



# [12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 99815022.3

[45] 授权公告日 2005 年 1 月 5 日

[11] 授权公告号 CN 1182882C

[22] 申请日 1999.12.24 [21] 申请号 99815022.3

[30] 优先权

[32] 1998.12.24 [33] WO [31] PCT/IB98/02114

[86] 国际申请 PCT/IB1999/002053 1999.12.24

[87] 国际公布 WO2000/038762 英 2000.7.6

[85] 进入国家阶段日期 2001.6.22

[71] 专利权人 生物安全股份有限公司

地址 瑞士爱辛斯

[72] 发明人 C·费利

审查员 熊 茜

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 徐 迅

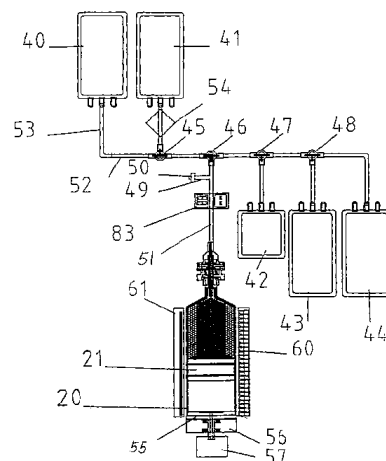
权利要求书 5 页 说明书 11 页 附图 7 页

[54] 发明名称 特别用于浓缩造血干细胞的血液分离系统

[57] 摘要

一种处理并分离生物液成分的系统，包括一组装要分离的生物液和已分离成分的容器(40, 42 - 44)，和一可绕转轴旋转的空心离心处理室(20)，它具有轴向的进口和出口(7)，还含有一轴向活动构件(21)，其限定接收生物液的可变体积的分离舱，该构件可沿轴向运动，装置(60 - 69)监测轴向活动构件(21)位置，从而控制操作吸入生物液和分离的成分挤出量，该系统还包括压力调节阀装置(45 - 48; 120 - 127)，用于在处理室(20)和容器(40 - 44)之间建立选择性连通，或将处理室和容器之间的连通切断。将该系统列陈以独立模式和非独立转移模式运行，尤其是用于在已分离造血干细胞中加入防腐溶液。在独立模式下，液体被吸入处理室(20)，离心并被分离成成分，成分用密度梯度产物尽可能的挤出。在非独立转移模式下，处

理室(20)在静止的情况下吸入并挤出液体，阀门驱动装置(45 - 48)利用活塞(21)的运动，将液体从一个容器(40 - 44)通过处理室(20)传递到另一个容器，而不离心或分离，而用于监测活塞位置的装置(60 - 69)控制传递的未分离液体量。还包括用该系统处理和分离生物液的方法和含有该系统离心处理室的一次性使用装置。



1. 一种处理并分离生物液成分的系统，该系统包括一组盛放要分离的生物液和已分离成分的容器(40,42-44)，和一空心离心处理室(20)，所述处理室可绕转轴旋转，并具有轴向的用于要处理的生物液和处理过的液体成分的进口和出口(7)，所述处理室含有一轴向活动构件(21)，所述构件(21)限定接收生物液的可变体积的分离舱，所述构件(21)可沿轴向运动，以通过所述进口将选定量的要处理的生物液吸入分离舱，并通过所述出口从分离舱挤出处理过的生物液成分，装置(60-69)监测轴向活动构件(21)位置，从而控制操作吸入生物液和分离的成分挤出量，该系统还包括压力调节阀装置(45-48；120-127)，用于在处理室(20)和容器(40，42-44)之间建立连通，或将处理室和容器之间的连通切断，其特征在于，该系统包括控制操作系统以两种运行模式，独立模式和非独立转移模式运行的组件：

- 在独立模式下，液体可在处理室旋转中或静止时被吸入处理室(20)，吸入处理室的液体被离心并分离成成分，当处理室在旋转时已分离的成分被挤出，或对于最后被分离的成分，当处理室静止时被挤出；和

- 在非独立转移模式下，处理室(20)在静止时吸入和挤出液体；阀门驱动装置(45-48；120-127)通过轴向移动构件(21)，可促使将一定量的液体从所述容器(40，42-44)中的一个通过处理室(20)转移到另一个容器，而不离心或将液体分成成分，监测轴向活动构件(21)位置的所述装置(60-69)控制被转移的未经分离的液体量。

2. 如权利要求1所述的系统，其特征在于，该系统还包括一个或多个装添加剂溶液的附加容器(41)。

3. 如权利要求1所述的系统，其特征在于，压力调节阀装置含有一套旋转旋塞阀(45-48)，排列成管线阵列(58)，或一多端口旋转阀门(120-132)。

4. 如权利要求1或2所述的系统，其特征在于，压力调节阀装置含有多个旋塞阀(45-48)，所述旋塞阀与连接容器(40,42-44)、处理室(20)、附加容器(41)和其它旋塞阀的管线相互连接，每个旋塞阀(45-48)包括具有轴(84-87)的可旋转旋塞阀构件，并和驱动组件(100-103)结合，所述轴的旋转使旋塞阀的管线选择性连通或不连通。

5. 如权利要求4所述的系统，其特征在于，该系统包括使每个旋塞阀(45-48)仅以和可旋转旋塞阀构件成限定的角度插入的组件。

6.如权利要求 1 所述的系统,其特征在于,所述压力调节阀装置是一多端口阀门,包括一中央转子(127),可旋转的固定在环形定子(126)上,转子具有和处理室(20)连接的中央端口(120),并延伸到转子外周,而定子具有多个呈选定角度的端口(121-125),每个都和容器(40, 42-44)连接,并延伸入环形定子内周,转子的中央端  
5 口(120)通过旋转转子(127)和定子(126)的所选端口(121-125)连通或断开。

7.如权利要求 1 所述的系统,其特征在于,所述活动构件是一活塞(21),可移动的液密固定在正圆柱形离心处理室(20)中。

8.如权利要求 7 所述的系统,其特征在于,该系统还包括用于监测活塞(21)位置的光学组件,包括与活塞轴平行的光发射元件(60)线列,与活塞轴平行的光接收  
10 元件(61)线列,该接受元件配置成用于接收通过或经过活塞(21)或由活塞(21)反射的来自发射元件(60)的光,并释放代表活塞位置的信号(62)。

9.如权利要求 8 所述的系统,其特征在于,所述信号(62)被释放给用于移动活塞(21)的组件(70,71),和用于控制活塞位置的组件(60-65)。

10.权利要求 1 所述的系统,其特征在于,该系统包括监测管线(51)中液体的光学传感器(83),所述传感器与轴向进口和出口(7)连接,用于当管线(51)在吸收模式下为空时停止吸入生物液,和/或在提取模式下提供切换压力调节阀的信号(45-48;  
15 120-127)。

11.如权利要求 1 所述的系统,其特征在于,所述轴向进口和出口含有可固定在静止外壳(1-2)中的可旋转密封件(3-6),所述密封件可在旋转室(20)中在正压和负  
20 压条件下运行。

12.如权利要求 1 所述的系统,其特征在于,处理室(20)由支承组件在处理室对端固定,以绕轴旋转,处理室(20)的一端和组件(55-57)结合,通过旋转盘(55)与处理室底(22)的接触,使处理室(20)旋转,而在处理室周围没有任何支承。

13.如权利要求 1 所述的系统,其特征在于,在所述两种运行模式下控制系统  
25 运行模式的组件是基于微处理器的控制系统,所述系统控制自动化方案。

14.一种在权利要求 1 所述的系统中处理和分离生物液的方法,其特征在于,该系统包括一组盛放要分离的生物液和已分离成分的容器(40,42-44),和一空心离心处理室(20),所述处理室可绕转轴旋转,并具有轴向的用于要处理的生物液和处

