



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114441480 B

(45) 授权公告日 2024.01.26

(21) 申请号 202210046184.X

G01N 15/1429 (2024.01)

(22) 申请日 2022.01.10

G01N 15/1434 (2024.01)

G01N 15/01 (2024.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 114441480 A

(43) 申请公布日 2022.05.06

(73) 专利权人 中国科学院苏州生物医学工程技术研究所

地址 215163 江苏省苏州市高新区科技城科灵路88号

(72) 发明人 陈忠祥 王策 吴云良 严心涛
钟金凤 王耀 马玉婷 裴智果
宋飞飞 武晓东

(74) 专利代理机构 北京远大卓悦知识产权代理有限公司 11369

专利代理师 贺杰

(56) 对比文件

CN 217180593 U, 2022.08.12

US 2014295488 A1, 2014.10.02

CN 102175587 A, 2011.09.07

CN 103471982 A, 2013.12.25

CN 103575638 A, 2014.02.12

CN 113670800 A, 2021.11.19

US 2019371434 A1, 2019.12.05

US 2021278333 A1, 2021.09.09

Jordi Petriz等.No lyse no wash flow cytometry for maximizing minimal sample preparation. Methods.2017,149-163.

审查员 杨旭

(51) Int. Cl.

G01N 21/49 (2006.01)

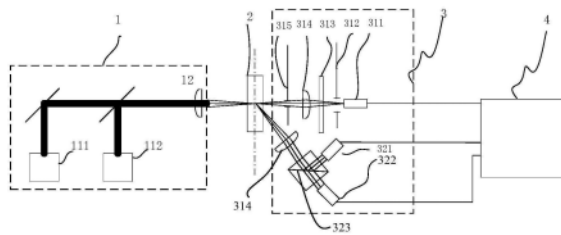
权利要求书2页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

一种有核红细胞分析装置及分析方法

(57) 摘要

本发明公开了一种有核红细胞分析装置及分析方法,属于生物医学技术领域。具体而言,本发明提供的有核红细胞分析装置包括:光源模块、流体模块、探测器模块和数据处理模块;其中,所述光源模块包括两个光源;所述探测器模块包括三个探测器,用来对不同方向的光源进行检测,获得相应的数据;数据处理模块用来对获得的光信号进行处理。本发明提供的检测装置用来检测有核红细胞,不需要增加荧光染料,属于一种无标记识别有核红细胞的分析装置。本发明提供的有核红细胞分析装置可以克服传统方法抗体偶联特异性差,导致检测假阳性高,有核红细胞和白细胞区分不明显的缺陷。



1. 一种有核红细胞分析方法,其特征在于,所述方法包括:

采用有核红细胞分析装置或有核红细胞分析仪对样本进行检测,得到样本中每个细胞通过光源后的光信号,将第一探测器接收到的光信号记为a,第二探测器接收到的光信号记为b,第三探测器接收的光信号记为c;

设定参数 $k=b/c$;将每个细胞通过光源产生的数据记为a,b,c,k;

将a设定一阈值,去掉小于该阈值的细胞数据,以k为横坐标轴,进行直方图统计,将样本中的细胞分类成有核红细胞、白细胞;

将a设定一阈值,去掉小于该阈值的细胞数据,以a,k为坐标轴,绘制所有的细胞二维点图,将样本中的细胞分类成有核红细胞、白细胞;

其中,所述有核红细胞分析装置包括:

一光源模块,所述光源模块包括:

第一光源,发射具有第一波长的光;

第二光源,发射具有第二波长的光,和

一光学元件,所述光学元件包括光的合束和聚焦光学器件;

一流体模块,所述流体模块包括:

一透光的流体通道,用以实现样本的单样本颗粒流进样;

一聚焦光斑,用以实现颗粒单个一次通过光源;

一探测器模块,所述探测器模块包括:

第一探测器,用以接收具有第一波长的光的前向散射光信号;

第二探测器,用以接收具有第一波长的光的侧向散射光信号;

