



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110501490 A

(43)申请公布日 2019.11.26

(21)申请号 201910866938.4

(22)申请日 2019.09.12

(71)申请人 核工业总医院

地址 215004 江苏省苏州市十梓街1号苏州
大学本部常悦楼208室

申请人 苏州思濡生物科技有限公司

(72)发明人 俞秋兴

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 15/14(2006.01)

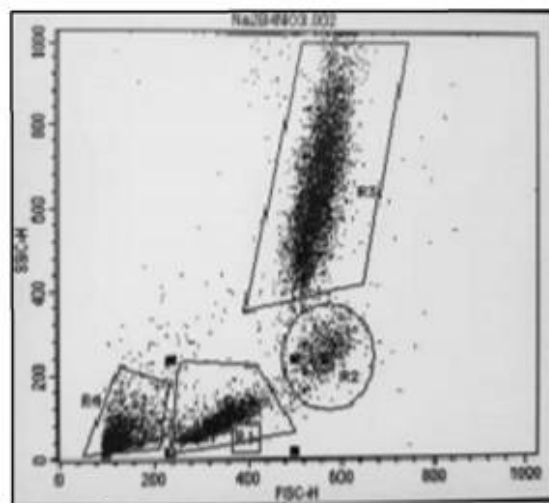
权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54)发明名称

一种等渗溶血素及其制备方法、处理生物样本方法和检测白细胞膜抗原方法

(57)摘要

本等渗溶血素,包括硼酸-四硼酸钠、助溶剂、丙二醇、无机盐和水质,缓冲剂包括,且硼酸的含量为0.2-2mol/L,四硼酸钠含量为0.05-0.5mol/L;助溶剂为甘油或甲醛,且含量为10-40g/L;丙二醇,且其含量为0.2-2mol/L;无机盐包括氯化钠、氯化镁和氯化钙,且氯化钠的含量为1-100mmol/L,氯化镁的含量为1-100mmol/L,氯化钙的含量为1-100mmol/L。同时提出了该溶血素的制备方法、溶血素处理生物样本方法和溶血素通过流式细胞仪检测白细胞膜抗原的方法,本溶血素,检测精确度高,干扰杂质少,且稳定性高,易于保存。处理样本后白细胞各群体分区明显,细胞碎片少,不损伤白细胞膜蛋白,既能保留原有的生物学活性,又能完全裂解红细胞。能替代进口原装产品的溶血素,达到进口试剂国产化,降低科研和医疗成本。



1. 一种等渗溶血素, 其特征在于, 包括缓冲剂、细胞助溶剂、细胞增溶剂、无机盐和水, 所述缓冲剂包括硼酸和四硼酸钠, 且硼酸的含量为0.2-2mol/L, 四硼酸钠含量为0.05-0.5mol/L; 所述细胞助溶剂为甘油、甲醛的一种或两种, 且细胞助溶剂含量为0.3-3mol/L, 甲醛含量为10-40g/L; 所述细胞增溶剂为丙二醇, 且其含量为0.2-2mol/L; 所述无机盐包括氯化钠、氯化镁和氯化钙, 且氯化钠的含量为1-100mmol/L, 氯化镁的含量为1-100mmol/L, 氯化钙的含量为1-100mmol/L。

2. 根据权利要求1所述的一种等渗溶血素, 其特征在于, 所述溶血素还包括微量的细胞防腐剂为Proclin 300、叠氮钠中的一种或两种; 且其含量为0.1-0.5ml/L。

3. 根据权利要求2所述的一种等渗溶血素, 其特征在于, 所述的缓冲剂为硼酸-四硼酸钠、磷酸盐、Tris-HCL缓冲剂的一种或多种, 且其含量为0.25-2.5mol/L。

4. 根据权利要求3所述的一种等渗溶血素, 其特征在于, 所述细胞增溶剂为丙二醇、乙醇、异丁醇、二甘醇的一种或多种, 且其含量为0.2-2mol/L。

5. 一种如权利要求1-4任一项所述的溶血素的制备方法, 其特征在于, 包括以下步骤:

1) 按上述含量取硼酸、氯化钠、氯化钙、氯化镁加入水介质充分溶解, 再加入甲醛、甘油、丙二醇、Proclin 300得硼酸混合液(A液);

