



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106124266 A

(43)申请公布日 2016. 11. 16

(21)申请号 201610458798.3

(22)申请日 2016.06.22

(71)申请人 杭州海世嘉生物科技有限公司

地址 310030 浙江省杭州市西湖区三墩镇
西园五路8号3幢401室

(72)发明人 毛立新 陈志俊 王云皓 项伟平

(74)专利代理机构 北京维正专利代理有限公司
11508

代理人 郑兴旺

(51) Int. Cl.

G01N 1/28(2006.01)

G01N 1/30(2006.01)

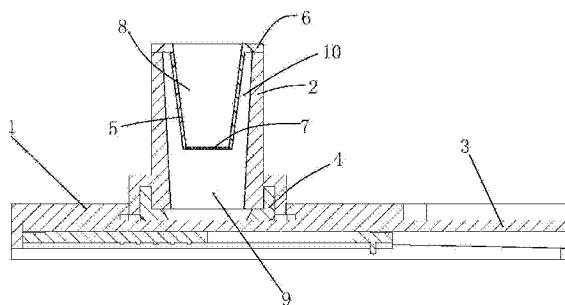
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

一种液基细胞制片方法

(57)摘要

本发明公开了一种液基细胞制片方法,其包括如下步骤:步骤1,取细胞涂片器,且该细胞涂片器包括托盘、固定在托盘上的制片仓、位于制片仓下端且封堵制片仓下端的载玻片、可拆设在制片仓内并沿制片仓周向设置的过滤膜、置于制片仓内且位于过滤膜上方的过滤腔和置于制片仓内且位于过滤膜下方的清洗腔;于制片仓内加入清洗液,清洗液全部进入清洗腔且其液面与过滤膜齐平。步骤2,取样本和保存液的混合物加至过滤腔内,混合物经过滤膜进入清洗腔内,细胞沉降于清洗腔底部;步骤3,除去过滤膜及过滤膜上的杂质,自然沉降除上清液;加清洗液,离心,弃上清液;步骤4,抽取载玻片,固定、染色、封片,具有减少细胞损失的效果。



1. 一种液基细胞制片方法,其特征在于,包括如下步骤:

步骤1,取细胞涂片器,且该细胞涂片器包括托盘(1)、固定在托盘(1)上的制片仓(2)、位于制片仓(2)下端面且封堵制片仓(2)下端的载玻片(3)、可拆设在制片仓(2)内并沿制片仓(2)周向设置的过滤膜(7)、置于制片仓(2)内且位于过滤膜(7)上方的过滤腔(8)和置于制片仓(2)内且位于过滤膜(7)下方的清洗腔(9);于制片仓(2)内加入清洗液,清洗液全部进入清洗腔(9)内;

步骤2,取样本和保存液的混合物,将其加至经步骤1处理后的细胞涂片器的过滤腔(8)内,样本和保存液的混合物经过滤膜(7)进入清洗腔(9)内,样本内的细胞沉降于清洗腔(9)底部;

步骤3,除去经步骤2处理后的过滤膜(7)及过滤膜(7)上的杂质,自然沉降(或离心)后除去上层清液;

步骤4,取经步骤3处理的细胞涂片器,抽取其上的载玻片(3),固定、染色、封片,即得。

2. 根据权利要求1所述的一种液基细胞制片方法,其特征在于,所述制片仓(2)内设有套筒(5),所述套筒(5)的上端设有用于与制片仓(2)的上端面抵接的环状凸缘(6);所述过滤膜(7)固定在套筒(5)的下端。

3. 根据权利要求2所述的一种液基细胞制片方法,其特征在于,所述套筒(5)外壁和制片仓(2)内壁之间留有间隙(10)。

4. 根据权利要求1所述的一种液基细胞制片方法,其特征在于,常温常压下,所述清洗液的密度为 $0.9\sim 1.2\text{g}/\text{cm}^3$ 。