第三探测器,用以接收具有第二波长的光的侧向散射光信号;

一数据分析处理模块,其包括一中心处理器,用以实现检测信号的处理;

其中,所述有核红细胞分析仪包括所述有核红细胞分析装置和处理器,配置用于从所述数据分析处理模块中获取第一、第二和第三探测器检测到的光强度信息,根据获取到的第一探测器、第二探测器和第三探测器光强度信息来判断样本中是否存在有核红细胞。

2. 根据权利要求1所述的有核红细胞分析方法,其中,所述第一光源为发射波长为620-650nm的激光器;

所述第二光源为发射波长为350-550nm的激光器。

3. 根据权利要求2所述的有核红细胞分析方法,其中,所述第一光源为发射波长为 $638\text{nm} \pm 10\text{nm}$ 的激光器;

所述第二光源为发射波长为 $405 \pm 5\text{nm}$ 的激光器。

4. 根据权利要求1所述的有核红细胞分析方法,其中,所述流体通道为尺寸为100-400 μm 的矩形石英小孔,并且表面抛光。

5. 根据权利要求1所述的有核红细胞分析方法,其中,所述探测器模块中还包括一视场光阑;

按照光的运行路径,所述视场光阑设置在所述第一探测器前方,用以限制第一探测器接收到的光的范围。

6. 根据权利要求5所述的有核红细胞分析方法,其中,所述探测器模块中还包括一窄带滤光片;

按照光的运行路径,所述窄带滤光片设置在第一探测器前方,用以限制第一探测器接收到的光的波长;

当第一光源发射波长为 $638\text{nm} \pm 10\text{nm}$ 的光时,所述窄带滤光片为OD4的 $638 \pm 10\text{nm}$ 的窄带滤光片。

7. 根据权利要求6所述的有核红细胞分析方法,其中,所述探测器模块中还包括一光学镜组;

按照光的运行路径,所述光学镜组设置在所述第一探测器前方,用以将光源的焦点成像于第一探测器光敏面附近 $\pm 3\text{mm}$ 内。

8. 根据权利要求7所述的有核红细胞分析方法,其中,所述探测器模块中还包括一孔径光阑;

按照光的运行路径,所述孔径光阑设置在第一探测器的前方,用以控制数值孔径值不大于光源模块的焦距光学系统的孔径数值。

9. 根据权利要求1所述的有核红细胞分析方法,其中,所述探测器模块包括:一孔径光阑、一光学镜组、一窄带滤光片、一视场光阑;

按照光的运行路径,所述孔径光阑、光学镜组、窄带滤光片、视场光阑依次设置在第一探测器的前方。

10. 根据权利要求1所述的有核红细胞分析方法,其中,所述探测器模块还包括:

按照光的运行路径,设置在第二探测器和第三探测器前的一光学镜组、一二向色镜及一窄带滤光片;

所述光学镜组、二向色镜及窄带滤光片按照波长,将不同波长的光分别导进第二探测器、第三探测器中。

11. 根据权利要求1所述的有核红细胞分析方法,其中,所述数据分析处理模块包含一组数据采集卡功能的板卡;所述板卡将采集到的信息传输给计算机,实现数据的分析处理。

12. 根据权利要求1中所述的有核红细胞分析方法,其特征在于,所述参数k采用对数坐标系。

一种有核红细胞分析装置及分析方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物医学技术领域。具体而言,本发明涉及一种有核红细胞分析装置及分析方法。

背景技术

[0002] 红细胞是人体携带氧气的细胞,是血液中最重要成分之一。通常外周血中红细胞是不含有细胞核的,但是在人体发生某些疾病如增生性贫血、白血病时,外周血中会存在有核红细胞。另外,胎儿的血液中的红细胞是存在细胞核的,这些有核红细胞有极少量的细胞会突破胎盘屏障进入母体外周血中。检测这些有核红细胞有助于判断筛查疾病达到发生,特别是孕妇外周血中的有核红细胞,有可能是胎儿的有核红细胞,对其进行测序,将有利于发现胎儿的潜在基因缺陷,实现无创产前诊断。