2) 按上述含量取四硼酸钠、氯化钠、氯化钙、氯化镁加入水介质充分溶解, 再加入甲醛、甘油、丙二醇、Proclin 300得四硼酸钠混合液(B液);

3) 将A液和B液按比例充分混匀, 调PH值7.0-8.0, 再经过滤, 得溶血素。

6. 一种如权利要求1-4任一项所述的溶血素处理生物样本的方法, 其特征在于, 在室温向生物样本中加入所述的溶血素, 混合处理10-15分钟; 所述生物样本包括全血、末梢血、抗凝剂静脉全血的一种或多种; 所述溶血素与生物样本的体积比为0.5-1.5:20。

7. 一种如权利要求1-4任一项所述的溶血素溶血素通过流式细胞仪检测白细胞膜抗原的方法, 其特征在于, 包括以下步骤:

1) 在室温向待测样本中加入检测细胞表面分子的荧光标记抗体, 混匀, 避光孵育10-15min;

2) 加入权利要求所述的溶血素, 混合处理, 避光孵育10min;

3) 将处理后的待测样本用离心机以300-500g的离心速度沉淀样本5-10min;

4) 将离心处理后的样本去上清液后, 加入PBS缓冲液, 混匀样本, 待测;

5) 待测样本经流式细胞仪分析, 按细胞体积大小和颗粒度依次分为淋巴细胞群、单核细胞群、中性粒细胞群。

一种等渗溶血素及其制备方法、处理生物样本方法和检测白细胞膜抗原方法

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫学细胞分析领域,具体涉及一种等渗溶血素及其制备方法、处理生物样本方法和检测白细胞膜抗原方法。

背景技术

[0002] 众所周知,血细胞分析对于开展科学研究,疾病的预防、诊断和治疗有着重要的价值,从最初研究细胞的形态、大小、数量到最近的细胞表面的抗原成分。传统的细胞免疫和非特异性免疫功能检测技术不能从单细胞水平对靶细胞的大小、形态、质膜和细胞内部结构进行多参数,高灵敏度的分析,流式细胞仪可以快速测量、分选、存贮、显示悬浮在液体中的分散细胞的一系列重要的生物物理、生物化学方面的特征参量,并可以根据预选的参量范围把指定的细胞亚群从中分选出来,目前应用于免疫学、血液学、肿瘤学、细胞遗传学、细胞生物学、生物化学等临床医学和基础医学研究领域,如细胞表面分子的淋巴细胞及其亚群分析、细胞内细胞因子分析、白血病免疫分型、肿瘤耐药相关蛋白分析、自身免疫性疾病相关HLA抗原分析、移植免疫中的交叉配型、线粒体膜电位、细胞凋亡、细胞内钙离子浓度、中性粒细胞功能分析等。

[0003] 由于体内发挥免疫功能的多数为白细胞,而人类血液中含最多的是红细胞,为了减少对靶细胞分析影响,需要剔除血液中红细胞的干扰作用,在进行红细胞溶血时要避免破坏白细胞的结构和功能,保留白细胞表面的膜蛋白,因此,对溶血的要求非常着高,现有的流式细胞溶血素多为低渗溶血素,即低于渗透压的溶液,等渗液溶血素是与渗透压相等的溶液,以前认为红细胞在等渗溶液中,能保持其正常形态(不皱缩、不溶血),但有的分子还能够自由通过细胞膜,如1.9%的尿素溶液,将红细胞置入其中会立即溶血。

[0004] 溶血素的配方和仪器有一定的关系,不同的仪器使用不同的溶血素,同一溶血素在不同仪器上显示的效果不一,主因是溶血素裂解后的白细胞形态有差异,这个差异结合FSC/SSC的光路设计会导致淋巴、单核、粒细胞分群的差异。

[0005] 有鉴于此,本发明人针对现有技术中的上述缺陷深入研究,遂有本案产生。

发明内容

[0006] 为解决上述技术问题,我们提出了一种等渗溶血素溶血素及其制备方法,同时提出了该溶血素处理生物样本方法和溶血素通过流式细胞仪检测白细胞膜抗原的方法,本发明的溶血素,检测精确度高,干扰杂质少,能够替代进口同类产品的溶血素,减少医院医疗成本,减轻病人医疗费用。

[0007] 为达到上述目的,本发明的技术方案如下:

