

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
G01N 33/53 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780001919.0

[43] 公开日 2009年2月11日

[11] 公开号 CN 101365946A

[22] 申请日 2007.1.4

[21] 申请号 200780001919.0

[30] 优先权

[32] 2006.1.6 [33] US [31] 11/327,589

[86] 国际申请 PCT/US2007/000234 2007.1.4

[87] 国际公布 WO2007/081778 英 2007.7.19

[85] 进入国家阶段日期 2008.7.4

[71] 申请人 佰尔瑞溶液有限公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 苏堪塔·本纳吉

[74] 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司

代理人 杨淑媛 郑霞

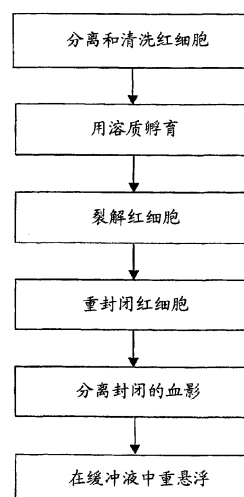
权利要求书2页 说明书10页 附图3页

[54] 发明名称

抗红细胞同种抗体的多重检测

[57] 摘要

公开了在样品中检测抗体的方法，其中抗体靶向由红细胞或红细胞血影表达的抗原。本方法不是检测特定抗原抗体对之间的结合情况(如传统的基于凝集作用的试验)，而是允许多重检测针对血型抗原的临床重要的同种免疫抗体。特别地，本方法包括产生荧光编码的具有已知的抗原呈递的红细胞或红细胞血影，以及在荧光三明治型的免疫检测中将其用于检测血清/血浆中抗体的存在。检测结果可使用基于成像技术的流式细胞或荧光显微镜来读取。



1. 一种检测样品中同种抗体的方法，包括：

产生一组不同编码的红细胞或红细胞血影，其中不同编码的细胞或血影在细胞膜表面上表达至少一种抗原，所述抗原不被所述组中其它细胞或血影表达；

在允许样品中存在的抗体结合到所述细胞膜表面上的所述抗原的条件下暴露所述组于血清、血液或血浆的样品；以及

应用靶向所述被结合的抗体的被标记的二次抗体检测结合。

2. 如权利要求 1 所述的方法，其进一步包括在结合之后清洗掉多余的未结合的样品的步骤。

3. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述编码是用荧光染料。

4. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述二次抗体用荧光染料标记。

5. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述二次抗体是单克隆的。

6. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述检测步骤使用流式细胞计量术进行或通过显像所述编码的细胞或血影的阵列、显像所述被结合的二次抗体以及将所述被结合的二次抗体的位置与阵列图像相关联以确定所述组中哪些细胞或血影与所述样品中的抗体反应来进行。

7. 一种制备编码的血影细胞的方法，其包括：

从全血分离红细胞；

用染料溶液孵育所述红细胞以编码红细胞表面上的抗原；

在裂解液用裂解液裂解所述红细胞；

在重封闭溶液用重封闭溶液重封闭所述裂解的红细胞；以及

从所述重封闭溶液中分离所述重封闭红细胞血影。

8. 如权利要求 7 所述的方法，其中所述分离通过离心法进行。

9. 如权利要求 7 所述的方法, 其中所述裂解液包括如下成分:

溶于 500 ml 蒸馏水中的 0.69 g 磷酸一钠、0.203 g 六水氯化镁和 0.0435 g 苯甲基磺酰氯。

10. 如权利要求 7 所述的方法, 其中所述重封闭溶液包括溶于 50 ml 蒸馏水的 6 g 氯化钠。

11. 如权利要求 7 所述的方法, 其中所述染料溶液是 pH 值接近中性、大约等渗的离子强度和镁离子浓度为 0.1-2 mM 的缓冲液。

12. 如权利要求 7 所述的方法, 其中所述染料是荧光的。

13. 如权利要求 7 所述的方法, 其进一步包括在溶液中储存血影的步骤, 所述溶液包括: 溶于 500 ml 蒸馏水中的 4.383 g 氯化钠、0.345 g 磷酸一钠、0.203 g 六水氯化镁和 0.0435 g 苯甲基磺酰氯。