[0003] 针对有核红细胞的分析,目前已经有一些公开的产品、装置和方法。典型的产品如希森美康和迈瑞医疗的五分类血液分析仪产品,如CN200610073296,其采用试剂溶解了有核红细胞的细胞质,让有核红细胞只剩下细胞核,并通过光学散射荧光等方法,将其与白细胞区分开,从而实现有核红细胞的检测。CN201880098383公开了一种通过散射光和荧光进行有核红细胞计数的方法。区别于五分类的光学检测方法,贝克曼库尔特公司在专利CN02814528中公开了一种通过非聚焦孔检测有核红的方法,该方法通过库尔特电阻抗原理,实现了有核红细胞和白细胞的信号区分,从而实现有核红细胞的检测。专利CN201810578067,采用抗体耦联的方法,在微流控芯片中实现胎儿有核红细胞的检测与获取。专利CN202010549815公开了通过抗体和蛋白质丝膜的方法获取有核红细胞的方法。

[0004] 流式细胞仪也可用于有核红细胞的分析,通过荧光抗体耦联的方法标志有核红细胞,然后通过流式细胞仪检测其散射光和荧光强度,将有核红细胞和白细胞的信号有效区分开来,并进行有核红细胞的分析。

[0005] 上述的装置或技术方法,基于的判断理论是,被特异性抗体耦联到的即为有核红细胞,或者是基于散射光和荧光的判断,在有核红细胞含量较少时,用来标定有核红细胞的抗体在巨量的白细胞统计特性下,存在极大概率的假阳性,并且白细胞的大小分布也在更大尺度范围内弥散,并且会覆盖到有核红细胞的尺度范围,因此上述的方法在有核红细胞含量较少的应用中存在着严重的假阳性问题,特别是母体外周血中胎儿有核红细胞仅有白细胞的百万分之几的含量时,上述方法几乎不能工作。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种无标记识别有核红细胞的分析装置及分析方法,以克服传统方法抗体偶联性差,导致的假阳性高,有核红细胞和白细胞区分不明显的缺陷。

[0007] 为了实现上述目的,本发明提供了如下的技术方案:

[0008] 第一方面,本发明提供了一种有核红细胞分析装置,其包括:

[0009] 一光源模块,所述光源模块包括:

- [0010] 第一光源,发射具有第一波长的光;
- [0011] 第二光源,发射具有第二波长的光,和
- [0012] 一光学元件,所述光学元件包括光的合束和聚焦光学器件;
- [0013] 一流体模块,所述流体模块包括:
- [0014] 一透光的流体通道,用以实现样本的单样本颗粒流进样;
- [0015] 一聚焦光斑,用以实现颗粒单个一次通过光源;
- [0016] 一探测器模块,所述探测器模块包括:
- [0017] 第一探测器,用以接收具有第一波长的光的前向散射光信号;
- [0018] 第二探测器,用以接收具有第一波长的光的侧向散射光信号;
- [0019] 第三探测器,用以接收具有第二波长的光的侧向散射光信号;
- [0020] 一数据分析处理模块,其包括一中心处理器,用以实现检测信号的处理。
- [0021] 优选地,所述第一光源为发射波长为620-650nm的激光器;
- [0022] 所述第二光源为发射波长为350-550nm的激光器。
- [0023] 优选地,所述第一光源为发射波长为638nm \pm 10nm的激光器;
- [0024] 所述第二光源为发射波长为405 \pm 5nm的激光器。
- [0025] 优选地,所述流体通道为尺寸为100-400 μ m的矩形石英小孔,并且表面抛光。
- [0026] 优选地,所述探测器模块中还包括一视场光阑;
- [0027] 按照光的运行路径,所述视场光阑设置在所述第一探测器前方,用以限制第一探测器接收到的光的范围。
- [0028] 进一步优选地,所述探测器模块中还包括一窄带滤光片;
- [0029] 按照光的运行路径,所述窄带滤光片设置在第一探测器前方,用以限制第一探测器接收到的光的波长;
- [0030] 当第一光源发射波长为638nm \pm 10nm的光时,所述窄带滤光片为OD4的638 \pm 10nm的窄带滤光片;
- [0031] 进一步优选地,所述探测器模块中还包括一光学镜组;
- [0032] 按照光的运行路径,所述光学镜组设置在所述第一探测器前方,用以将光源的焦点成像于第一探测器光敏面附近 \pm 3mm内;
- [0033] 更优选地,所述探测器模块中还包括一孔径光阑;
- [0034] 按照光的运行路径,所述孔径光阑设置在第一探测器的前方,用以控制数值孔径值不大于光源模块的焦距光学系统的孔径数值。
- [0035] 所述探测器模块包括:一孔径光阑、一光学镜组、一窄带滤光片、一视场光阑;
- [0036] 按照光的运行路径,所述孔径光阑、光学镜组、窄带滤光片、视场光阑依次设置在第一探测器的前方。
- [0037] 优选地,所述探测器模块还包括:
- [0038] 按照光的运行路径,设置在第二探测器和第三探测器前的一光学镜组、一二向色镜及一窄带滤光片;
- [0039] 所述光学镜组、二向色镜及窄带滤光片按照波长,将不同波长的光分别导进第二探测器、第三探测器中。
- [0040] 第二方面,本发明还提供了一种有核红细胞仪,其包括:

