



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107064510 A

(43)申请公布日 2017.08.18

(21)申请号 201710272711.8

(22)申请日 2017.04.24

(71)申请人 武汉大学

地址 430072 湖北省武汉市武昌区珞珈山
武汉大学

(72)发明人 胡斌 杨彬 何蔓 陈贝贝

(74)专利代理机构 武汉科皓知识产权代理事务
所(特殊普通合伙) 42222

代理人 马丽娜

(51)Int.Cl.

G01N 33/574(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 27/62(2006.01)

G01N 21/64(2006.01)

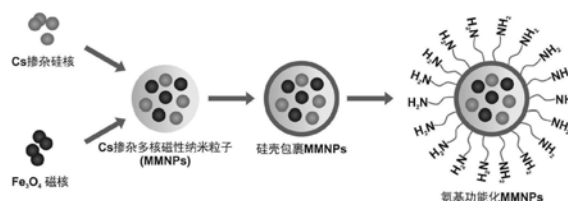
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54)发明名称

一种利用ICP-MS和荧光成像检测全血中循环肿瘤细胞的方法

(57)摘要

本发明公开了一种利用ICP-MS和荧光成像检测全血中循环肿瘤细胞(CTC)的方法。本发明通过抗体包被的Cs掺杂多核磁性纳米粒子,捕获全血样本中的循环肿瘤细胞进行磁分离,然后加入量子点修饰的抗体进行荧光标记,以量子点作为ICP-MS以及荧光成像的共同标签,可以用荧光显微镜对CTC进行成像,也可以将其经硝酸分散后直接引入ICP-MS检测,通过ICP-MS检测抗体上标记的量子点中的元素实现CTC的定量计数。本发明不仅具有高选择性、高灵敏度、耐基质干扰等优点,磁性纳米粒子中掺杂的Cs可以作为内标元素,采用内标法定量以消除因分析过程中磁性纳米粒子的损失对实验结果测定造成的误差,进一步提高了方法的可靠性。本发明适用于人全血样品分析,在临床上有良好的应用前景。



1. 一种利用ICP-MS和荧光成像检测全血中循环肿瘤细胞的方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 在铯盐溶液中加入硅源,通过碱催化反应得到Cs掺杂纳米二氧化硅;

(2) 向O/W反向微乳液中依次加入磁性纳米粒子和Cs掺杂纳米二氧化硅,然后加入浓氨水进行搅拌,再分次加入正硅酸乙酯进行搅拌,最后加入3-氨丙基三乙氧基硅烷进行搅拌,洗涤后得到氨基改性Cs掺杂多核磁性纳米粒子,即MMNPs-NH₂;

(3) 将MMNPs-NH₂与anti-EpCAM抗体加入HEPES缓冲液中,然后加入EDC和N-羟基琥珀酰亚胺进行偶联反应,再加入Tris-HCl缓冲液封闭多余的活性位点,得到MMNPs-anti-EpCAM探针磁球;

(4) 利用金属量子点标记ASGPR抗原,得到QDs-anti-ASGPR标记探针;

(5) 将MMNPs-anti-EpCAM探针磁球在1%牛血清蛋白溶液中封闭处理,然后加入除去红细胞的全血样品,室温孵育,然后磁分离弃去上清液,并用PBS缓冲液清洗磁球;然后加入过滤的脱脂奶粉进行封闭,再加入QDs-anti-ASGPR标记探针进行孵育,然后磁分离弃去上清液;

(6) 将步骤(5)的产物用酸液分散,置于ICP-MS中检测,得到Cs与量子点中金属元素的质谱峰强度,比对工作曲线,得到全血样品中循环肿瘤细胞的准确含量;

(7) 将步骤(5)的产物用PBS缓冲液重悬,然后将溶液转移到96孔板中,静置待细胞沉降至96孔板底部后,置于荧光显微镜下观察循环肿瘤细胞的数量及形貌。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤(1)的操作步骤具体为:将铯盐溶于去离子水中,再加乙醇,超声分散,再加入硅源继续搅拌,即得到Cs掺杂纳米二氧化硅。