14. 由权利要求 7 到 13 任一项所述的方法制备的编码的血影。

抗红细胞同种抗体的多重检测

发明背景

当次要血型抗原（如：Jk, Rh, Kell, Kidd 和 Duffy）被引入到敏化的受体时，能诱发自身抗体和/或同种抗体，引起自身免疫溶血性贫血、溶血性贫血、新生儿溶血病和溶血性输血反应。先前的输血或怀有抗原阳性胎儿可导致致敏。这些同种抗体一般通过检测受体血清、接着在分别的凝集试验中，对照一系列已知表型的红细胞（RBC）来检测和鉴定（例如，抗 Jk^a 抗体可以通过确定患者血清是否与 Jk^{a+}RBC 反应而不与 Jk^{a-}RBC 反应来鉴定）。通过选择各种抗原表型的 RBC 的多种样品，检测临床上重要的同种抗体的存在或缺失是可能的。

凝集试验通常在溶液中进行，即在试管中进行。试管凝集反应的数据判读需要熟练的和有经验的技术人员，特别是当反应更弱时。然而，近年来，例如凝胶形式和涂覆的固相形式的更新的技术已被开发。凝胶技术是以经过葡聚糖-丙烯酰胺凝胶时红细胞的可控凝集反应原理为基础的[Judd WJ, Steiner EA, Knafl PC, Masters C. The gel test: use in the identification of unexpected antibodies to blood group antigens (凝胶测试: 在未预料到的针对血型抗原的抗体的鉴定中的应用). *Immunohematology* 1998; 14:59-62]。在微管中充以凝胶、缓冲液和试剂的混合物。在凝胶顶部，加入患者血清与各种已知的红细胞的混合物，接着在可控条件下离心凝胶。在阴性反应中，细胞通过凝胶并在微管底部成团。相反地，在阳性反应中，红细胞在凝胶的各种高度被捕获，最强的反应（最大凝集量）使得无法观察的迁移最小化，大多数红细胞在凝胶微柱的顶部或接近顶部的位置被捕获。由 Immucor 公司开发的固相系统提供了用于固定人红细胞的微孔，并被应用在用于检测针对相应的红细胞抗原的 IgG 红细胞抗体的固相检测中[Plapp FV, Sinor LT, Rachel JM 等, A solid phase antibody screen (固相抗体筛选)。

Am J Clin Pathol 1984; 82:179]。这些孔用化学偶联剂涂覆，以便允许将用户选定的红细胞固定到微孔表面。在促进抗原-抗体反应的条件下，将被涂覆的孔用包括血清、血浆或其他试剂的血液制品孵育。在孵育后，从孔清洗掉未结合的多余的免疫球蛋白，加入抗 IgG 涂覆的指示剂红细胞。离心使得指示剂红细胞与结合到固定的红细胞层的抗体相接触。在阳性试验的情况下，在指示物红细胞和敏化的固定的细胞之间形成 IgG 抗 IgG 复合物。作为抗体桥接的结果，指示物细胞粘附到固定的细胞作为第二固定层。在没有可检测的抗原-抗体相互作用（阴性试验）时，指示物红细胞不与固定的细胞结合并以压紧的扣状物在孔的底部成团。

质膜在真核细胞的内部和外部环境之间形成界面。因而，包埋在该膜里的蛋白质的功能是不同的，包括细胞-细胞和细胞-细胞外基质识别、细胞外信号的接收和转导以及传递溶质和水分子进入和离开细胞。细胞表面蛋白质种群的多样性经常给应用提取的膜蛋白或粗细胞裂解物进行的体外检测的开发带来困难。红细胞膜是包含膜双层、包埋的蛋白质和糖蛋白的阵列以及已知对外部环境敏感的细胞骨架蛋白网络的复合层的复杂结构[Steck, T.L. The organization of proteins in the human red blood cell membrane (人红细胞膜中的蛋白的组织). J. Cell Biol. Vol. 62 (1974) 1-19; Byers, T.L.和 Branton, D. Visualization of the protein associations in the erythrocyte membrane skeleton(在红细胞膜骨架中的蛋白结合的显色). Proc. Natl. Acad. Sci. USA vol.82 (1985) 6153-6157; Seeman, P., Cheng, D.和 Iles, G.H. Structure of membrane holes in osmotic and saponin hemolysis(渗透性溶血和皂苷溶血中的膜孔的结构). J. Cell. Biol. vol. 56 (1973) 519-527]。

