



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103706340 B

(45) 授权公告日 2015. 12. 30

(21) 申请号 201310710675. 0

审查员 马剑峰

(22) 申请日 2013. 12. 20

(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灵路
88 号

(72) 发明人 李勇 王红梅 段生宝 田晶晶
丁少华 陈晔洲 李东

(74) 专利代理机构 苏州广正知识产权代理有限公司 32234

代理人 刘述生

(51) Int. Cl.

B01J 20/281(2006. 01)

G01N 33/80(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

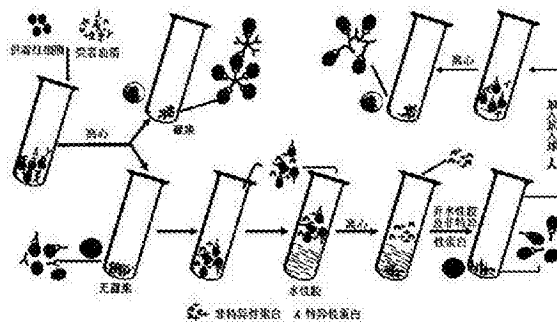
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54) 发明名称

一种水性胶层析介质及用于检测的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种水性胶层析介质,所述水性胶层析介质的组成为聚蔗糖、明胶和水,其中聚蔗糖的浓度为 5-100g/L,明胶的浓度为 1-10g/L,水性胶层析介质能分离红细胞与游离免疫球蛋白用于不完全抗体的检测以及分离颗粒性抗原抗体用于抗原抗体的检测。通过上述方式,本发明的水性胶层析介质及用于检测的方法,该方法可应用于红细胞、血小板、白细胞等血液细胞的检测中,也可用于免疫标记技术中其它颗粒性抗原与游离的可溶性蛋白的分离,如 ELISA、免疫荧光、流式细胞法等,避免了免疫学方法操作过程中繁琐的洗涤过程,极大地简化了操作步骤,提高了检测效率,能用于大量样本检测,水性胶层析介质原材料价格便宜,生产技术要求低。



1. 一种水性胶层析介质，其特征在于，所述水性胶层析介质的组成为聚蔗糖、明胶和水，其中所述聚蔗糖的浓度为 5-100g/L，所述明胶的浓度为 1-10g/L，所述水性胶层析介质将可溶性蛋白分子与沉降的细胞型抗原抗体复合物隔绝。

2. 根据权利要求 1 所述的水性胶层析介质用于不完全抗体检测的方法，其特征在于，包括步骤为：将待检血液细胞或待检血液细胞和血清的混合液加入到水性胶层析介质上，第一次离心分层，弃去包括水性胶层析介质的上层，再加入抗人球蛋白试剂，第二次离心后判读凝集结果。

3. 根据权利要求 1 所述的水性胶层析介质用于不完全抗体检测的方法，其特征在于，包括步骤为：将抗人球蛋白试剂包被在试管底部或 96 孔酶标板底部，在管中或者孔中加入水性胶层析介质，将待检血液细胞或待检血液细胞和血清的混合液加入到水性胶层析介质上，第一次离心分层，弃去包括水性胶层析介质的上层，第二次离心后判读凝集结果。

4. 根据权利要求 2 或 3 任一所述的水性胶层析介质用于不完全抗体检测的方法，其特征在于，所述第一次离心的转速为 300-800g，时间为 3-5 分钟，第二次离心的转速为 100-300g，时间为 1-3 分钟。

5. 根据权利要求 1 所述的水性胶层析介质用于分离颗粒性抗原检测抗体的方法，其特征在于，包括步骤为：将颗粒性抗原与血样混合反应后，转移到水性胶层析介质上，通过低速离心分层，弃去包括水性胶层析介质的上层，加入标记二抗，再次通过低速离心将水性胶层析介质层分离，检测结果。