3. 根据权利要求2所述的方法,其特征在于:所述的铯盐为CsCl,所述的硅源为3-氨丙基三乙氧基硅烷或正硅酸乙酯,离子水和乙醇的体积比为1:7。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤(2)中所述的O/W反向微乳液由多库酯钠、水和庚烷组成,其中,水和庚烷的体积比为=18:1,每900毫升O/W反向微乳液中含有2.2克多库酯钠。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤(2)中所述的氨基改性Cs掺杂多核磁性纳米粒子,其粒径为100-150nm。

6. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤(4)中所述的金属量子点为CdSe、CdS、CdTe、ZnSe、InP、InAs中的一种。

7. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤(5)中MMNPs-anti-EpCAM探针磁球在1%牛血清蛋白溶液中封闭处理的时间为1h。

8. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤(6)中所述的酸液为浓度为1mol·L⁻¹的硝酸溶液。

一种利用ICP-MS和荧光成像检测全血中循环肿瘤细胞的方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物分析方法领域,具体涉及一种利用ICP-MS和荧光成像检测全血中循环肿瘤细胞(CTC)的方法。

背景技术

[0002] 据我国国家癌症中心发布的数据显示,在2015年我国新发癌症病例429.2万,癌症死亡281.4万。肝癌的发病率位于肺癌、胃癌和食管癌之后位列第四,而肝癌的死亡率仅次于肺癌和胃癌。同时肝癌也是目前世界最多发的癌症之一,尚未有有效的治愈手段,尤其是到了肝癌晚期阶段。大多数癌症引起的死亡是由于最初的癌细胞发生转移导致的。与其他许多疾病相似,早期诊断对于癌症的有效治疗至关重要。发展切实可行的肝癌早期诊断方案目前仍然是一项重大的挑战。

[0003] 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)是一种元素特异性的检测器,因其具有灵敏度高、线性范围宽、多元素多同位素同时检测、抗基体干扰能力强等诸多优点,被广泛应用于环境、食品以及生物样品中痕量元素及其形态分析。近年来,随着元素标记策略不断发展,ICP-MS技术的应用已拓展到生物定量分析和质谱细胞计数等领域。常用的元素标签通常有内源性元素、金属离子螯合物、含金属元素的聚合物以及含金属元素的纳米粒子等。但ICP-MS作为破坏性检测器也有一定的局限性,它能给出含量但却无法给出可视化的图像。而生物图像中往往包含着丰富的信息,对于避免出现假阴性或假阳性的结果有重要意义。同样,用于光学成像的生物探针往往因为复杂的生物基质自发荧光而无法给出实际生物样品中的定量结果。

[0004] 此外,生物基质例如全血中循环肿瘤细胞含量极少且成分复杂,为了获得可接受的检测灵敏度,有必要在用ICP-MS检测前采用合适的样品前处理手段将目标细胞从基质复杂的悬浮液中分离和富集。由于磁性纳米粒子性质稳定,具有较大的比表面积,且在磁场作用下能快速分离,因此磁性纳米粒子很适合用于循环肿瘤细胞的分离。但是磁分离存在固有的缺陷,在清洗步骤中磁性颗粒会有部分损失,这会造成测量误差、信号波动以及灵敏度降低。

发明内容

[0005] 为了克服现有循环肿瘤细胞检测方法的不足,本发明提供了一种基于磁免疫捕获量子点标记的方法检测循环肿瘤细胞。该方法利用免疫磁珠高效捕捉循环肿瘤细胞,利用量子点实现循环肿瘤细胞的定量检测以及成像,多核磁性纳米粒子中掺杂的Cs可以作为内标元素,提高了方法的抗干扰能力和可靠性。

[0006] 本发明提供的技术方案具体如下:

[0007] 一种利用ICP-MS和荧光成像检测全血中循环肿瘤细胞的方法,包括以下步骤:

[0008] (1) 在铯盐溶液中加入硅源,通过碱催化反应得到Cs掺杂纳米二氧化硅;