理过的液体成分的进口和出口(7)，所述处理室含有一轴向活动构件(21)，所述构件(21)限定接收生物液的可变体积的分离舱，所述构件(21)可沿轴向运动，以通过所述进口将选定量的要处理的生物液吸入分离舱，并通过所述出口从分离舱挤出处理过的生物液成分，装置(60-69)监测轴向活动构件(21)位置，从而控制操作吸入生物液和分离的成分挤出量，该系统还包括压力调节阀装置(45-48；120-127)，用于在处理室(20)和容器(40，42--44)之间建立连通，或将处理室和容器之间的连通切断，该系统包括控制操作系统以两种运行模式，独立模式和非独立转移模式运行的组件：

5           - 在独立模式下，液体可在处理室旋转中或静止时被吸入处理室(20)，吸入处理室的液体被离心并分离成成分，当处理室在旋转时已分离的成分被挤出，或对于最后被分离的成分，当处理室静止时被挤出；和

10           - 在非独立转移模式下，处理室(20)在静止时吸入和挤出液体；阀门驱动装置(45-48；120-127)通过轴向移动构件(21)，可促使将一定量的液体从所述容器(40，42-44)中的一个通过处理室(20)转移到另一个容器，而不离心或将液体分成成分，监测轴向活动构件(21)位置的所述装置(60-69)控制被转移的未经分离的液体量；该方法包括：

用以分离模式运行的系统分离生物液，通过在处理室旋转或静止时将液体吸入处理室(20)，离心吸入处理室(20)的液体，以将液体分离成成分，并在处理室旋转时挤出分离的成分，对于最后的成分，在处理室静止时挤出；

20           在容器(40，42-44)之间转移液体，系统以转移模式运行，通过在处理室静止时将液体吸入处理室(20)，驱动阀门分配装置(45-48；120-127)来从所述容器(40，42-44)中的一个将一定量的液体通过处理室(20)，移动构件(21)使液体转移到另一个容器，而不离心或分离液体为成分，并监测活动构件(21)的位置，来控制转移的未分离液体的量。

25           15.如权利要求14所述的方法，其特征在于，生物液的一种成分被分离入所述容器(40，42-44)中的一个给定的容器(42)，分离入给定容器(42)的所述分量通过监测所述构件(21)的位置控制，在所述非独立转移模式下，从附加容器(41)将添加剂溶液通过处理室(20)转移到给定容器(42)中，转移的添加剂溶液量被计算成给定容器(42)中所述分离的成分量的函数。

16.如权利要求 14 或 15 所述的方法，其特征在于，将密度梯度产品和血液引入处理室(20)，生物液成分被分离入给定容器(42)，当密度梯度出现时，其收集完成。

17. 如权利要求 14 所述的方法，其特征在于，所述系统以所述的两种运行模式运行是由基于微处理器的控制系统的自动化方案控制的。

18.如权利要求 1 所述的系统，其特征在于，所述容器(40,42-44)、所述空心离心处理室(20)和所述 压力调节阀装置(45-48; 120-127)是一次性使用的，所述压力调节阀装置含有一套配置成管线阵列(58)的旋转旋塞阀(45-48)，或多端口旋转阀门(120-132)。

19.如权利要求 18 所述的系统，其特征在于，压力调节阀装置包括旋转旋塞阀(45-48)，排列成管线阵列(58)。

20. 如权利要求 18 所述的系统，其特征在于，压力调节阀装置包括一多端口旋转阀门(120-132)。

21.如权利要求 1 所述的系统的用途，其特征在于，该系统包括一组装要分离的生物液和已分离成分的容器(40,42-44)，和一空心离心处理室(20)，所述处理室可绕转轴旋转，并具有轴向的用于要处理的生物液和处理过的液体成分的进口和出口(7)，所述处理室含有一轴向活动构件(21)，所述构件(21)限定接收生物液的可变体积的分离舱，所述构件(21)可沿轴向运动，以通过所述进口将选定量的要处理的生物液吸入分离舱，并通过所述出口从分离舱挤出处理过的生物液成分，装置(60-69)监测轴向活动构件(21)位置，从而控制操作吸入生物液和分离的成分挤出量，该系统还包括压力调节阀装置(45-48; 120-127)，用于在处理室(20)和所述容器(40, 42-44)之间建立连通，或将处理室和容器之间的连通切断，该系统包括控制操作系统以两种运行模式，独立模式和非独立转移模式运行的组件：

- 在独立模式下，液体可在处理室旋转中或静止时被吸入处理室(20)，吸入处理室的液体被离心并分离成成分，当处理室在旋转时已分离的成分被挤出，或对于最后被分离的成分，当处理室静止时被挤出；和

- 在非独立转移模式下，处理室(20)在静止时吸入和挤出液体；阀门驱动装置(45-48; 120-127)通过轴向移动构件(21)，可促使将一定量的液体从所述容器(40, 42-44)中的一个通过处理室(20)转移到另一个容器，而不离心或将液体分成成分，

监测轴向活动构件(21)位置的所述装置(60-69)控制被转移的未经分离的液体量，其特征在于，该系统用于处理从10毫升到分离室(20)的最大体积的体积可变的生物液，并在分离的成分中加入添加剂溶液。

22.如权利要求21所述的用途，其特征在于，用于从血液分离干细胞并将分离的干细胞和防腐溶液混合。

23.如权利要求22所述的用途，其特征在于，用于从脐带血、胎盘收集物或从骨髓抽吸液分离造血干细胞。

## 特别用于浓缩造血干细胞的血液分离系统

5

### 发明领域

本发明涉及自动处理和分离生物细胞，如在全血中发现的那些细胞，更具体的涉及一种功能上密闭式的系统，能抽提某些细胞群(如造血干细胞)，用于即时使用，或它们和添加剂溶液或储藏溶液的混合物，用于随后的分离储藏操作，还涉及进行这种抽提的方法。

10

### 发明背景

对应于对高效血液成分治疗的日益增长的需要，在过去 20 年已出现了血液分离系统和方法。在这些治疗中有造血祖干细胞的移植，它在许多情况下是肿瘤性疾病的唯一可行的治疗方法。需要干细胞移植的病人主要有三种选择：

- 1) 成人骨髓干细胞；
- 15 2) 在循环系统中发现的外周血干细胞；
- 3) 在从新生儿出生时回收的脐带和胎盘血中发现的干细胞。

对于大多数干细胞移植，主要的限制在于存在移植物抗宿主病(GVHD)的危险，需要极好的 HLA-匹配组织(HLA=人白细胞相关的)。

20 脐带血是具有广泛的增殖能力和自身更新能力的原始造血干细胞和祖细胞丰富来源。该领域已从仅利用 HLA-匹配的移植物的临床移植，迅速进展到了使用无关供体细胞移植，为干细胞移植打开了一条更广阔的指征。使用脐带血的临床实践的增多，主要是因为无关脐带血造血干细胞储藏库的建立。

25 从脐带回收的血液体积通常很小(40-150 毫升)，而且担心生产操作和浓缩的任何尝试都会导致干细胞损失，它将损害移植。因此，脐带血通常在储藏时加入防腐溶液。更好的方法是除去大部分不需要的细胞，如红细胞和白细胞，使得体积明显减少。这样需要的防腐溶液较少，可使用更小的袋子、更小的储藏空间，并节约大量能量，所有这些导致实质上成本的降低。当重新灌输时，干细胞产品的质量也将提高，因为储藏导致的裂解细胞将急剧减少。

