V形的圆锥形的EVs的细胞外囊泡收集器23;纳米过滤器20及真空腔的废液收集器30外壁设有容积刻度。

[0056] 此外,废液收集器30的侧壁上部设置有真空吸气接口315,真空吸气接口315用于连接真空泵;装置100的顶端具有托沿32,并且托沿32与废液收集器30的顶端管口为封闭结构。初始滤膜222和纳米滤膜213的边缘均有封闭结构,纳米过滤器20顶端管口设有托沿32,该托沿32与废液收集器30顶端管口间为封闭结构,真空腔的废液收集器30顶端管口设有盖帽,管壁上半段外侧设有负压组件连接的真空吸气接口315,负压组件可为真空抽气泵,通过真空吸气接口315与真空抽气泵对接,可以将废液收集器30和纳米过滤器20之间抽吸为预设的负压,增加过滤效率。此外,医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置100还包括盖帽50,盖设于样本池10的顶端,与所述废液收集器30的外侧壁可拆卸连接或者与所述托沿32可拆卸连接。例如,可以与废液收集器30的外侧壁螺接,或者是与托沿32卡接,在盖帽50的内侧设置有与托沿32相适配的密封胶垫。由此可以将医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置100密闭,形成抽真空的环境。当需要使用该医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置100富集尿液细胞外囊泡时,加入样本液后,将盖帽50与废液收集器30的外侧壁旋紧,在富集完成后,再旋开盖帽50,进行装置100的清洗工作等。图3是图2所示的医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置的未包括盖帽的结构简图。此外,参见图2及图3,废液收集器的底部301与废液收集器30的外壁可拆卸连接。两者可以通过适配的卡接件或者是螺纹连接的方式进行连接。具体的废液收集器的底部301的内壁和废液收集器30的外壁分别设置有对应的内、外螺纹。在富集过程完成后,可以通过将废液收集器的底部301拆卸,然后拆卸细胞外囊泡收集器23,取出富集到的尿液细胞外囊泡。

[0057] 参见图4A和图4B,在本实用新型的一个实施例中,所述滤膜支撑架211包括多个第一支架条2111,多个第一支架条2111的一端分别与所述样本池10的底部的侧壁的连接,其另一端连接在一起;由此,初始过滤层21具有一定的倾斜度,可以很好的进行过滤;多个第一支架条2111与样本池10的底部的侧壁连接,将构成一个圆锥型,如图4A,或者一个圆弧形,如图4B。

[0058] 参见图5A和图5B,所述纳米膜支撑架212包括多个第二支架条2121,多个第二支架条2121的一端分别与纳米过滤器20的侧壁的底部连接,其另一端连接在一起。多个第二支架条2121与纳米过滤器20的侧壁的底部连接,将构成一个圆锥型,或者一个圆弧形,如图5A,或者一个圆弧形,如图5B。

[0059] 具体的,初始滤膜222具有多个第一过滤孔,所述第一过滤孔的直径大小为2微米;纳米滤膜213具有多个第二过滤孔,多个所述第二过滤孔的直径大小为20纳米;细胞外囊泡收集器23的容量为5~20毫升。优选的,初始过滤层21为过滤包括细胞碎片和体积大于细胞外囊泡的其他尿液杂质的初始过滤层;所述纳米滤膜层213为可滤过包括可溶性成分、小分子蛋白等直径小于细胞外囊泡的尿液杂质的纳米滤膜层。;经过初始过滤层21和纳米滤膜层22过滤获得的所述尿液细胞外囊泡收集于所述细胞外囊泡收集器23中。细胞外囊泡收集器23与纳米膜支撑架212底部的连接,可以是与该多个第二支架条2121共同连接端连接,并且该连接端呈环状,便于尿液细胞外囊泡的滴落于细胞外囊泡收集器23。

[0060] 在本实用新型的一个实施例中,样本先倒入样品池10中,真空腔废液收集器30外

侧的真空泵吸气管接口连接上真空泵进行负压抽气,利用静水压及滤膜两侧压力差,样品经过初始滤膜222可除去细胞碎片和体积大于细胞外囊泡的其他尿液杂质;然后样品到达纳米过滤器20中,经过纳米滤膜213时可截留直径在30到1000纳米的EVs;最后富集的EVs将被收集到V形的EVs收集器(细胞外囊泡收集器23)中,即完成尿液细胞外囊泡的富集。本实用新型成本低廉,操作简单,耗时短,所得细胞外囊泡产率和纯度高且结构完整,无需离心机和本装置以外的其他仪器设备,可大规模推广供家庭和社区使用等优点。

