

鞘液供应系统、流式细胞仪及用于供应鞘液的方法

5 技术领域

本发明涉及细胞检测及分析技术领域。具体来说，本发明首先涉及一种用于流式细胞仪的鞘液供应系统，该鞘液供应系统用于将鞘液供应到流式细胞仪的流通池。

此外，本发明也涉及包含鞘液供应系统和流通池在内的流式细胞仪。

10 另外，本发明还涉及一种用于向流式细胞仪的流通池供应鞘液的方法。

背景技术

在细胞检测及分析领域，常将待检测细胞或粒子制备成单细胞或粒子悬液，作为样液。然后，使待检测细胞流或粒子流通过小孔，在小孔处通过
15 光学的或者电学的方法检测，例如流过激光聚焦光斑并被激发出荧光分析，从而得到细胞或粒子的数量、体积信息和内部特征。在样液通过小孔之前，可以引入一种载液（或称鞘液），使其包裹或裹绕在样液周围，这可以保证细胞或粒子排队通过小孔时处于小孔的中间位置，以便于进行光学或电学检测。

20 通常，将这种检测方法称为流式细胞术，而实现该检测方法的系统称为流式细胞仪。流式细胞仪能够对处在快速流动状态中的细胞或生物颗粒进行多参数、定量分析或分选，因而已被广泛应用于临床医学、细胞学、生物学、微生物学等领域，被誉为细胞生物实验室的 CT。

基于上述原理可知，流式细胞仪一般包括液流系统、光学系统、电子与
25 信号处理系统。液流系统至少包括样液供应系统、鞘液供应系统、废液排出系统等。例如，在将待检测细胞或粒子制成样液后，可以将经荧光染料标记后置入样液容器内，在泵送压力下使样液流向流通池。而鞘液作为辅助样液检测的基质液包裹在样液周围，从而使样液处于流通池中心位置，进而确保检测的准确性。例如，如果样液或者说待检测细胞或粒子并未处于中

心位置，则会造成其至少有一部分未被激光聚焦光斑所覆盖的不利情况。此外，鞘液还有助于防止样液中细胞靠近喷孔壁而堵塞喷孔。最后，样液和鞘液在流通池中汇合后再从其中排出，以形成废液。

因此，鞘流供应系统的鞘流供应稳定性、例如鞘液流速的稳定性对于检测结果具有直接影响。尤其是，通常在流式细胞仪中需要形成线流速达到8-15米/秒，在如此高的流速下些许波动可能都会造成偏差很大的检测结果，例如会导致信号采样和处理出现误差。鞘流的高流速有助于使待检测的各个细胞或粒子之间的信号峰隔开足够的距离，不会由于彼此重叠而导致检测精度下降。

为了确保鞘流供应的高稳定性，现有技术中通常采用高精度泵来泵送这种鞘液。但这种高精度泵通常非常昂贵，一台泵需要几万元。现有技术中也有采用低价的蠕动泵，但由于蠕动泵在运转时产生脉冲流，因而导致鞘液供应中也会出现脉动，这对于检测信号的分析很不利。尤其是对于具有分选功能的流式细胞仪，当检测到目标细胞后，需要在流道的下游位置对目标细胞捕获（例如形成液滴等），脉动现象甚至会导致捕获失败。因此，在现有技术中如果采用了蠕动泵，则通常需要将鞘流的流速大幅降低，以缓和由于波动带来的检测精度损失，但低流速显然会造成各个细胞的信号峰宽增加，峰高降低，这对于检测来说是不利的。

为此，在细胞检测分析领域中，尤其是对于流式细胞仪来说，始终存在对在使用蠕动泵进行泵送的情况下以简单的结构、较低的成本来确保鞘液供应的稳定性以提高检测精度的需求。

发明内容

本发明提供一种用于流式细胞仪的鞘液供应系统，该鞘液供应系统可以包括：第一容器，用于容纳鞘液；供应管路，布置在第一容器与流通池之间，供应管路可以包括第一管路和第二管路；蠕动泵，用于泵送鞘液；缓冲模块，缓冲模块可以包括：第二容器，预定体积的气体密封在第二容器内，其中，第一管路可以布置成使第一容器和第二容器流体连通，而第二管路布置成使第二容器与流通池流体连通，蠕动泵可以布置在第一管路上，以

将鞘液从第一容器泵送到第二容器，第二容器中的第一部分鞘液可以经由第二管路流向流通池；出流管路，出流管路的一端可以连接到第二容器，因而，在第一部分鞘液流向流通池的同时，第二容器中的第二部分鞘液能从中流出；其中，在蠕动泵进行泵送时，第二部分鞘液的流量大于第一部分鞘液的流量。

借助上述鞘液供应系统，在使用低价的蠕动泵的情况下可以大幅降低流向流动池的鞘液流量的波动，即提高鞘液流量的精度，并且使得在短时间内可以提高流向流动池的鞘液流量（例如，使流量加倍的时间保持较短）。

优选地，出流管路的远离第二容器的另一端可以延伸到第一容器内，以使第二部分鞘液流入第一容器。这可以使得能直接利用鞘液供应系统内的已有容器来提供卸压点，保持系统结构紧凑，同时使得鞘液可以继续循环利用（甚至用于后续其它程序，例如清洁），从而降低成本。

特别是，出流管路的远离第二容器的另一端可以与大气连通。在这种情况下，可以简单地提供卸压点，从而便于提高出流管路的流量，且保持系统结构简单。

在一些实施例 15 中，出流管路设计成使第二部分鞘液的流量可以为第一部分鞘液的流量的 1.5 倍到 5 倍，或者出流管路设计成使第二部分鞘液的流量可以占通过蠕动泵泵送到第二容器中的鞘液总流量的 60% 到 90%。

上述流量设计允许蠕动泵的泵流量波动迅速由第二部分鞘液吸收，从而抑制流向流通池的第一部分鞘液的流量波动，并且使得通过快速提高泵转速来在短时间内增加第一部分鞘液的流量成为可能。