使用编码完整的细胞作为探针提供了用于筛选结合到细胞表面受体的配体的有吸引力的替代方法，并且提供了适合高通量技术的微型化和多重化平台的开发。

红细胞内包囊溶质作为给药和药物寻靶的方法已被广泛地研究。[Ihler G.M., Glew, R.H.和 Schnure, F.W. Enzyme loading of erythrocytes (红细胞的酶负载). PANS vol. 70 (1973) 2663-2666; DeLoach, J.R., Harris, R.L.和 Ihler, G.M. An erythrocyte encapsulator dialyzer used in preparing large quantities of

erythrocyte ghosts and encapsulation of pesticide in erythrocyte ghosts (用于制备大量红细胞血影的红细胞包囊透析剂以及红细胞血影中包囊杀虫剂). Analytical Biochemistry vol. 102 (1980) 220-227; Baker, R.F. Entry of ferritin into human red cells during hypotonic haemolysis (低渗溶血过程中铁蛋白进入人红细胞). Nature vol. 215 (1967) 424-425; Marsden, N,V.B.和 Ostling, S.G. Accumulation of dextran in human red cells after haemolysis(溶血后人红细胞中的葡聚糖的积累). Nature vol. 184 (1959) 723-724]. 在本方法中利用了这一事实, 即: 温和的渗透性溶血诱发红细胞的膜孔隙率的改变, 该改变允许与蛋白质尺寸大体相同的探针以及小溶质分配到红细胞内部。通过在溶血后适当地操纵离子强度(等渗条件的恢复), 孔被重新封闭, 将被分配的溶质永久的捕获在红细胞内(也就是红细胞血影)。清洗重封的血影除去多余的外部介质的溶质。应用本方法载入荧光标记的葡聚糖得到荧光红细胞血影, 这在文献中已被报导了[Doberstein, S.K.等, Fluorescent erythrocyte ghosts as standards for quantitative flow cytometry(荧光红细胞血影用作定量流式细胞术的标准品). Cytometry vol. 20 (1995) 14-18]。

然而, 在试验中使用重封血影细胞要求细胞表面蛋白质及其取向不受血影的制备和溶质载入过程的影响。特别地, 使用离子强度低的缓冲液或不含镁离子的缓冲液可能导致分子成分的解聚和膜的内翻外折叠, 使得产物不能用于当前目的。

另一个荧光编码细胞的方法包括使用可透过膜的亲脂染料[Tanaka, Y. 和 Schroit, A.J. Insertion of fluorescent phosphatidylserine in the plasma membrane of red blood cells(在红细胞的质膜中植入荧光磷脂酰丝氨酸). J. Biol. Chem. vol. 258 (1983) 11335-11343; Tokumasu, F. 和 Dvorak, J. Development and application of quantum dots for immunochemistry of human erythrocytes (量子点在人红细胞免疫化学中的开发及其应用). Journal of Microscopy, vol. 211 (2003) 256-261]以及将反应性染料不可逆地共价连接到细胞表面 [Donald, M.M.等, RBC's labeled at two biotin densities permit simultaneous and repeated measurements of circulating RBC volume (用两个密度的生物素标记红细胞允许同时测定和重复测定循环红细胞容积)。