对于处理和浓缩在线(online)脐带干细胞尚不存在任何装置或自动化系统。

但是对于浓缩脐带血干细胞而不损失或改变它们的功能有相当可观的兴趣。

EP-B-0 912 250 (C. FELL) (其内容在此引入以供参考)描述了一种系统, 用于将生物液处理并分离成成分, 包括一组容器, 用于回收要分离的生物液和已分离的成分, 和可任选的一或多个添加剂溶液附加容器。一个空心离心处理室, 该处理室靠  
5 与旋转驱动单元啮合, 可围绕转轴旋转。处理室具有一轴向的用于要处理的生物液和该生物液已处理成分的进/出口。该进/出口引入体积可变的分离舱, 在其中进行生物液的整个离心处理过程。处理室具有从处理室端壁延伸的正圆柱形的壁, 该正圆柱形的壁在其中规定了空心处理室的范围, 它占据了和转轴同轴的空心开口圆柱形空间, 轴向进/出口位于所述和正圆柱形端壁同轴的所述的端壁中, 开口向中空  
10 的处理室。处理室在正圆柱形壁内含有一可轴向活动的构件, 例如活塞。可变体积的分离舱被正圆柱形壁和处理室正圆柱形壁中所含的轴向活动构件限制在处理室上部, 其中活动构件的轴向运动改变分离舱的体积, 活动组件在处理室中轴向运动, 以在离心处理之前或之中通过进口将选择量要处理的生物液吸入分离舱, 并在离心处理之中或之后将已处理的生物液成分从分离舱通过出口挤出。提供了监测活动构件  
15 位置的工 具, 从而控制吸入生物液和挤出分离成分的量。该系统还包括压力调节阀, 以在处理室和所选的容器中建立选择性连通, 或将处理室和容器之间的连通切断。

根据 EP-B-0 912 250 该系统被设计成用于操作生物液的分离, 并已证明对于许多分离用途是多价的, 尤其是从供体或病人在线分离成分。

20 发明公开

根据本发明, 该系统被安装成一组盛放要分离的生物液和已分离成分的容器 40,42-44, 和一空心离心处理室 20, 所述处理室可绕转轴旋转, 并具有轴向的用于要处理的生物液和处理过的液体成分的进口和出口 7, 所述处理室含有一轴向活动  
25 构件 21, 所述构件 21 限定接收生物液的可变体积的分离舱, 所述构件 21 可沿轴向运动, 以通过所述进口将选定量的要处理的生物液吸入分离舱, 并通过所述出口从分离舱挤出处理过的生物液成分, 装置 60-69 监测轴向活动构件 21 位置, 从而控制操作吸入生物液和分离的成分挤出量, 该系统还包括压力调节阀装置 45-48; 120-127, 用于在处理室 20 和容器 40, 42-44 之间建立连通, 或将处理室和容器之间的连通切断, 该系统包括控制操作系统以两种运行模式, 独立模式和非独立转移

模式运行的组件：

- 在独立模式下，液体可在处理室旋转中或静止时被吸入处理室 20，吸入处理室的液体被离心并分离成成分，当处理室在旋转时已分离的成分被挤出，或对于最后被分离的成分，当处理室静止时被挤出；和

- 5       - 在非独立转移模式下，处理室 20 在静止时吸入和挤出液体；阀门驱动装置 45-48；120-127 通过轴向移动构件 21，可促使将一定量的液体从所述容器 40，42-44 中的一个通过处理室 20 转移到另一个容器，而不离心或将液体分成成分，监测轴向活动构件 21 位置的所述装置 60-69 控制被转移的未经分离的液体量。

在本发明的另一个方面，公开了在上述系统中处理和分离生物液的方法，包括：

- 10       用以分离模式运行的系统分离生物液，通过在处理室旋转或静止时将液体吸入处理室 20，离心吸入处理室 20 的液体，以将液体分离成成分，并在处理室旋转时挤出分离的成分，对于最后的成分，在处理室静止时挤出；

- 15       在容器 40，42-44 之间转移液体，系统以转移模式运行，通过在处理室静止时将液体吸入处理室 20，驱动阀门分配装置 45-48；120-127 来从所述容器 40，42-44 中的一个将一定量的液体通过处理室 20，移动构件 21 使液体转移到另一个容器，而不离心或分离液体为成分，并监测活动构件 21 的位置，来控制转移的未分离液体的量。

- 20       在本发明的还有一个方面，公开了一种用于收集和分离选定量的生物液的一次性使用装置，该装置包括上述系统的离心处理室 20，该离心处理室 20 的进口和出口和生物液的容器 40、含有添加剂溶液的另一个附加容器 41、所述容器 40，42-44 中的接收生物液分离的成分的多个容器 42-44 连接，它们之间由压力调节阀装置相互连接，所述压力调节阀装置含有一套配置成管线阵列 58 的旋转旋塞阀 45-48，或多端口旋转阀门 120-132。

- 25       在本发明的另一个方面，公开了上述系统的用途，用于处理从 10 毫升到分离室 20 的最大体积的体积可变的生物液，并在分离的成分中加入添加剂溶液。

因此，该发明提出了一种功能上密封的处理盒，它和可移动装置连接，该装置的功能是监测并使过程自动化。该盒一般是一次性使用的，以避免疾病传播的可能性，并基于离心处理室，其体积可在运行中变化，从而调节要处理血液的准确量。在上述 EP-B-0 912 250(C. FELL)中描述了该体积可变的处理室。处理室和一组袋子和管线连接，用于收集分离的成分。含有要处理血液的血袋一般通过使用无菌连接装置的一次性使用装置连接，或在层流下的无菌连接。然而可以将该袋子预先用抗凝剂填充，并预先和该一次性盒连接。

可通过除菌滤器将含有添加剂溶液的袋子和该一次性盒连接。提供了其它袋子，用于收集已分离的成分。该干细胞收集袋材料最好根据储藏条件来选择。

10 用于将已分离产品传递到适当的袋子中的管线选择是由一组可装配成管线阵列(manifold array)的旋转阀门(称为旋塞阀 stopcock)，或由一个成为该装置一部分的多端口旋转阀门实现。该装置能在使用标准夹紧阀时，消除毗邻管线之间的任何交叉污染。

上述一次性使用的盒可与监测和自动化过程的仪器(如 EP-B-0 912 250(C. FELL)所述)协作。离心机驱动一转盘，它承受离心处理室，并将其固定在本位。其密封盖将夹紧并固定处理室旋转密封件的外壳。

在离心机的一边垂直装有由一组 LED 组成的光学传感器和与其位于 180° 的相应接收传感器，以监测活塞位置。因此，可准确测量吸入处理室或从处理室挤出的体积。顶板装有光学行列传感器模块，它检测流出管线中的颜色，将该信息反馈给控制程序。从顶板突出一组配有用于驱动一组多重旋塞阀的轴阵列。它们和一组电动机耦合，实现管线选择。编码器和电动机结合，以监测旋塞阀的位置。面板装有一窗口，使用户能看到活塞在处理室中的移动。

从脐带中抽提干细胞的程序如下。在出生时，从脐带中回收原始血液，并无菌收集入塑料袋，加入抗凝剂(如柠檬酸-磷酸-葡萄糖 CPD-1)，以避免凝血。采集最初样品，以评估其干细胞丰度后，将该袋子灭菌或无菌的和处理盒连接，将整套装置装到分离系统上，该系统最初按选择的独立模式或传递模式运行。在分离模式中，离心机开始以约 4000rpm 驱动分离室，通过使处理室活塞由压缩空气驱动向下