[0008] 一种等渗溶血素,包括缓冲剂、细胞助溶剂、细胞增溶剂、无机盐和水质,所述缓冲剂包括硼酸和四硼酸钠,且硼酸的含量为0.2-2mol/L,四硼酸钠含量为0.05-0.5mol/L;所述细胞助溶剂为甘油、甲醛的一种或两种,且细胞助溶剂含量为0.3-3mol/L,甲醛含量为

10-40g/L;所述细胞增溶剂为丙二醇,且其含量为0.2-2mol/L;所述无机盐包括氯化钠、氯化镁和氯化钙,且氯化钠的含量为1-100mmol/L,氯化镁的含量为1-100mmol/L,氯化钙的含量为1-100mmol/L,以用于调节溶血素的电导率和渗透压。

[0009] 其中的硼酸和四硼酸钠混合液,等渗条件下单纯的硼酸溶血效果差,四硼酸钠不具备溶血作用,两者按比例混合后具有很好的溶血效果,且具有一定的缓冲作用。在硼酸盐缓冲液的调节下,保证溶血素在温度的变化下,有一个稳定的PH值和一个较长的稳定期。甘油等成分能快速溶解红细胞,对白细胞有保护作用,甘油还能降低水的活性,防止降解保护可溶性的蛋白,增加稳定性,防挥发。甲醛还有固定细胞的作用,甲醛液对大多数抗原保存较好,组织穿透性好,组织收缩较小,但甲醛易挥发性和具有一定的毒性。

[0010] 优选的,所述溶血素还包括微量的细胞防腐剂为Proclin300、叠氮钠中的一种或两种;且其含量为0.1-0.5ml/L,其优点在于稳定,成本低,作用时间长。

[0011] 优选的,所述缓冲剂为硼酸-四硼酸钠、磷酸盐、Tris-HCL缓冲剂的一种或多种,且其含量为0.25-2.5mol/L。

[0012] 优选的,所述细胞增溶剂为丙二醇、乙醇、异丁醇、二甘醇的一种或多种,且其含量为0.2-2mol/L。

[0013] 一种等渗溶血素的制备方法,包括以下步骤:

[0014] 1) 按上述含量取硼酸、氯化钠、氯化钙、氯化镁加入水介质充分溶解,再加入甲醛、甘油、丙二醇、Proclin 300得硼酸混合液(A液)。

[0015] 2) 按上述含量取四硼酸钠、氯化钠、氯化钙、氯化镁加入水介质充分溶解,再加入甲醛、甘油、丙二醇、Proclin 300得四硼酸钠混合液(B液)。

[0016] 3) 将A液和B液按比例充分混匀,调PH值7.0-8.0,再经过滤,得溶血素。

[0017] 一种等渗溶血素处理生物样本方法,包括以下步骤:在室温向生物样本中加入所述的溶血素,混合处理10-15分钟;所述生物样本包括全血、末梢血、抗凝剂静脉全血的一种或多种;所述溶血素与生物样本的体积比为0.5-1.5:20。

[0018] 一种等渗溶血素通过流式细胞仪检测白细胞膜抗原的方法,包括以下步骤:

[0019] 1) 在室温向待测样本中加入检测细胞表面分子的荧光标记抗体,混匀,避光孵育10-15min;

[0020] 2) 加入权利要求所述的溶血素,混合处理,避光孵育10min;

[0021] 3) 将处理后的待测样本用离心机以300-500g的离心速度沉淀样本5-10min;

[0022] 4) 将离心处理后的样本去上清液后,加入PBS缓冲液,混匀样本,待测;

[0023] 5) 待测样本经流式细胞仪分析,按细胞体积大小和颗粒度依次分为淋巴细胞群、单核细胞群、中性粒细胞群。

[0024] 本发明的溶血素可根据细胞大小和颗粒度通过流式细胞仪上的前向角(SSC)和侧向角散射光(FSC)把白细胞群体分为淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞以及碎片。处理样本后白细胞各群体分区明显,细胞碎片少,不损伤白细胞膜蛋白,既能保留原有的生物学活性,又能完全裂解红细胞。处理结果准确、性能稳定,能替代进口原装产品的溶血素,达到进口试剂国产化,降低科研和医疗成本。本发明的溶血素在BD系列等主流分析仪上都有良好的分群图谱,且稳定性高,易于保存。

