



(12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 211179515 U

(45)授权公告日 2020.08.04

(21)申请号 201922210195.3

(22)申请日 2019.12.11

(73)专利权人 深圳市达科为生物工程有限公司

地址 518000 广东省深圳市坪山区坑梓街
道金辉路14号深圳市生物医药创新产
业园区1号楼702、703

(72)发明人 何志昂 姜维 吴庆军

(51)Int.Cl.

G01N 21/31(2006.01)

G01N 21/25(2006.01)

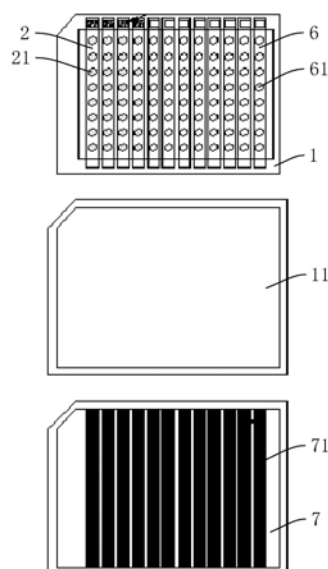
权利要求书1页 说明书6页 附图5页

(54)实用新型名称

一种细胞鉴定体系及包括该体系的细胞鉴定试剂盒

(57)摘要

本实用新型涉及一种细胞鉴定体系及包括该体系的细胞鉴定试剂盒,其包括分别装有活细胞染色剂和清洗剂的试剂瓶,还包括包被可拆板条以及用于放置包被可拆板条的孔板架,所述包被可拆板条上设有包被待测孔,所述包被待测孔上包被有用于捕获靶细胞的捕获抗体,所述包被可拆板条与常规酶标仪匹配。本实用新型能够以简单有效的方式鉴定细胞,具有给操作人员带来便利的效果。



1. 一种细胞鉴定体系,其特征在于:包括分别装有活细胞染色剂和清洗剂的试剂瓶一(41)与试剂瓶二(42),还包括包被可拆板条(2)以及用于放置包被可拆板条(2)的孔板架(1),所述包被可拆板条(2)上设有包被待测孔(21),所述包被待测孔(21)上包被有用于捕获靶细胞(8)的捕获抗体(3),所述包被可拆板条(2)与常规酶标仪匹配。

2. 根据权利要求1所述的一种细胞鉴定体系,其特征在于:所述活细胞染色剂为MTT,所述清洗剂为PBS。

3. 一种细胞鉴定试剂盒,其特征在于:包括权利要求1或2所述的细胞鉴定体系。

4. 根据权利要求3所述的一种细胞鉴定试剂盒,其特征在于:还包括分别装有磁珠偶联抗体、死细胞染色剂与细胞通透剂的试剂瓶三(43)、试剂瓶四(44)与试剂瓶五(45),还包括未包被可拆板条(6)与孔板磁力底座(7),所述未包被可拆板条(6)可放置于孔板架(1)与孔板磁力底座(7)上,所述未包被可拆板条(6)上设有未包被待测孔(61),所述孔板磁力底座(7)上设有可吸附磁珠偶联抗体的磁力条(71);将磁珠偶联抗体加入未包被待测孔(61)、将未包被可拆板条(6)放置于孔板磁力底座(7)上后,所述孔板磁力底座(7)可吸附未包被待测孔(61)内的磁珠偶联抗体。

5. 根据权利要求4所述的一种细胞鉴定试剂盒,其特征在于:所述磁力条(71)设有多个,且均匀分布于孔板磁力底座(7)中部。

6. 根据权利要求5所述的一种细胞鉴定试剂盒,其特征在于:所述未包被可拆板条(6)可贴合于孔板磁力底座(7)。

7. 根据权利要求4所述的一种细胞鉴定试剂盒,其特征在于:所述磁珠偶联抗体为PSA、p63与p40。

8. 根据权利要求4所述的一种细胞鉴定试剂盒,其特征在于:所述细胞通透剂为Triton-X或二甲苯,所述死细胞染色剂为台盼蓝。

一种细胞鉴定体系及包括该体系的细胞鉴定试剂盒

技术领域

[0001] 本实用新型涉及试剂盒的技术领域,尤其是涉及一种细胞鉴定体系及包括该体系的细胞鉴定试剂盒。

背景技术

[0002] 目前细胞诱导、癌细胞诊断等常用的诊断方法是流式细胞术、酶联免疫法、免疫组化法。

[0003] 上述中的现有技术方案存在以下缺陷:流式细胞术通过荧光耦合的抗体标记目的细胞检测荧光信号来进行细胞鉴定,需要使用荧光染料与流式细胞仪配套使用,导致检测成本增加。另外,荧光抗体需避光保存,荧光易淬灭造成检测结果不准确,因此,检测者需要掌握流式细胞仪操作方法与数据处理分析的专业知识。