[0009] (2) 向O/W反向微乳液中依次加入磁性纳米粒子和Cs掺杂纳米二氧化硅,然后加入

浓氨水进行搅拌,再分次加入正硅酸乙酯进行搅拌,最后加入3-氨丙基三乙氧基硅烷进行搅拌,洗涤后得到氨基改性Cs掺杂多核磁性纳米粒子,即MMNPs-NH₂;

[0010] (3) 将MMNPs-NH₂与anti-EpCAM抗体加入HEPES缓冲液中,然后加入EDC和N-羟基琥珀酰亚胺进行偶联反应,再加入Tris-HCl缓冲液封闭多余的活性位点,得到MMNPs-anti-EpCAM探针磁球;

[0011] (4) 利用金属量子点标记ASGPR抗原,得到QDs-anti-ASGPR标记探针;

[0012] (5) 将MMNPs-anti-EpCAM探针磁球在1%牛血清蛋白溶液中封闭处理,然后加入除去红细胞的全血样品,室温孵育,然后磁分离弃去上清液,并用PBS缓冲液清洗磁球;然后加入过滤的脱脂奶粉进行封闭,再加入QDs-anti-ASGPR标记探针进行孵育,然后磁分离弃去上清液;

[0013] (6) 将步骤(5)的产物用酸液分散,置于ICP-MS中检测,得到Cs与量子点中金属元素的质谱峰强度,比对工作曲线,得到全血样品中循环肿瘤细胞的准确含量;

[0014] (7) 将步骤(5)的产物用PBS缓冲液重悬,然后将溶液转移到96孔板中,静置待细胞沉降于96孔板底部后,置于荧光显微镜下观察循环肿瘤细胞的数量及形貌。

[0015] 步骤(1)的操作步骤具体为:将铯盐溶于去离子水中,再加乙醇,超声分散,再加入硅源继续搅拌,即得到Cs掺杂纳米二氧化硅。

[0016] 所述的铯盐为CsCl,所述的硅源为3-氨丙基三乙氧基硅烷或正硅酸乙酯,离子水和乙醇的体积比为1:7。

[0017] 步骤(2)中所述的O/W反向微乳液由多库酯钠、水和庚烷组成,其中,水和庚烷的体积比为=18:1,每900毫升O/W反向微乳液中含有2.2克多库酯钠。

[0018] 步骤(2)中所述的氨基改性Cs掺杂多核磁性纳米粒子,其粒径为100-150nm。

[0019] 步骤(4)中所述的金属量子点为CdSe、CdS、CdTe、ZnSe、InP、InAs中的一种。

[0020] 步骤(5)中MMNPs-anti-EpCAM探针磁球在1%牛血清蛋白溶液中封闭处理的时间为1h。

[0021] 步骤(6)中所述的酸液为浓度为1mol·L⁻¹的硝酸溶液。

[0022] 所述的MMNPs-anti-EpCAM探针磁球和QDs-anti-ASGPR标记探针均需提前用1%BSA封闭1小时;步骤(5)中用PBS缓冲液清洗磁球是为了排除干扰,保证测定的准确性;步骤(6)所述的工作曲线具体是对人工配制的已知CTC含量的标准样品进行测定,以标准样品中CTC的数量为横坐标,以量子点中金属元素与内标元素的质谱峰强度比值为纵坐标,建立标准样品中CTC的数量与量子点中金属元素与内标元素Cs的质谱峰强度比值之间的标准曲线。

[0023] 本发明的原理具体如下:

[0024] 本发明通过抗体包被的Cs掺杂多核磁性纳米粒子,捕获全血样本中的循环肿瘤细胞进行磁分离,然后加入量子点修饰的抗体进行荧光标记,以量子点作为ICP-MS以及荧光成像的共同标签,可以用荧光显微镜对CTC进行成像,也可以将其经硝酸分散后直接引入ICP-MS检测,通过ICP-MS检测抗体上标记的量子点中的元素实现CTC的定量计数。

[0025] 本发明相对于现有技术具有如下优点和效果:

[0026] 1、本发明通过单一量子点标记,提供了一种ICP-MS计数定量与荧光成像相结合检测CTC的手段,可同时获取图像信息和定量结果。

[0027] 2、本发明基于ICP-MS具有优异的同位素质量数分辨率及绝对定量能力,基于含稳定同位素的纳米粒子标记和ICP-MS检测的生物分析方法具有强的多目标分析物同时分析及精准定量的能力。