运动,引入血液。然后可发生两种情况。如果要处理的血液体积比处理室体积小(如监测到流出管线的空状态),通过气动将活塞维持在中间,由活塞位置传感器监测。如果血液完全充满分离室(由活塞到达室底部检测),气动压缩机停止。就两种情况而言,将离心速度提高到约 6000rpm,以将沉淀时间缩短到 5-8 分钟。这段时间以后,离心缓慢下降到约 4000rpm。旋转旋塞阀,来收集已分离的产物,气压逐渐升高,将活塞向上推。活塞速度仍然缓慢,由活塞位置传感器主动监测,来维持处理室内细胞的沉淀情况。来自进料线的最初几微升在干细胞袋中被除去。血浆被抽提并收集在第一袋中。然后是血小板,压缩在中间层中,或淡黄色的白细胞层。监测流出管线的光学行列传感器检测到该第一批血小板的出现。此时,富含干细胞的产物通过旋转一旋塞阀,被引入第二个收集袋中。启动体积计,它在其它因子中依靠处理过的全血体积。当达到该计算体积时,停止离心。旋转所需的旋塞阀,将最后产物(基本上是一定体积的压积红细胞和剩余的粒细胞)挤到第三个收集袋中。如果脐带血没有完全被处理,可重新开始另一循环。另外,在该节段完成分离和干细胞的收集过程。

然而,考虑到要进一步纯化该产物,重新处理含有干细胞的袋子的内容物是可能的。对此,旋转适当的旋塞阀,来吸入干细胞浓缩袋中的内容物。收集干细胞富集层的程序和上述的相同。

另一种从淡黄色的白细胞层中分离干细胞丰富成分的丰富是用密度梯度产品,如那些可用商品名 Ficoll 和 Percoll 购得的。在这另一种方法中,首先密度梯度产品被引入处理室,然后引入全血,将生物液的成分分别导入给定的容器,当密度梯度出现时,它的收集完成。在处理中,可引入密度梯度产品。

使用 Ficoll 可能包括首先将密度梯度产品引入处理室,然后引入全血。将血完全引入处理室后,开始数分钟的沉淀过程。干细胞和血小板在梯度前形成界面,而红细胞和粒细胞通过 Ficoll,贴在分离室壁上。然后活塞如标准程序中一样,向上稍稍升起,在第一批血小板出现时收集干细胞成分。当 Ficoll 从室中流出时,流出线又变澄清,这是停止收集的适当时机。

当用上述方法之一收集干细胞时,可在处理室中通过转动适当的旋塞阀,将足量的防腐溶液引入处理室,系统以非独立转移模式运行。然后干细胞被重新转移入干细胞袋中,其体积由活塞位置传感器精确控制。



- 图 9.1 到图 9.6 是功能图表，显示使用本发明的包括处理室和一套旋塞阀的一次性装置分离脐带血的各个步骤。

### 系统详述

处理室 20 和 EP-B-0 912 250 (C. FELL) 描述的一致。图 1 是处理室 20 的全视图。旋转密封件 12 位于其上端 10。旋转密封件 12 由上半部分 1 和下半部分 2 组成。在两者之间有摩擦圆盘 3，用摩擦系数较低的金属，如抛光不锈钢或陶瓷制造。用生物相容材料，如聚碳酸酯制备的中央管 7 和上半部分 1 结合。O 形环圈 8 确保上半部分 2 和摩擦圆盘 3 之间的密封性。旋转密封件 12 固定在中央衬套 11 上，衬套 11 固定在处理室 20 的上端 10 上。然而，中央衬套 11 可以是构成室 20 整体的重要部分。中央管 7 和中央衬套 11 的壁之间的缝隙很小，比如 0.5 毫米，以提供高转动阻抗，来阻止任何液体达到衬套 11 的上端。球轴承 9 被固定在衬套 11 上，以确保处理室 20 在插入离心装置时准确对齐。两个橡皮密封垫圈 5, 6 位于摩擦圆盘 3 两侧，密封垫圈 5 在上面，而密封垫圈 6 在下面，密封垫圈 5 和 6 是楔形垫圈 (V-seal)，确保达至少  $\pm 5 \times 10^4$  帕斯卡 (0.5 巴) 的正压和负压下的密封性。

活塞 21 是用透明材料，如聚碳酸酯制造的，并配有两个 O 形环圈 24 和 25。这些 O 形环圈是用低摩擦材料，如硅制造的。处理室 20 在其底面被带有除菌滤器 23 的罩 22 密封。空气可通过中央开口 26 和罩 22 中的滤器 23。用光学传感器组合件 60 和 61 (图 2) 可准确监测活塞 21 的位置。组合件 61 是用一组垂直的 LED (发光二极管 light-emitting-diode) 阵列构成的，优选发射红外线光谱内的光线，以减少背景光的干扰。仅打开面向活塞 21 的 LED，来防止其它 LED 的干涉。光束穿越透明活塞 21，在两个 O 形环圈 24 和 25 之间通过。CCD (“电荷耦合器”，charge-coupled device) 线性排列 61 被置于另一侧，呈  $180^\circ$ ，阵列 61 的外露像素产生峰形式的信号 62。

信号 62 被输入一低通滤波器 69，而将滤过的信号输入一校验器 67，它也从电位计 68 接收将滤过信号和背景噪声甄别开来的阈值。校验器 67 的输出和计数器 65 的允许 (启动) 门连接。用时钟信号 66 吸收 CCD 线性阵列 61 的每个独立像素的反应，并将此输入到计数器 65 的输入，计数器 65 的输出和 CPU64 连接，CPU64 计算活塞 21 的位置并且如果需要，用多路转接器/LED 驱动器 63 改变打开的 LED60。类似的，当需要时，CPU64 将改变压缩机驱动器 70 的信号，它提供给压缩机 71，

使其升高或降低加在活塞 21 下的压力，来控制其位置。

这仅是活塞 21 位置感测的一个例子。光源 60 可以是灯丝灯泡，或单一的线性光源。CCD 线性排列 61 可以被任何感光装置的阵列代替。接收感测装置(61)还可以置于发光装置 62 旁，该系统在来自活塞 61 的反射光下，而不是在活塞 21 的透射光下运行。

一次性使用装置(图 3)由袋 40-44、和旋塞阀 45-48 连接的管线，以及处理室 20 构成。袋 40 含有要处理的脐带血。袋 41 含有防腐溶液，通常基于 DMSO(二甲基亚砷)溶液。袋 41 和一次性装置通过 0.2 微米细菌滤器 54 连接。袋 42 是富含干细胞产物的收集袋。其塑料成分是用适合长期储藏的材料制造的。袋 43 是血浆收集袋，而袋 44 是红细胞收集袋。

图 3 还显示了使处理室 20 旋转的装置，通过旋转盘(55)与该室底(22)的接触，使室(20)旋转，而在室周围没有任何支承。

组织在管线 58 中的旋塞阀 45-48 阵列(图 5)在不同管线之间建立了连接。这些旋转旋塞阀在临近管线之间提供了良好的截断，并确保在密封管线和开放管线之间没有渗漏，不像用管线夹紧阀会发生的情况。这种管线(manifold)旋塞阀以各种形式存在，而且是商品可购得的。旋塞阀 45-48 由一组电动机 100-103 驱动(图 5)。这些电动机的上部轴 84-87 使用通过机壳顶层 88 的传递孔和各旋塞阀 45-48 底部结合。作为允许可能的手工驱动的安全标准，轴只能固定在旋塞阀的一个位置上，为此在轴和旋塞阀之间装配了合榫。电动机可以是步进电机或具有减速机的 DC 电机。它们和位置编码器 104-107 一起装配，它的信号被反馈给微处理器控制单元，确保活塞位置正确。

