

权 利 要 求 书

1、一种流式细胞术检测猪外周血 T 淋巴细胞亚群的方法，其特征在于，包括以下步骤：

步骤 1，取猪外周静脉血，制备抗凝血；

5 步骤 2，吸取所述抗凝血于两支流式管中，一支管中加入抗猪 CD3、CD4、CD8 单克隆抗体，旋涡混匀，于 4℃ 避光染色，用作检测管；另一支用作阴性设置管；

步骤 3，用红细胞裂解液破裂红细胞；

步骤 4，用 PBS 液洗涤并重悬细胞，使用流式细胞仪进行检测；

10 步骤 5，分析检测结果，获得猪外周血 T 淋巴细胞亚群比例；

所述制备抗凝血，具体为：于 2mL 规格的 EDTA-Na₂ 抗凝管中加入 2mL 猪外周静脉血；

15 所述使用流式细胞仪进行检测，包括：在前向散射光/侧向散射光双参数图中调节电压和电流线性增益参数，使左下方的淋巴细胞与邻近右上的单核细胞群分开；选取淋巴细胞并设门；用阴性设置管设定阴性区，用检测管调节荧光补偿；

所述调节电压和电流线性增益参数，具体为：调节侧向散射光通道的电压，将淋巴细胞群与周围细胞分开；调节前向散射光通道的电流增益，使细胞团与细胞碎片分开；

20 所述分析检测结果，包括：圈取目标细胞并设门、分别在 CD3/CD4、CD3/CD8、CD4/CD8 象限图中准确界定双阴性区、单阴性区和双阳性区，读取 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺和 CD3⁺CD8⁺T 淋巴细胞百分比，从而获得猪外周血 T 淋巴细胞亚群比例。

25 2、根据权利要求 1 所述的流式细胞术检测猪外周血 T 淋巴细胞亚群的方法，其特征在于，所述吸取抗凝血的体积数为 100uL。

3、根据权利要求 1 所述的流式细胞术检测猪外周血 T 淋巴细胞亚群的方法，其特征在于，所述染色的时间为 30min。

4、根据权利要求1所述的流式细胞术检测猪外周血T淋巴细胞亚群的方法，其特征在于，所述设定阴性区具体为：取阴性设置管上流式细胞仪，设定散点图中十字门左下方的区域为阴性区，调节电压使阴性区内细胞百分比大于98%。

5 ~~5、根据权利要求1所述的流式细胞术检测猪外周血T淋巴细胞亚群的方法，其特征在于，所述分析检测结果，包括：圈取目标细胞并设门、分别在CD3/CD4、CD3/CD8、CD4/CD8象限图中准确界定双阴性区、单阴性区和双阳性区，读取CD3⁺、CD3⁺CD4⁺和CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞百分比，从而获得猪外周血T淋巴细胞亚群比例。~~

10 ~~65~~、根据权利要求~~51~~所述的流式细胞术检测猪外周血T淋巴细胞亚群的方法，其特征在于，所述圈取目标细胞并设门要求圈取靠近FSC/SSC双参数图中左下角的细胞团。