[0004] 对于酶联免疫法,需要同时检测抗体与包被抗体两种抗体,从而使得成本增加。另外,检测物是细胞分泌物或细胞裂解液而非细胞本身,操作步骤较为繁杂。

[0005] 免疫组化法需要对细胞组织进行包埋切片,染色步骤虽然可以手动操作,但仍需要使用切片机、摊片机、包埋机、显微镜等,导致检测成本增加。同时,免疫组化需要使用一抗二抗两种抗体以及配套染色液、抗原封闭液、抗原修复液等,检测成本增加。另外,免疫组化步骤包括包埋、切片、烤片、脱蜡、修复、阻断、封闭、加一抗、加二抗、显色、复染、脱水透明、封片等操作极为繁杂,并且显微镜结果的判断需要专业知识人员判断。

[0006] 通过上述现有技术进行细胞诱导、癌细胞诊断较为复杂,给操作人员带来一定不便。

实用新型内容

[0007] 本实用新型的目的之一是提供一种细胞鉴定体系,其能够以简单有效的方式鉴定细胞,具有给操作人员带来便利的效果。

[0008] 本实用新型的上述实用新型目的是通过以下技术方案得以实现的:

[0009] 一种细胞鉴定体系,其特征在于:包括分别装有活细胞染色剂和清洗剂的试剂瓶,还包括包被可拆板条以及用于放置包被可拆板条的孔板架,所述包被可拆板条上设有包被待测孔,所述包被待测孔上包被有用于捕获靶细胞的捕获抗体,所述包被可拆板条与常规酶标仪匹配。

[0010] 通过采用上述技术方案,通过设置可拆包被板条,可拆包被板条上的包被待测孔内包被有捕获抗体,鉴定细胞时,将样本加入包被待测孔内,待测孔内的捕获抗体能够捕获靶细胞,再将清洗剂与活细胞染色剂依次加入待测孔内,能够将杂细胞去掉,并且对靶细胞进行染色,通过显色即可鉴定样本内是否含有靶细胞。在实际应用中,还需要将待测孔内细胞置于酶标仪上检测吸光值,计算出待测孔的细胞阳性率,从而进一步鉴定细胞,确认结果以防止判断错误。通过上述方式鉴定细胞,具有以下优点:操作步骤简单,只需要加入待检细胞、洗涤、显色等即完成操作;降低了成本,只使用了捕获抗体与简单的细胞试剂,不需要

配套昂贵仪器;结果易判断,不需要专业知识的数据分析,可通过肉眼观察有无显色来判断检测指标的阴阳性,从而具有给操作人员带来便利的效果。

[0011] 本实用新型进一步设置为:所述活细胞染色剂为MTT,所述清洗剂为PBS。

[0012] 通过采用上述技术方案,MTT为常用的活细胞染色剂,PBS为常用的清洗剂。

[0013] 本实用新型的目的二是提供一种细胞鉴定试剂盒,其能够以简单有效的方式鉴定细胞,具有给操作人员带来便利的效果。

[0014] 本实用新型的上述实用新型目的是通过以下技术方案得以实现的:

[0015] 一种细胞鉴定试剂盒,包括上述方案中所述的细胞鉴定体系。

[0016] 通过采用上述技术方案,包括上述细胞鉴定体系的细胞鉴定试剂盒能够以简单有效的方式鉴定细胞,具有给操作人员带来便利的效果。

[0017] 本实用新型进一步设置为:还包括分别装有磁珠偶联抗体、死细胞染色剂与细胞通透剂的试剂瓶,还包括未包被可拆板条与孔板磁力底座,所述未包被可拆板条可放置于孔板架与孔板磁力底座上,所述未包被可拆板条上设有未包被待测孔,所述孔板磁力底座上设有可吸附磁珠偶联抗体的磁力条;将磁珠偶联抗体加入未包被待测孔、将未包被可拆板条放置于孔板磁力底座上后,所述孔板磁力底座可吸附未包被待测孔内的磁珠偶联抗体。