附图说明

[0025] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0026] 图1为本发明实施例所公开的一种等渗溶血素在BD公司FACS Calibuar流式细胞仪溶血效果图(一);

[0027] 图2为本发明实施例所公开的一种等渗溶血素在BD公司FACS Calibuar流式细胞仪溶血效果图(二);

[0028] 图3为本发明实施例所公开的一种等渗溶血素FACS Calibuar流式细胞仪检测T淋巴细胞免疫表型分析图(一);

[0029] 图4为本发明实施例所公开的一种等渗溶血素FACSCalibuar流式细胞仪检测T淋巴细胞免疫表型分析图(二);

[0030] 图5为本发明实施例所公开的一种等渗溶血素FACS Calibuar流式细胞仪检测T淋巴细胞免疫表型分析图(三);

[0031] 图6为本发明实施例所公开的一种等渗溶血素FACSCalibuar流式细胞仪检测T淋巴细胞免疫表型分析图(四)。

具体实施方式

[0032] 下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,优选了如下实施例中未注明具体条件的试验方法,通常按照常规条件,所举实施例是为了更好地对本发明的内容进行说明,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0033] 下面结合实施例和具体实施方式对本发明作进一步详细的说明。

[0034] 如图1-6所示,一种等渗溶血素,包括缓冲剂、细胞助溶剂、细胞增溶剂、无机盐和水质,所述缓冲剂包括硼酸和四硼酸钠,且硼酸的含量为0.2-2mol/L,四硼酸钠含量为0.05-0.5mol/L;所述细胞助溶剂为甘油、甲醛的一种或两种,且细胞助溶剂含量为0.3-3mol/L,甲醛含量为10-40g/L,溶血素中细胞甘油可降低水的活性,防止降解保护可溶性的蛋白和白细胞,增加稳定性,防挥发;所述细胞增溶剂为丙二醇,且其含量为0.2-2mol/L;所述无机盐包括氯化钠、氯化镁和氯化钙,且氯化钠的含量为1-100mmol/L,氯化镁的含量为1-100mmol/L,氯化钙的含量为1-100mmol/L,以用于调节溶血素的电导率和渗透压。

[0035] 其中的硼酸和四硼酸钠混合液,等渗条件下单纯的硼酸溶血效果差,四硼酸钠不具备溶血作用,两者按比例混合后具有很好的溶血效果,且具有一定的缓冲作用。在硼酸盐缓冲液的调节下,保证溶血素在温度的变化下,有一个稳定的PH值和一个较长的稳定期。甘油等成分能快速溶解红细胞,对白细胞有保护作用,甘油还能降低水的活性,防止降解保护可溶性的蛋白,增加稳定性,防挥发。甲醛还有固定细胞的作用,甲醛液对大多数抗原保存较好,组织穿透性好,组织收缩较小,但甲醛易挥发性和具有一定的毒性。

[0036] 其中,所述溶血素还包括微量的细胞防腐剂为Proclin 300、叠氮钠中的一种或两

种；且其含量为0.1-0.5ml/L，其优点在于稳定，成本低，作用时间长。所述缓冲剂为硼酸-四硼酸钠、磷酸盐、Tris-HCL缓冲剂的一种或多种，且其含量0.25-2.5mol/L。所述细胞增溶剂为丙二醇、乙醇、异丁醇、二甘醇的一种或多种，且其含量为0.2-2mol/L。

[0037] 本例中的等渗溶血素的制备方法，包括以下步骤：

[0038] S1、按上述含量取硼酸、氯化钠、氯化钙、氯化镁加入水介质充分溶解，再加入甲醛、甘油、丙二醇、Proclin 300得硼酸混合液(A液)；

[0039] S2、按上述含量取四硼酸钠、氯化钠、氯化钙、氯化镁加入水介质充分溶解，再加入甲醛、甘油、丙二醇、Proclin 300得四硼酸钠混合液(B液)；

[0040] S3、将A液和B液按比例充分混匀，调PH值7.0-8.0，再经过滤，得溶血素。

[0041] 本例中的等渗溶血素处理生物样本方法，包括以下步骤：在室温向生物样本中加入所述的溶血素，混合处理10-15分钟；所述生物样本包括全血、末梢血、抗凝剂静脉全血的一种或多种；所述溶血素与生物样本的体积比0.5-1.5:20。