6. 根据权利要求 5 所述的水性胶层析介质用于分离颗粒性抗原检测抗体的方法，其特征在于，所述颗粒性抗原为细菌、病毒或人工颗粒性抗原。

7. 根据权利要求 5 所述的水性胶层析介质用于分离颗粒性抗原检测抗体的方法，其特征在于，所述低速离心的转速为 300-1000g，时间为 3-5 分钟。

一种水性胶层析介质及用于检测的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及医学检测领域,特别是涉及一种水性胶层析介质及用于检测的方法。

背景技术

[0002] 不完全抗体(主要为 IgG 类抗体)与红细胞相应抗原结合后(致敏红细胞)在盐水介质中不出现肉眼可见的凝集反应,但在加入抗 -IgG 的抗体(二抗)后,该二抗与致敏红细胞上不完全抗体的 Fc 段结合,得以搭桥,出现凝集反应,该试验称为抗人球蛋白试验(anti-human globulin test or Coombs test),在临床常规的抗体筛检、鉴定以及交叉配血中,要求对具有输血史、妊娠史及输用过血液制品的受血者和供血者都应进行不完全抗体检测。临床上保障安全输血,诊断新生儿溶血病、自身免疫性溶血病、药物免疫溶血性疾病等以及血型学研究工作中,对不完全抗体的检测是最重要内容之一。对此,传统的试管抗人球蛋白试验 1945 年发明,沿用至今只能应用于少量标本的确证实验,由于其繁琐的操作使其始终未成为临床常规检测手段;目前应用最多的微柱凝胶抗人球蛋白实验,这不需要洗涤过程,但存在着试剂价格高,血液标本中纤维蛋白原容易产生假阳性的缺点;此外,各种“增强实验”,包括蛋白酶、白蛋白、聚凝胺等,都因为各自缺点也没能成为检测血型不完全抗体的可靠方法。

[0003] 1945 年科学家 Coombs RRA 等根据一些病人的病症,确信他们的血液中应该有抗患者红细胞的凝集素,但将这些血清与红细胞混合后并未出现凝集反应,而当加入人血清抗体(抗人球)后,以其搭桥则出现凝集反应,最初此方法只用于检测血清中不完全抗体,经过发展同样用于检测病人体内已经结合了抗体和 / 或补体的红细胞,即经典的 Coombs test,前者为间接抗人球蛋白实验,后者为直接抗人球蛋白实验,经典的 Coombs test 理应是现在和将来对不完全抗体检测的确定性、标准性试验,发明之初也被希望能应用于临床常规不完全抗体检测以及出红细胞以外的其他小分子抗原抗体检测,但由于抗人球与血清中致敏红细胞的抗体及血清中游离的免疫球蛋白都能结合,因此在常规的试管 Coombs test 时首先要洗涤去除未与红细胞结合的游离免疫球蛋白,再加入抗人球,这样避免抗人球被反应液中非特异性的免疫球蛋白中和而出现的假阴性反应,这需要生理盐水离心洗涤至少三次以上,使反应液中非特异性的免疫球蛋白残余要少于原量的 1/5000,由此导致其操作繁琐费时,且一些弱反应抗体不能检出等缺点,不能满足临床进行血型相容性试验时间性要求,故此方法始终未能成为临床常规检测项目。为解决这一难题人们发展出了一些增强介质如聚凝胺(polybrene)、聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)、低离子强度溶液(low ionic strength saline, LISS)以及酶液等,利用这些介质的技术都可以减少或避免洗涤程序、减少孵育时间并增强抗原抗体反应,但同样存在一些缺点:如聚凝胺法易引起假阴性,操作过程不易规范化;以 PEG 为介质的试验中,抗人球蛋白试剂中的抗补体成分会导致假阳性反应;有些抗体(抗 -K)在低离子溶液中与红细胞结合量要比在正常盐水中要少的多,所以在低离子溶液中进行试验时会导致该抗体的漏检;酶处理红细胞,因为对某些血型抗原的破坏而出现假阴性反应,也可能因为蛋白酶对红细胞膜多肽分子的消化,使其