Transfusion, vol 44 (2004) 431-437; Suzuki, T.和 Dale, G.L. Biotinylated erythrocytes: In-vivo survival and in vitro recovery (生物素化红细胞: 体内存活和体外回收). Blood, vol. 70 (1987) 791-795]. 如果存在任何数据的话, 那么关于共价连接对配体-受体相互作用的影响的报导很少[Cowley, H.等, Biotinylation modifies red cell antigens (生物素化改性红细胞抗原). Transfusion, vol. 39 (1999) 163-168]. 另外, 使用表面编码方法很难构造大量独特的密码, 除非, 使用一些染料产生许多不同的颜色, 编码反应可以被精密地调节, 或者使用具有不同指纹光谱的大的染料库。因此, 人们期望一种能够只使用少量染料颜色, 不需要严格监控反应的编码方法。

在使用编码的血影细胞和二次抗体来显示样品中抗体与所述血影的结合的多重检测形式中, 血影细胞的阵列的解码可以通过例如用流式细胞仪来实现[Wagner, F.F.和 Flegel, W.A. Principles and applications of red blood cell flow cytometry (红细胞流式细胞仪的原理和应用). Transfusion Medicine and Hemotherapy vol. 25 (1998); Roback, J.D., Barclay, S.和 Hillyer, C.D. An automatable platform for accurate Immunohematology testing by flow cytometry (用于使用流式细胞仪进行精确免疫血液学试验的自动化平台). Transfusion Vol. 43 (2003) 918; Roback, J.D., Barclay, S.和 Hillyer, C.D. Improved method for fluoresce cytometric immunohematology testing (荧光细胞免疫血液学试验的改进方法). Transfusion vol. 44 (2004) 187; Sharon, R. 和 Fibach, E. Quantitative flow cytometric Analysis of ABO Red Cell Antigens (ABO 红细胞抗原的定量流式细胞术分析). Cytometry vol. 12 (1991) 545-549; Arndt, P.A.和 Garratty, G. Flow cytofluorometric analysis in red blood cell immunology (红细胞免疫学中的流式细胞荧光检测分析). Transfusion Medicine and Hemotherapy vol. 31 (2004)]. 其它允许原位解码且伴随高通量的优势和解码方法也是人们所期望的。

发明内容

公开的是检测和表征 RBC 同种抗体的方法, 该方法的基础为: 产生荧光编码的具有已知的抗原呈递的红细胞或红细胞血影, 以及将其用于检

测血液/血清/血浆样品中抗体的存在，优选地使用荧光三明治型的免疫检测。首先产生荧光 RBC 或 RBC 血影的多种群，其中每个种群代表一个与荧光标记或编码唯一地缔合的特定的表型。在阳性反应情况下，样品中的同种抗体与编码的细胞上的同源抗原结合形成抗原抗体复合物。随后进行清洗以除去未结合的免疫球蛋白，引入与细胞上捕获的同种抗体结合的荧光二次试剂（具有与编码染料不同的光谱特征）。通过将该结合与编码荧光相关联，荧光二次试剂产生的检测信号可以与特定的细胞/血影相关联，由此鉴定在这些细胞上呈递的抗原以及同源同种抗体。编码的细胞的解码可以使用荧光显微镜和 2-D 图像分析原位完成，在其中将解码图像与分析图像进行比较和相关联（见，如美国专利申请序列号 No. 09/448,420 中被允许的）。

附图的简要说明

图 1 是红细胞分离和血影细胞制备的流程图。

图 2 是示例性试验方案的流程图，其中在结合之后，表面显示二次抗体的磁珠被用来捕获阵列中的反应性的血影来解码。

图 3 是使用血影和二次检测抗体以三明治的检测形式来检测血清中的反应性抗体的试验方案的流程图。

具体实施方式

下面的实施例概述了编码的血影细胞的制备过程以及使用编码的血影细胞进行检测的过程。所述过程允许只用一些染料来编码，不需要严密监控反应，而且得到的血影在正确的取向呈递抗原，以便当其被用在荧光型免疫检测中时检测样品中的抗体。该检测结果的原位解码的实施例也被包括。

制备编码的血影细胞过程中，优选的缓冲液条件（pH 接近中性，对于缓冲液有大约等渗的离子强度，镁离子的浓度在 0.1 到 2 mM）帮助保留细胞表面蛋白质的反应性和自然取向，并且防止这些蛋白质被反转以致于变