[0042] 本例中等渗溶血素通过流式细胞仪检测白细胞膜抗原的方法，包括以下步骤：

[0043] S1、在室温向待测样本中加入检测细胞表面分子的荧光标记抗体，混匀，避光孵育10-15min；

[0044] S2、加入权利要求所述的溶血素，混合处理，避光孵育10min；

[0045] S3、将处理后的待测样本用离心机以300-500g的离心速度沉淀样本5-10min；

[0046] S4、将离心处理后的样本去上清液后，加入PBS缓冲液，混匀样本，待测；

[0047] S5、待测样本经流式细胞仪分析，按细胞体积大小和颗粒度依次分为淋巴细胞群、单核细胞群、中性粒细胞群。

[0048] 实施例：

[0049]

—	A液	B液	单位
硼酸	0.2-2		mol/L
硼酸钠		0.05-0.5	mol/L
甘油	0.3-3	0.3-3	mol/L
甲醛	10-40	10-40	g/L
丙二醇	0.2-2	0.2-2	mol/L
氯化镁	1-100	1-100	mmol/L
氯化钙	1-100	1-100	mmol/L
氯化钠	1-100	1-100	mmol/L
Proclin300	0.1-0.5	0.1-0.5	ml/L

[0050] 实例一：量取A液900ml，B液100ml，混合均匀，调PH值7.1，用BD FACS Calibuar流式细胞仪检测15份血样，每组血样检测2次，记录实验结果，并与BD公司的FACSTM LysingSolution的实际检测结果进行相关性分析。

[0051] 实例二：量取A液800ml，B液200ml，混合均匀，调PH值7.6，用BD FACS Calibuar流式细胞仪检测15份血样，每组血样检测2次，记录实验结果，并与BD公司的FACSTM LysingSolution的实际检测结果进行相关性分析。

[0052] 实例三：量取A液700ml，B液300ml，混合均匀，调PH值7.9，用BD FACS Calibuar流

式细胞仪检测15份血样,每组血样检测2次,记录实验结果,并与BD公司的FACSTM Lysing Solution的实际检测结果进行相关性分析。

[0053] 实验对象和试剂:15份健康和亚健康人群的外周血样用EDTA、肝素、柠檬酸钠抗凝,室温(18~25℃)保存,8h以内完成检测。准确度评价采用FACS Calibuar流式细胞仪,其配套试剂为T淋巴亚群检测四色试剂CD45-PerCP-Cy5.5/CD4-FITC/

[0054] CD8-APC/CD3-PE,配套溶血素为BD公司的FACSTM LysingSolution。

[0055] 按照配方要求准确称取各组分,依次溶解后用纯水定容,用0.22um微孔滤膜过滤,即得到本发明所述溶血素基液A和B,将A液和B液分别按照不同的比例混合,得到不同PH值的三份溶血素。

[0056] 实验方法:取10μl CD45-PerCP-Cy5.5/CD4-FITC/CD8-APC/CD3-PE抗体加入流式上样管中,再用反向加样法加入100μl血样标本,混匀后室温避光孵育10-15min;分别加自制溶血素和配套溶血素FACSTM Lysing Solution (1X) 1000μl,震荡混匀后室温避光溶血10min;将处理后的待测样本用离心机以300-500g的离心速度沉淀样本5-10min;将离心处理后的样本去上清液后,加入PBS缓冲液,充分混匀后1h内完成上机检测。

[0057] 本发明的溶血素溶血后程度和效果如下:

[0058] 1,溶血管外观:上清液清澈透亮,红细胞裂解充分;

[0059] 2,离心后管底:溶血管经300g离心10分钟后,管底部无肉眼可见的红色沉淀物,红细胞碎片少。

[0060] 3,FSC/SSC散点图:各系列细胞分群明显、界限清晰、细胞聚集度高、无交叉(见图1-2所示的溶血效果图)。

[0061] 4,细胞表面标记:对各系细胞膜表面CD抗原无明显影响(见图3-6表型分析图)。

[0062] 本发明溶血素在BD公司FACS Calibuar流式细胞仪溶血效果图如图1-2;发明溶血素FACS Calibuar流式细胞仪检测T淋巴细胞免疫表型分析图如图3-6。

