

流式细胞仪检测哪些项目？流式细胞检测原理及应用？

产品名称	流式细胞仪检测哪些项目？流式细胞检测原理及应用？
公司名称	北京义翘神州科技股份有限公司
价格	.00/件
规格参数	
公司地址	北京市北京经济技术开发区科创十街18号院9号楼
联系电话	400-8909989 15101180634

产品详情

流式细胞仪检测哪些项目？流式细胞检测原理及应用？

一、流式细胞仪的检测范围

1、流式细胞仪可以检测细胞结构，包括：细胞大小、细胞粒度、细胞表面面积、核浆比例、DNA含量与细胞周期、RNA含量、蛋白质含量。

2、流式细胞仪可以检测细胞功能，包括：细胞表面/胞浆/核的特异性抗原、细胞活性、细胞内细胞因子、酶活性、激素结合位点和细胞受体。

3、流式可以检测的样本很多：

细胞表面的蛋白，通过荧光抗体直接标记

细胞内部的蛋白，细胞固定，通透后再用荧光抗体识别

细胞内部的DNA含量，细胞固定，通透后加DNA染料

细胞内部钙离子浓度，直接加钙离子浓度荧光染料染色

细胞内部线粒体膜电位，比如JC-1，罗丹明染料

使用微球阵列，可以同时检测溶液中数十种可溶性蛋白的浓度

二、流式细胞仪的临床应用

1、流式细胞术在肿瘤学中的应用

流式细胞术可以检测肿瘤细胞增殖周期、检测肿瘤细胞表面标记、癌基因表达产物、进行多药耐药性分析、检测凋亡；

2、流式细胞术在血液学中的应用

检测白血病和淋巴瘤细胞、活化血小板、造血干细胞（CD34+）计数、白血病与淋巴瘤的免疫分型、网织红细胞计数、细胞移植的交叉配型和免疫状态监测；

3、流式细胞术在免疫学中的应用

可以进行淋巴细胞及其亚群分析、淋巴细胞免疫分型、检测细胞因子。

三、流式细胞仪的科研应用

主要有细胞动力学功能研究、环境微生物分析、流式细胞术与分子生物学研究。

四、流式细胞术常规检测时的样品制备

1、直接免疫荧光标记法

取一定量细胞（约 1×10^6 细胞 / ml），直接加入连接有荧光素的抗体进行免疫标记反应（如做双标或多标染色，可把几种标记有不同荧光素的抗体同时加入），孵育20-60分钟后，用PBS（pH7.2 - 7.4）洗1-2次，加入缓冲液重悬，上机检测。

本方法操作简便，结果准确，易于分析，适用于同一细胞群多参数同时测定。虽然直标抗体试剂成本较高，但减少了间接标记法中较强的非特异荧光的干扰，因此更适用于临床标本的检测。

2、间接免疫荧光标记法

取一定量的细胞悬液（约 1×10^6 细胞 / ml），先加入特异的抗体，待反应完全后洗去未结合抗体，再加入荧光标记的第二抗体，生成抗原-抗体-抗抗体复合物，以FCM检测其上标记的荧光素被激发后发出的荧光。本方法费用较低，二抗应用广泛，多用于科研标本的检测。

但由于二抗一般为多克隆抗体，特异性较差，非特异性荧光背景较强，易影响实验结果。所以标本制备时应加入阴性或阳性对照。另外，由于间标法步骤较多，增加了细胞的丢失，不适用测定细胞数较少的标本。

五、质量控制和注意事项

流式细胞仪并非是完全自动化的仪器，准确的实验结果还需要准确的人工技术配合，所以标本制备需要规范，仪器本身亦需要质量控制。

1、流式细胞术免疫学检测的影响因素和质量控制

流式细胞术在免疫学中有着广泛的应用，其免疫荧光染色的标本制备非常重要，常常由于标本制备过程中出现人为非特异性荧光干扰（尤其在间接免疫荧光染色中）或细胞浓度低等影响检测结果。解决这些影响因素的方法如下：