[0061] 在本实用新型的一个实施例中,初始过滤层21的纵向截面为V字型或者圆弧型;所述纳米过滤层22的纵向截面为V字型或者圆弧型。样本池10、纳米过滤器20以及所述废液收集器30的外形均呈圆柱体形;样本池10、纳米过滤器20以及所述废液收集器30的外壁由透明材质制成。样本池10、纳米过滤器20以及废液收集器30的外壁上均设置有刻度线,并且这些所述刻度线不在横向方向上的同一直线上。由此,可以清楚的看到样本池10、纳米过滤器20以及废液收集器30的外壁上的刻度,以及当前各个容器内装载的溶液的容量。

[0062] 此外医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置100还包括:

[0063] 用于盛放超纯水的冲洗杯,设置于所述废液收集器30体外,所述冲洗杯的材质为透明材料,并且所述冲洗杯上设置有刻度线,所述冲洗杯的容量为200毫升;

[0064] 用于吹打所述纳米滤膜213上的截留液的移液器,设置于所述废液收集器30体外。

[0065] 使用本实用新型提供的医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置100富集尿液细胞外囊泡的具体方法如下:

[0066] 样本收集后按照样品池10容积分批加入样品池中,真空腔的废液收集器30外侧的真空吸气接口315连接上真空泵进行负压抽气,利用静水压及滤膜两侧压力差,样品经过孔径为2微米的初始滤膜222可除去细胞碎片和体积大于细胞外囊泡的其他尿液杂质。样品到达纳米过滤器20中,经过孔径为20纳米的纳米滤膜213时可截留直径在30到1000纳米的EVs,而其余可溶性蛋白等则从纳米滤膜213上渗出,进入真空腔废液收集器30中。待纳米过滤器20内的截留液剩余10ml左右时,用冲洗杯往EVs纳米富集器中加入200ml超纯水,继续上述纳米膜流程。待纳米过滤器20内的截留液剩余5ml时,用移液器吹打截留液使其混匀并收集到EVs的细胞外囊泡收集器23中,该截留液即为最终尿液细胞外囊泡溶液。然后将废液收集器30的底部拆卸,最后将细胞外囊泡收集器23取出,将获得最后的尿液细胞外囊泡溶液用于慢性疾病的检测,例如肾病、糖尿病等。

[0067] (1) 孔径大小为2微米的初始滤膜过滤:取30ml健康志愿者的尿标本,进行研究,将尿标本先倒入样品池中,真空腔废液收集器外侧的真空泵吸气管接口连接上真空泵进行负压抽气,利用静水压及滤膜两侧压力差,样品经过初始滤膜,除去细胞碎片和体积大于细胞外囊泡的其他尿液杂质;

[0068] (2) 孔径大小为20纳米的纳米滤膜过滤:样品到达纳米过滤器中,经过纳米滤膜可截留直径在30到1000纳米的EVs;

[0069] (3) EVs的富集:待纳米过滤器内的截留液剩余10ml左右时,用冲洗杯往EVs纳米富集器中加入200ml超纯水,继续上述纳米膜流程。待纳米过滤器内的截留液剩余5ml时,用移液器吹打截留液使其混匀并收集到EVs的细胞外囊泡收集器中,该截留液即为最终尿液细胞外囊泡溶液。最后富集的EVs将被收集到V形的EVs收集器(细胞外囊泡收集器)中,即完成尿液细胞外囊泡的富集。

[0070] 初始滤膜以及纳米滤膜均可采用购自仕必纯(上海)贸易有限公司Spectrum Labs Inc,孔径大小为2微米的初始滤膜除去细胞碎片和体积大于细胞外囊泡的其他尿液杂质,纳米滤膜截留分子量为1000KDa,截留直径在30到1000纳米的EV。