优选的是，预定体积可以占第二容器的总体积的 4%-60%。该预定体积的比例可以实现对流向流通池的第一部分鞘液的流量波动的良好抑制或缓冲，且切换流量的时间也不至于太久。

25 在一些实施例 25 中，第二容器在其容纳有鞘液的区域内可以设置有流入口，第一管路可以布置成经由流入口延伸到第二容器内，且第一管路的在第二容器内的末端则处于第二容器中密封有气体的部分中，鞘液可以从末端流入第二容器。

通过使第一管路经由设置在第二容器内的有鞘液区域的流入口流入

第二容器，可以避免在第二容器顶部设置有气体的区域内提供流入口，否则会导致密封气体的泄漏。换言之，可以通过第二容器内的已有鞘液本身来产生密封效果。

例如，第二容器在其容纳有鞘液的区域内可以设置有第一流出口，出流
5 管路可以从第一流出口离开第二容器。还例如，第二容器在其容纳有鞘液的区域内可以设置有第二流出口，第二管路从第二流出口延伸。

将第一流出口和/或第二流出口设置在第二容器内的有鞘液的区域同样可以起到利用第二容器内的已有鞘液本身来产生密封效果。

尤其是，第一容器可以包括设置在其底部的流出口，第一管路可以从流
10 出口向第二容器的流入口延伸，在第一容器的流出口处可以设置有第一过滤装置，用于对流向蠕动泵的鞘液进行过滤。又例如，在第二容器的第二流出口处可以设置有第二过滤装置，用于对从第二容器流向流通池的鞘液进行过滤。

通过设置过滤装置，可以过滤鞘液中的杂质，以改善流路的流通性能，
15 减少因不必要的杂质带来的对高精度鞘液流量的影响。

此外，本发明还提供一种流式细胞仪，流式细胞仪可以包括前述鞘液供应系统以及包括流通池，鞘液供应系统用于将鞘液供应到流通池。

借助本发明的流式细胞仪，可以实现对流通池提供高线速且波动极小的鞘液，以保证样液检测的准确度。

20 本发明提供一种向流式细胞仪的流通池供应鞘液的方法，流式细胞仪可以包括用于容纳鞘液的第一容器和第二容器、布置在第一容器与第二容器之间的蠕动泵，其中，预定体积的气体可以密封在第二容器内，该方法包括：可以通过蠕动泵从第一容器向第二容器泵送鞘液，以使得第二容器中的第一部分鞘液流向流通池，同时第二容器中的第二部分鞘液从第二容器
25 流向第一容器或鞘液收集装置，其中，在蠕动泵进行泵送时，第二部分鞘液的流量大于第一部分鞘液的流量。

通过上述方法，可以在使用低价的蠕动泵的情况下可以大幅降低流向流动池的鞘液流量的波动，即提高鞘液流量的精度，并且使得在短时间内可以提高流向流动池的鞘液流量。

优选地，流式细胞仪可以包括出流管路，在第一部分鞘液流向流通池的同时，第二部分鞘液可以经由出流管路从第二容器流出，其中，出流管路的远离第二容器的一端可以与大气连通或者伸入鞘液收集装置。通过出流管路的设置，能以简单的结构来实现对泵流量的波动的抑制或缓冲。

5 特别是，第二部分鞘液的流量可以为第一部分鞘液的流量的 1.5 倍到 5 倍，或者第二部分鞘液的流量可以占泵送到第二容器中的鞘液总流量的 60 %到 90 %。

上述流量设计允许蠕动泵的泵流量波动迅速由第二部分鞘液吸收，从而抑制流向流通池的第一部分鞘液的流量波动，并且使得通过快速提高泵
10 转速来在短时间内增加第一部分鞘液的流量成为可能。

在一些实施例中，可以通过蠕动泵来改变第一部分鞘液的流量，出流管路的流动阻力和/或预定体积可以设计成使得第一部分鞘液的流量增加或减小一倍所需的时间小于 5 分钟。

在本发明可以通过改变泵流量来改变流量流通池的第一部分鞘液的流
15 量，通过对出流流量的设计（例如，出流管路的流动阻力的设计）和/或对第二容器内密封的预定气体体积的设计可以将流量改变、尤其是加倍或减半的时间缩短到 5 分钟以内，例如 3 分钟、2 分钟、1 分钟以内。

例如，第一部分鞘液的流量可以在 0.5-15 毫升/分钟之间（这可以根据检测需要进行变化）。该流量变化范围是很灵活的，且借助本发明是可以高
20 精度实现的。

附图说明

图 1 示出根据本发明的一个实施例的流式细胞仪的总体流路图；

图 2 示出根据图 1 的实施例的鞘液供应系统的流路图；

25 图 3 示出根据本发明的一个实施例的鞘液供应系统的、在蠕动泵的不同转速下的泵流量随时间变化曲线图；

图 4 示出在第二容器内未密封有气体的情况下流式细胞仪的流通池的流量随时间的变化曲线图；

图 5 示出根据本发明的一个实施例的、在不同泵转速下的流通池的流

量与出流管路上的流量随时间的变化曲线图；以及
图 6 示出根据本发明的一个实施例的、在不同泵转速下的流通池的流量随时间的变化曲线图。

- 5
- 附图标记列表：
- 1000 流式细胞仪；
- 110 流通池；
- 120 检测装置；
- 200 鞘液供应系统；
- 10 210 第一容器；
- 220 第二容器；
- 230 出流管路；
- 240 蠕动泵；
- 252 第一管路；
- 15 254 第二管路；
- 262 第一过滤装置；
- 264 第二过滤装置；
- 300 毛细管装置；
- 400 进样装置；
- 20 500 样液环；
- 600 废液容器。

具体实施方式

本发明涉及细胞检测及分析领域。具体来说，本发明涉及流式细胞仪，
25 尤其是用于流式细胞仪的鞘液供应系统。在此，流式细胞仪是指一种对样品悬液中的单个细胞或其他粒子通过检测光信号（例如，散射光信号和荧光信号）来实现高速、逐一、多参数定量分析的检验分析仪器。