暴露出隐蔽抗原,进而与抗人球蛋白试剂中异种抗体,或血清反应液中的多凝集抗体作用出现假阳性反应。

[0004] 90年代发展起来的微柱凝胶试验(microcolumn gel-coombs test)和固相红细胞吸附试验(solid-phase red cell adherence test, SPRCA),同样都用于不完全抗体检测。其中微柱凝胶技术,正在取代应用多年的血凝试验,应用在红细胞血型血清学临床常规检验工作中,其生命力在于克服了传统试管法的繁琐洗涤程序,使对不完全抗体的检测和确定试验同时进行,也省去了确认阴性结果是否正确的步骤,该试验具有敏感性高、结果更易判断又能较长时间保存、样本用量少、能同时检测多份标本等优点,但此方法的缺点是,由于样本采集的不规范,特别是其中未完全去除纤维蛋白原的血清标本,会在凝胶中形成纤维蛋白从而阻碍红细胞沉降而浮于胶中或胶表面形成假阳性。陈旧的红细胞标本中的细胞碎片也会浮于胶中或胶面上呈假阳性。同时凝胶颗粒的活动性易受温度影响,温度低时,凝胶颗粒的活动性减少,红细胞较难穿过凝胶,也易出现假阳性结果,此外凝胶卡中的原材料凝胶颗粒多为进口,受国外市场的垄断,近年来价格越来越高,间接导致临床检测成本的提高,上述诸多不利因素限制了微柱凝胶试验在临床的进一步广泛应用。SPRCA是在96孔反应板的底部包被抗原,反应液中血清抗体与之反应,应用抗人球蛋白包被的红细胞作为指示细胞,显示反应结果,指示细胞效期短有成为影响本方法临床广泛应用的关键因素。微柱凝胶抗人球蛋白试验和固相红细胞吸附实验能够成为临床常规应用的实验技术,但是仍不可能完全取代试管法Coombs test。目前,尚无任何一种方法能100%地测出所有血型抗体,有些抗体较为复杂,如唯酶抗体等,所以在遇到复杂标本时应用多种方法协同处理,以提高不完全抗体的检出率,确保临床输血安全。

[0005] 在抗体检测技术发展过程中,从凝集试验到今天的各种免疫标记技术,如检测颗粒性抗原的ELISA、免疫荧光、流式细胞法等,始终没有脱离洗涤过程,反应过程中涉及2-3次反应程序,每个反应程序都要进行3次以上的洗涤过程,操作繁琐费时,临床应用时受到一定限制。

发明内容

[0006] 本发明主要解决的技术问题是提供一种水性胶层析介质及用于检测的方法,该方法可以将反应液中包括非特异性免疫球蛋白等可溶性蛋白分子与沉降到试管底部的细胞型抗原抗体复合物隔绝,从而能够取代传统的需要多次洗涤细胞型抗原抗体复合物,去除反应液中可溶性蛋白分子的繁琐实验程序,操作简单,结果准确。

[0007] 为解决上述技术问题,本发明采用的一个技术方案是:提供一种水性胶层析介质,所述水性胶层析介质的组成为聚蔗糖、明胶和水,其中所述聚蔗糖的浓度为5-100g/L,所述明胶的浓度为1-10g/L。

[0008] 提供一种水性胶层析介质用于不完全抗体检测的方法,包括步骤为:将待检血液细胞或待检血液细胞和血清的混合液加入到水性胶层析介质上,第一次离心分层,弃去包括水性胶层析介质的上层,再加入抗人球蛋白试剂,第二次离心后判读凝集结果。

[0009] 提供一种水性胶层析介质用于不完全抗体检测的方法,包括步骤为:将抗人球蛋白试剂包被在试管底部或96空酶标板底部,在管中或者孔中加入水性胶层析介质,将待检血液细胞或待检血液细胞和血清的混合液加入到水性胶层析介质上,第一次离心分层,弃