[0071] (4)透射电镜观察:取步骤(3)中制备的尿液细胞外囊泡20 μ l,点样于铜网,5分钟后,予3% (W/V) 磷钨酸负染2分钟,超纯水洗涤两遍,干燥5分钟后检测,调节透射电镜焦距,观察尿液细胞外囊泡的形态和粒径,具体结果见图6中所示,从图6可以看出,尿液细胞外囊泡呈杯状或圆形,粒径在30-1000nm。

[0072] (5) NanoSight检测:用PBS稀释尿液细胞外囊泡,等比稀释,稀释为200倍,针筒上样,每次2-3ml,上样前后均用超纯水清洗检测槽,调整NanoSight仪器参数,至合适焦距,对细胞外囊泡进行分析记录。检测结果尿液细胞外囊泡的粒径主峰在102nm,样品较纯。

[0073] (6) 检测结果

[0074] 透射电镜下尿液细胞外囊泡呈杯状或球形,分布均匀,具体可见图6中所示。

[0075] 尿液细胞外囊泡的粒径平均值为102nm。

[0076] 与现有常用的超速离心法、磁珠吸附法及试剂盒提取法相比,本实用新型提供的细胞外囊泡的具有以下优势:可富集获得与上述方法纯度相当的细胞外囊泡,无需离心机和装置以外的其他仪器设备,因为本装置100中孔径为20纳米的纳米滤膜213时可截留直径在30到1000纳米的EVs,而其余可溶性蛋白等则从纳米滤膜213上渗出。本装置100可一次性处理大量尿液标本,且无需复杂操作。本装置100配置有小型真空泵的实验室,甚至家庭即可使用,无需离心机和装置以外的其他实验仪器及试剂处理。本装置100通过真空泵进行负压抽气,利用静水压及滤膜两侧压力差实现的,操作简单快捷。本装置100便于携带,采用耗材成本价格低廉,适合在家庭及社区医院大规模推广使用。其中初始滤膜222和纳米滤膜213分别采用对应孔径的微孔滤膜制作,如纳米滤膜213采用孔径为20纳米的纳米膜制作,所述纳米膜的截留分子量为1000kDa。

[0077] 本实用新型通过将医院及家庭均可使用的富集尿液细胞外囊泡的装置设置为包括样本池、纳米过滤器及废液收集器,纳米过滤器的底部设有纳米膜,纳米过滤器内部形成EVs纳米富的集器腔,废液收集器内部及纳米过滤器下方之间形成尿液杂质的废液收集腔,纳米过滤器的顶端管口设有托沿,该托沿与废液收集器顶端管口间为封闭结构,管壁上半段外侧设有真空泵吸气管接口,通过吸气管与真空泵连接。由此,可以通过真空泵进行负压抽气,利用静水压及滤膜两侧压力对尿液标本进行过滤,得到EVs,且无需复杂操作,无需离心机和装置以外的其他实验仪器及试剂处理,操作简单快捷。本装置便于携带,采用耗材成本价格低廉,适合在家庭及社区医院大规模推广使用。

[0078] 当然,本实用新型还可有其它多种实施例,在不背离本实用新型精神及其实质的情况下,熟悉本领域的技术人员当可根据本实用新型作出各种相应的改变和变形,但这些相应的改变和变形都应属于本实用新型所附的权利要求的保护范围。