5. 根据权利要求4所述的一种液基细胞制片方法,其特征在于,步骤1中,清洗液全部进入清洗腔(9)内后其液面于过滤膜(7)高度齐平。

一种液基细胞制片方法

技术领域

[0001] 本发明涉及细胞检测领域,特别涉及一种液基细胞制片方法。

背景技术

[0002] 液基细胞学检查,是采用液基薄层细胞检测系统检测宫颈细胞并进行细胞学分类诊断。与传统的宫颈刮片巴氏涂片检查相比,液基细胞学检查明显提高了样本的满意度及宫颈异常细胞检出率,液基细胞学检查是目前国际上较先进的一种宫颈癌细胞学检查技术。

[0003] 申请公布号为CN102680290A、申请公布日为2012年9月19日的中国专利公开了一种在制片设备上自动制作液基细胞玻片的制片方法,该制片方法包括:a、分离细胞,用细胞破碎器对细胞液进行反复抽取和排出,将粘连成团的细胞打散分离;b、过滤沉降,将细胞提取液进行离心,使细胞过滤后沉降;c、提取细胞液,将沉降后的细胞液提取,滴入制片仓内的病理玻片上;d、离心制片,再次离心,使制片仓中的细胞沉淀到病理玻片上,形成细胞层,即为液基细胞玻片。这种制片方法的原理是利用各种分离手段将样本中的细胞液分离出来,并将该细胞液滴至制片仓内的病理玻片上,通过对制片仓离心处理来使细胞沉淀到病理玻片上,得到液基细胞玻片。

[0004] 现有技术的不足之处在于,在利用各种分离手段对样本中的细胞液分离的过程中,其不可避免的存在细胞液多次转移的情况,而这种转移过程中存在细胞损失的现象,且细胞损失量受到操作人员的技术水平等影响,这可能将导致最终的沉淀到病理玻片上的细胞缺乏代表性,也可能影响重现性检查结果。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种液基细胞制片方法,其解决了分离过程中细胞损失的问题,具有减少细胞损失的效果。

[0006] 本发明的上述技术目的是通过以下技术方案得以实现的:

一种液基细胞制片方法,包括如下步骤:

步骤1,取细胞涂片器,且该细胞涂片器包括托盘、固定在托盘上的制片仓、位于制片仓下端面且封堵制片仓下端的载玻片、可拆设在制片仓内并沿制片仓周向设置的过滤膜、置于制片仓内且位于过滤膜上方的过滤腔和置于制片仓内且位于过滤膜下方的清洗腔;于制片仓内加入清洗液,清洗液全部进入清洗腔内;

步骤2,取样本和保存液的混合物,将其加至经步骤1处理后的细胞涂片器的过滤腔内,样本和保存液的混合物经过滤膜进入清洗腔内,样本内的细胞沉降于清洗腔底部;

步骤3,除去经步骤2处理后的过滤膜及过滤膜上的杂质,自然沉降后除去上层清液;

步骤4,取经步骤3处理的细胞涂片器,抽取其上的载玻片,固定、染色、封片即得。

[0007] 现有技术的制片方法利用各种分离手段来分离细胞和杂质,在这过程中,细胞液存在多次转移和离心的情况,细胞液多次转移和离心的情况存在以下不足:

1、在细胞液多次转移过程中,其损失的细胞相对较多,且该损失量在一定程度上受操作人员的技术水平影响,这将导致最终沉淀到病理玻片上的细胞缺乏代表性,也影响重现性检查结果;

2、一般来说,细胞液转移需要借助外部工具(如移液枪等),在利用外部工具(如移液枪等)转移细胞液的过程中,其不可避免的会存在吸取和放液的步骤;在吸取和放液步骤中,细胞在外部工具(如移液枪等)作用下可能多次受到来自于外部工具(如移液枪等)的内枪壁的挤压、来自于吸取和放液时的冲力影响,所以,这种情况将导致细胞遭到破坏,影响制片效果和检查效果;

3、细胞液的离心操作繁琐。

[0008] 综上,现有技术中的制片方法将影响液基细胞学检查结果的可靠性;