[0028] 3、免疫磁珠的引入使得本发明可以应用于复杂实际样品的分析,在生物医学研究和临床应用等领域对早期诊断、高通量检测和精准定量等方面发挥积极的作用。

[0029] 4、本发明在免疫磁珠掺杂内标元素可以消除因分析过程中免疫磁珠的损失对实验结果测定造成的误差,进一步提高了方法的稳定性和可靠性。

附图说明

[0030] 图1为本发明氨基改性Cs掺杂多核磁性纳米粒子的制备过程示意图。

[0031] 图2为实施例1所制备的氨基改性Cs掺杂多核磁性纳米粒子的透射电镜图。

[0032] 图3为目标细胞和非目标细胞的ICP-MS分析结果图。

[0033] 图4为目标细胞和非目标细胞的荧光成像图;其中,图4(A)、图4(C)、图4(E)为目标细胞的荧光成像图,图4(B)、图4(D)、图4(F)为非目标细胞的荧光成像图。

[0034] 图5为实施例5得到的CTC模型细胞数量与标记量子点和内标元素的质谱峰强度比值之间的标准曲线图。

具体实施方式

[0035] 以下结合附图和具体实施例进一步阐述本发明,但这些实施例仅限于说明本发明,并不能限制本发明的范围。以下实施例中所使用的细胞样本先用商品化氯化铵型红细胞裂解液处理去除红细胞。

[0036] 实施例1:氨基改性Cs掺杂多核磁性纳米粒子、MMNPs-anti-EpCAM探针磁球以及QDs-anti-ASGPR标记探针的制备

[0037] 氨基改性Cs掺杂多核磁性纳米粒子的制备过程示意图如图1所示,具体步骤如下:

[0038] (1) 采用共沉淀法制备磁性纳米粒子 Fe_3O_4 :首先称取1.35g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、0.5g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,加入25mL去离子水中;待固体完全溶解后,在氩气氛围中机械搅拌并于80℃加热回流;当溶液颜色变为深橘红色时,调大氩气流速,快速加入12.5mL浓氨水,此时,溶液颜色由橘红色变为黑色;继续加热搅拌20min,然后冷却至室温,得到磁性纳米粒子 Fe_3O_4 ,采用磁分离方法分别用去离子水和乙醇洗涤磁球三次,产物保存于6mL去离子水中待用。

[0039] (2) 采用碱催化法制备Cs掺杂纳米二氧化硅:将5.0mg CsCl溶于1mL去离子水中,再加7mL乙醇,超声分散5min,再加入35μL 3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTES)搅拌24h,得到Cs掺杂纳米二氧化硅。

[0040] (3) 反向微乳液法合成氨基改性Cs掺杂多核磁性纳米粒子:将2.2g多库酯钠和860μL水加入48mL庚烷中搅拌10min;然后加入300μL磁性纳米粒子 Fe_3O_4 分散液搅拌30min,再缓慢加入300μL Cs掺杂纳米二氧化硅水分散液,搅拌10min后加入224μL浓氨水,继续搅拌15min后加入430μL TEOS,继续搅拌24h后加入100μL TEOS,继续搅拌20min后加入100μL 3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTES),搅拌24h,所得固体产物用丙酮、乙醇、去离子水洗涤数次,得到氨基改性Cs掺杂多核磁性纳米粒子,即MMNPs- NH_2 ,保存于5mL去离子水中待用。

[0041] (4) 将MMNPs- NH_2 与anti-EpCAM抗体加入HEPES缓冲液中,然后加入EDC和N-羟基硫

代琥珀酰亚胺,再加入Tris-HCl缓冲液进行偶联反应,得到MMNPs-anti-EpCAM探针磁球。

[0042] (5) 利用量子点(CdSe、CdS、CdTe、ZnSe、InP或InAs)标记ASGPR抗原,得到QDs-anti-ASGPR标记探针。

[0043] 实施例2:氨基改性Cs掺杂多核磁性纳米粒子的表征

[0044] 采用透射电子显微镜(TEM)观察实施例1制备的MMNPs-NH₂,其TEM照片如图2所示。从图2可以看出,MMNPs-NH₂分散性较好,粒径较为均一,在100-150nm左右,可以明显观察到一个磁球内包含多个Fe₃O₄核。