- [0041] 本发明所述的有核红细胞分析装置;和
- [0042] 处理器,配置用于从所述数据分析处理模块中获取第一、第二和第三探测器检测到的光强度信息,根据获取到的第一探测器、第二探测器和第三探测器光强度信息来判断样本中是否存在有核红细胞。
- [0043] 第三方面,本发明还提供了一种有核红细胞的分析方法,所述方法包括:
- [0044] 采用本发明所述的有核红细胞分析装置对样本进行检测,得到样本中每个细胞通过光源后的光信号,将第一探测器接收到的光信号记为a,第二探测器接收到的光信号记为b,第三探测器接收的光信号记为c;
- [0045] 设定参数 $k=b/c$;将每个细胞通过光源产生的数据记为a,b,c,k;
- [0046] 将a设定一阈值,去掉小于该阈值的细胞数据,以k为横坐标轴,进行直方图统计,将样本中的细胞分类成有核红细胞、白细胞;
- [0047] 将a设定一阈值,去掉小于该阈值的细胞数据,以a,k为坐标轴,绘制所有的细胞二维点图,将样本中的细胞分类成有核红细胞、白细胞。
- [0048] 相比于现有技术,本发明提供的有核红细胞分析装置及分析方法具有以下优点:
- [0049] 本发明提供的检测装置用来检测有核红细胞,不需要增加荧光染料,属于一种无标记识别有核红细胞的分析装置。本发明提供的有核红细胞分析装置可以克服传统方法抗体偶联特异性差,导致检测假阳性高,有核红细胞和白细胞区分不明显的缺陷。

附图说明

- [0050] 图1为本发明提供的有核红细胞分析装置示意图。
- [0051] 图2为本发明提供的用于分析有核红细胞的侧向吸收系数-细胞数二维图。
- [0052] 图3为本发明提供的用于分析有核红细胞的侧向吸收系数-前向吸收光二维图。
- [0053] 图中,1、光源模块;2、流体模块;3、探测器模块;4、数据分析处理模块;12、光学元件;111、第一光源;112、第二光源;311、第一探测器;312、视场光阑;313、窄带滤光片;314、光学镜组;315、孔径光阑;321、第二探测器;322、第三探测器;323、二向色镜。