使用管线旋塞阀的一种代替品是一种旋转多端口阀门，如图 6 和 7 所示。一中央转子 127 被插入定子 126。转子 127 可摩擦旋转并可固定在电动机轴上。与处理室 20 连接的中央端口 120 可以通过控制一次旋转  $72^\circ$  角和周围端口 121-125 连通。作为允许可能的手工驱动的安全量度，可将合榫或其它部件装配在转子 127 和定子 126 中，用于将中央端口 120 弹簧固定在其与周围端口所成的选定角度位置。需要一电机通过固定凹槽 132 驱动转子。两个 O 形环圈 130-131 确保对外部的防水性(图 6)。

图 8 显示了固定仪器的机壳。它包括外壳 94，用于固定处理室 20 的旋转密封件 12。外壳 94 用两个半圆盘制成，可在折叶(hinge)89 上旋转。光学行列传感器 83 能感测流出管 51 中的颜色。它具有两个 LED-光敏传感器通道，用于不同的波长

如红和绿，并能检测从室 20 开始流出的细胞。它同样能检测当液体被引入处理室时，流出管线的空状态。压力孔测量器 86 安装有位于一次性使用装置上的除菌过滤器 49。这能监测处理室 20 中的压力。旋塞阀驱动电机 100-103 的上部轴 84-87(图 5)位于行列传感器 83 后方。倾斜的构件 90 装有用户信息显示屏 82 和控制仪器的键盘 81。窗 91 位于面板 92 上，提供处理室活塞运动的可见性。

### 脐带血分离的应用

图 9.1-9.6 描述了脐带血分离的应用。袋 40 含有富含干细胞的脐带血，从一婴儿出生时的脐带中回收。

该袋 40 含有抗凝剂(如 CPD)以避免血液凝集。管线 53 是和线 52 使用灭菌连接装置灭菌连接，或在层流下无菌连接的。然而，也可能将袋 40 和整套装置预先连接。分离步骤是：

步骤 1(图 9.1)：转动旋塞阀 45 和 46，使袋 40 和处理室 20 连通。离心开始，最初稳定在速度 4000rpm。仪器的气动系统建立了真空，使活塞 21 向下运动。其速度由光学传感器装置 61 和 62 监测，并由此调节真空度。如果袋 40 的体积比室 20 的处理体积小，流出管线 51 将变空，这将由光学行列传感器 83 检测。由于气动系统建立逆向压力，活塞 21 维持不动，而记录吸收入室 20 的体积。离心速度逐渐上升到 6000rpm，而压力相应上升，使活塞维持在相同位置。在袋 40 的体积比室 20 的处理量大的情况下，活塞 21 将达到室底部，并关闭气动系统。在两种情况下，沉淀时间约 5-8 分钟后，离心速度缓慢下降，而在活塞 21 下维持稳定的逆向压力。旋转旋塞阀 46、47、48，在处理室 20 和血浆袋 43 之间建立通路。

步骤 2(图 9.2)：当离心速度下降到约 4000rpm 时，活塞 21 开始以预定速度向上运动，使提取速率约 100 毫升/分钟。该值可通过程序参数修改。开始在袋 43 中收集血浆。当挤出的血浆体积达到吸入体积的约 40%时，提取速率将下降一半。包含在淡黄色白细胞层中的血小板开始被挤出，这由光学行列传感器 83 的吸光度检测。在吸光度的某水平(可由控制系统确定参数)，旋转旋塞阀 47，来建立处理室 20 和袋 42 之间的通路。

步骤 3(图 9.3)：引发体积计数器，开始收集干细胞非常丰富的产物。提取速率一直在活塞光学传感器装置 61 和 62 的控制下。可由用户在程序菜单中改变体积计数器值。该值的选择是为了获得所有干细胞群，该细胞群在密度和大小方面的特

征和淋巴细胞群相似。该值一般对应于吸入室的体积 20-30%。当达到该值时，旋转旋塞阀 47 和 48，和袋 44 建立通路。

5 步骤 4(图 9.4)：一般在该阶段停止离心，降低压力使剩余的红细胞顺利的挤出，进入袋 44。当活塞 21 到达处理室 20 顶部时，该时期完成，由活塞光学传感器装置 61 和 62 检测。在该时期，如果袋 40 不是空的，处理将从步骤 1 重新开始，否则它将从步骤 5 开始，这是非独立转移模式。一个可选的时期是进一步分离干细胞产物，使袋 42 的内容物回到处理室 20，再次离心产物并和以前一样，将其分离的成分挤出到袋 43、42 和 44 中。

10 步骤 5(图 9.5)：旋转旋塞阀 45 和 46，以在防腐溶液袋 41 和处理室 20 之间建立通路。防腐溶液通常是基于 10 或 20%体积的 DMSO 化学溶液的组合物，它还可含有磷酸缓冲液。离心停顿，气动系统建立真空，使活塞 21 向下移动。吸入体积和步骤 4 中描述的体积计数成比例。当达到该比例时，真空停止，转动旋塞阀 46 和 47，在处理室 20 和干细胞袋 42 之间建立通路。

15 步骤 6(图 9.6)：气动系统转向下，活塞 21 向上运动。在干细胞袋 42 的内容物中加入防腐溶液。当活塞达到处理室 20 顶部时，该转移时期完成，由活塞光学传感器装置 61 和 62 检测。可再加上一任意的阶段，如果干细胞产物必需用血浆进一步稀释。在该阶段将重复步骤 5 和 6，不同在于转移将在血浆袋 43、处理室 20 和干细胞袋 42 之间建立。

20 当完成了上述所有步骤时，所有旋塞阀将转到 45°，来关闭所有的连通端口。可将袋 42-44 和装置剩余部分分离，其余部分将在该阶段被丢弃。然后可将干细胞袋 42 运送到一独立的储藏单元，用袋 43 中的副产品血浆和红细胞 44 进行 HLA 配型和质量控制评估。