[0045] 实施例3:目标细胞和非目标细胞的ICP-MS分析

[0046] 本实施例以硒化镉(CdSe)量子点作为标记量子点,选取表达ASGPR抗原(肝特异性跨膜糖蛋白)的HepG2细胞为目标对象,选取了不表达ASGPR的人舌鳞癌细胞Ca1-27细胞和人宫颈癌细胞HeLa细胞作为阴性对照细胞。A组含HepG2细胞,B组含 1×10^4 个HeLa细胞,C组含 1×10^4 个Ca1-27细胞,D组含 1×10^4 个HepG2细胞,E组含 1×10^4 个HepG2细胞和 1×10^5 个HeLa细胞,F组含 1×10^4 个HepG2细胞和 1×10^5 个Ca1-27细胞。

[0047] 取2μL制备好的MMNPs-anti-EpCAM探针磁球,用200μL牛血清蛋白溶液(1%BSA)封闭0.5h,以便减小探针的非特异性吸附;然后加入待测细胞置于90rpm摇床室温孵育1h,之后磁分离弃去上清液并用1×PBS缓冲液清洗磁球,加入5%过滤的脱脂奶粉置于90rpm摇床室温孵育0.5h以封闭磁球表面的非特异性吸附位点;封闭完成后,加入0.25μL的QDs-anti-ASGPR标记探针置于90rpm摇床室温孵育40min;磁分离后弃去上清液,用1×PBS缓冲液清洗磁球3次,洗去未反应以及非特异性吸附的标记探针。清洗结束后,加入100μL $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的HNO₃溶液分散磁球,最后将磁球引入ICP-MS检测¹¹⁴Cd和¹³³Cs信号。

[0048] 以¹¹⁴Cd和¹³³Cs的质谱峰强度比值为纵坐标作图,结果如图3所示,Ca1-27细胞和人HeLa细胞得到的信号值与方法的空白值相近,HepG2细胞得到的信号值明显高于其他两种细胞,因此本发明能特异性识别检测HepG2细胞。此外,过量的Ca1-27细胞和人HeLa细胞的存在并不会影响本发明对HepG2细胞的检测,说明本方法对HepG2细胞具有良好的选择性。

[0049] 实施例4:目标细胞和非目标细胞荧光成像

[0050] 本实施例以硒化镉(CdSe)量子点作为标记量子点,选取表达ASGPR抗原的HepG2细胞为目标对象,选取了不表达ASGPR的人乳腺癌细胞MCF-7细胞作为阴性对照细胞。A组为HepG2细胞,B组为 1×10^4 个MCF-7细胞。

[0051] 取2μL制备好的MMNPs-anti-EpCAM探针,用200μL牛血清蛋白溶液(1%BSA)封闭0.5h,以便减小探针的非特异性吸附。加入细胞置于90rpm摇床室温孵育1h。之后磁分离弃去上清液并用1×PBS缓冲液清洗磁球,加入5%过滤的脱脂奶粉置于90rpm摇床室温孵育0.5h以封闭磁球表面的非特异性吸附位点。封闭完成后,加入0.25μL的QDs-anti-ASGPR标记探针置于90rpm摇床室温孵育40min。磁分离后弃去上清液,用1×PBS缓冲液清洗磁球3次,洗去未反应以及非特异性吸附的标记探针。加入50μL的1×PBS缓冲液重悬细胞,转移到96孔板中。静置10min待细胞沉降至96孔板底部后,置于倒置荧光显微镜下观察细胞成像,采用561nm的光源作为激发光源。

[0052] 实施例5:加标人血样分析

[0053] 本实施例以硒化镉(CdSe)量子点作为标记量子点,选取表达ASGPR抗原的HepG2细胞为CTC模型细胞,将其加入健康人血样中作为加标人血样用于分析。