值得注意的是，尽管本发明描述的液流系统是供应用于包裹样液的鞘液（也可称载液）的鞘液供应系统，但基于本发明的供应系统也可以应用于

其它生物、化学检测、分析领域中的仪器设备，只要在这些仪器设备中需要确保高流速下的液流稳定性。

在本发明中，术语“容器”是指用于至少能容纳液体的器皿，其形式不限，例如可以包括罐、箱、桶、缸等。视具体要求的不同，容器可以是封闭的，
5 例如封闭有某种物质（诸如空气），也可以是非封闭的，例如与大气连通。封闭的容器也不排除其包括与外界连通的端口，例如流入口、流出口、补偿口、观察窗或检修窗等。

在本发明中，术语“管路”是指用于流体连接的一种容纳结构，其横截面形状不受限、软硬不限、曲直不限，其长度、内径、粗糙度等物理参数、尤
10 其是与流动阻力相关的参数可以根据具体要求进行设计。值得注意的是，尽管在本发明中谈及利用管路来使两个部件或装置之间流体连通，但本发明也不排除在这二者之间还有其它流体部件，例如阀、流体接头等便于控制流动的部件。

在本发明中，术语“流量”主要是指体积流量（即，单位时间的体积），
15 但也不排除是质量流量，该术语旨在与另一术语“流速”区分开，后者主要是指流体的线速度（单位时间内流体通过的距离）。

在本发明中，术语“在...之间”是指装置或部件在流动路径中的定位。此外，术语“在...上游/下游”也是参照流体的流动方向而言的，“在...上游”是指沿流动方向在其之前，而“在...下游”是指沿流动方向在其之后。

20 根据本发明的流式细胞仪 1000 至少包括样液（或样品）供应系统和鞘液供应系统 200。具体来说，样液供应系统用于将样液从样液容器供应到流通池 110，以对样液中的细胞或粒子进行检测。鞘液供应系统 200 用于将鞘液供应到流通池 110，以使得样液在进入流通池 110 之前能处于适合检测的有利状态。例如，样液可以借助高流速的鞘流以高流速、尤其是高的线速
25 度进入流通池 110 内，以使得检测到的细胞或粒子的峰较窄较高，且彼此错开足够的距离。还例如，样液中的细胞或粒子可以借助鞘液在进入流通池 110 内的通道时处于有利于被检测到的中心位置，而不是处于边缘位置。

但可以理解到，根据本发明的流式细胞仪 1000 还可以包括除了以上样液供应系统和鞘液供应系统 200 之外的其它装置或部件，例如流通池 110、

检测系统、废液排出系统、清洗系统、控制系统等等。由于并不是本发明的重点，在本文中不对这些系统进行详细描述，例如鞘液是如何包裹样液的，检测系统是如何检测到样液的等等。

图 1 示出根据一个实施例的样液供应系统的总体流路图。样液通过进
5 样装置 400（例如，包括高精度的注射泵）注入样液环 500，并且根据需要可储存于其内。该样液环也可称为缓冲环、储存环、定量环等。样液可以从该样液环 500 以给定的流量或流速分配到毛细管装置 300（例如，PZT 毛细管），例如 10-1000 微升/分钟，尤其是 200 微升/分钟。可以理解到，在进入毛细管装置 300 之前，样液供应系统也可以不包括样液环，可以利用其
10 它中间储存装置，或者可以甚至不包括任何储存装置，直接由样液容器进样或者以在线的方式直接供应到流通池 110。

在流式细胞仪中，样液随鞘液以高的线速度（例如，8-15 米/秒）进入流通池 110，其中，样液中的细胞或粒子位于通道的中心，以更好地被位于流通池 110 外侧的、诸如激光器之类的光学或光电的检测装置 120 所检测
15 到。具体检测方式在此不再赘述。

在完成检测后，样液和鞘液一同被排入废液容器 600 内。在一些实施
20 例中，在完成检测工作后，还可以利用鞘液来对样液环 500 和毛细管装置 300 进行清洗。为了进行清洗，可以从容纳鞘液的第一容器（下文将详述）引出管路到样液泵的一个端口（例如，参见图 1），或者从第一容器引出管路到样液供应系统中的、位于待清洗的部件之前的流路上的合适位点。

在本发明中，鞘液可以在样液进入流通池 110 前的合适位置、通常在毛细管装置 300 的下游（沿样液的流动方向看）与样液汇合。该合适位置例如在流通池 110 上游的极短距离处，例如 0-10 毫米。因此，在本发明中，可以认为鞘液供应系统 200 向流通池 110 供应的鞘液流量大致相当于在流
25 通池 110 内的载有样液的鞘液流量。

本发明的鞘液供应系统 200 首先包括用于容纳鞘液的第一容器 210。在第一容器 210 内可以装满或者不装满鞘液。第一容器 210 的内部可以与大气连通，例如直接连通或通过诸如过滤装置等结构与大气连通。为了过滤鞘液中的杂质，以减少流路的堵塞可能性，鞘液在流出第一容器 210 之前

5 可以进行过滤，例如借助布置在第一容器 210 的流出口处的第一过滤装置 262。流出口优选布置在第一容器 210 的底部，但这不是限制性的，例如也可以布置在第一容器 210 内容纳有鞘液区域内。在图 1 中所示的实施例中，第一过滤装置 262 可以布置在第一容器 210 的底部内侧，但也可以设想其它位置，例如在第一容器 210 外，但通常布置在蠕动泵 240 的上游。