本申请通过直接在细胞涂片器上设有过滤膜,使得样本和保存液能直接通过过滤膜进行过滤,孔径大于过滤膜孔径的杂质不能通过过滤膜,其中过滤膜的孔径可以根据实际需求进行选择;小颗粒杂质、细胞和保存液通过过滤膜进入清洗腔内,小颗粒杂质和细胞在清洗液作用下沉降速度不同,一般细胞沉降速度更快,所以在静置沉降一段时间(选择细胞几乎完全沉降而小颗粒杂质大部分未沉降的时间点,目前实际工作中发现常温常压下以0.5~1hr为佳)后,除去过滤膜及过滤膜上的杂质,自然沉降后除去上层清液即可得到细胞和少量杂质的体系;当该体系再经清洗液分离后,可进一步对细胞进行提纯;在这个过程中提纯过程在同一细胞涂片器上进行,其不存在多次转移细胞的情况,通过本申请的制片方法细胞损失量少且该方法受操作人员的技术水平影响几乎可忽略不计,提高最终沉淀到病理玻片上的细胞的代表性,也提高重现性检查结果;将过滤膜可拆设在制片仓内并沿制片仓周向设置并固定在套筒底部,便于更换,且便于在过程中选择安装或拆去,更为灵活,与制片过程匹配;另外,本申请的制片方法通过重力作用达到过滤和自然沉降分离,过程中细胞几乎未受到来自于外部工具(如移液枪等)的内枪壁的挤压、冲力影响等,能减少细胞受损,提高液基细胞学检查结果的可靠性。

[0009] 进一步优选为:所述制片仓内设有套筒,所述套筒的上端设有用于与制片仓的上端面抵接的环状凸缘;所述过滤膜固定在套筒的下端。

[0010] 采用上述技术方案,通过套筒来实现过滤膜和制片仓之间的可拆连接,方便拆装,且套筒可与进样设备相适应,以便于实现自动化操作。

[0011] 进一步优选为:所述套筒外壁和制片仓内壁之间留有间隙。

[0012] 采用上述技术方案,首先,当通过过滤膜的样本和保存液的混合物进入清洗腔后其液面高于过滤膜时,由于过滤膜具有一定的堵塞,则清洗腔内的细胞及溶液优先进入间隙(相比过滤腔而言),能尽可能减少细胞再次回至过滤腔的可能性,增加采集的细胞量;其次,在插入套筒时,套筒和离心管之间无摩擦,便捷,且不会因为摩擦造成套筒外壁和离心管内壁之间有材料碎屑进入清洗腔内影响检查效果。

[0013] 进一步优选为:常温常压下,所述清洗液的密度为 $0.9\sim 1.2\text{g}/\text{cm}^3$ 。

[0014] 采用上述技术方案,有利于在细胞沉降和杂质沉降速度之间把握一个最佳点。

[0015] 进一步优选为:步骤1中,清洗液全部进入清洗腔内后其液面与过滤膜齐平。

[0016] 采用上述技术方案,过滤过程中,孔径小于过滤膜7孔径但密度小于清洗液的杂质浮在上表面且大部分位于过滤腔内,可以提高分离纯度。

[0017] 综上所述,本发明具有以下有益效果:

样本和保存液的混合物经过滤膜进入清洗腔内,过程中,孔径大于过滤膜孔径的杂质不能通过过滤膜,孔径小于过滤膜孔径但密度小于实施例的清洗液的杂质浮在上表面且大部分位于过滤腔内,样本内的细胞在清洗液的作用下沉降于清洗腔底部而部分通过过滤膜的未能及时进入底部时直接下一步(静置沉降时间为0.5~1hr)。

附图说明

[0018] 图1是实施例10的剖面结构示意图;

图2是实施例11的剖面结构示意图。

[0019] 图中,1、托盘;2、制片仓;3、载玻片;4、密封圈;5、套筒;6、环状凸缘;7、过滤膜;8、过滤腔;9、清洗腔;10、间隙。

具体实施方式

[0020] 以下结合附图对本发明作进一步详细说明。

[0021] 本具体实施例仅仅是对本发明的解释,其并不是对本发明的限制,本领域技术人员在阅读完本说明书后可以根据需要对本实施例做出没有创造性贡献的修改,但只要在本发明的权利要求范围内都受到专利法的保护。