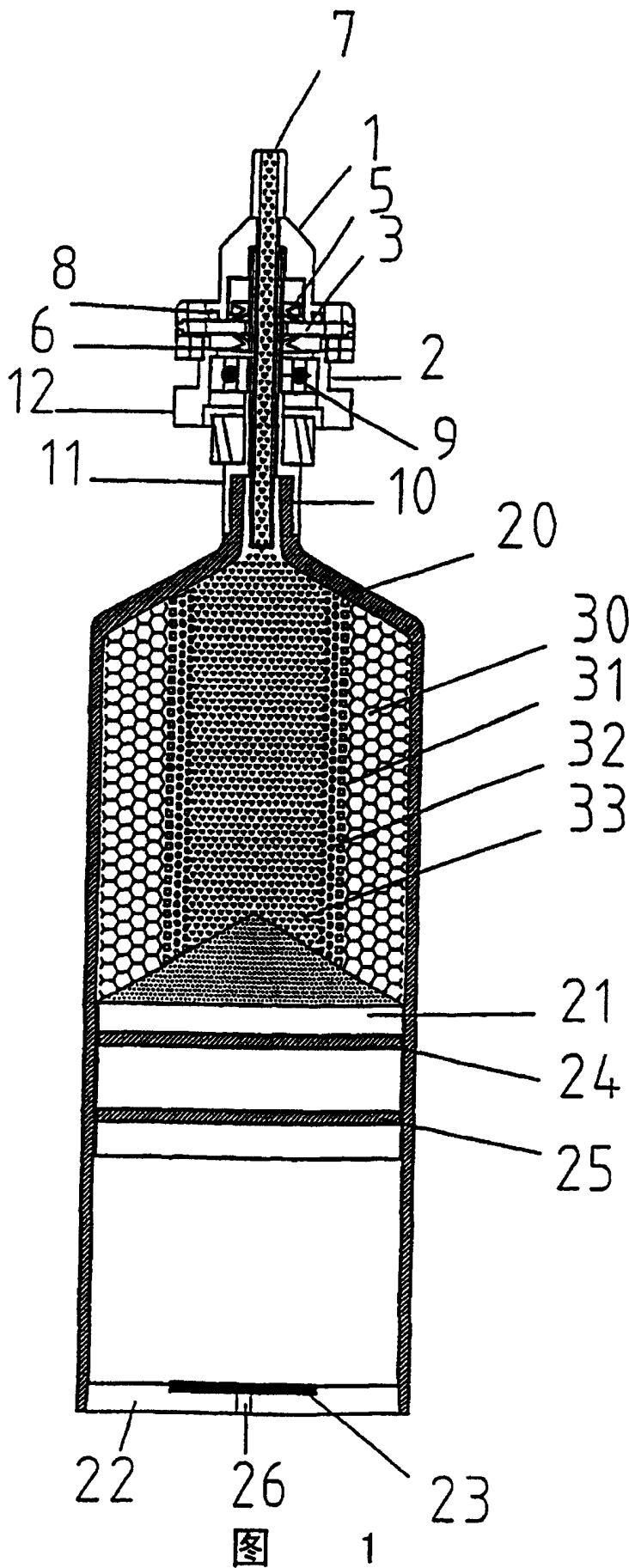
25 可理解包括非独立转移模式(即步骤 5 和 6)，开创了该系统的新用途，它在仪器仅单独以分离模式进行操作时是不可实现的，特别是需要在分离的成分中加入添加剂溶液的用途中。

可理解本发明将以数种不同形式实现，而不违背其精神或主要特征。本发明的范围由所附权利要求限定，而不是由说明书描述限定。所有符合权利要求的意义和等价范围的实施方案都由权利要求保护。