[0054] (1) 标准曲线的建立

[0055] 取2 μ L制备好的MMNPs-anti-EpCAM探针,用200 μ L牛血清蛋白溶液(1%BSA)封闭0.5h,以便减小探针的非特异性吸附;加入待测细胞置于90rpm摇床室温孵育1h,之后磁分离弃去上清液并用1 $\times$ PBS缓冲液清洗磁球,加入5%过滤的脱脂奶粉置于90rpm摇床室温孵育0.5h以封闭磁球表面的非特异性吸附位点;封闭完成后,加入0.25 μ L的QDs-anti-ASGPR标记探针置于90rpm摇床室温孵育40min,磁分离后弃去上清液,用1 $\times$ PBS缓冲液清洗磁球3次,洗去未反应以及非特异性吸附的标记探针;清洗结束后,加入100 μ L 1mol $\cdot$ L⁻¹的HNO₃分散磁球,最后将其引入ICP-MS检测¹¹⁴Cd和¹³³Cs信号。

[0056] 选取200、500、1000、2000、5000、10000、20000、30000个HepG2细胞建立标准曲线。以HepG2细胞数量为横坐标,以¹¹⁴Cd和¹³³Cs的质谱峰强度比值为纵坐标建立标准曲线,结果如图5所示。

[0057] (2) 加标人血样中CTC的检测

[0058] 向人全血中分别加入500、1000、2000、5000、10000个HepG2细胞,采用与(1)建立标准曲线相同的方法检测人血样中¹¹⁴Cd和¹³³Cs信号。将¹¹⁴Cd和¹³³Cs的质谱峰强度比值对照(1)中所建立的标准曲线,计算出人全血中CTC的含量,结果如表1所示。加标回收率在86%~104%之间,加标回收率良好,表明本发明具有良好的抗干扰能力,可以用于实际人血样中CTC的定量检测。

[0059] 表1人全血样品加标回收结果

[0060]	加入 (10 ² cells)	检出 (10 ² cells)	回收率 (%)
	5.0	4.9 $\pm$ 0.5	98
	10	8.6 $\pm$ 3.0	86
	20	18 $\pm$ 3.2	90
	50	47 $\pm$ 9.2	94
	100	104 $\pm$ 11	104