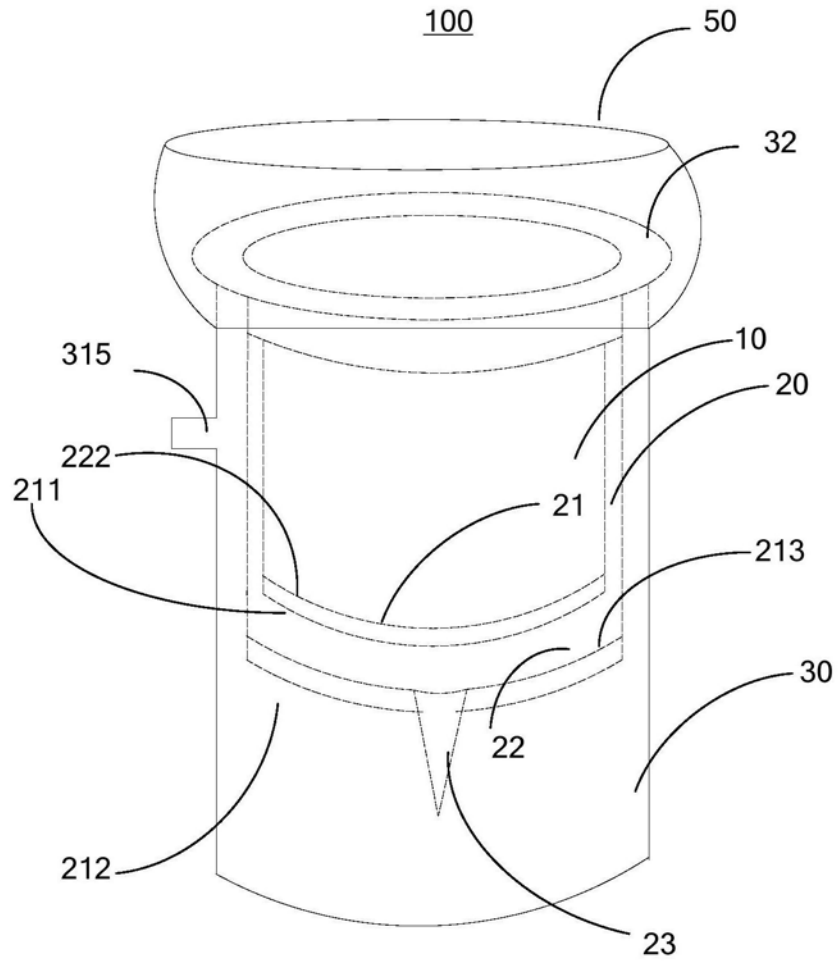


图1

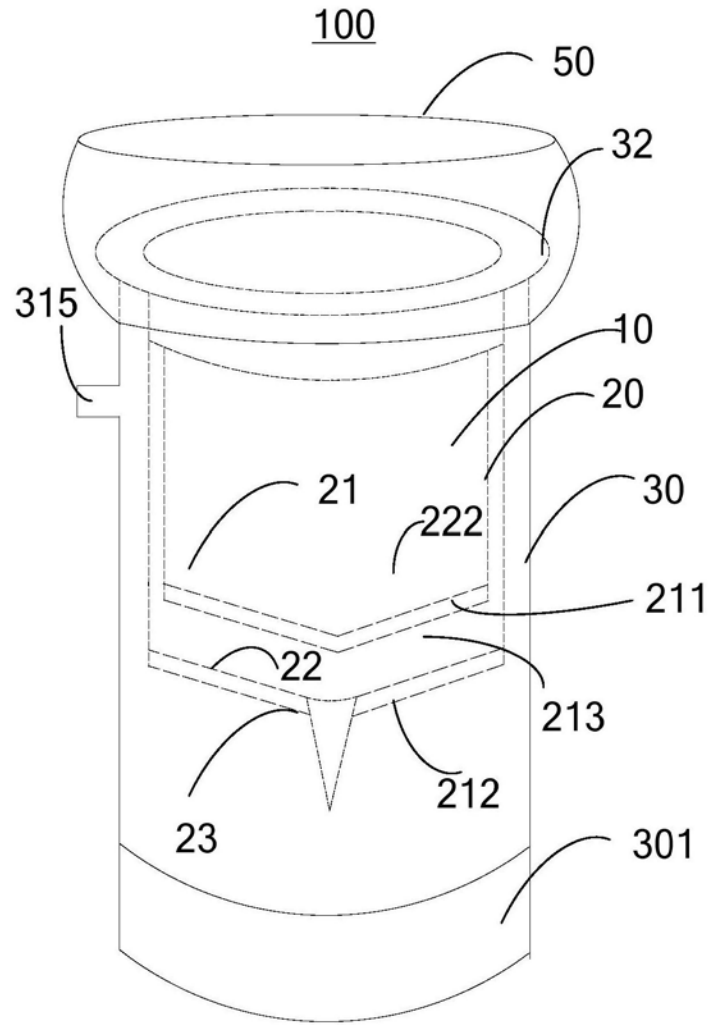


图2