另外，本文描述的新光控装置(60-71)，以及活塞排列(45-48)和管线、多端

---

口阀门(图 6 和 7)、特别针对正压和负压操作的可旋转密封件(1-7)、固定室 20 的特别轴向支座(能在没有卡盘的情况下驱动),都可有利的用于不同系统。





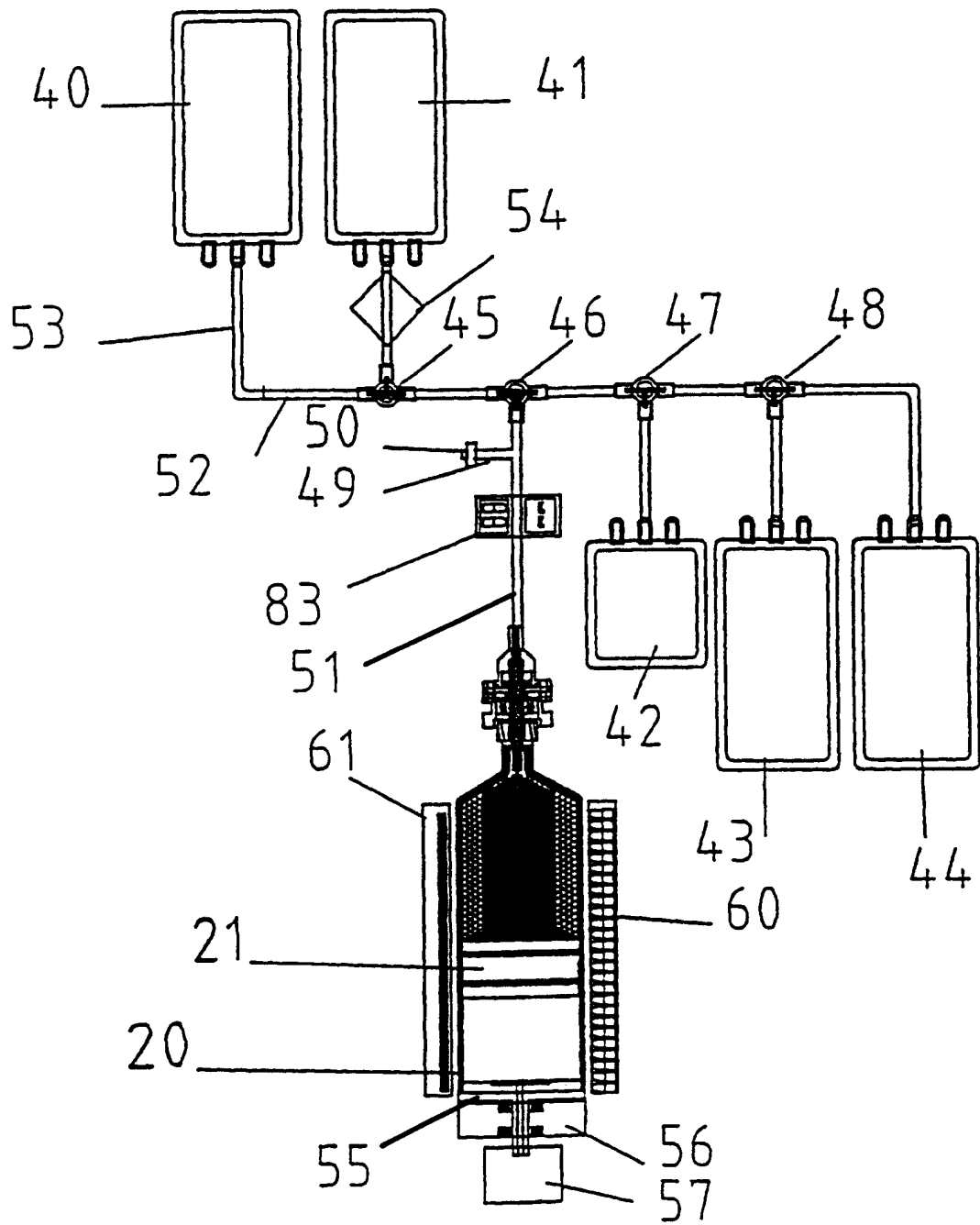


图 3

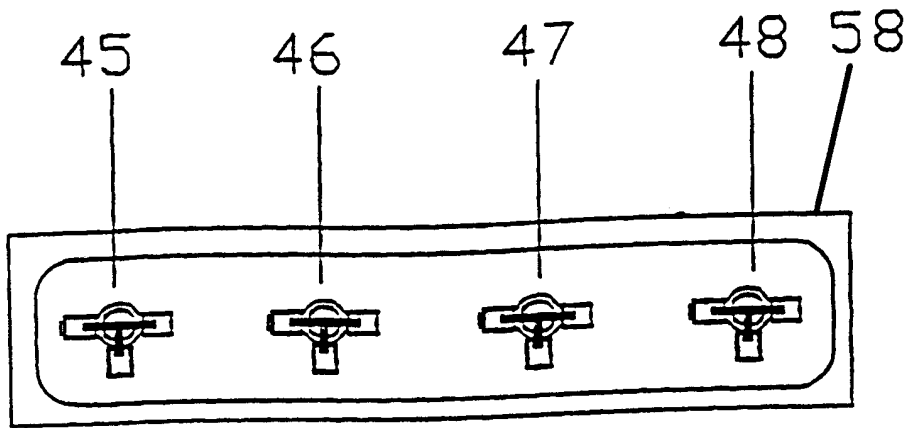


图 4

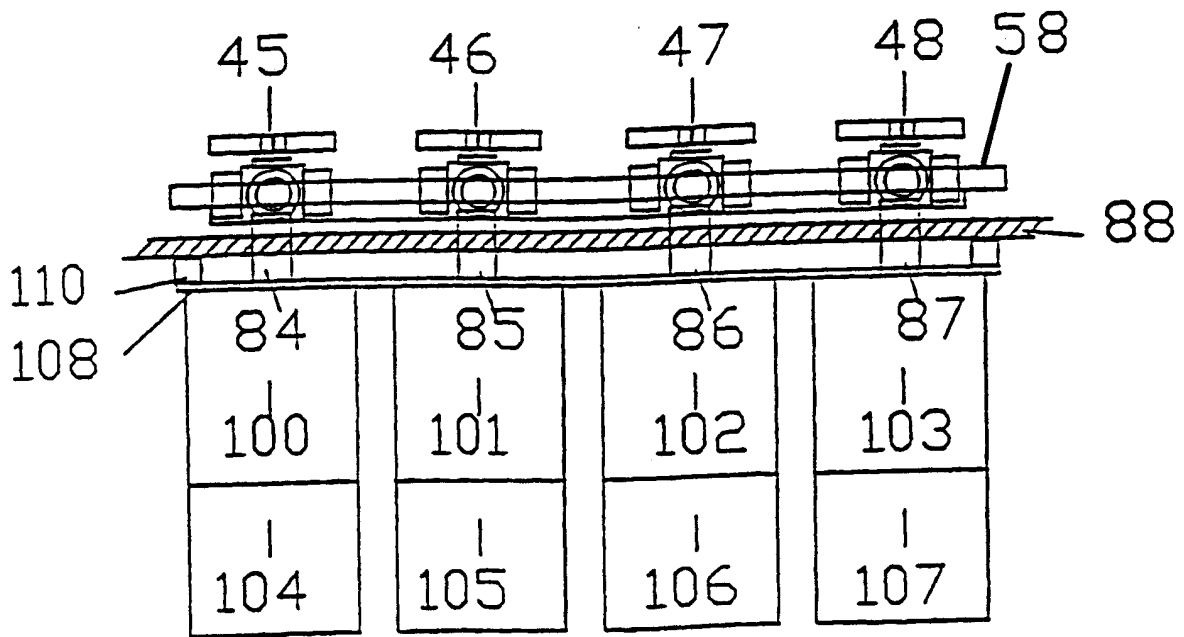


图 5

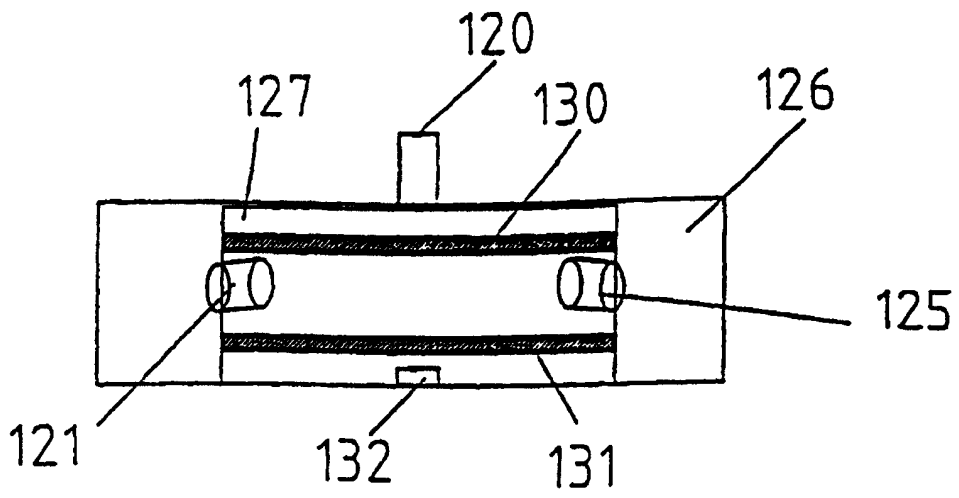


图 6

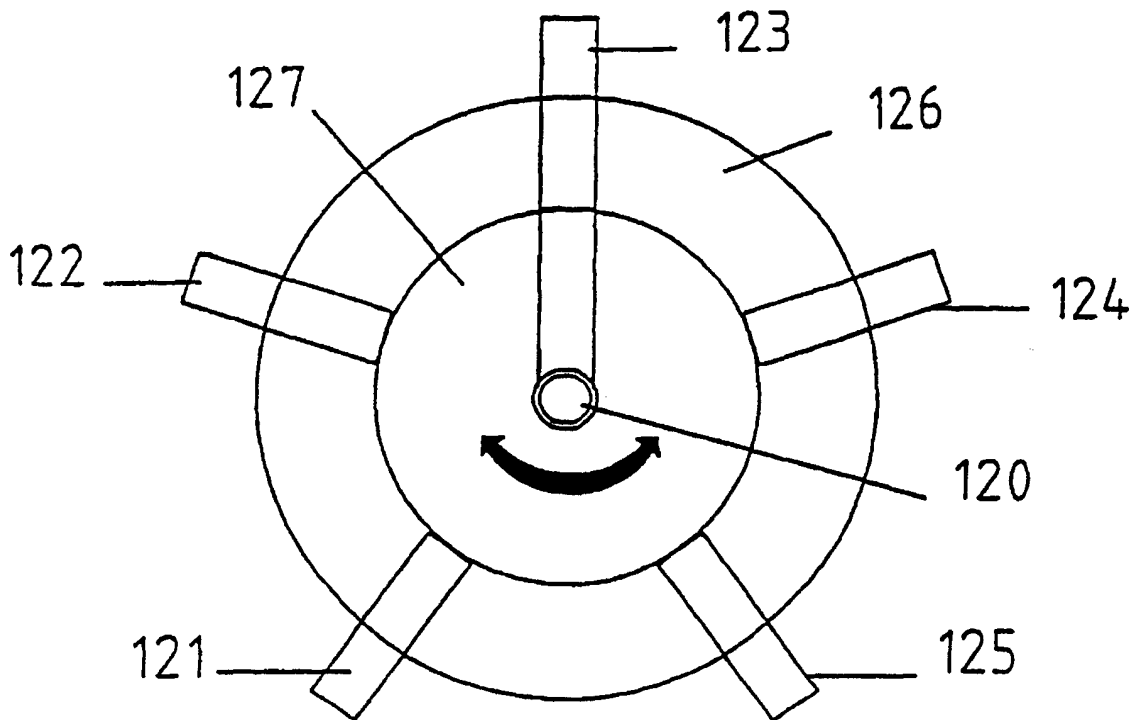