去包括水性胶层析介质的上层,第二次离心后判读凝集结果。

[0010] 在本发明一个较佳实施例中,所述第一次离心的转速为 300-800g,时间为 3-5 分钟,第二次离心的转速为 100-300g,时间为 1-3 分钟。

[0011] 提供一种水性胶层析介质用于分离颗粒性抗原检测抗体的方法,包括步骤为:将颗粒性抗原与血样混合反应后,转移到水性胶层析介质上,通过低速离心分层,弃去包括水性胶层析介质的上层,加入标记二抗,再次通过低速离心将水性胶层析介质层分离,检测结果。

[0012] 在本发明一个较佳实施例中,所述颗粒性抗原为细菌、病毒或人工颗粒性抗原。

[0013] 在本发明一个较佳实施例中,所述低速离心的转速为 300-1000g,时间为 3-5 分钟。

[0014] 本发明的有益效果是:本发明的水性胶层析分离血液细胞及其他颗粒性抗原的检测方法,该方法可应用于红细胞、血小板、白细胞等血液细胞的检测中,也可用于免疫标记技术中其它颗粒性抗原与游离的可溶性蛋白的分离,如 ELISA、免疫荧光、流式细胞法等,避免了免疫学方法操作过程中繁琐的洗涤过程,极大地简化了操作步骤,提高了检测效率,能用于大量样本检测,水性胶层析介质原材料价格便宜,生产技术要求低。

附图说明

[0015] 为了更清楚地说明本发明实施例中的技术方案,下面将对实施例描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其它的附图,其中:

[0016] 图 1 是本发明的水性胶层析介质用于不完全抗体检测的方法一较佳实施例的结构示意图。

具体实施方式

[0017] 下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅是本发明的一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其它实施例,都属于本发明保护的范围。

[0018] 所用的试剂与仪器:抗-D、抗-A、抗-B,羊抗人 IgG、BSA、AP-AHG、PNPP, MGIA 抗人球蛋白卡, 2M NaOH、生理盐水、水性胶层析介质,离心机,酶标仪,其中所述水性胶层析介质是将 5g 聚蔗糖和 0.1g 明胶溶于 100mL 的水中得到。

[0019] 血样:A、B、O、AB 全血各 3 人份, O 型 RhD(+) 和 RhD(-) 红细胞各 1 份。

[0020] 实施例一:

[0021] 请参阅图 1,提供一种红细胞-水性胶层析抗人球蛋白检测不完全抗体的方法,包括步骤为:(1)红细胞致敏:将全血 O 型 RhD(+) 和 RhD(-) 红细胞用生理盐水稀释至体积百分比为 5%,取用人血清稀释的效价为 64 的抗-D,两者等体积混合,37℃下孵育 30min;

[0022] (2)在 2 个试管中分别加 1mL 水性胶体,再分别加入 100μL RhD(+) 和 100μL RhD(-) 红细胞,转速为 3000rpm 下离心 1min,弃去水性胶体,再加 100μL AHG,转速为 1000rpm 下离

心 1min, 观察凝集结果。在阴性结果试管中加入 1 滴致敏红细胞, 1000rpm 离心 1min, 由此验证 AHG 的有效性。

[0023] 同时用试管抗人球蛋白试验做平行对照试验, 并比较两种方法检测结果的一致性。

[0024] 红细胞 - 水性胶层析抗人球蛋白试验和试管抗人球蛋白试验的检测结果一致, RhD(+) 红细胞出现凝集, RhD(-) 红细胞没有凝集现象出现, 且两种试验方法凝集效果相当, 说明本检测方法是成立的, 通过水性胶的分离, 绝大部分非特异性蛋白被去除。

[0025] 实施例二:

[0026] 提供一种红细胞 - 水性胶层析直接抗人球蛋白试验:

[0027] 将体积比为 5% 的 O 型红细胞与用人血清稀释的效价为 64 的抗 -D 等体积混合, 37℃ 下孵育 30min。在 1 个试管中加 1mL 水性胶体, 再滴加 100μL 实施例一得到的致敏红细胞, 转速为 3000rpm 下离心 1min, 弃去水性胶体, 再滴加 100μL AHG 后混匀, 转速为 1000rpm 下离心 1min, 观察凝集现象。