[0063] 发明溶血素和BD公司的FACSTM Lysing Solution溶血素检测T淋巴细胞免疫表型结果的相关性分析(%)如下:

[0064]

	样本号	CD3+		CD3+CD4+		CD3+CD8+	
		发明溶血素	BD 溶血素	发明溶血素	BD 溶血素	发明溶血素	BD 溶血素
	1	58.11	59.33	39.22	39.66	29.28	28.15
	2	63.46	62.87	34.55	35.78	24.41	23.38
	3	81.35	81.09	31.55	31.42	28.06	27.15
	4	77.78	79.01	43.54	44.55	21.69	21.78
	5	65.61	67.23	53.68	53.68	27.08	25.89
	6	77.41	78.34	46.53	46.33	33.63	32.55
	7	87.54	86.23	35.16	35.16	30.44	29.12
	8	68.23	68.14	37.33	37.63	29.99	28.72
	9	78.39	76.91	38.56	38.35	26.58	25.22
	10	72.81	73.04	42.07	42.97	25.66	24.96
	11	52.69	51.45	46.22	46.66	33.66	33.48
	12	76.78	75.22	33.85	33.34	28.47	28.08
	13	69.65	68.15	29.55	29.42	27.97	27.11
	14	79.22	80.21	39.54	40.55	29.18	28.63
	15	78.86	77.06	33.68	33.68	27.83	27.02
均值		72.53	72.29	39.00	39.28	28.26	27.42
相关系数		0.984		0.994		0.981	
回归方程		$y=0.980x+1$		$Y=1.014x-0.289$		$Y=0.972x-0.041$	

[0065]

		.217					
--	--	------	--	--	--	--	--

[0066] 本发明的溶血素可根据细胞大小和颗粒度通过流式细胞仪上的前向角(SSC)和侧向角散射光(FSC)把白细胞群体分为淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞以及碎片。处理样本后白细胞各群体分区明显,细胞碎片少,不损伤白细胞膜蛋白,既能保留原有的生物学活性,又能完全裂解红细胞。处理结果准确、性能稳定,能替代进口原装产品的溶血素,达到进

口试剂国产化,降低科研和医疗成本。

[0067] 溶血素的配方和仪器有一定的关系,不同的仪器使用不同的溶血素,同一溶血素在不同仪器上显示的效果不一,主因是溶血素裂解后的白细胞形态有差异,这个差异结合FSC/SSC的光路设计会导致淋巴、单核、粒细胞分群的差异。本发明的溶血素在BD系列等主流分析仪上都有良好的分群图谱,且稳定性高,易于保存。

[0068] 本案中的溶血素是流式细胞分析检测白细胞抗原的常用辅助分析试剂之一,也是细胞免疫功能等分析的关键试剂。本技术中硼酸和四硼酸钠混合液,等渗条件下单纯的硼酸溶血效果差,四硼酸钠不具备溶血作用,两者按比例混合后具有很好的溶血效果,且具有一定的缓冲作用。在硼酸盐缓冲液的调节下,保证溶血素在温度的变化下,有一个稳定的PH值和一个较长的稳定期。溶血素中的甘油等成分能快速溶解红细胞,对白细胞有保护作用,甘油还能降低水的活性,防止降解保护可溶性的蛋白,增加稳定性,防挥发。所述溶血素中细胞增溶剂对生物膜有很高的吸附和渗透能力,导致生物膜增溶和渗透性改变。溶血素中无机盐氯化钠、氯化镁、氯化钙用于调节溶血素中的电导率和渗透压。

[0069] 根据细胞大小和颗粒度通过流式细胞仪上的前向角(SSC)和侧向角散射光(FSC)把白细胞群体分为淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞以及碎片。本发明的溶血素处理样本后白细胞各群体分区明显,细胞碎片少,不损伤白细胞膜蛋白,既能保留原有的生物学活性,又能完全裂解红细胞所述的溶血素,结果准确、性能稳定,能替代进口原装产品的溶血素,达到进口试剂国产化,降低科研和医疗成本。从而达到了设计新颖、配方搭配合理、且应用效果好的目的。

[0070] 本发明溶血素属于等渗性溶血,这两类溶血素溶血原理都是依据细胞内外渗透压差异而导致细胞膜破裂,并利用红细胞和白细胞渗透脆性的差异,在保护白细胞形态的前提下,最大限度的使红细胞裂解。在COULTER系列、BD系列等主流分析仪上都有良好的分群图谱,且稳定性高,易于保存。