[0018] 通过采用上述技术方案,通过设置未包被可拆板条与孔板磁力底座,孔板磁力底座能够吸附磁珠偶联抗体,鉴定细胞时,将样本、细胞通透剂与磁珠偶联抗体加入未包被待测孔内、将未包被可拆板条放置于孔板磁力底座上,磁珠偶联抗体能够进入靶细胞内,与靶细胞结合,然后在孔板磁力底座的吸附作用下聚集在未包被待测孔底部,再在未包被待测孔内加入死细胞染色剂,对靶细胞进行染色,通过显色即可鉴定样本内是否含有靶细胞。通过上述方式鉴定细胞,同样具有操作步骤简单、降低成本、结果易判断等的优点,具有给操作人员带来便利的效果。

[0019] 本实用新型进一步设置为:所述磁力条设有多个,且均匀分布于孔板磁力底座中部。

[0020] 通过采用上述技术方案,在一定程度上,磁力条的数量越多、分布越均匀,孔板磁力底座对磁珠偶联抗体的吸附效果越好,通过在孔板磁力底座上均匀设置多个磁力条,能够达到增强孔板磁力底座对磁珠偶联抗体吸附效果的目的。

[0021] 本实用新型进一步设置为:所述未包被可拆板条可贴合于孔板磁力底座。

[0022] 通过采用上述技术方案,通过将孔板架设置为能够贴合于孔板磁力底座,减小孔板架与孔板磁力底座之间的距离,增强孔板磁力底座对磁珠偶联抗体的吸附能够,从而能够使孔板磁力底座对磁珠偶联抗体的吸附效果更好。

[0023] 本实用新型进一步设置为:所述磁珠偶联抗体为PSA、p63与p40。

[0024] 通过采用上述技术方案,PSA、p63与p40为常用的磁珠偶联抗体。

[0025] 本实用新型进一步设置为:所述细胞通透剂为Triton-X或二甲苯,所述死细胞染色剂为台盼蓝。

[0026] 通过采用上述技术方案,Triton-X或二甲苯为常用的细胞通透剂,台盼蓝为常用的死细胞染色剂。

[0027] 综上所述,本实用新型的有益技术效果为:

[0028] 1.通过设置可拆包被板条,可拆包被板条上的包被待测孔内包被有捕获抗体,鉴定细胞时,将样本加入包被待测孔内,待测孔内的捕获抗体能够捕获靶细胞,再将清洗剂与活细胞染色剂依次加入待测孔内,能够将杂细胞去掉,并且对靶细胞进行染色,通过显色即可鉴定样本内是否含有靶细胞。在实际应用中,还需要将待测孔内细胞置于酶标仪上检测吸光值,计算出待测孔的细胞阳性率,从而进一步鉴定细胞,确认结果以防止判断错误。通过上述方式鉴定细胞,具有以下优点:操作步骤简单,只需要加入待检细胞、洗涤、显色等即可完成操作;降低了成本,只使用了捕获抗体与简单的细胞试剂,不需要配套昂贵仪器;结果易判断,不需要专业知识的数据分析,可通过肉眼观察有无显色来判断检测指标的阴阳性,从而具有给操作人员带来便利的效果;

[0029] 2.通过设置未包被可拆板条与孔板磁力底座,孔板磁力底座能够吸附磁珠偶联抗体,鉴定细胞时,将样本、细胞通透剂与磁珠偶联抗体加入未包被待测孔内、将未包被可拆板条放置于孔板磁力底座上,磁珠偶联抗体能够进入靶细胞内,与靶细胞结合,然后在孔板磁力底座的吸附作用下聚集在未包被待测孔底部,再在未包被待测孔内加入死细胞染色剂,对靶细胞进行染色,通过显色即可鉴定样本内是否含有靶细胞。通过上述方式鉴定细胞,同样具有操作步骤简单、降低成本、结果易判断等的优点,具有给操作人员带来便利的效果。

附图说明

[0030] 图1是本实用新型实施例一中用于体现孔板架、包被可拆板条、未包被可拆板条与孔板磁力底座的结构示意图;

[0031] 图2是本实用新型实施例一中鉴定MSC细胞的方法示意图;

[0032] 图3是本实用新型实施例一中鉴定前列腺癌细胞的方法示意图;

[0033] 图4是本实用新型实施例一中鉴定MSC细胞的结果示意图;

[0034] 图5是本实用新型实施例二与实施例三中鉴定NK细胞与CIK细胞的结果示意图;

[0035] 图6是本实用新型实施例四中鉴定肺癌细胞的结果示意图;

[0036] 图7是本实用新型实施例一中鉴定前列腺癌细胞的结果示意图。

[0037] 图中,1、孔板架;11、孔板盖;2、包被可拆板条;21、包被待测孔;3、捕获抗体;41、试剂瓶一;42、试剂瓶二;43、试剂瓶三;44、试剂瓶四;45、试剂瓶五;6、未包被可拆板条;61、未包被待测孔;7、孔板磁力底座;71、磁力条;8、细胞。