[0061] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。

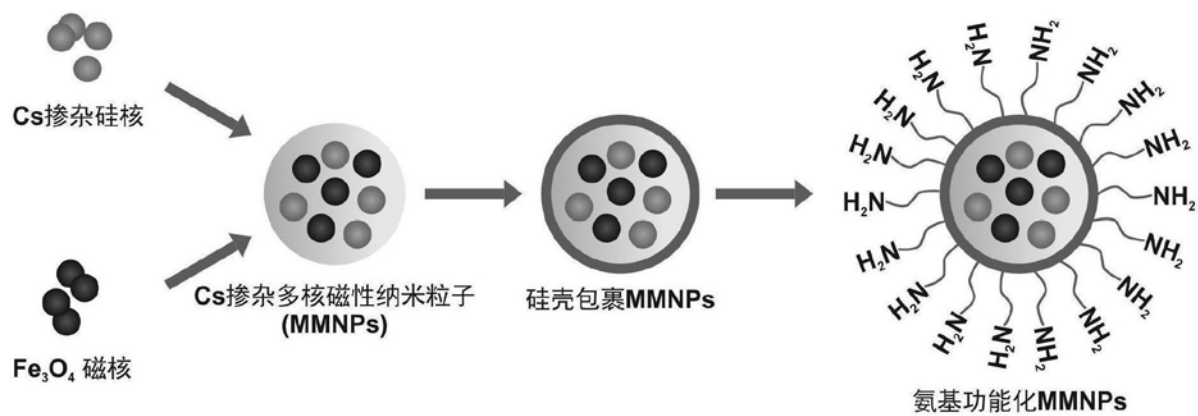


图1

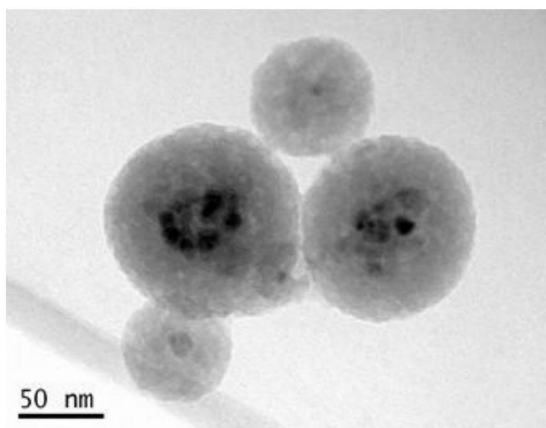


图2

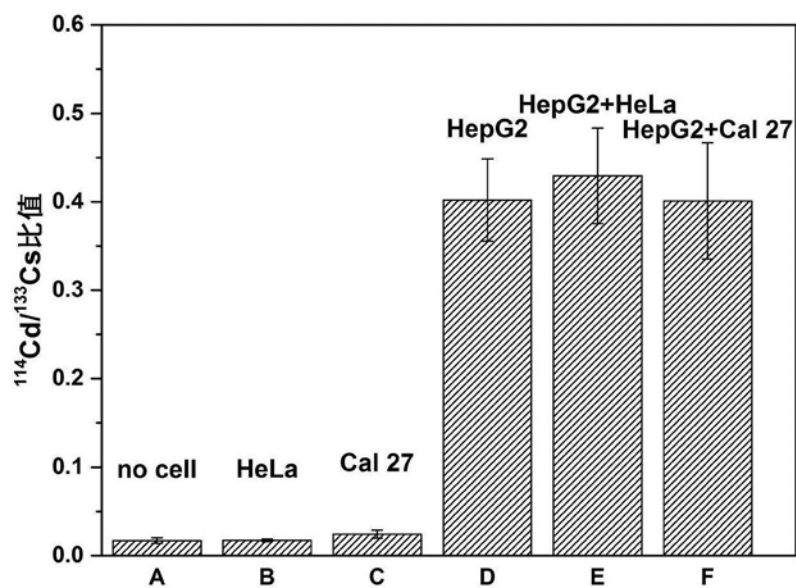


图3

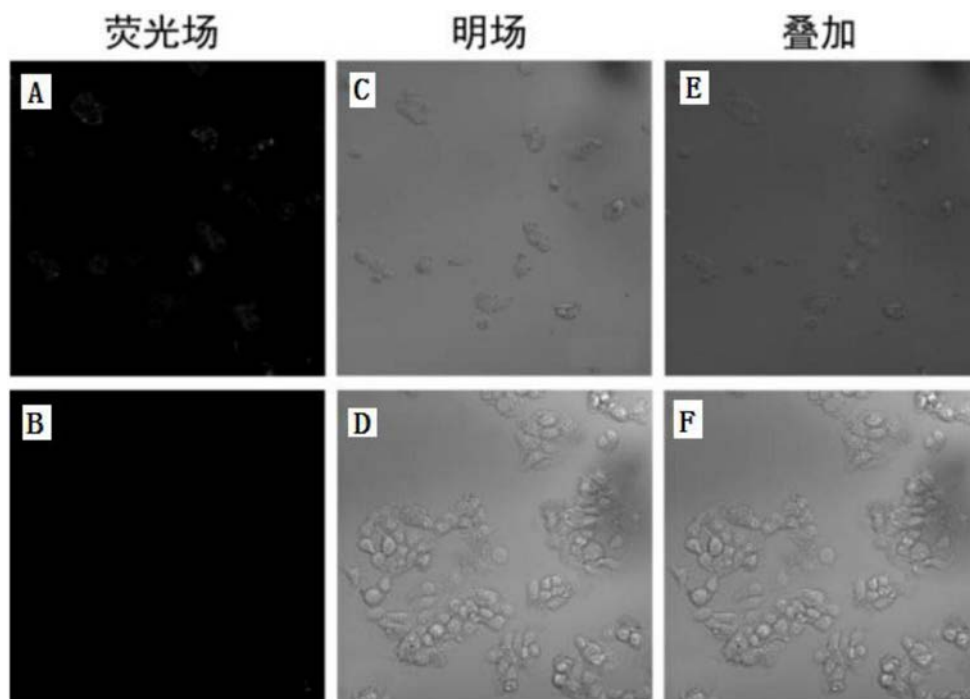


图4

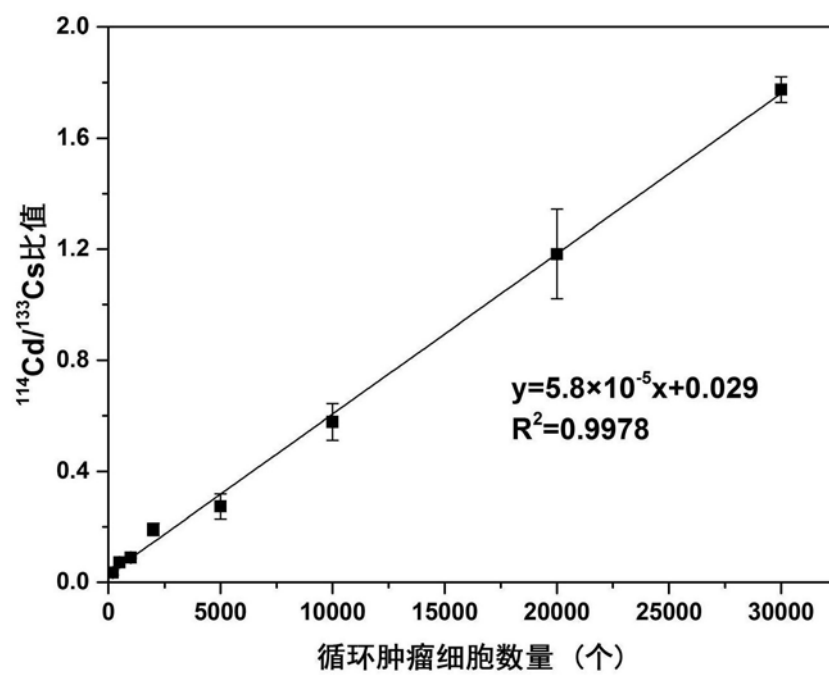


图5

专利名称(译)	一种利用ICP-MS和荧光成像检测全血中循环肿瘤细胞的方法		
公开(公告)号	CN107064510A	公开(公告)日	2017-08-18
申请号	CN201710272711.8	申请日	2017-04-24
[标]申请(专利权)人(译)	武汉大学		
申请(专利权)人(译)	武汉大学		
当前申请(专利权)人(译)	武汉大学		
[标]发明人	胡斌 杨彬 何蔓 陈贝贝		
发明人	胡斌 杨彬 何蔓 陈贝贝		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/543 G01N33/533 G01N27/62 G01N21/64		
CPC分类号	G01N33/574 G01N21/6402 G01N21/6428 G01N21/6452 G01N21/6458 G01N27/626 G01N33/533 G01N33/54326 G01N33/57438 G01N2021/6441 G01N2446/90 G01N2800/085		
代理人(译)	马丽娜		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种利用ICP-MS和荧光成像检测全血中循环肿瘤细胞 (CTC) 的方法。本发明通过抗体包被的Cs掺杂多核磁性纳米粒子, 捕获全血样本中的循环肿瘤细胞进行磁分离, 然后加入量子点修饰的抗体进行荧光标记, 以量子点作为ICP-MS以及荧光成像的共同标签, 可以用荧光显微镜对CTC进行成像, 也可以将其经硝酸分散后直接引入ICP-MS检测, 通过ICP-MS检测抗体上标记的量子点中的元素实现CTC的定量计数。本发明不仅具有高选择性、高灵敏度、耐基质干扰等优点, 磁性纳米粒子中掺杂的Cs可以作为内标元素, 采用内标法定量以消除因分析过程中磁性纳米粒子的损失对实验结果测定造成的误差, 进一步提高了方法的可靠性。本发明适用于人全血样品分析, 在临床上有良好的应用前景。