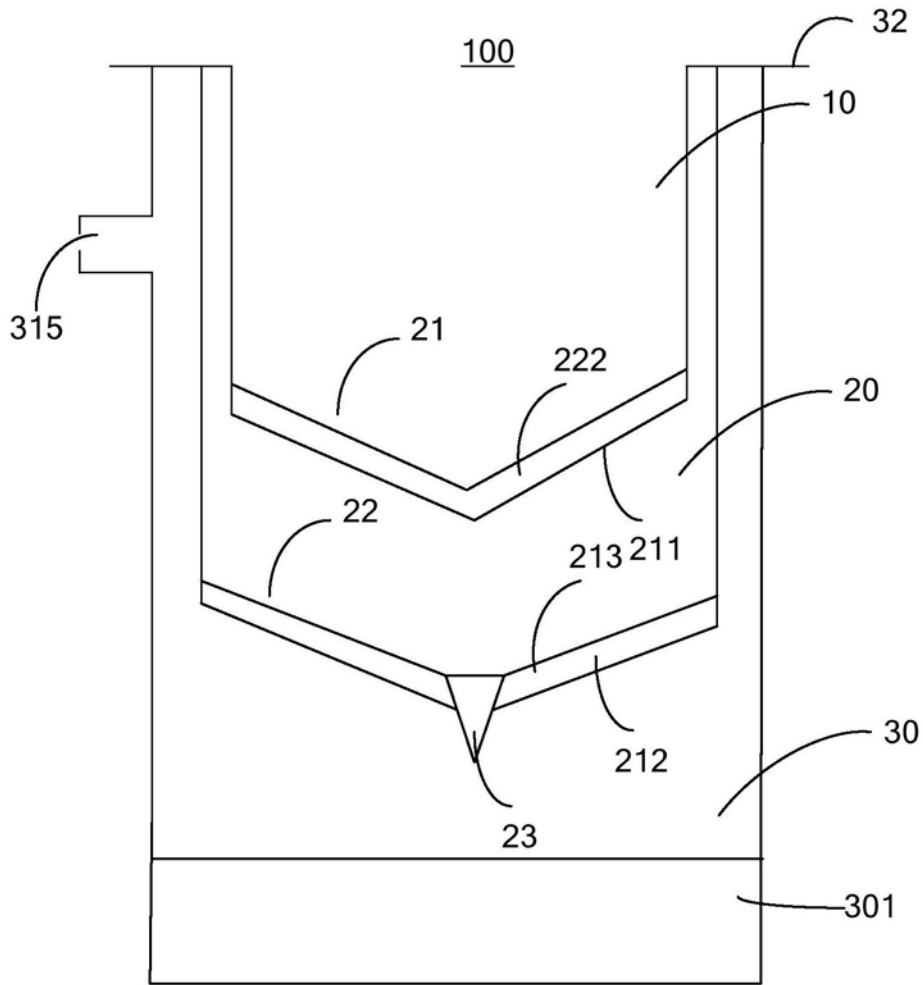


图3

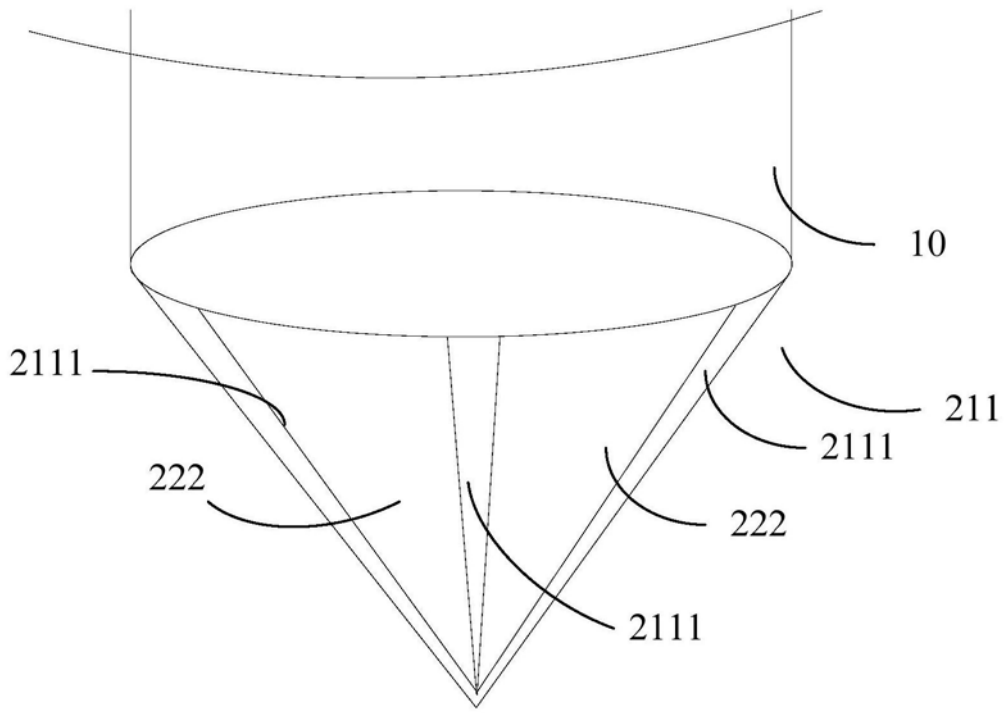


图4A