10 鞘液供应系统 200 还包括蠕动泵 240。在此，可以使用价格低廉的蠕动泵，而无需使用昂贵的其它高精度泵，例如注射泵。例如，蠕动泵包括泵壳、滚子或称辊轮、弹性软管，弹性软管安装在泵壳内，软管受辊轮挤压形成闭合截止点，当滚子转动时，闭合点跟随滚子移动。弹性软管在滚子离开后会恢复到自然状态，软管内就会形成真空，从而吸入流体，并被下一个滚子挤出。在固定某个转速下，蠕动泵的流量波动较大（可参见图 3），在鞘液供应系统 200 中仅使用蠕动泵通常无法满足对鞘液流量的高精度要求。蠕动泵的转速可以根据需要进行调节，例如 0.07-1.2rps（转/秒）。在一个具体的示例中，蠕动泵每一转可以泵送约 0.3 毫升体积的鞘液。

15 鞘液供应系统 200 可以包括供应管路，以将第一容器 210 的鞘液供应到流式细胞仪 1000 的流通池 110（或者说流通池 110 之前的合适位置，如 0-10 毫米），因此其布置在第一容器 210 与流通池 110 之间。本发明的供应管路可以包括第一管路 252 和第二管路 254，前述蠕动泵布置在从第一容器 210 引出的第一管路 252 上，而第二管路 254 引向流通池 110（或者说
20 流通池 110 之前的合适位置）。

25 为了缓冲泵送的鞘液的流量波动，鞘液供应系统 200 可以包括缓冲模块。缓冲模块可以包括第二容器 220。图 2 示出与第一容器 210 分开设置的第二容器 220。上述第一管路 252 布置成使第一容器 210 与第二容器 220 流体连通，而上述第二管路 254 布置成使第二容器 220 与流通池 110 流体连通。换言之，第二容器 220 可以算是第一容器 210 至流通池 110 的流路上的一个装置。

至此，蠕动泵 240 可以布置在第一管路 252 上，以将鞘液从第一容器 210 泵送到第二容器 220。第二容器 220 中的一部分鞘液、可称为第一部分鞘液经由第二管路 254 从第二容器 220 流向流通池 110。例如，第一部分鞘

液的流量可以为 0.5-15 毫升/分钟。在一个具体的示例中，第二管路 254 可以具有 0.5 毫米的内径，1.6 毫米的外径以及 840 毫米的长度。本发明不排除第二管路 254 包括分叉或者有多个子管路。可以理解到，在本发明中，如果有鞘液不经过该第二管路 254 而从第二容器 220 流出，则鞘液并不会流向流通池 110。

在第二容器 220 内密封有预定体积的气体，例如是空气。优选的是，预定体积可以占第二容器 220 的总体积的 4%-60%。例如，当第二容器 220 的总体积约为 250 毫升时，可以将体积为 10-150 毫升的气体密封在其内。当利用蠕动泵 240 来泵送鞘液时，泵流量的波动可以至少部分地由第二容器 220 内的密封气体抑制或缓冲。

发明人注意到，流向流通池 110 的鞘液流量的稳定性与第二容器 220 内的密封气体体积相关。当气体的预定体积较大时，缓冲作用更佳，即在蠕动泵 240 进行泵送时，从第二容器 220 流向流通池 110 的第一部分鞘液的流量波动相较于泵流量的波动可以大幅降低。

根据克拉伯龙方程（即理想气体状态方程）： $PV = nRT$ 。换言之，在温度不变且气体不变的前提下， P 与 V 的乘积为定值。由此，可以获得：

$$P = \frac{P_0 V_0}{V}$$

$$\text{而 } \Delta P = P - P_0 = \frac{P_0 V_0}{V} - P_0 = P_0 \frac{V_0 - V}{V}, \text{ 其中, } V_0 \text{ 大于等于 } V.$$

进一步地，已知毛细管装置 300 中压力差与液体的流量之间的关系为：

$$F = \left(\frac{\Delta P}{K_f} \right)^{\frac{1}{2}}$$

$$\text{将前述关于 } \Delta P \text{ 的公式代入上式, 则可以得到: } F = \sqrt{\frac{P_0}{K_f}} \sqrt{\frac{V_0 - V}{V}};$$

然后，对上式求导，则可以进一步得到：

$$\begin{aligned} \frac{dF}{F} &= \frac{d\left(\sqrt{\frac{P_0}{K_f}} \sqrt{\frac{V_0 - V}{V}}\right)}{F} \\ &= \left(-\frac{V_0 \sqrt{\frac{P_0}{K_f}}}{2\sqrt{(V_0 V - V^2)}} \times \frac{dV}{V}\right) / \left(\sqrt{\frac{P_0}{K_f}} \sqrt{\frac{P_0(V_0 - V)}{V}}\right) \end{aligned}$$

$$= -\frac{V_0}{2(V_0 - V)} \frac{dV}{V}$$

其中，P 为压力，单位是 Pa（帕斯卡）；V 是给定流量下的气体体积，单位为 m³（立方米），V₀ 为第二容器 220 内的气体初始体积；F 为流量，单位为 ml/min（毫升/分钟）；n 为气体的物质的量，单位为摩尔；T 为温度，单位开尔文；R 为恒定常数，约为 8.314J/（mol·K）；K_f 为流动阻力。

由上式 $\frac{dF}{F} = -\frac{V_0}{2(V_0 - V)} \frac{dV}{V}$ 可知，第二容器 220 内的气体体积及其变化量（即，第二容器 220 内气体体积瞬时（例如 1 秒或更短时间）变化（dV）占第二容器 220 的气体体积 V 的比率）可以表征从第二容器 220 通向流通池 110 的鞘液流量的波动情况。具体来说，第二容器 220 内的气体体积 V₀ 越大，则（流
10 向流通池 110 的）鞘液的流动稳定性越好（即，dF/F 越小）。

然而，当期望流通池 110 的流量从第一流量改变到第二流量时，例如当从 5 毫升/分钟变化到 10 毫升/分钟时，需要考虑这一过程所需要经历的时间，也称为切换时间。发明人发现，较大的预定体积会使这一过程时间相当长，例如超过半个小时。这对于需要在短时间内切换到所期望的供应到
15 流通池 110 的鞘液流量来说显然是无法接受的。反过来说，较短的切换时间需要气体的预定体积较小。至少考虑到对鞘液流量的缓冲作用和切换时间这二者，发明人将预定体积设计为 10-150 毫升（第二容器 220 的总体积假设为 200 毫升，其它体积的第二容器 220 可根据相应比例来变化，例如 4%-60%，5%-55% 等）。下文将进一步阐释切换时间与第二容器 220 内的
20 气体的预定体积的关联性。