[0028] 提供一种红细胞 - 水性胶层析间接抗人球蛋白试验:

[0029] 在 1 个试管中加 1mL 水性胶体, 体积比为 5% 的 O 型红细胞与用人血清稀释的效价 64 的抗 -D 等体积混合, 取 100μL 混合液置于水性胶体上层, 37℃ 下孵育 30min 后转速为 3000rpm 离心 1min, 弃去水性胶体, 滴加 100μL AHG 后混匀, 转速为 1000rpm 离心 1min, 观察凝集现象。

[0030] IAT 和 DAT 对应的试管都出现了凝集, 对照没有凝集, 说明血浆中的非特异性蛋白被分离并去除干净, 即使残留也不足以中和 AHG。

[0031] 实施例三:

[0032] 提供一种抗人球蛋白法、MGIA 法和红细胞 - 水性胶层析抗人球蛋白法检测不完全抗体敏感性比较:

[0033] 红细胞致敏: 用质量体积百分比 1%(w/v) BSA 盐水溶液将抗 -D 倍比稀释至 1:512, O 型红细胞用生理盐水洗涤 4 次后稀释至体积比为 6%, 两者等体积混合, 37℃ 下孵育 30min, 中间混匀两次。

[0034] 试管抗人球蛋白法: 将所有致敏的红细胞用生理盐水洗涤 4 次, 配成体积比为 3% 备用, 标记好试管, 每管滴加 50μL 红细胞, 再分别滴加 100μL 效价 64 的 AHG, 转速为 1000rpm 下离心 1min, 观察不同稀释度的凝集强度。

[0035] MGIA 法: 取商品化的 MGIA 抗人球蛋白卡, 做好标记, 每管滴加 50μL 体积比为 3% 的致敏未洗红细胞, 转速为 900rpm 离心 2min, 转速为 1500rpm 离心 5min, 观察不同抗 -D 稀释度的凝集强度。

[0036] 红细胞 - 水性胶层析抗人球蛋白法: 标记好试管, 每管加 1mL 水性胶体, 静置备用, 每管滴加 50μL 体积比为 3% 的致敏未洗红细胞, 转速为 3000rpm 离心 1min, 弃去水性胶体, 再分别滴加 100μL 效价 64 的 AHG, 转速为 1000rpm 离心 1min, 观察不同抗 -D 稀释度的凝集强度。

[0037] 比较结果: 抗人球蛋白法与红细胞 - 水性胶层析抗人球蛋白法敏感性一致, 低于 MGIA 法, 操作流程要比抗人球蛋白法简单很多。下表为三种方法检测不完全抗体的敏感性的测评:

[0038]

抗-D 方法	1x	2x	4x	8x	16x	32x	64x	128x	256x	512x	总得分
试管法	4+	3+	3+	3+	3+w	2+w	±	-	-	-	68
	12	10	10	10	9	7	2	0	0	0	
RBC-Coombs Ⅰ	4+	4+w	3+	3+	3+w	2+w	±	±	-	-	62
	12	11	10	10	9	7	2	1	0	0	
AGIA	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	3+	3+	2+	109
	12	12	12	11	11	11	11	11	10	8	

[0039] 实施例四：

[0040] 水性胶体分离高效价抗 -A、抗 -B 后凝集试验：

[0041] 标记好试管，每管加 1mL 水性胶体，静置备用。将 A 型，B 型，O 型，AB 型全血用生理盐水稀释至体积比为 5% 备用。每管动作轻柔的分别滴加 50 μ L 抗 -A，抗 -B，转速为 3000rpm 离心 1min，弃去水性胶体，滴加 100 μ L AHG 后混匀，转速为 1000rpm 离心 1min，观察凝集现象。