得难以接近。示例性的方法在下面的实施例 I 中被阐明。

实施例 1 红细胞的分离和标记的血影细胞的制备

红细胞的清洗-贮存缓冲液

氯化钠 = 4.383 g

磷酸一钠 = 0.345 g

六水氯化镁 = 0.203 g

苯甲基磺酰氯 = 0.0435 g, 溶于 500 ml 蒸馏水。

红细胞裂解缓冲液:

磷酸一钠 = 0.69 g

六水氯化镁 = 0.203 g

苯甲基磺酰氯 = 0.0435 g, 溶于 500 ml 蒸馏水。

红细胞封闭溶液:

氯化钠 = 6 g, 溶于 50 ml 蒸馏水。

试验方案:

- i) 取 1 ml 贮存缓冲液放入 2 ml 离心管中
- ii) 加入 1 滴刺手指得到的新鲜血液 (~25 ul), 温和地翻转混合
- iii) 在~600-1000 g 离心 2 分钟, 除去上清液。加入 1.5 ml 贮存缓冲液, 温和地重悬浮 RBC 小团且重复离心。丢弃上清液, 重复 2 次。
- iv) 在贮存缓冲液中配制所期望的荧光溶质 (或溶质混合物) 的浓度且将 200 ul 此溶液加入到红细胞小团。在室温下孵育 5 分钟。
- v) 向 (iv) 中的溶液中加入 1.5 ml RBC 裂解缓冲液, 通过翻转快速混合, 在室温下孵育 30s
- vi) 向 (v) 中加入 250 ul RBC 封闭溶液并且翻转混合。
- vii) 在~16,000-20,000 g 离心 3 分钟, 丢弃上清液。在 1.5 ml 贮存缓冲

液中重悬浮血影细胞小团且重复离心-再分散循环3次。

viii) 将颗粒在1 ml含有0.13 g/L叠氮钠的最终贮存缓冲液中重悬浮且在使用前一直在2-4℃储存。血影细胞可稳定的储存一个月以上。

图1(a)示出所述过程的流程图。图1(b)示出尺寸分布,图1(c)示出使用上述过程编码的血影细胞荧光图。

实施例2: 产生编码的血影细胞的库

TAMRA标记的分子量为3000的葡聚糖(标记密度为1 mol/mol)从Molecular Probes公司获得,FITC标记的分子量为4000的葡聚糖(标记密度为0.05 mol/mol-0.5 mol/mol)从Sigma-Aldrich公司获得。使用贮存缓冲液为每个葡聚糖配制浓度为10 mg/ml、2 mg/ml、0.4 mg/ml、0.08 mg/ml和0.016 mg/ml的五种不同的母液。使用实施例1中的配方来制备10个不同的编码的血影细胞的种群。这些血影细胞通过使用流式细胞计量术来表征其荧光性。分别使用TAMRA和FITC葡聚糖的1:1(v/v)的混合物来产生带有两种编码染料的编码的血影细胞。

实施例3: 产生磁响应的编码的血影细胞的库

编码的血影细胞可以通过本领域已知的磁性细胞表面标记方法得到磁性。一些公司出售用于磁性标记和分离目标细胞的试剂盒(www.miltenyibiotec.com, www.immunicon.com, www.dvnaibiotech.com)。磁性标记的全血细胞也有商品可获得(www.diagast.com)。一个特别的所期望的方法利用了抗人IgG涂覆的纳米磁珠作标记,该纳米磁珠在由样品得到的抗体的结合之后可被加入,如图2所概述的。