本发明的鞘液供应系统 200 的缓冲模块还可以包括出流管路 230。在此，术语“出流管路 230”是指使第二鞘液部分从第二容器 220 引出的管路，即其一端连接到第二容器 220。不论其是否回流到第一容器 210，也不论其另一端是否与空气连通，其均称为出流管路 230（当其将鞘液引回到第一容
25 器 210 时，也可以称之为回流管路）。

如前所述，在第一部分鞘液流向流通池 110 的同时，第二容器 220 中的第二部分鞘液能从其中流出，优选经由该出流管路 230，但也可以考虑经由其它流体结构。在本发明中，将从第二容器 220 中流出的第二部分鞘液与从第二容器 220 中流出的第一部分鞘液作严格区分，第二部分鞘液不流

向流通池 110，而第一部分鞘液流向流通池 110。

由于出流管路 230 的一端与第二容器 220 流体连通，因此在第一部分鞘液流向流通池 110 的同时，第二容器 220 中的第二部分鞘液就可以从其中流出，而基本上无须其它人工或手动的操作来执行。出流管路 230 可以设计成使得在蠕动泵 240 进行泵送时，该第二部分鞘液的流量大于第一部分鞘液的流量。例如，出流管路 230 的流动阻力设计成明显低于第二管路 254 的流动阻力，以使得从第二容器 220 中向外流出的鞘液中的大部分都是经由其流出的，而小部分是经由第二管路 254 流向流通池 110 的。

优选的是，出流管路 230 的远离第二容器 220 的一端无需再连接到诸如流体泵的其它流体功能部件，而是使第二部分鞘液最后仅通过出流管路 230 流出，即不再与流体泵之类的流体功能部件连通或者流向流体功能部件。在一些实施例中，出流管路 230 的远离第二容器 220 的一端与大气直接连通，例如悬空于第一容器 210 内的空气部分中，或者以其它方式直接暴露于大气。在另一些实施例中，出流管路 230 的远离第二容器 220 的一端没入鞘液或其它液体中，例如出流管路 230 的远离第二容器 220 的一端直接伸入第一容器 210 内的鞘液中。此外，出流管路 230 的远离第二容器 220 的一端还可以连接到鞘液收集装置。在此，鞘液收集装置可以是指容纳鞘液的任何容器，该容器可以是敞开的也可以是封闭的，可以是管状、罐状、盆状、盘状、囊状、袋状或任何合适形式。

本发明的出流管路的将第二鞘液部分引出的一端（即，与第二容器联接的一端）通常作为压力稳定的位点，因而并不适合在第一管路上，即不适合在第一管路上将鞘液直接引出一部分。

发明人创造性地发现，第二管路 254 上的第一部分鞘液的流量稳定性与第二部分鞘液的流量直接相关。具体来说，首先，第一部分鞘液的流量与第二容器 220 内的气体压力变化有关，而气体压力变化又与第二部分鞘液的流量（例如，出流管路 230 的流动阻力）有关。因此，在通过蠕动泵 240 将鞘液从第一容器 210 泵送到第二容器 220 时，从第二容器 220 中流出的第二部分鞘液的流量可以直接影响流向流通池 110 的第一部分鞘液的流量变化（即，其波动程度）。其次，当需要切换流量、例如使第一部分鞘液的

流量增大一倍时，需要提高蠕动泵 240 的泵流量，在此，第二容器 220 内的气体压力快速上升，但第二部分鞘液流速波动先于第一部分鞘液流速，此时起到主要分担蠕动泵 240 波动的作用，如图 5 中所示。由于有第二部分鞘液会从第二容器 220 流出，因而存在提高蠕动泵 240 的转速的可能性，
5 从而加快切换流量的时间，否则在低泵转速下需要很久时间才能完成流向流通池 110 的第一部分鞘液的流量加倍。

在一些实施例中，该出流管路 230 可以具有 0.8 毫米的内径、1.6 毫米的外径和 1410 毫米的长度。在另一些实施例中，该出流管路 230 可以具有 0.8 毫米的内径、1.6 毫米的外径和 580 毫米的长度。在又一些实施例中，
10 该出流管路 230 可以具有 0.5 毫米的内径、1.6 毫米的外径和 534 毫米的长度。

但可以理解到，要使第二部分鞘液的流量大于第一部分鞘液流量，除了设计出流管路 230 的流动阻力外，还可以考虑该出流管路 230 的与连接到第二容器 220 的一端相对的另一端的设计。

15 在优选的实施例中，出流管路 230 的上述另一端可以直接与大气连通，以提供卸压点，从而使第二容器 220 内的第二部分鞘液可以容易地流出。甚至，出流管路 230 的另一端可以与其它压力设备关联，以提供合适的较低压力，但这不是优选的。

在更优选的实施例中，出流管路 230 的另一端可以直接延伸回到第一容器 210 内，以使得第二部分鞘液流入第一容器 210 内，从而使得鞘液可以继续循环利用，但这对于缓冲鞘液波动来说不是必要的选择。
20

在本发明中，特别优选的是，可以将出流管路 230 设计成使第二部分鞘液的流量为第一部分鞘液的流量的 1.5 倍到 5 倍，或者可以将出流管路 230 设计成使第二部分鞘液的流量占通过蠕动泵 240 泵送到第二容器 220
25 中的鞘液总流量的 60% 到 90%。

假设 $F_{\text{出流}} = \alpha F_{\text{流通池}}$ ，其中 α 为第二部分鞘流与第一部分鞘流之间的流量倍数。优选的是， α 为 1.5 到 5。