[0042] 实验结果：通过凝集试验测定抗 -A、抗 -B 的效价都在 128 以上，离心后抗 -A、抗 -B 仍然在水性胶体表面，去除水性胶体后加入对应红细胞，离心后观察没有凝集发生，说明抗 -A、抗 -B 没有或者极少残留在管中。

[0043] 实施例五：

[0044] 洗涤和水性胶体分离后残留总蛋白含量比较：

[0045] O 型红细胞用生理盐水洗涤 4 次后稀释至体积比为 6%，取用质量体积百分比 1%(w/v) BSA 稀释的效价为 64 的抗 -D，两者等体积混合，37 $^{\circ}$ C 下孵育 30min，中间混匀两次。

[0046] 抗人球蛋白法中 BSA 和抗 -D 残余量检测：取 1mL 致敏红细胞，转速为 1500rpm 离心 5min，取上清测定蛋白含量，弃上清后再用生理盐水重悬至 1mL，测定重悬液中的蛋白含量，比较洗涤前后蛋白含量的区别，重复测定 3 次。按此方法推算，洗涤至少 4 次才能将抗 -D 浓度降低至 10 μ g /ml。

[0047] 红细胞 - 水性胶层析抗人球蛋白法 BSA 和抗 -D 残余量检测：取 200 μ L 致敏红细胞于 1mL 水性胶体介质孔中，转速为 3000rpm 离心 1min，弃去水性胶体，用生理盐水重悬孔中红细胞至 200 μ L，转速为 1500rpm 离心 5min，测定重悬液中的蛋白含量，比较水性胶介质分离前后蛋白含量的区别。只需分离 1 次即可将抗 -D 浓度降低至 10 μ g /ml。

[0048] 当使用含有 10 μ g/ml 抗人 IgG 的 AHG 试剂，其与 IgG 致敏的细胞之间的结合效率只有在悬液介质中的 IgG 的浓度达到 10 μ g/ml 时才会被削弱。通常正常血清中的 IgG 浓度为 10mg/ml，所以在洗涤 IgG 致敏的红细胞时，血清至少要稀释 1000 倍以避免假阴性，稀释 5000 倍是较为可靠的安全系数，所以在试管法中至少要洗涤 3 次以上才能避免假阴性。在本实验中用水性胶体分离 1 次的效果就能够达到试管法洗涤 3 次的效果，蛋白残余量低于 10 μ g /ml，完全能满足实验需求。下表为洗涤或介质分离后残留总蛋白含量：

[0049]

蛋白含量 (mg/ml)	抗人球蛋白法	RHC-Coombs 法
洗涤 (分离) 前致敏上清	3.173	3.173
第一洗涤或分离后重悬液上清	0.270	0.004
第二次洗涤	0.021	
第三次洗涤	0.003	

[0050] 实施例六：

[0051] 水性胶体分离 AP-AHG 后 OD 值检测：

[0052] 标记好试管，每管加 1mL 水性胶体，静置备用，碱性磷酸酶标记的抗人 IgG，分别作 200X、400X、800X、1600X、3200X 稀释，用盐水做空白对照，分别取 100μL 稀释好的酶于水性胶层析介质孔中，37℃ 水浴 30min，转速为 3000rpm 离心 1min，弃去水性胶体，同时标记另一批试管，直接加入 100μL 稀释好的酶标抗体，37℃ 水浴 30min，弃去酶标抗体，用洗液洗涤 3 次，每管均加入 100μL 底物 (PNPP)，室温避光显色 10min 后终止反应，测各孔 405nmOD 值，比较显色值区别。

[0053] 通过高敏感性的酶检测发现，随和酶稀释度的增加，通过水性胶分离后或者洗涤后酶标抗体的残余量越来越少，经过水性胶体一次性分离后残余量要少于洗涤 3 次的结果。根据此实验结果，可以通过合适的稀释倍数，经水性胶分离后蛋白残余量完全能满足敏感性检测的要求。下表为水性胶体分离 AP-AHG 后的 OD 值：

[0054]