具体实施方式

- [0054] 为了对本发明的技术特征、目的和有益效果有更加清楚的理解,现对本发明的技术方案进行以下详细说明,但不能理解为对本发明的可实施范围的限定。
- [0055] 在整个说明书中,除非另有特别说明,本文使用的术语应理解为如本领域中通常所使用的含义。因此,除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语具有与本申请所述领域技术人员的一般理解相同的含义。若存在矛盾,本说明书优先。
- [0056] 需要说明的是,在本申请中,术语“包括”、“包含”或者其他任何其他变体意在涵盖非排他性的包含,从而使得包括一系列要素的方法或装置不仅包括所明确记载的要素,而且还包括没有明确列出的其他要素,或者是还包括为实施方法或装置所固有的要素。在没有更多限制的情况下,由语句“包括一个……”限定的要素,并不排除在包括该要素的方法或者装置中还存在另外的相关要素。
- [0057] 需要说明的是,本申请所涉及的术语“第一\第二\第三”仅仅是区别类似的对象,

不代表针对对象的特定排序,可以理解地,“第一\第二\第三”在允许的情况下可以互换特定的顺序或先后次序。应该理解“第一\第二\第三”区分的对象在适当情况下可以互换,以使这里描述的本申请能够以除了在这里图示或描述的那些以外的顺序实施。

[0058] 如图1所示,本发明提供了一种有核红细胞分析装置。所述有核红细胞分析装置可用于进行生物样本的分析,所述生物样本可以为血液、尿液等。所述有核红细胞分析装置包括:

[0059] 一光源模块1,所述光源模块1包括:

[0060] 第一光源111,发射具有第一波长的光;

[0061] 第二光源112,发射具有第二波长的光,和

[0062] 一光学元件12,所述光学元件12包括光的合束和聚焦光学器件;

[0063] 一流体模块2,所述流体模块2包括:

[0064] 一透光的流体通道,用以实现样本的单样本颗粒流进样;

[0065] 一聚焦光斑,用以实现颗粒单个一次通过光源;

[0066] 一探测器模块3,所述探测器模块3包括:

[0067] 第一探测器311,用以接收具有第一波长的光的前向散射光信号;

[0068] 第二探测器321,用以接收具有第一波长的光的侧向散射光信号;

[0069] 第三探测器322,用以接收具有第二波长的光的侧向散射光信号;

[0070] 一数据分析处理模块4,其包括一中心处理器,用以实现检测信号的处理。

[0071] 其中,光源模块1中的两组光源,也就是第一光源111和第二光源112发出的光的波长分别落在血红蛋白的高吸收区和地吸收区。具体哪一光源发射高吸收区的光,哪一光源发射地吸收区的光没有要求。例如:

[0072] 在一些具体的实施方式中:

[0073] 所述第一光源111可以是发射波长为620-650nm的激光器;

[0074] 所述第二光源112可以是发射波长为350-550nm的激光器;更进一步地:

[0075] 所述第一光源111可以是发射波长为638nm \pm 10nm的激光器;

[0076] 所述第二光源112可以是发射波长为405 \pm 5nm的激光器。

[0077] 在另一些具体的实施方式中,也可以是:

[0078] 所述第一光源111可以是发射波长为350-550nm的激光器;

[0079] 所述第二光源112可以是发射波长为620-650nm的激光器;更进一步地,

[0080] 所述第一光源111可以是发射波长为405 \pm 5nm的激光器;

[0081] 所述第二光源112为发射波长为638nm \pm 10nm的激光器。

[0082] 作为一种可选实施例,所述流体通道为尺寸为100-400 μ m的矩形石英小孔,并且表面抛光。

[0083] 作为一种可选实施例,所述探测器模块3中还包括一视场光阑312;

[0084] 按照光的运行路径,所述视场光阑312设置在所述第一探测器311前方,用以限制第一探测器311接收到的光的范围。

[0085] 作为一种可选实施例,所述探测器模块3中还包括一窄带滤光片313;

[0086] 按照光的运行路径,所述窄带滤光片313设置在所述第一探测器311前方,用以限制第一探测器311接收到的光的波长;