[0022] 如无特殊注明,本申请所述的常温常压,指的是20~30℃/81~122kPa。

[0023] 实施例1:清洗液,其由如下方法制备得到:

取3g NaCl、5g甘油、3g无水乙醇和89g双蒸水,混合,搅拌均匀,过滤,取滤液即得。常温常压下,该清洗液的密度为1.1~1.2g/cm³。

[0024] 实施例2:清洗液,与实施例1的不同之处在于,其配方为:4g NaCl、8g甘油、4g无水乙醇和84g双蒸水。

[0025] 实施例3:清洗液,与实施例1的不同之处在于,其配方为:5g NaCl、10g甘油、5g无水乙醇和80g双蒸水。

[0026] 实施例4:保存液,其由如下方法制备得到:

步骤A:取1g KCl、1g KH₂PO₄、0.1g Na₂HPO₄和77.79g双蒸水,混合,搅拌均匀;

步骤B:取5g乙二醇和15g异丙醇,混合,搅拌均匀;

步骤C:于步骤A得到的混合溶液中加入0.01g EDTA-2Na和步骤B得到的乙二醇/异丙醇混合物,混合,搅拌均匀;

步骤D:于步骤C得到的混合溶液中加入0.1g甲醛,混合,搅拌均匀,即得。

[0027] 实施例5:保存液,与实施例4的不同之处在于,其配方为:2g KCl、2g KH₂PO₄、0.5g Na₂HPO₄、68.95g水、8g乙二醇、18g异丙醇、0.05g EDTA-2Na和0.5g甲醛。

[0028] 实施例6:保存液,与实施例4的不同之处在于,其配方为:3g KCl、3g KH₂PO₄、1g Na₂HPO₄、61.9g水、10g乙二醇、20g异丙醇、0.1g EDTA-2Na和1g甲醛。

[0029] 实施例7:样本采集(即样本和保存液的混合物的制备),包括如下步骤:

步骤i:取装有10ml实施例4的保存液的样品杯取出,旋开杯盖,准备采集细胞样本;

步骤ii:使用取样刷刷取宫颈各个部位进行细胞样本采集,样本取出即洗入步骤i的保存液中保存全部细胞样本,即得。

[0030] 实施例8:样本采集(即样本和保存液的混合物的制备),与实施例7的不同之处在于,其采用实施例5的保存液。

[0031] 实施例9:样本采集(即样本和保存液的混合物的制备),与实施例7的不同之处在于,其采用实施例6的保存液。

[0032] 实施例10:细胞涂片器,如图1所示,该细胞涂片器包括托盘1、固定在托盘1上方的制片仓2、位于制片仓2下端且封堵制片仓2下端的载玻片3,载玻片3插设在托盘1的下端面内。制片仓2上对应载玻片3处设有密封圈4。

[0033] 参照图1,制片仓2内设有套筒5,套筒5的上端设有用于与制片仓2的上端面抵接的环状凸缘6。套筒5的下端固定有过滤膜7,过滤膜7的孔径可根据需求进行选择,过滤膜7沿着制片仓2周向设置。

[0034] 参照图1,过滤膜7将制片仓2内的空间分隔成位于过滤膜7下方的清洗腔9、置于套筒5内且位于过滤膜7上方的过滤腔8、位于套筒5的外壁和制片仓2的内壁之间的间隙10。

[0035] 实施例11:细胞涂片器,与实施例10的不同之处在于,如图2所示,套筒5的外壁和离心管2的内壁之间抵接,即套筒5的外壁和离心管2的内壁之间不存在间隙10(参照图1)。

[0036] 实施例12:一种液基细胞制片方法,包括如下步骤:

步骤1,取实施例10的细胞涂片器,于制片仓2内加入实施例1的清洗液,清洗液全部进入清洗腔9内,其液面与过滤膜7高度齐平;

步骤2,取实施例4制备得到的样本和保存液的混合物,将其加至经步骤1处理后的细胞涂片器的过滤腔8内,样本和保存液的混合物经过滤膜7进入清洗腔9内,过程中,孔径大于过滤膜7孔径的杂质不能通过过滤膜7,孔径小于过滤膜7孔径但密度小于实施例的清洗液的杂质浮在上表面且大部分位于过滤腔8内,样本内的细胞在清洗液的作用下沉降于清洗腔9底部而部分通过过滤膜7的未能及时进入底部时直接下一步(静置沉降时间为0.5~1hr);