酶稀释度	200	400	800	1600	3200	空白
水性胶分离	0.766	0.412	0.297	0.177	0.175	0.118
洗涤 3 次后	2.338	2.515	2.311	1.813	1.235	0.108

[0055] 本发明建立了一类新的抗人球蛋白实验技术 -HC-Coombs，利用水性胶的特点，即在离心力作用后，水性胶可以将反应液中包括非特异性免疫球蛋白等可溶性蛋白分子与沉降到试管底部的细胞型抗原抗体复合物隔绝，从而能够取代传统的需要多次洗涤细胞型抗原抗体复合物，去除反应液中可溶性蛋白分子的繁琐实验程序。利用建立的检测方法进行的直接和间接抗人球蛋白模型试验，其中阳性样本都出现凝集，而阴性均没凝集出现；本方法检测不同稀释度的抗 -D 致敏红细胞的敏感性与试管法 Coombs T 一致，低于微柱凝胶法；分离一定体积的高效价抗 -A，抗 -B 后再加入对应的红细胞，不出现凝集现象，说明没有或者很少残余的高效价抗 -A，抗 -B；此外，通过水性胶介质离心分离后游离非特异性蛋白的残余量只有 4μg/ml，低于试管洗涤 3 次后的蛋白残余量，也低于文献建议的 10μg/ml，在敏感的酶标抗体试验中分离 3200 倍稀释的 AP-AHG 的 OD 值只有 0.175 低于洗涤三次后的残余蛋白的 1.235，表明反应上清蛋白体积低于一定量时，分离后残余蛋白量完全满足实验要求。

[0056] 本试验过程中致敏红细胞与游离免疫球蛋白混合液加到水性胶体上孵育后，由于使红细胞沉降需要的离心力一般小于 100g，而抗体等蛋白质复合物沉降分离需要至少 3000g 的离心力，所以通过低速离心后，红细胞沉降到试管底部，而游离蛋白仍留在水性胶上层，弃去水性胶后即可达到将两者分离的目的，从而代替经典 Coombs test 中多次洗涤过程，省却了传统试管法孵育后需多次洗涤红细胞的繁琐程序，减少了传统试管抗人球蛋白试验可能因为洗涤红细胞不干净而产生的假阴性问题，同时避免了微柱凝胶法中纤维蛋白

原以及陈旧样本容易出现的假阳性,具备操作简单快速、准确性高、特异性好等优点。此外水性胶介质的性质受到温度变化影响较小,同时适用于大量标本的高通量检测,此外水性胶层析介质原材料价格便宜。

[0057] 此外本发明也可应用于血小板、白细胞等其它血液细胞的分离上。在抗体检测技术发展过程中,从凝集试验到今天的各种免疫标记技术,始终没有脱离洗涤过程。在本项研究中高敏感性的酶检测试验结果表明,合适的稀释倍数,经水性胶分离后蛋白残余量完全能满足大多数免疫学检测技术的敏感性要求,水性胶层析介质具有的完全分离颗粒性抗原与其他游离的可溶性蛋白的特点,使其可用于免疫标记技术检测其它颗粒性抗原的抗体,如 ELISA、免疫荧光、流式细胞法等,有效避免了以上免疫学方法操作过程中繁琐的洗涤过程,极大地简化了操作步骤,节约了时间。

[0058] 以上所述仅为本发明的实施例,并非因此限制本发明的专利范围,凡是利用本发明说明书内容所作的等效结构或等效流程变换,或直接或间接运用在其它相关的技术领域,均同理包括在本发明的专利保护范围内。