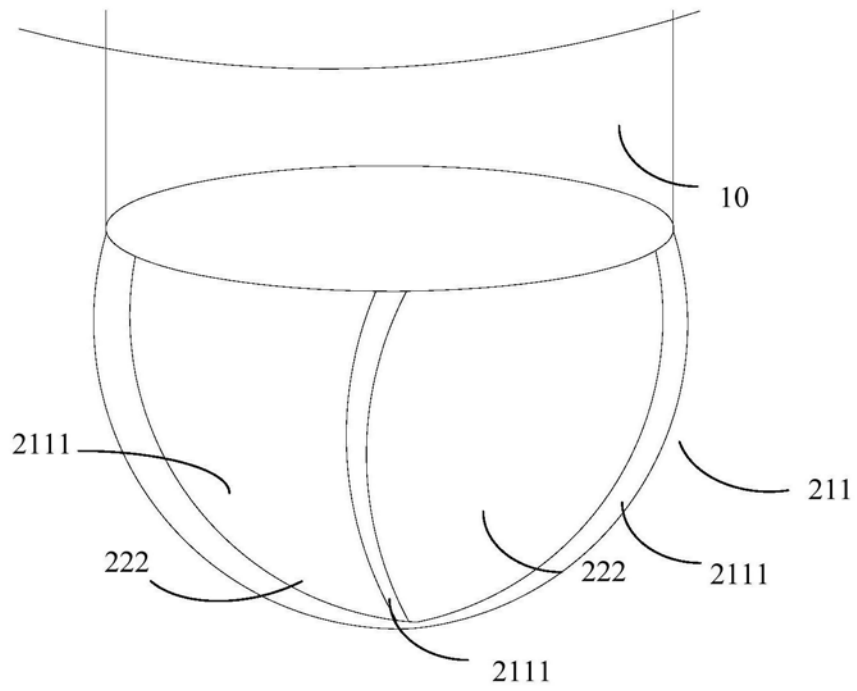


图4B

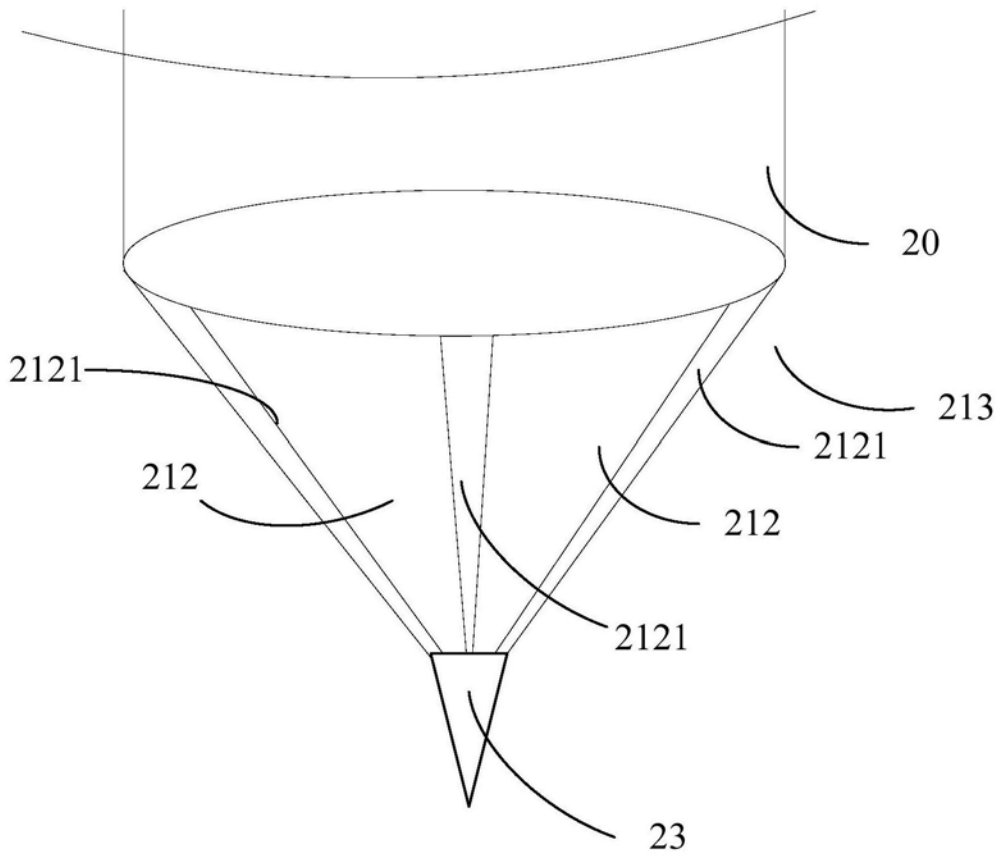


图5A