实施例4: 编码的血影细胞的解码方法

上面所概述的方法产生了明亮的、光稳定的、易于复合的用荧光编码的血影。因此,成功的解码策略包括能够从混合的细胞种群中鉴别出单个

细胞种群的任何平台，该平台包括如流体细胞术的已被常规地用于表征红细胞的常规连续探询(serial interrogation)技术。可选地，与2-D图像分析偶联的荧光显微镜[被称作 READ™，见美国专利号 No. 6,797,524；也可见美国专利号 No. 6,387,707 的“Array Cytometry (阵列细胞计量术)”，这两篇专利共同通过引用被并入]可以被用来解码。产生细胞的2-D阵列的各种方法已被报导，其包括允许预制的方法，例如在功能化的基质上布点[Albrecht, D.R.等, Photo-and electropatterning of hydrogel-encapsulated living cell arrays (被水凝胶包裹的活细胞阵列的光和电图案). *Lab Chip* vol. 5 (2005) 111-118; Soen, Y.等, Detection and characterization of cellular immune responses using peptide-MHC microarrays (应用肽-MHC 微阵列检测和表征细胞免疫应答). *PLOS Biology* vol. 1 (2003) 429-438; Kato, K. 等, Immobilized culture of nonadherent cells on an oleyl poly(ethylene glycol)ether-modified surface (油烯基聚乙二醇醚改性的表面上的非贴壁细胞的固定化培养). *Biotechniques* vol.35 (2003) 1014-1021]，以及在成像纤维上截留[Biran, I.和 Walt, D.R. Optical imaging fiber-based single live cell arrays: A high-density cell assay platform (基于光学成像纤维的单个活细胞阵列：高密度细胞检测平台). *Analytical Chemistry* vol. 74 (2002) 3046-3054]。另外还有动态的或实时的阵列装配方法，例如磁法细胞选择[Tibbe, A.G.J.等, Cell analysis system based on immunomagnetic cell selection and alignment followed by immunofluorescent analysis using compact disk technologies (基于免疫磁法细胞选择和比对的细胞分析及随后的应用光盘技术的免疫荧光分析). *Cytometry* vol. 43 (2001) 31-37]、微流体通道[Shelby, J.P.等, A microfluidic model for single-cell capillary obstruction by Plasmodium falciparum-infected erythrocytes(被恶性疟原虫感染的红细胞引起的单细胞毛细管梗阻的微流体模型). *Proc. Nat. Acad. Sci.* vol. 100 (2003) 14618-14622]和 AC 电泳[美国专利号 No. 6,387,707; Minerick, A.R. Manipulating and characterization of red blood cells with alternating current field in microdevices (在微装置中用交流电场操纵和表征红细胞). *Electrophoresis* vol. 24 (2003) 3703-3717]。

实施例 5: 使用全血红细胞的免疫检测

图 3 示出使用全血或 RBC 血影进行免疫检测的过程流。在本例中, 清洗过的全血 RBC (表型 Fy (a+, b-), (K-, k+)) 分别与单克隆的鼠抗 Fy^a 和单克隆的鼠抗 K (都是由 New York Blood Center (纽约血液中心) 的 Dr. Marion Reed 实验室赠送) 反应。在这两种情况下, Cy5 标记的羊抗小鼠多克隆抗体 (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) 被用作二次荧光检测抗体。如所期望的, 在抗 Fy^a 的情况下看到特定的信号, 而在抗 K 抗体的情况下则没看到特定信号 (结果没有示出)。

实施例 6: 使用编码的血影的免疫检测

免疫检测使用由清洗过的全血 RBC (表型 (M+, N-)) 制备的血影细胞和单克隆鼠抗 M 和抗 N 抗体 (US Biological, Swampscott, MA) 按如实施例 5 中所概述的方法来进行。与抗 M 反应产生预期的荧光信号, 而如预期的, 与抗 N 反应在背景上没有产生任何可检测的信号。图 7 示出使用抗 M 抗体的免疫检测完成后的 RBC 血影的图像。

实施例 7: 使用全血红细胞和同种血清 (allosera) 的免疫检测

使用已知表型的试剂 RBC (0.8%, Surgiscreen Ortho Clinical Diagnostics, Inc., NJ) 和试剂血清 (Ortho Clinical Diagnostics, Inc., NJ) 进行一系列的免疫检测。在所有情况下, PE 标记的羊抗人抗体 (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) (按 1:100 被稀释) 被用作荧光二次检测抗体。抗体阴性的 AB 血型血清被用作阴性对照。检测结果在下面表 I 中示出。荧光免疫检测的结果与已报导的表型 (抗革兰氏 antigram) 相符合。