再假设第二部分鞘流的流量和第一部分鞘流的流量分别主要由出流管路 230 和第二管路 254 的流动阻力决定，即 $K_{\text{出流}} = \frac{1}{\alpha} K_{\text{流通池}}$ 。

$$\begin{aligned}
 V_0 - V &= \frac{V_0 F_{\text{总}}^2}{F_{\text{总}}^2 + P_0 \left(\frac{1}{\sqrt{K_{\text{流通池}}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{\text{出流}}}} \right)^2} \\
 &= \frac{V_0}{1 + \frac{P_0 \left(\frac{1}{\sqrt{K_{\text{流通池}}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{\text{出流}}}} \right)^2}{F_{\text{流通池}}^2 (1+\alpha)^2}} \\
 &= \frac{V_0}{1 + \frac{P_0 \left(\frac{1}{\sqrt{K_{\text{流通池}}}} + \frac{\sqrt{\alpha}}{\sqrt{K_{\text{流通池}}}} \right)^2}{F_{\text{流通池}}^2 (1+\alpha)^2}} \\
 &= \frac{V_0}{1 + \frac{P_0}{K_{\text{流通池}} * F_{\text{流通池}}^2} * \left(\frac{1+\sqrt{\alpha}}{1+\alpha} \right)^2}
 \end{aligned}$$

- 5 由上式可知, α 增大, $\left(\frac{1+\sqrt{\alpha}}{1+\alpha}\right)^2$ 就减少, $V_0 - V$ 就变大, 因而缓冲作用越明显。

如图 2 中所示, 在优选的实施例中, 第二容器 220 可以在其容纳有鞘液

10 密封有气体的部分中, 鞘液从该末端流入第二容器 220。

如果将流入口设置在第二容器 220 的顶部, 则随着使用时间变长, 尽管设计成上部密封的, 但该流入口仍然有可能会

15 导致第二容器 220 的密封气体经由流入口周围的连接处的微小空隙逸出第二容器 220。这样会导致第二容器 220 内的密封气体越来越少, 而这将对缓冲流量的波动产生不利影响。与此相比, 如果将流入口设置在容纳有鞘液的区域内、尤其是底部区域内, 则密封在第二容器 220 内的气体可以通过鞘液与该流入口或其它流出口隔绝开, 从而降低泄漏的风险。此外, 将第一管路 252 的位于第二容器 220 内的末端设置在顶部, 可以减少第二容器 220 内的鞘液产生气泡的可能性。

20 第二容器 220 还可以在其容纳有鞘液的区域内、尤其是其底部区域内设置有第一流出口, 出流管路 230 经由该第一流出口从第二容器 220 延伸出来。当出流管路 230 设计成连接到第一容器 210 时, 该回路管路可以从该第一流出口延伸到第一容器 210。

另外, 第二容器 220 还可以在其容纳有鞘液的区域内、尤其是其底部

25 区域内设置有第二流出口, 第二管路 254 从该第二流出口延伸出来, 例如

延伸到流通池 110 前的合适位置或者说延伸到靠近流通池 110 的流路上。

可选地,在第二容器 220 的第二流出口处可以设置有第二过滤装置 264,用于对从第二容器 220 流向流通池 110 的鞘液进行过滤。该第二过滤装置 264 可以位于第二容器 220 内、例如其底部的第二流出口处或附近,但也可以位于第二容器 220 外的第二管路 254 上的合适位置。

下面,进一步阐释决定改变流量的切换时间的相关因素。首先,将从第一容器 210 供应到第二容器 220 的总鞘液流量记为 $F_{总}$,该 $F_{总}$ 为从第二容器 220 流向流通池 110 的流量 $F_{流通池}$ 与从第二容器 220 中流出的流量 $F_{出流}$ (当从第二容器 220 中流出的鞘液流回到第一容器 210 内时,该流量也可以称为 $F_{回流}$) 之和。 $F_{总}$ 通常可以视为用于将鞘液从第一容器 210 泵送到第二容器 220 的平均泵送流量(尽管其可能有较大波动,但可以用泵的平均流量 $F_{泵平均}$ 来表示)。

$$F_{总} = F_{流通池} + F_{出流}$$

$$= \sqrt{P_0} \left(\frac{1}{\sqrt{K_{流通池}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{出流}}} \right) \sqrt{\frac{V_0 - V}{V}}$$

15 然后,将上面等式左右两边平方,可得到:

$$\left(\frac{F_{总}}{\sqrt{P_0} \left(\frac{1}{\sqrt{K_{流通池}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{出流}}} \right)} \right)^2 = \frac{V_0 - V}{V}$$

$$\left(\frac{F_{总}}{\sqrt{P_0} \left(\frac{1}{\sqrt{K_{流通池}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{出流}}} \right)} \right)^2 + 1 = \frac{V_0}{V}$$

$$V = \frac{V_0 P_0 \left(\frac{1}{\sqrt{K_{流通池}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{出流}}} \right)^2}{T_{总}^2 + P_0 \left(\frac{1}{\sqrt{K_{流通池}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{出流}}} \right)^2}$$

$$V_0 - V = \frac{V_0 F_{总}^2 + V_0 P_0 \left(\frac{1}{\sqrt{K_{流通池}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{出流}}} \right)^2 - V_0 P_0 \left(\frac{1}{\sqrt{K_{流通池}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{出流}}} \right)^2}{F_{Total}^2 + P_0 \left(\frac{1}{\sqrt{K_{流通池}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{出流}}} \right)^2}$$

$$V_0 - V = \frac{V_0 F_{\text{总}}^2}{F_{\text{总}}^2 + P_0 \left(\frac{1}{\sqrt{K_{\text{流通池}}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{\text{出流}}}} \right)^2}$$