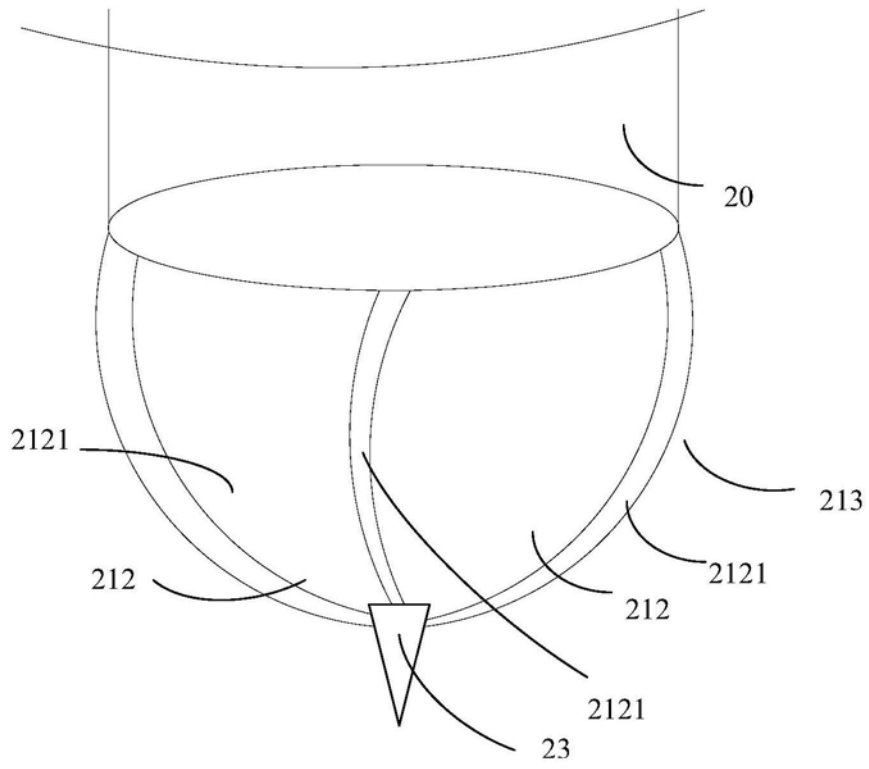


图5B

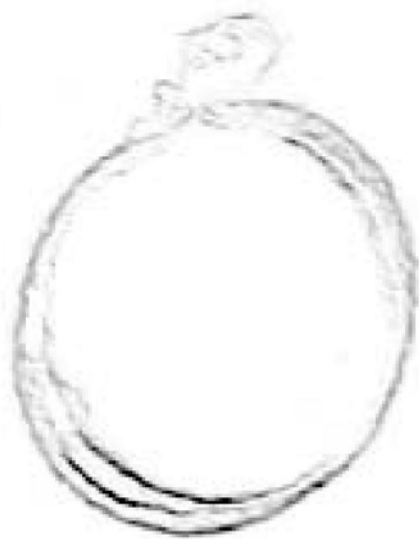


图6