[0071] 以上所述的仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明创造构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。

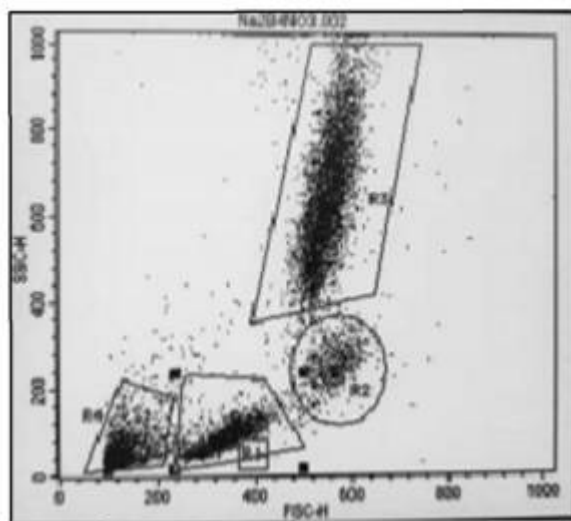


图1

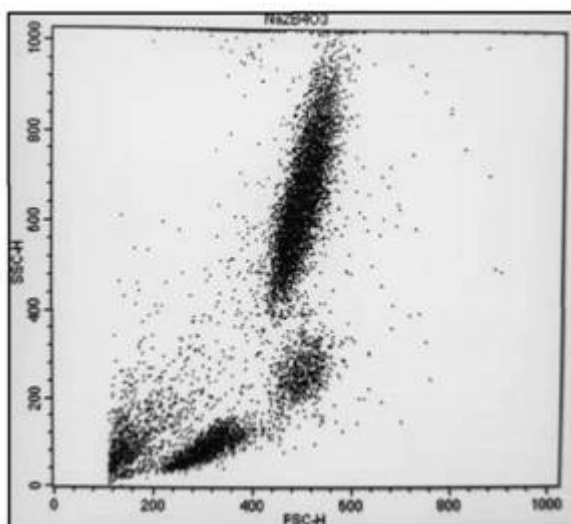


图2

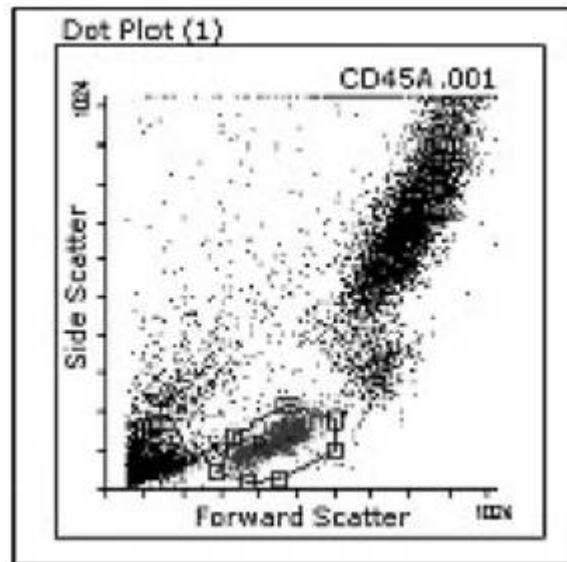


图3

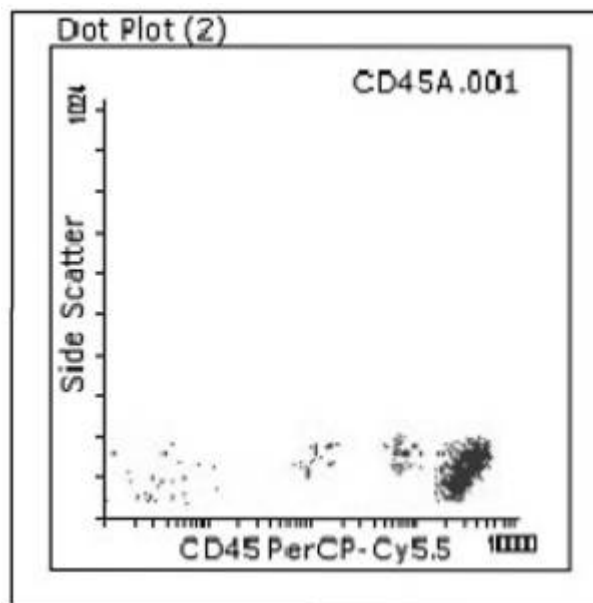


图4

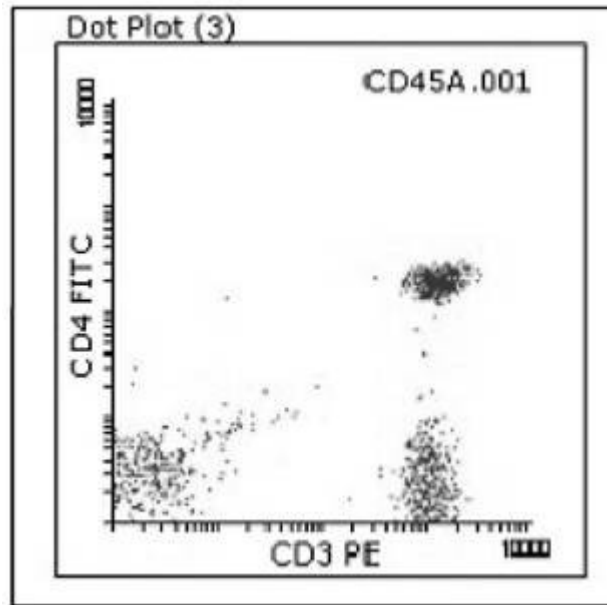


图5

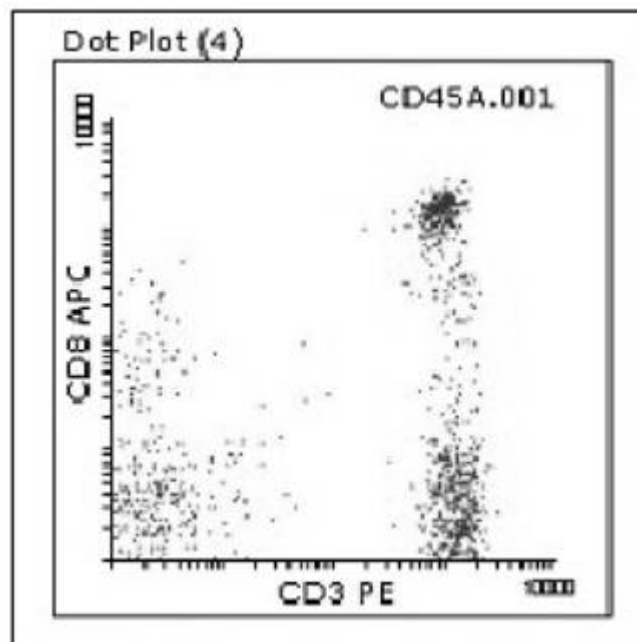


图6

专利名称(译)	一种等渗溶血素及其制备方法、处理生物样本方法和检测白细胞膜抗原方法		
公开(公告)号	CN110501490A	公开(公告)日	2019-11-26
申请号	CN201910866938.4	申请日	2019-09-12
发明人	俞秋兴		
IPC分类号	G01N33/533 G01N15/14		
CPC分类号	G01N15/1404 G01N15/1434 G01N33/533		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本等渗溶血素，包括硼酸-四硼酸钠、助溶剂、丙二醇、无机盐和水质，缓冲剂包括，且硼酸的含量为0.2-2mol/L，四硼酸钠含量为0.05-0.5mol/L；助溶剂为甘油或甲醛，且含量为10-40g/L；丙二醇，且其含量为0.2-2mol/L；无机盐包括氯化钠、氯化镁和氯化钙，且氯化钠的含量为1-100mmol/L，氯化镁的含量为1-100mmol/L，氯化钙的含量为1-100mmol/L。同时提出了该溶血素的制备方法、溶血素处理生物样本方法和溶血素通过流式细胞仪检测白细胞膜抗原的方法，本溶血素，检测精确度高，干扰杂质少，且稳定性高，易于保存。处理样本后白细胞各群体分区明显，细胞碎片少，不损伤白细胞膜蛋白，既能保留原有的生物学活性，又能完全裂解红细胞。能替代进口原装产品的溶血素，达到进口试剂国产化，降低科研和医疗成本。