（1）确保标本上机检测前的浓度为 1×10^6 / ml，细胞浓度过低直接影响检测结果。

(2) 使用蛋白封闭剂，封闭非特异结合位点，尤其在间接免疫荧光标记时必不可少。常用的蛋白封闭剂为0.5%牛血清白蛋白和1%胎牛血清。

(3) 荧光抗体染色后充分洗涤，注意混匀和离心速度，减少重叠细胞和细胞碎片。

(4) 设置对照样品，采用与抗体来源同型匹配的无关对照和荧光抗体的本底对照。

(5) 判定结果时，应注意减去本底荧光，为使免疫荧光的定量分析更准确，应用计算机软件，用拟合曲线方法从实验组的曲线峰值中减去对照组的曲线峰值，可以得到更准确的免疫荧光定量结果。

(6) 注意染色后避光，保证细胞免疫荧光的稳定。

2、DNA 倍体分析的质量控制仍没有统一的标准，各文献报道的实验结果差异较大，1993年10月美国癌症研究组织制定了FCMDNA

测定的统一标准，我们根据这些标准并结合国内有经验的专家多年的实践，对FCM的DNA分析技术的质控和注意事项进行说明。

(1) 手术切除的新鲜标本或活检针吸标本取材时，要避免出血坏死组织。

(2) 标本采集后要及时固定或深低温保存，以免组织发生自溶，DNA降解，而造成测试结果的误差。

(3) 固定剂要采用对组织细胞穿透性强的浓度，70%的乙醇固定效果较好。

(4) 单细胞悬液制备过程中，注意将待测细胞成分分离出来，减少其他成分的干扰，并注意不要损伤该群细胞。

(5) 细胞样品的采集要保证足够的细胞浓度，即 1×10^6 / ml，杂质、碎片、团块和重叠细胞应 $< 2\%$ ，对肿瘤细胞DNA异倍体的分析样品，至少有20%的肿瘤细胞存在。

(6) 石蜡包埋组织单细胞制备时要注意：

取材时应选取无自溶、坏死的组织，对肿瘤组织标本，选取含肿瘤细胞丰富的区域；石蜡组织片的厚度要适宜，为40-50 μm 。

过薄或过厚的切片均会影响检测结果；彻底脱蜡，以免残留的石蜡影响酶的消化活性，验证脱蜡是否完全的方法是弃去二甲苯，加入乙醇，若无絮状物浮起，说明蜡已脱净；水化要充分，使组织还原到与新鲜组织相似的状态；注意消化的时间和消化酶的活性。常规使用0.5%胃蛋白酶，pH 1.5。

3、操作方面

(1) 流式细胞仪在整个工作过程中处于最好状态，能保证定量检测的准确性和检测精度。使用标准样品调整仪器的变异系数在最小范围，分辨率在最好状态，能避免在测量过程中仪器条件的变化引起的检测误差。

(2) 评价仪器精度的重要指标是仪器的变异系数(CV)，对于校准样品，其CV值越小越好，CV值越小，说明仪器校正的精度越高。校准样品包括非生物样品(荧光微球)和生物细胞样品(人淋巴细胞、鸡红细胞等)。目前，非生物荧光微球已有商品试剂，CV一般 $< 2\% - 3\%$ 。

4、资料分析方面

(1) 当样品中碎片杂质或团块过多，所测细胞数在20%以下，组方图的基线抬高时，应放弃分析处理。

(2) 做细胞周期分析时，样品细胞数应在1万个，排除碎片、杂质和团块，当异倍体细胞数占总细胞数10%以下时，需要结合其他诊断指标，不可盲目下结论，至少异倍体细胞占总细胞数的20%以上，可以确定异倍体的存在。

(3) DNA分析时，正常二倍体细胞组方图CV值>8%时放弃分析，但肿瘤细胞的CV值>8%，与肿瘤细胞的异质性有关。另外，DNA倍体分析时，同源组织的不同个体会出现10%的漂移。

(4) DNA倍体标准的质量控制，采用相同个体同源正常组织、同样固定方法、相同的样品处理方法、相同的染色方法、同步染色、同样的仪器检测条件、正常的二倍体组织作为内标准。

目前义翘神州将提供流式细胞检测技术服务，服务内容包括：

细胞表型检测 (T/B/NK/Treg免疫分型分析等)

CBA细胞因子检测

细胞活性检测

细胞凋亡检测

细胞增殖检测

有需求的朋友可以直接在义翘神州查询。

文章来源：流式细胞检测技术服务：<https://cn.sinobiological.com/services/flow-cytometry-service>