Surgiscreen #1		
血清	检测结果 荧光强度 (a.u)	已报导的抗革兰氏 (antigram)
抗-S	1755	+

抗-s	78	0
抗-Fy ^a	1139	+
抗-Fy ^b	78	0
抗-k	1592	+
阴性血清 (-ve serum)	96	0

Surgiscreen #2		
血清	检测结果 荧光强度 (a.u)	已报导的抗革兰氏 (antigram)
抗-S	34	0
抗-s	4508	+
抗-Fy ^a	516	+
抗-Fy ^b	258	+
抗-k	1197	+
阴性血清	37	0

Surgiscreen #3		
血清	检测结果 荧光强度 (a.u)	已报导的抗革兰氏 (antigram)
抗-S	831	+
抗-s	5564	+
抗-Fy ^a	63	0
抗-Fy ^b	853	+
抗-k	985	+
阴性血清	36	0

应该了解，这里的术语、表达方式和实施例仅仅是示例性的而不限制本发明，因此本发明的范围只被后面的权利要求所限制，且包括与所要求的主题元素相等的所有内容。

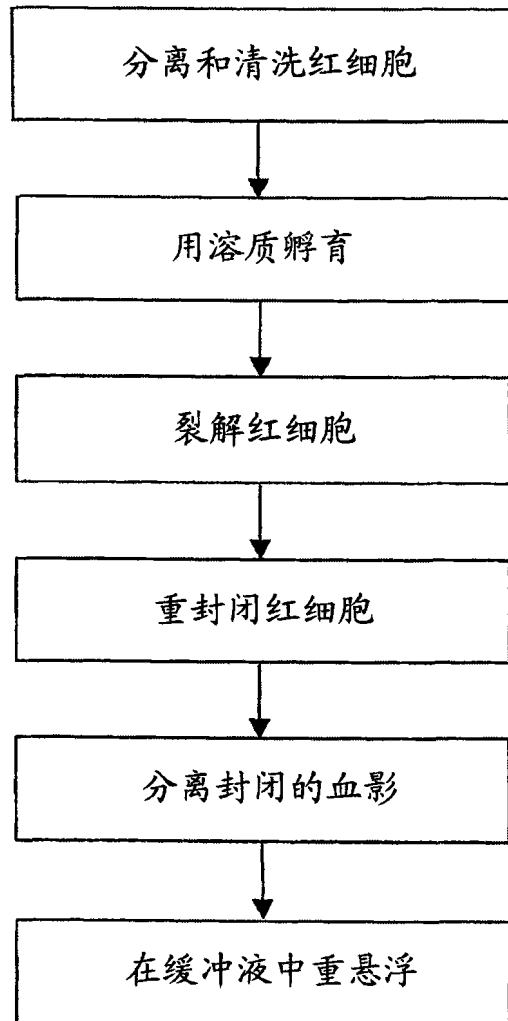


图1

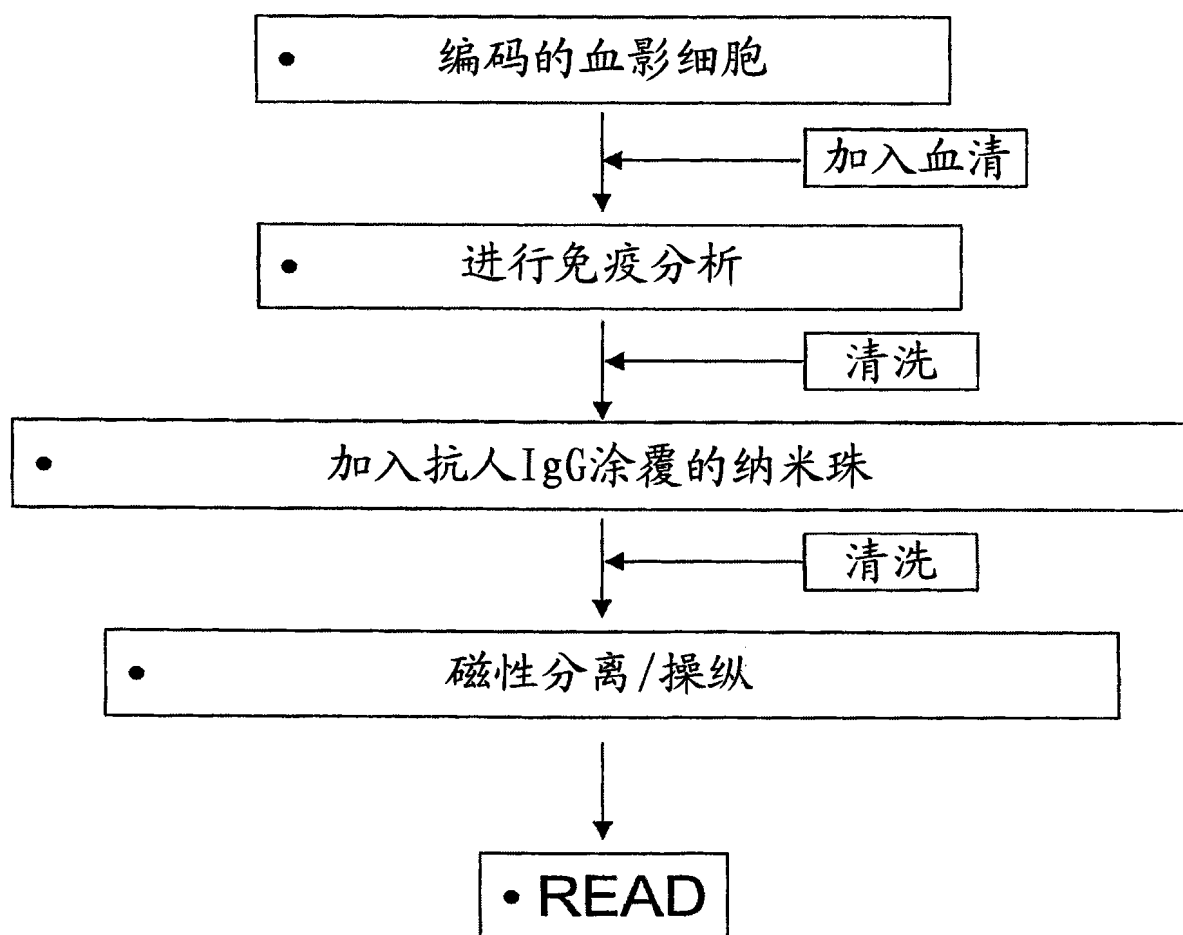


图2

第一抗体
溶液或血清

清洗的RBC
RBC血影

混合及孵育

二次
抗体
溶液

清洗

混合及孵育

清洗

分析

图3

专利名称(译)	抗红细胞同种抗体的多重检测		
公开(公告)号	CN101365946A	公开(公告)日	2009-02-11
申请号	CN200780001919.0	申请日	2007-01-04
[标]发明人	苏堪塔本纳吉		
发明人	苏堪塔·本纳吉		
IPC分类号	G01N33/53		
CPC分类号	Y10T436/13 G01N33/80 Y10T436/2525 Y10T436/106664		
代理人(译)	杨淑媛 郑霞		
优先权	11/327589 2006-01-06 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

公开了在样品中检测抗体的方法，其中抗体靶向由红细胞或红细胞血影表达的抗原。本方法不是检测特定抗原抗体对之间的结合情况(如传统的基于凝集作用的试验)，而是允许多重检测针对血型抗原的临床重要的同种免疫抗体。特别地，本方法包括产生荧光编码的具有已知的抗原呈递的红细胞或红细胞血影，以及在荧光三明治型的免疫检测中将其用于检测血清/血浆中抗体的存在。检测结果可使用基于成像技术的流式细胞或荧光显微镜来读取。