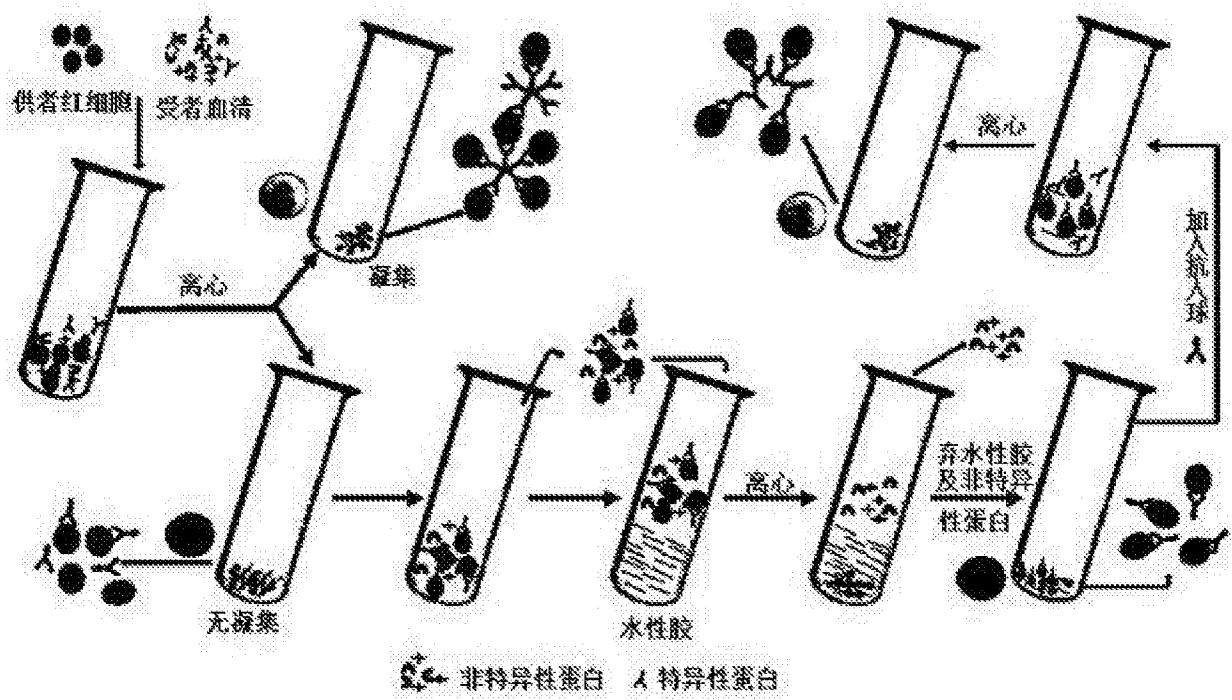


图 1

专利名称(译)	一种水性胶层析介质及用于检测的方法		
公开(公告)号	CN103706340B	公开(公告)日	2015-12-30
申请号	CN201310710675.0	申请日	2013-12-20
[标]申请(专利权)人(译)	中国科学院苏州生物医学工程技术研究所		
申请(专利权)人(译)	中国科学院苏州生物医学工程技术研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国科学院苏州生物医学工程技术研究所		
[标]发明人	李勇 王红梅 段生宝 田晶晶 丁少华 陈晔洲 李东		
发明人	李勇 王红梅 段生宝 田晶晶 丁少华 陈晔洲 李东		
IPC分类号	B01J20/281 G01N33/80 G01N33/531		
审查员(译)	马剑峰		
其他公开文献	CN103706340A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种水性胶层析介质，所述水性胶层析介质的组成为聚蔗糖、明胶和水，其中聚蔗糖的浓度为5-100g/L，明胶的浓度为1-10g/L，水性胶层析介质能分离红细胞与游离免疫球蛋白用于不完全抗体的检测以及分离颗粒性抗原抗体用于抗原抗体的检测。通过上述方式，本发明的水性胶层析介质及用于检测的方法，该方法可应用于红细胞、血小板、白细胞等血液细胞的检测中，也可用于免疫标记技术中其它颗粒性抗原与游离的可溶性蛋白的分离，如ELISA、免疫荧光、流式细胞法等，避免了免疫学方法操作过程中繁琐的洗涤过程，极大地简化了操作步骤，提高了检测效率，能用于大量样本检测，水性胶层析介质原材料价格便宜，生产技术要求低。