流量的切换时间记为 t ，则可以得到：

$$\begin{aligned} t &= \frac{\Delta V}{F_{\text{泵平均}}} \\ &= \frac{V_0 - V}{F_{\text{流通池}} + F_{\text{出流}}} \\ &= \frac{V_0 F_{\text{总}}^2}{F_{\text{总}}^2 + P_0 \left(\frac{1}{\sqrt{K_{\text{流通池}}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{\text{出流}}}} \right)^2} / F_{\text{总}} \\ &= \frac{V_0 F_{\text{总}}}{F_{\text{总}}^2 + P_0 \left(\frac{1}{\sqrt{K_{\text{流通池}}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{\text{出流}}}} \right)^2} \\ &= \frac{V_0 (F_{\text{流通池}} + F_{\text{出流}})}{(F_{\text{流通池}} + F_{\text{出流}})^2 + P_0 \left(\frac{1}{\sqrt{K_{\text{流通池}}}} + \frac{1}{\sqrt{K_{\text{出流}}}} \right)^2} \end{aligned}$$

其中， ΔV 是气体体积的变化量， V 是当前气体体积， V_0 是第二容器 220 内的初始气体体积，这三者单位均为立方米（ m^3 ）； P_0 是初始压力，单位为帕斯卡 Pa； $F_{\text{流通池}}$ 为从第二容器 220 至流通池的流路上的（鞘液）流量， $F_{\text{出流}}$ 则是出流管路 230 上的（鞘液）流量，二者单位都是毫升/分钟； $K_{\text{流通池}}$ 和 $K_{\text{出流}}$ 则分别是流向流通池的流动阻力和出流管路 230 上的流动阻力。

因此，当从第一流量变化到第二流量时，气体的初始体积 V_0 越小，出流管路 230 的流量越大，则切换时间 t 越短。在一个具体示例中，当通向流通池 110 的流量从 5 毫升/分钟变化到 10 毫升/分钟时，该切换时间可以控制在 5 分钟以内，以大幅提高样品处理速度。在优选的实施例中，此时出流管路 230 的流量是流向流通池 110 的流量的 1.5 倍到 5 倍。可以理解到，当通向流通池 110 的流量从 10 毫升/分钟变化到 5 毫升/分钟时（即，流量减半），切换时间也可以控制在 5 分钟以内，尽管用于增大流量的切换在实际操作中更为常见。

此外，如果出流管路 230 的流动阻力 $K_{出流}$ 比通向流通池 110 的流路上的流动阻力小，则第二容器 220 内的压力变化 ΔP 几乎由出流管路 230 来引起。这也可以在较高的流量情况下（例如，10-15 毫升/分钟）抑制流向流通池 110 的流量波动（具体可参见图 5）。

5 图 3 是在根据本发明的一个实施例的带有六个滚子的蠕动泵 240、在不同转速下泵的流量随时间波动或者说变化的示意图。由于测试点较多，因此在图 3 上叠加成灰色块状，但仍可以看出其围绕平均流量上下波动的幅度很大，尤其是在较高的流量下时这种幅度更大。

图 4 是根据本发明的一个实施例的流通池 110 的流量（单位为微升/分钟）随时间的变化图（在泵的转速为 1.6rps 的情况下），在该实施例中第二容器 220 内并未密封有诸如空气的气体，例如第二容器 220 是与大气连通的，例如直接敞开的，但第二容器 220 内有第二鞘液部分向外流出，例如回流到第一容器 210 内。可以看出，与直接使用蠕动泵 240 来将鞘液从第一容器 210 直接泵送到流通池 110 的现有技术相比，流通池 110 的流量波动情况有所改善，即比蠕动泵 240 的泵流量波动的幅度小，但仍能看到一定程度的波动。

图 5 是根据本发明的一个实施例的在不同泵转速下的流通池 110 的流量与出流管路 230 上的流量（单位均为毫升/分钟）随时间的变化图，其中上方曲线示出 $F_{出流}$ ，下方曲线示出 $F_{流通池}$ 。在该实施例中，第二容器 220 内密封有诸如空气的气体，且有第二鞘液部分从第二容器 220 中流出，例如流到第一容器 210 内。可以看到，在 0.5 毫升/分钟到 15 毫升/分钟的很大流量区间内， $F_{流通池}$ 都能保持相当稳定的流量，即流量波动很少，而 $F_{出流}$ 在较低的流量情况下保持稳定，但在较高的流量情况下仍出现一定的流量波动。可以说，泵流量的波动至少部分地被出流管路 230“吸收”了，以使得流向流通池 110 的流量相当稳定（即，偏差满足预定的很小阈值，例如 1% 以内）。

图 6 是根据本发明的一个实施例的在不同泵转速下的流通池 110 的流量（单位为微升/分钟）随时间的变化图，其中，上方曲线为在 1.0rps 的泵转速下的 $F_{流通池}$ ，而下方曲线为在 0.6rps 的泵转速下的 $F_{流通池}$ 。可以看到，

在这两种泵转速下，流通池 110 的流量都相当平稳。尤其是当与图 3 所示的泵在 1.0rps 和 0.6rps 转速下的流量波动以及与图 4 中所示的 $F_{流通池}$ 的流量波动相比时， $F_{流通池}$ 的波动几乎可以忽略不计，流量的相对标准偏差可达 0.5 % 以下。

5 假设蠕动泵 240 的平均压力为 0-0.2Mpa，则由下表示出第二容器 220 内的不同初始气体压力、出流管路 230 和流通池 110 之间不同的流量比的情况下的（流向）流通池 110 的流量波动状况（以 $\frac{dF}{F}$ 来表示）、流量的相对标准偏差（以流量波动的四分之一为估算值）以及达到 $F_{流通池}$ （表 1 中为 5 毫升/分钟或 10 毫升/分钟）所需的时间。

10 表 1：在设计好的空气体积和流量比下的估算 RSD 和切换时间

	$F_{流通池}$ (毫升/分钟)	$F_{出流}$ (毫升/分钟)	空气体积 (毫升)	估算的加压后的 空气体积 (毫升)	$\frac{dF}{F}$ (%)	估算 RSD (%)	时间 (分钟)
1	5	7.5	10	5	2.08	0.69	0.4
2	10	1.5	10	5	4.17	1.39	0.2
3	5	25	150	75	0.33	0.11	2.5
4	10	50	150	75	0.67	0.22	1.25