步骤3,除去经步骤2处理后的过滤膜7及过滤膜7上的杂质(即直接除去套筒5和固定在套筒5上的过滤膜7),自然沉降后除去上层清液;

步骤4,取经步骤3处理的细胞涂片器,抽取其上的载玻片3,固定、染色、封片,得到符合液基细胞学检查的样本,且对该方法平行试验10次其结果相同。

[0037] 实施例13:与实施例12的不同之处在于,其采用实施例2的清洗液和实施例5的制备得到的样本和保存液的混合物。得到符合液基细胞学检查的样本,且对该方法平行试验10次其结果相同。

[0038] 实施例14:与实施例12的不同之处在于,其采用实施例3的清洗液和实施例6的制备得到的样本和保存液的混合物。得到符合液基细胞学检查的样本,且对该方法平行试验10次其结果相同。

[0039] 实施例15:与实施例12的不同之处在于,其清洗液采用北京索莱宝科技有限公司提供的Pecol1细胞分离液。得到符合液基细胞学检查的样本,且对该方法平行试验10次其结果相同。

[0040] 实施例16:与实施例12的不同之处在于,其保存液采用武汉致诚信达科技开发有限公司提供的液基细胞学保存液。得到符合液基细胞学检查的样本,且对该方法平行试验10次其结果相同。

[0041] 实施例17:一种液基细胞制片方法,包括如下步骤:

步骤1,取实施例11的细胞涂片器,于制片仓2内加入实施例1的清洗液,清洗液全部进入清洗腔9内,其液面与过滤膜7齐平;

步骤2,取实施例4制备得到的样本和保存液的混合物,将其加至经步骤1处理后的细胞涂片器的过滤腔8内,样本和保存液的混合物经过滤膜7进入清洗腔9内,过程中,孔径大于过滤膜7孔径的杂质不能通过过滤膜7,孔径小于过滤膜7孔径但密度小于实施例的清洗液的杂质浮在上表面且大部分位于过滤腔8内,样本内的细胞在清洗液的作用下沉降于清洗腔9底部而部分通过过滤膜7的未能及时进入底部时直接下一步(静置沉降时间为0.5~1hr);

步骤3,除去经步骤2处理后的过滤膜7及过滤膜7上的杂质(即直接除去套筒5和固定在套筒5上的过滤膜7),自然沉降后除去上层清液;