[0087] 当第一光源111发射波长为 $638\text{nm} \pm 10\text{nm}$ 的光时,所述窄带滤光片313为OD4的 $638 \pm 10\text{nm}$ 的窄带滤光片313。

[0088] 作为一种可选实施例,所述探测器模块3中还包括一光学镜组314;

[0089] 按照光的运行路径,所述光学镜组314设置在所述第一探测器311前方,用以将光源的焦点成像于第一探测器311光敏面附近 $\pm 3\text{mm}$ 内。

[0090] 作为一种可选实施例,所述探测器模块3中还包括一孔径光阑315;

[0091] 按照光的运行路径,所述孔径光阑315设置在所述第一探测器311前方,用以控制数值孔径值不大于光源模块1的焦距光学系统的孔径数值。

[0092] 作为一种可选实施例,所述探测器模块3包括:一孔径光阑315、一光学镜组314、一窄带滤光片313、一视场光阑312;

[0093] 按照光的运行路径,所述孔径光阑315、光学镜组314、窄带滤光片313、视场光阑312依次设置在第一探测器311前方。

[0094] 作为一种可选实施例,所述探测器模块3还包括:

[0095] 按照光的运行路径,设置在第二探测器321和第三探测器322前的一光学镜组314、二向色镜323及窄带滤光片313;按照波长,将不同波长的光分别导进第二探测器321、第三探测器322中。

[0096] 作为一种可选实施例,数据分析处理模块4包含一组数据采集卡功能的板卡,板卡采集的数据传输到计算机后,计算机实现数据的分析处理。

[0097] 本发明还提供了一种有核红细胞分析仪,其包括本发明所述的有核红细胞分析装置和处理器,所述配置用于从所述数据分析处理模块4中获取第一、第二和第三探测器322检测到的光强度信息,根据获取到的第一探测器311、第二探测器321和第三探测器322光强度信息来判断样本中是否存在有核红细胞。

[0098] 在一些具体的实施方式中,处理器配制用于判断样本中是否存在有核红细胞时执行以下步骤:将第一探测器311接收到的光信号记为 a ,第二探测器321接收到的光信号记为 b ,第三探测器322接收到的光信号记为 c ;

[0099] 设定参数 $k=b/c$;将每个细胞通过光源产生的数据记为 a, b, c, k ;

[0100] 将 a 设定一阈值,将小于该阈值的细胞数据去除,以 k 为横坐标轴,进行直方图统计,将样本中的细胞分类成有核红细胞、白细胞。

[0101] 在一些具体的实施例中,处理器配制用于判断样本中是否存在有核红细胞时执行以下步骤:将第一探测器311接收到的光信号记为 a ,第二探测器321接收到的光信号记为 b ,第三探测器322接收到的光信号记为 c ;

[0102] 设定参数 $k=b/c$;将每个细胞通过光源产生的数据记为 a, b, c, k ;

[0103] 将 a 设定一阈值,将小于该阈值的细胞数据去除,以 a, k 为坐标轴,绘制所有细胞的二维点图,根据二维点图识别待测样本中是否存在有核红细胞;

[0104] 进一步对有核红细胞进行计数。

[0105] 一种利用本发明提供的有核红细胞分析装置对样本进行分析的方法,其包括:

[0106] 步骤S1:将包含有核红细胞白细胞等血细胞的样本在本实用新型描述的装置中检测,得到每个细胞通过光源后,第一探测器311接收光信号记为 a ,第二探测器321产生的光信号强度记为 b ,第三探测器322产生的光信号记为 c ;

[0107] 步骤S2:设定参数 $k=b/c$;将每个细胞通过光源产生的数据记为 a, b, c, k ;

[0108] 步骤S3:将所有细胞的数据 a, b, c, k ,以 a 大于某个值为参数,去掉细胞碎片数据,然后以 k 为横坐标轴,进行直方图统计,如图2所示。将样本中的细胞分类成有核红细胞,白细胞;优选地, k 采用对数坐标系。