具体实施方式

[0038] 以下结合附图对本实用新型作进一步详细说明。

[0039] 实施例一

[0040] 参照图1,为本实用新型公开的一种细胞鉴定试剂盒,包括细胞鉴定体系,细胞鉴定体系包括孔板架1,孔板架1为96孔板或者48孔板,孔板架1上放置有包被可拆板条2。

[0041] 包被可拆板条2与孔板架1适配,包被可拆板条2能够插入孔板架1上的孔内,与孔板架1可拆卸连接。包被可拆板条2长度方向上开设有多个包被待测孔21,多个包被待测孔21成直线排列。孔板架1上可拆卸连接有用于覆盖包被待测孔21的孔板盖11。

[0042] 参照图2,包被待测孔21内壁包被有用于捕获靶细胞8的捕获抗体3,本实施例鉴定

的细胞8为MSC细胞(间充质干细胞),对应的捕获抗体3包括CD45、CD105、CD34、CD90与CD73,每个包被待测孔21可包被一种捕获抗体3。

[0043] 细胞鉴定体系还包括试剂瓶一41与试剂瓶二42,试剂瓶一41与试剂瓶二42内分别装有助于对细胞8进行染色的活细胞染色剂,以及用于洗涤细胞8的清洗剂,其中活细胞染色剂为MTT,清洗剂为PBS。

[0044] 参照图1与图2,鉴定MSC细胞时,将待鉴定的MSC细胞悬液离心重悬并调整细胞密度为 1×10^6 个/ml,轻微吹打混合均匀,用200ul移液枪吸取MSC细胞悬液加入到分别包被有CD45、CD105、CD34、CD90与CD73的包被可拆板条2中,每个包被可拆板条2加两个包被待测孔21做重复对照,加入量为100ul/孔。不同捕获抗体3包被的包被可拆板条2设置一个空白对照孔,空白对照孔加入100ul/孔的PBS。设置包被有CD45的包被可拆板条2中的三个孔为阳性对照孔,每个阳性对照孔加入100ul 1×10^6 个/ml的淋巴细胞。将包被可拆板条2置于37℃孵育30min。

[0045] 将孵育后的包被可拆板条2倒立在滤纸上轻拍三下,加入PBS清洗2次,加入量为100ul/孔,再倒立在滤纸上轻拍去掉PBS。

[0046] 在每个包被待测孔21加入10ul MTT (5mg/ml) 于37℃孵育10min,倒掉后用PBS清洗一次,再倒掉并每孔加入100ul用于溶解显色结晶的DMSO。结合图4所示,若待测细胞8为MSC细胞时,则CD45、CD105的包被可拆板条2应无色,含有CD34、CD90、CD73的包被可拆板条2应为紫色。

[0047] 为了确保鉴定结果的准确性,将鉴定后的包被可拆板条2置于酶标仪上,包被可拆板条2与酶标仪匹配,设置检测波长为490nm,读取吸光值,待测孔的细胞阳性率=(待测孔的平均吸光值-空白对照的平均吸光值)/(阳性对照的平均吸光值-空白对照的平均吸光值)。若待测细胞8为MSC细胞时,则CD45、CD105表达的阳性率应 $\leq 10\%$;CD34、CD90、CD73表达的阳性率应 $\geq 90\%$ 。

[0048] 参照图2,通过上述方式鉴定细胞8,具有以下优点:操作步骤简单,只需要加入待检细胞8、洗涤、显色等即完成操作;降低了成本,只使用了捕获抗体3与简单的细胞试剂,不需要配套昂贵仪器;结果易判断,不需要专业知识的数据分析,可通过肉眼观察有无显色来判断检测指标的阴阳性,从而具有给操作人员带来便利的效果。

[0049] 参照图1,本实用新型公开的一种细胞鉴定试剂盒还包括未包被可拆板条6与孔板磁力底座7,未包被可拆板条6与孔板架1适配,未包被可拆板条6能够插入孔板架1上的孔内,与孔板架1可拆卸连接。未包被可拆板条6长度方向上开设有多个未包被待测孔61,多个未包被待测孔61成直线排列。

[0050] 未包被可拆板条6还与孔板磁力底座7适配,未包被可拆板条6能够放置于孔板磁力底座7上,且贴合于孔板磁力底座7。孔板磁力底座7中部均匀设有多个磁力条71,磁力条71的长度方向与孔板磁力底座7的长度方向垂直,磁力条71的两端分别延伸至孔板磁力底座7两侧边缘。