尽管在各附图中参照了基于流式细胞仪的结构各实例来描述了本发明的各种实施例，但应当理解到，本发明的范围内的实施例可应用至具有相似结构和/或功能的细胞检测及分析系统或方法中。

前面的描述已经给出了许多特征和优点，包括各种替代的实施方式，以及
15 及装置和方法的结构和功能的细节。本文的意图是示例性的，并不是穷尽性的或限制性的。

对于本领域的技术人员来说显然可对由所附权利要求所表达的术语的宽泛上位含义所指示的全部范围内做出各种改型，尤其是在结构、材料、元素、部件、形状、尺寸和部件的布置方面，包括这些方面在此处所描述的原理范围内的结合。在这些各种改型未偏离所附权利要求的精神和范围的程
20 度内，意味着它们也包含于此。

权 利 要 求 书

1. 一种用于流式细胞仪的鞘液供应系统，包括：
第一容器，用于容纳鞘液；
5 供应管路，布置在所述第一容器与流通池之间，所述供应管路包括第一管路和第二管路；
蠕动泵，用于泵送鞘液；
缓冲模块，所述缓冲模块包括：
第二容器，预定体积的气体密封在所述第二容器内，其中，所述
10 第一管路布置成使所述第一容器和所述第二容器流体连通，而所述第二管路布置成使所述第二容器与所述流通池流体连通，所述蠕动泵布置在所述第一管路上，以将鞘液从所述第一容器泵送到所述第二容器，所述第二容器中的第一部分鞘液经由所述第二管路流向所述流通池；
出流管路，所述出流管路的一端连接到所述第二容器，因而，在
15 所述第一部分鞘液流向所述流通池的同时，所述第二容器中的第二部分鞘液能从所述出流管路流出所述第二容器；
其中，在所述蠕动泵进行泵送时，所述第二部分鞘液的流量大于所述第一部分鞘液的流量。
2. 如权利要求 1 所述的鞘液供应系统，其特征在于，所述出流管路的
20 远离所述第二容器的另一端延伸到所述第一容器内，以使所述第二部分鞘液流入所述第一容器。
3. 如权利要求 1 所述的鞘液供应系统，其特征在于，所述出流管路的远离所述第二容器的另一端与大气连通。
4. 如权利要求 1 所述的鞘液供应系统，其特征在于，所述出流管路设
25 计成使所述第二部分鞘液的流量为所述第一部分鞘液的流量的 1.5 倍到 5 倍，或者所述出流管路设计成使所述第二部分鞘液的流量占通过所述蠕动泵泵送到所述第二容器中的鞘液总流量的 60% 到 90%。
5. 如权利要求 1 所述的鞘液供应系统，其特征在于，所述预定体积占所述第二容器的总体积的 4%-60%。

6. 如权利要求 1 所述的鞘液供应系统，其特征在于，所述第二容器在其容纳有鞘液的区域内设置有流入口，所述第一管路布置成经由所述流入口延伸到所述第二容器内，且所述第一管路的在所述第二容器内的末端则处于所述第二容器中密封有气体的部分中，鞘液从所述末端流入所述第二容器。

7. 如权利要求 1 所述的鞘液供应系统，其特征在于，所述第二容器在其容纳有鞘液的区域内设置有第一流出口，所述出流管路从所述第一流出口离开所述第二容器。

8. 如权利要求 1 所述的鞘液供应系统，其特征在于，所述第二容器在其容纳有鞘液的区域内设置有第二流出口，所述第二管路从所述第二流出口延伸。

9. 如权利要求 6 所述的鞘液供应系统，其特征在于，所述第一容器包括设置在其底部的流出口，所述第一管路从所述流出口向所述第二容器的所述流入口延伸，在所述第一容器的所述流出口处设置有第一过滤装置，用于对流向所述蠕动泵的鞘液进行过滤。

10. 如权利要求 8 所述的鞘液供应系统，其特征在于，在所述第二容器的所述第二流出口处设置有第二过滤装置，用于对从所述第二容器流向所述流通池的鞘液进行过滤。

11. 一种流式细胞仪，所述流式细胞仪包括如权利要求 1-10 中任一项所述的鞘液供应系统以及包括流通池，所述鞘液供应系统用于将鞘液供应到所述流通池。

12. 一种向流式细胞仪的流通池供应鞘液的方法，其特征在于，所述流式细胞仪包括用于容纳鞘液的第一容器和第二容器、布置在所述第一容器与所述第二容器之间的蠕动泵，其中，预定体积的气体密封在所述第二容器内，

所述方法包括：通过蠕动泵从所述第一容器向所述第二容器泵送鞘液，以使得所述第二容器中的第一部分鞘液流向所述流通池，同时所述第二容器中的第二部分鞘液从所述第二容器流向所述第一容器或鞘液收集装置，其中，在所述蠕动泵进行泵送时，所述第二部分鞘液的流量大于所述第一

部分鞘液的流量。

13. 如权利要求 12 所述的方法，其特征在于，所述流式细胞仪包括出流管路，在所述第一部分鞘液流向所述流通池的同时，所述第二部分鞘液经由所述出流管路从所述第二容器流出，其中，所述出流管路的远离所述
5 第二容器的一端与大气连通或者伸入鞘液。

14. 如权利要求 12 所述的方法，其特征在于，所述第二部分鞘液的流量为所述第一部分鞘液的流量的 1.5 倍到 5 倍，或者所述第二部分鞘液的流量占泵送到所述第二容器中的鞘液总流量的 60% 到 90%。

15. 如权利要求 13 所述的方法，其特征在于，通过所述蠕动泵来改变
10 所述第一部分鞘液的流量，所述出流管路的流动阻力或所述预定体积设计成使得所述第一部分鞘液的流量增加或减小一倍所需的时间小于 5 分钟。

16. 如权利要求 12 所述的方法，其特征在于，所述第一部分鞘液的流量在 0.5-15 毫升/分钟之间。