[0109] 步骤S4:将所有细胞的数据 a, b, c, k ,以 a 大于某个值为参数,去掉细胞碎片数据,然后以 a, k 为坐标轴,绘制所有的细胞二维点图,如图3所示。将样本中的细胞分类成有核红细胞,白细胞;优选地, k 采用对数坐标系。

[0110] 本发明提供的检测装置及分析方法用来检测有核红细胞,不需要增加荧光染料,属于一种无标记识别有核红细胞的分析装置。本发明提供的有核红细胞分析装置可以克服传统方法抗体偶联特异性差,导致检测假阳性高,有核红细胞和白细胞区分不明显的缺陷。

[0111] 以上详细描述了本发明的优选实施方式,但是,本发明并不限于此。在不偏离本发明要求保护的精神和实质的前提下,可以对本发明的各个技术特征进行替代、修改和组合,这些简单变型和组合同样应当视为本发明所公开的内容,均属于本发明的保护范围。

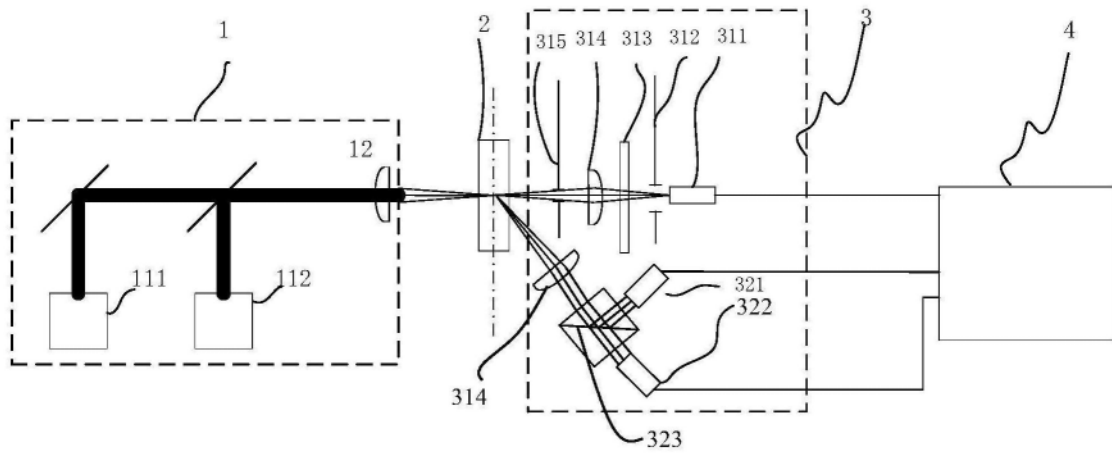


图1

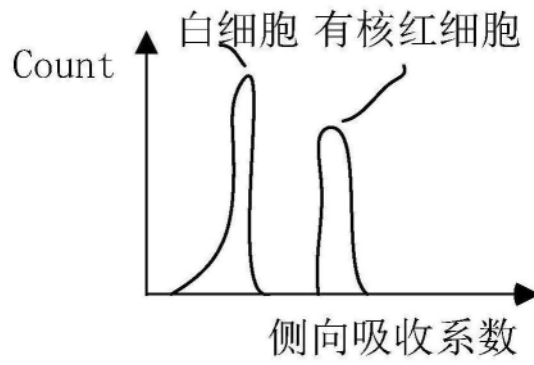


图2

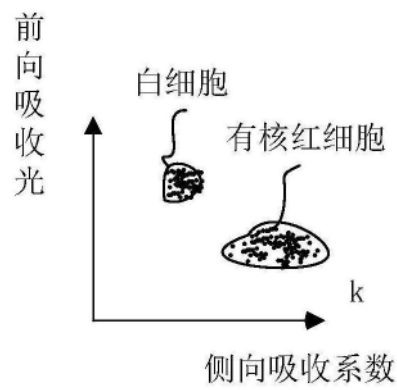


图3