[0051] 参照图3,细胞鉴定试剂盒还包括试剂瓶三43、试剂瓶四44与试剂瓶五45,试剂瓶三43、试剂瓶四44与试剂瓶五45内分别装有可结合于细胞8的磁珠偶联抗体、用于对细胞8进行染色的死细胞染色剂,以及有利于磁珠偶联抗体结合于细胞8上的细胞通透剂,其中磁珠偶联抗体为PSA、p63与p40,死细胞染色剂为台盼蓝,细胞通透剂为Triton-X。应当指出,

本实施例中细胞通透剂为Triton-X,在其他实施例中还可以为二甲苯。

[0052] 参照图1与图3,本实施例鉴定的细胞8为前列腺癌细胞,鉴定前列腺癌细胞时,将前列腺组织切碎并用胰酶消化液消化为细胞悬液,或将前列腺病理切片用胰酶消化液消化为细胞悬液,将消化后的细胞悬液离心重悬并调整细胞密度为 1×10^6 个/ml,轻微吹打混合均匀,用200ul移液枪吸取待测细胞悬液加入到欲分别加入PSA、p63、p40的未包被可拆板条6中,每个未包被可拆板条6加两个未包被待测孔61做重复对照,加入量为100ul/孔。欲加入不同磁珠偶联抗体的未包被可拆板条6设置一个空白对照孔,空白对照孔加入100ul/孔的PBS。设置加入CD45的未包被可拆板条6中的三个孔为阳性对照孔,每个阳性对照孔加入100ul的 1×10^6 个/ml的淋巴细胞。

[0053] 在所有未包被待测孔61内加入100ul/孔的Triton-X,室温孵育10min,然后分别在对未包被待测孔61内加入10ul的PSA、p63、p40、CD45 (1ul/ml)。将孔板置于37℃孵育20min。

[0054] 将孵育后的未包被可拆板条6放入孔板磁力底座7静置5min,倒掉未包被待测孔61内的液体,然后加入PBS清洗2次,加入量为100ul/孔,再倒立在滤纸上轻拍去掉PBS。

[0055] 每个未包被待测孔61加入100ul PBS,然后每个未包被待测孔61再加入10ul台盼蓝(40mg/ml),室温孵育5min。结合图7所示,若待测组织含有前列腺癌细胞时,则含有PSA、p63、p40的可拆板条应为蓝色。

[0056] 参照图3,通过上述方式鉴定细胞8,同样具有操作步骤简单、降低成本、结果易判断等的优点,具有给操作人员带来便利的效果。

[0057] 实施例二

[0058] 参照图2与图5,为本实用新型公开的一种细胞鉴定试剂盒,与实施例一的不同之处在于,本实施例中细胞鉴定体系鉴定的细胞8为NK细胞(自然杀伤细胞),对应的捕获抗体3包括CD3与CD56。

[0059] 若待测细胞8为NK细胞时,则CD3的包被可拆板条2应为无色,含有CD56的包被可拆板条2应为紫色。

[0060] 若待测细胞8为NK细胞,则CD3表达阳性率应 $\leq 10\%$;CD56表达阳性率应 $\geq 40\%$ 。

[0061] 实施例三

[0062] 参照图2与图5,为本实用新型公开的一种细胞鉴定试剂盒,与实施例一的不同之处在于,本实施例中细胞鉴定体系鉴定的细胞8为CIK细胞(细胞因子诱导杀伤细胞),对应的捕获抗体3包括CD3与CD56。

[0063] 若待测细胞8为CIK细胞时,则含有CD3、CD56的包被可拆板条2应为紫色。

[0064] 若待测细胞8为CIK细胞,则CD3、CD56表达阳性率应 $\geq 40\%$ 。

[0065] 实施例四

[0066] 参照图2与图6,为本实用新型公开的一种细胞鉴定试剂盒,与实施例一的不同之处在于,本实施例中细胞鉴定体系鉴定的细胞8为肺癌细胞,对应的捕获抗体3包括CEA与CA125。