图 7

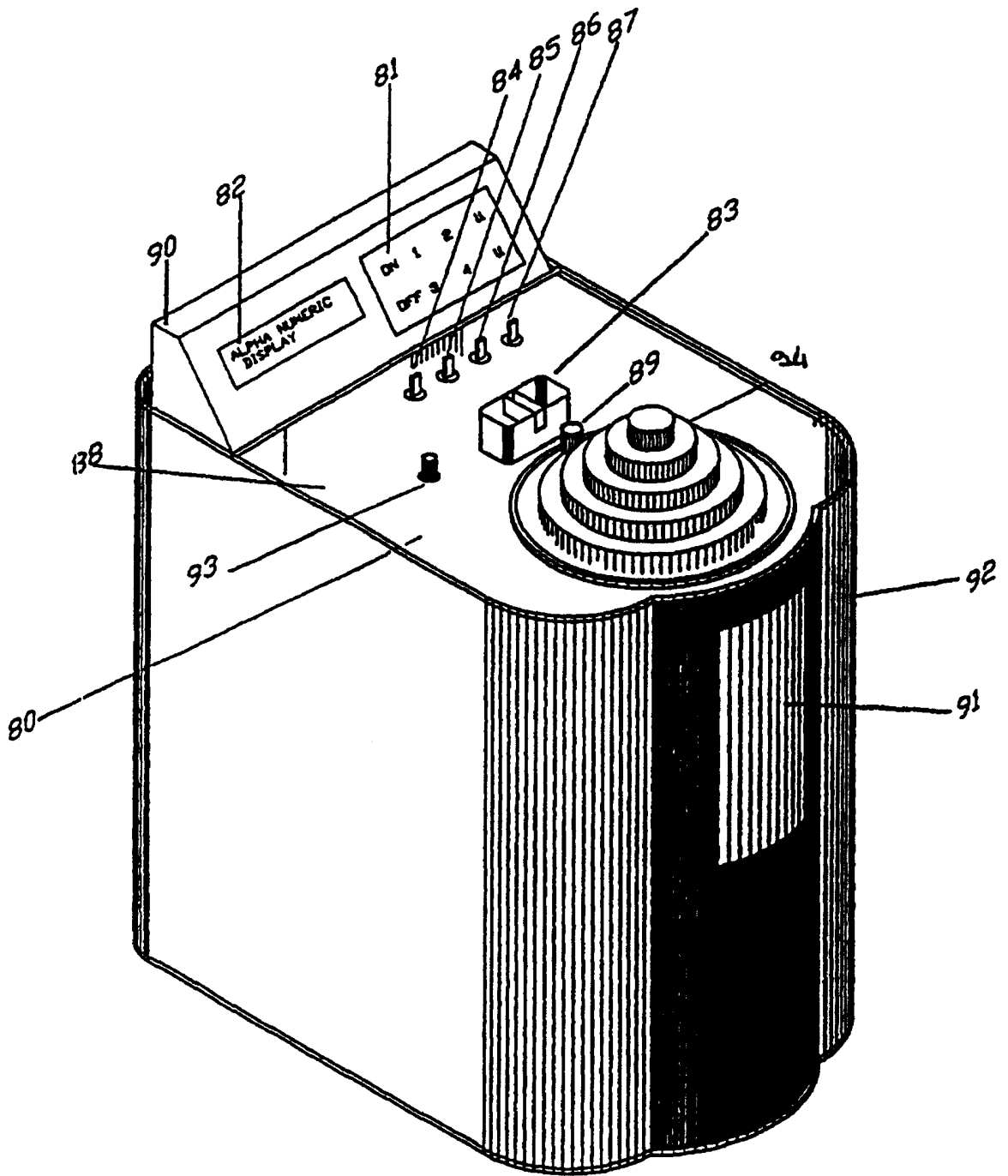


图 8

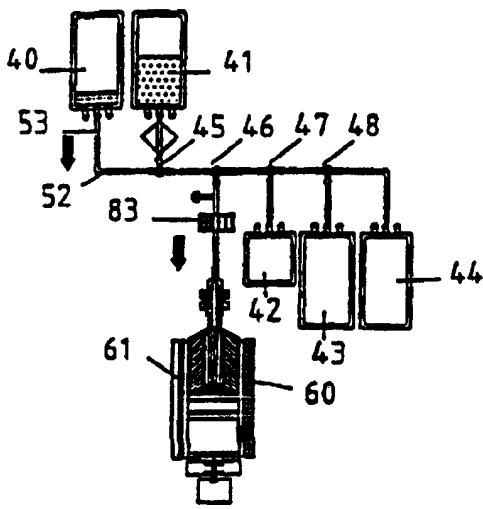


图 9.1

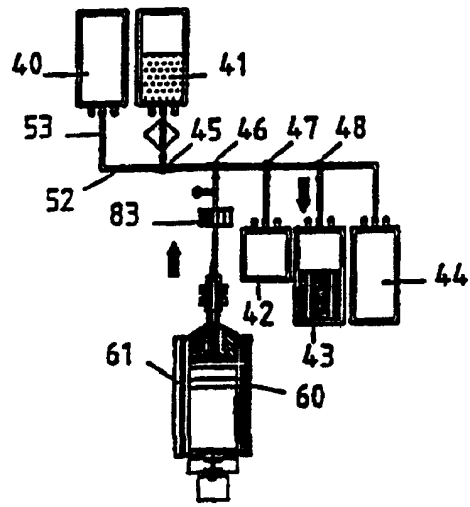


图 9.2

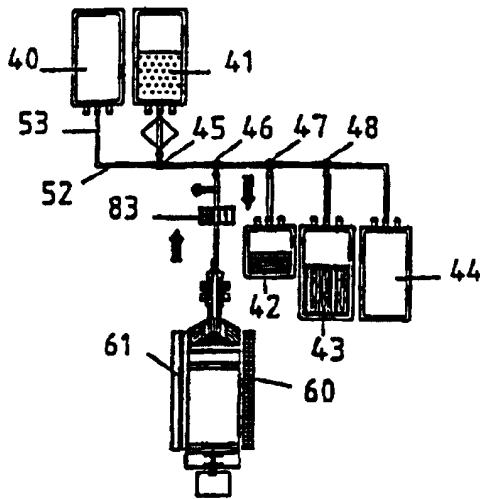


图 9.3

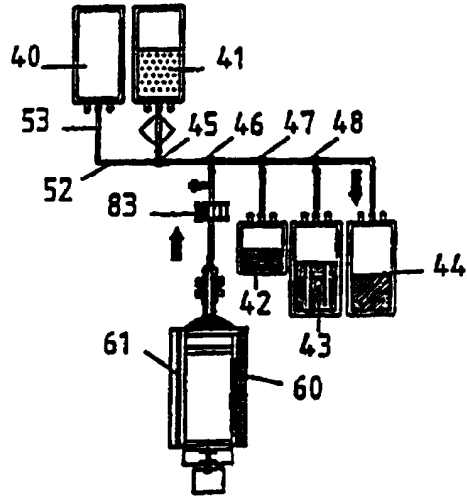


图 9.4

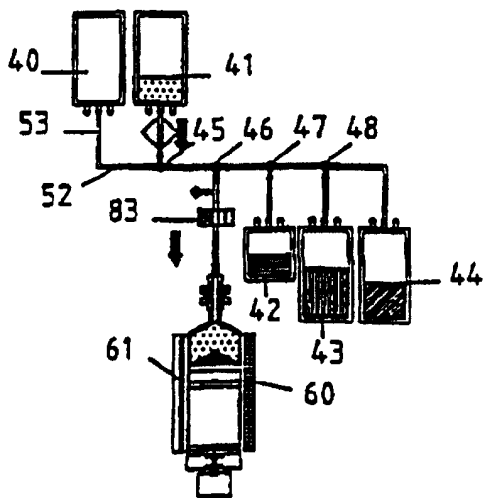


图 9.5

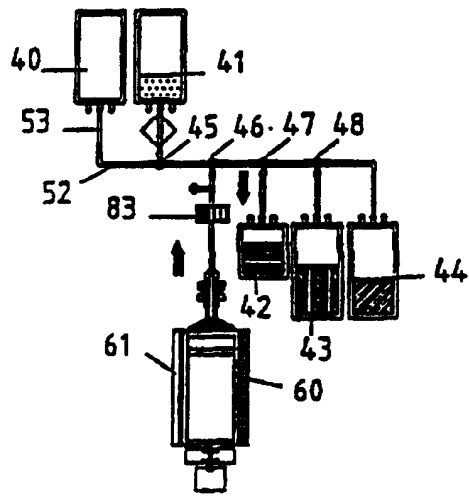


图 9.6