步骤4,取经步骤3处理的细胞涂片器,抽取其上的载玻片3,固定、染色、封片,得到符合液基细胞学检查的样本,且对该方法平行试验10次其结果相同。

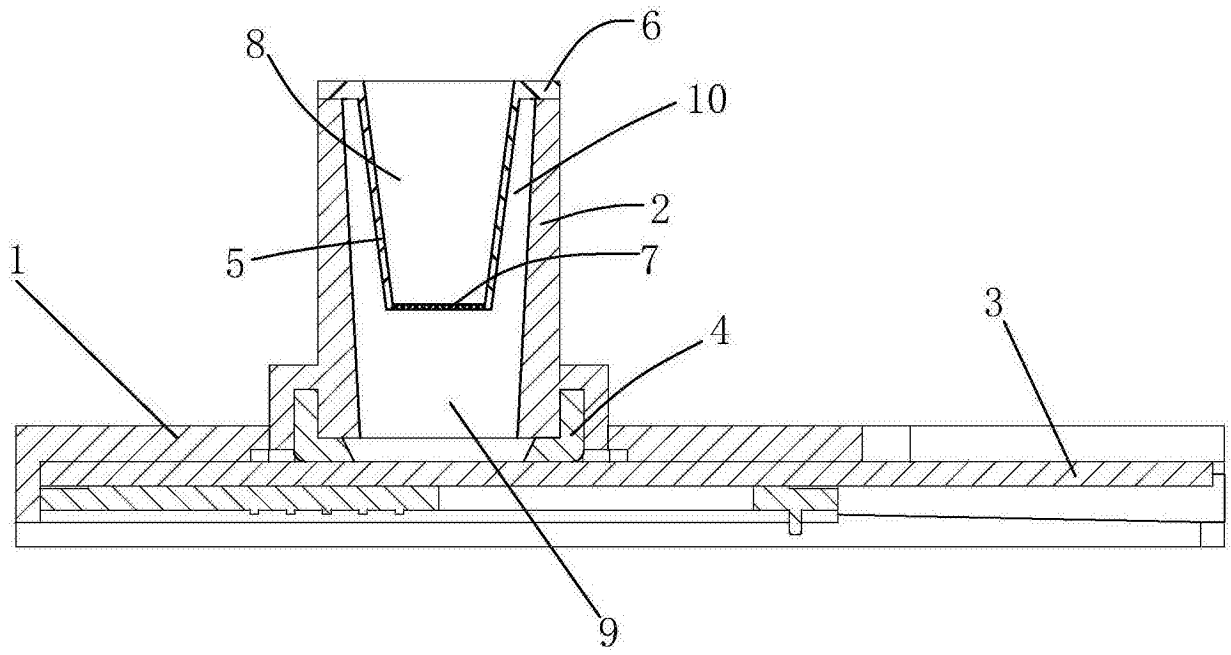


图1

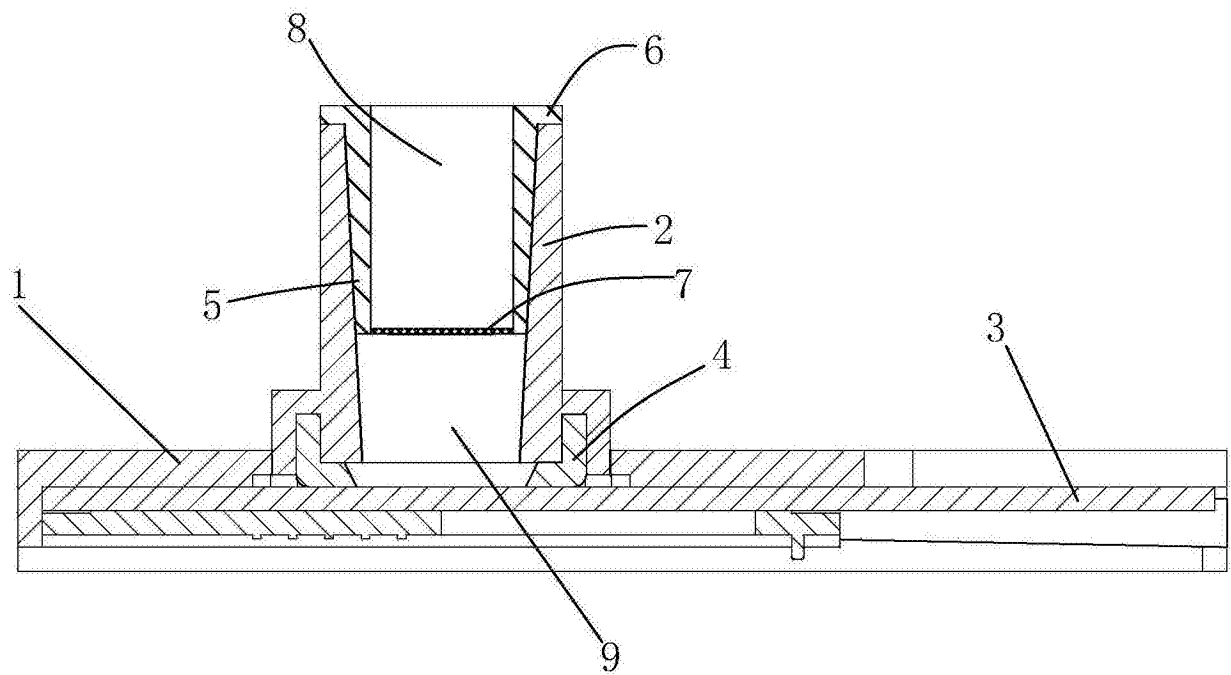


图2