[0067] 若待测组织含有肺癌细胞时,则含有CEA、CA125的包被可拆板条2应为紫色。

[0068] 若待测组织含有肺癌细胞时,则CEA、CA125表达阳性率应 $\geq 20\%$ 。

[0069] 本具体实施方式的实施例均为本实用新型的较佳实施例,并非依此限制本实用新

型的保护范围,故:凡依本实用新型的结构、形状、原理所做的等效变化,均应涵盖于本实用新型的保护范围之内。

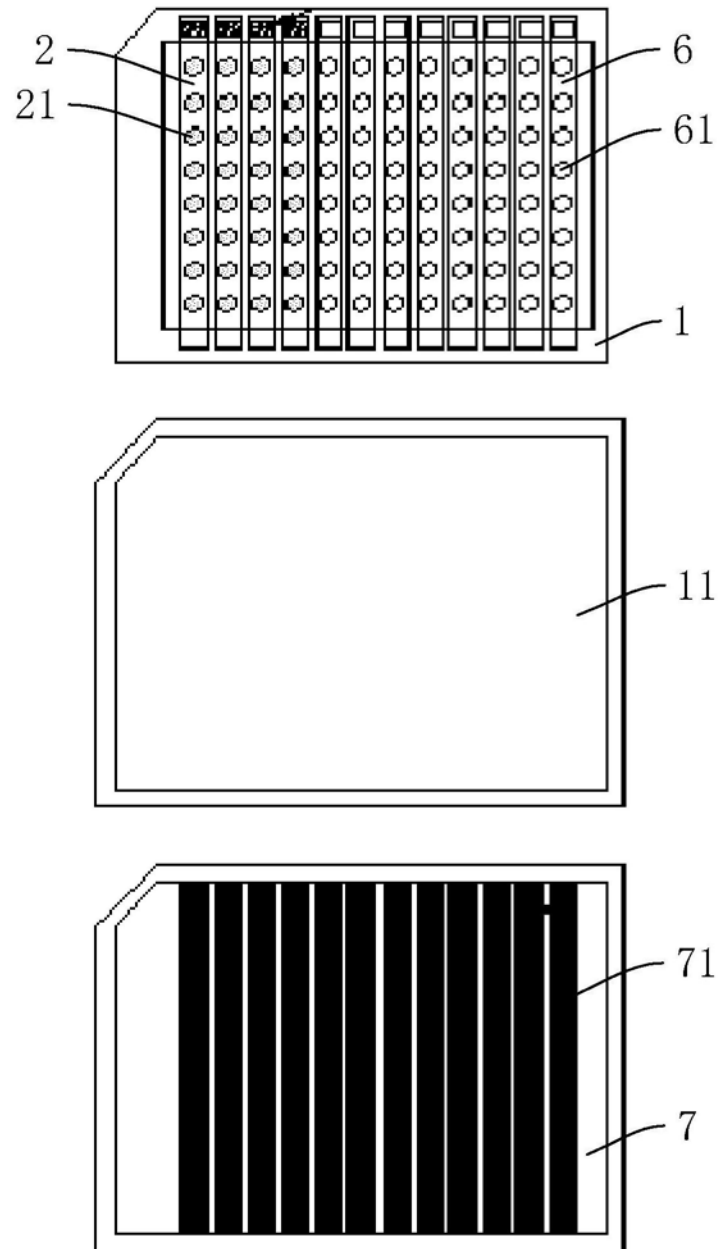


图1

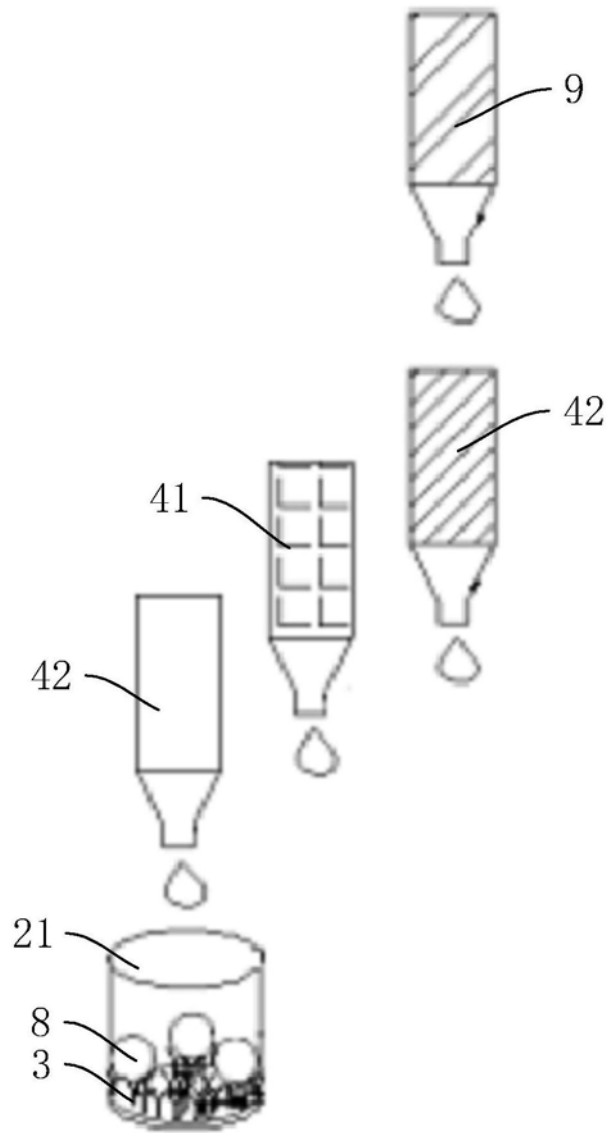


图2

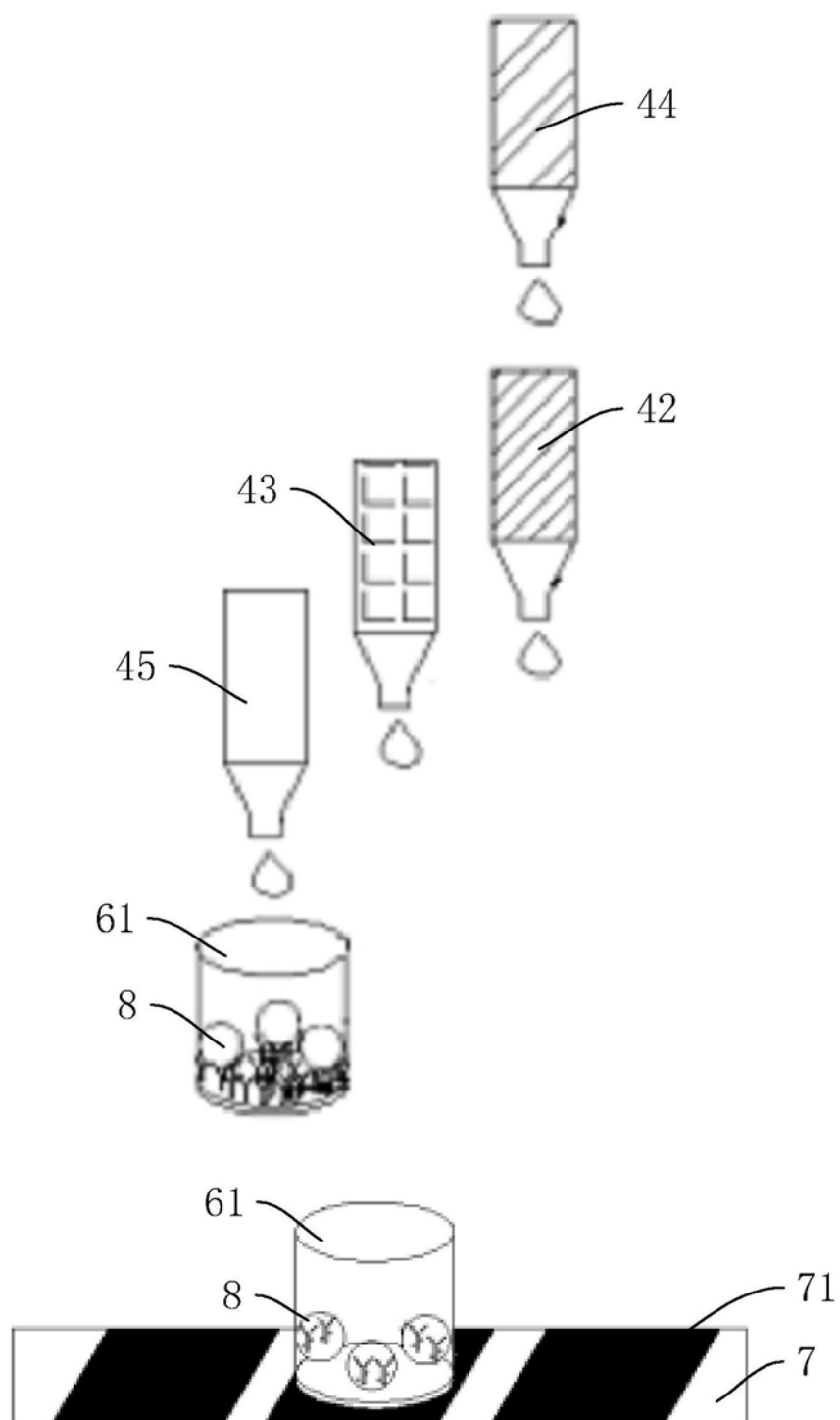


图3

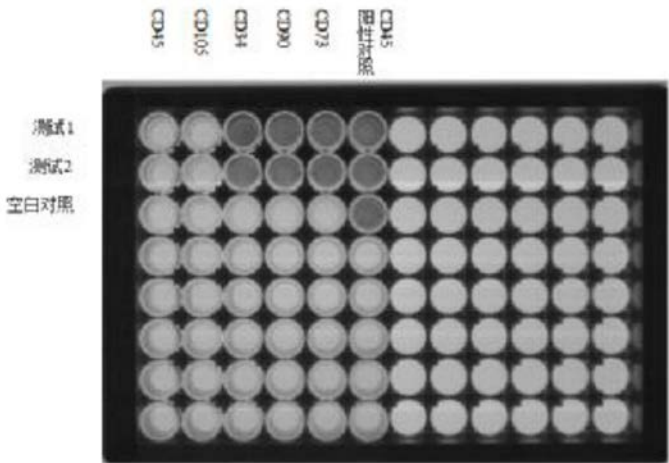


图4

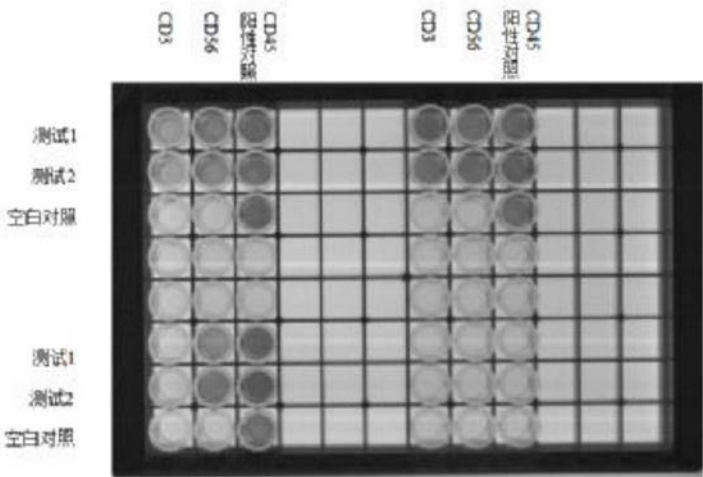


图5

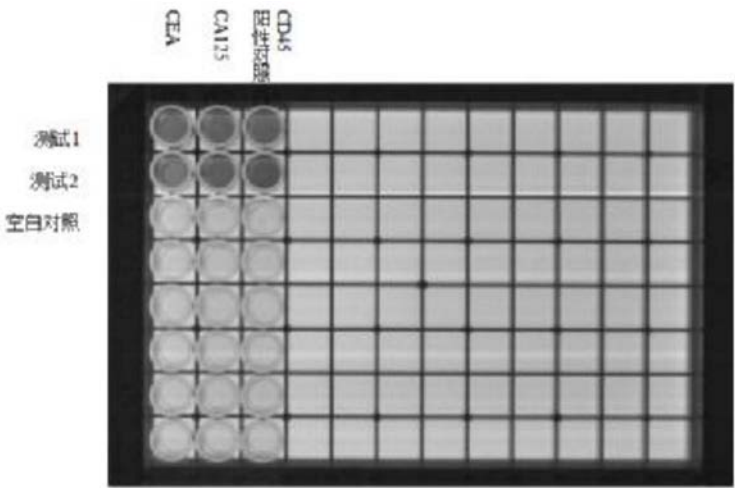


图6

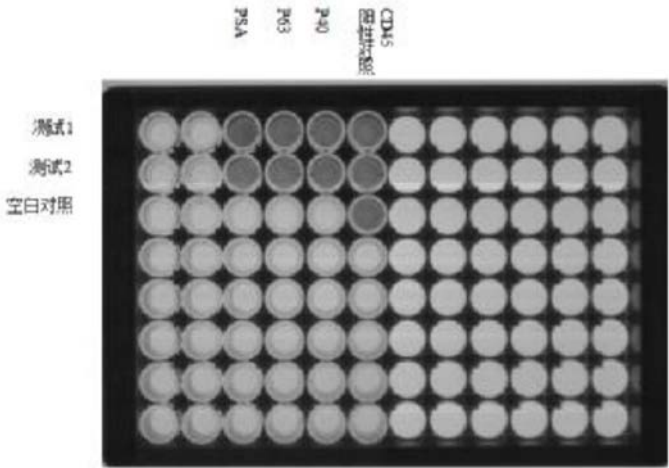


图7