خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۲۰ شماره ۱ بهار ۱۴۰۲ (۳۳-۲۸)

مقاله پژوهشی

شرایط محلول‌سازی گلبول قرمز متراکم جهت دستیابی به آنتی‌ژن Duffy a در آزمایشگاه

کوثر عابدینی[۱]، فاطمه یاری[۲]، سعیده میلانی[۳]

چکیده

سابقه و هدف

یکی از آنتی‌ژن‌های فرعی گروه خونی، **Duffy** می‌باشد که شامل زیرگروه‌های مختلف است. سیستم گروه خونی **Duffy** ، از نظر انتقال خون، از اهمیت بالینی برخوردار است، لذا شناسایی دقیق این آنتی‌ژن اهمیت به سزایی دارد. دراین مطالعه، فرآیند محلول‌سازی غشای گلبول قرمز و خالص‌سازی آنتی‌ژن بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، کیسه گلبول قرمز متراکم با ویژگی O^- و Fy^{a+} از پایگاه انتقال خون استان تهران، تهیه شده و با به کارگیری دترژانت **Nonidet P-40**، اقدام به محلول‌سازی غشای آن‌ها شد. در مرحله بعد، آنتی‌ژن Fy^a با استفاده از روش کروماتوگرافی تمایلی و به کارگیری آنتی‌بادی اختصاصی این آنتی‌ژن خالص‌سازی شد. ویژگی پروتئین خالص شده با روش **ELISA** بررسی شد.

یافته‌ها

ویژگی Fy^{a+} در گلبول‌های قرمز کیسه **RBC** با روش آگلوتیناسیون تایید شد. به علاوه، ویژگی آنتی‌ژن تخلیص شده از کیسه یاد شده، با روش **ELISA** تایید شد. جذب نوری **OD 450 nm** آنتی‌ژن تخلیص شده در روش **ELISA** با آنتی‌بادی‌های Fy^a و Fy^b، به ترتیب ۰/۱۳۷ ± ۱/۰۵۶ و ۰/۰۱۶ ± ۰/۱۹۷ (n= ۲) بود.

نتیجه گیری

جهت دستیابی به آنتی‌ژن Fy^a، محلول‌سازی غشای گلبول قرمز با استفاده از دترژانت غیر یونی **Nonidet P-40**، قابل انجام بوده و می‌توان در مطالعه‌های بعدی از آنتی‌ژن به دست آمده، در زمینه‌های مختلف از جمله ایمنی‌زایی و تولید آنتی‌بادی بهره برد.

کلمات کلیدی: کروماتوگرافی تمایلی، گلبول قرمز، سیستم گروه خونی دافی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۷

۱- کارشناس ارشد هماتولوژی ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۲- نویسنده مسئول: PhD ایمونولوژی ـ استاد مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۴۶۶۵-۱۱۵۷
۳- PhD زیست فناوری پزشکی ـ استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-11]

مقدمه

یکی از آنتی‌ژن‌های مهم از نظر بالینی پس از ABO و Rh، آنتی‌ژن Duffy می‌باشد. این آنتی‌ژن در سال ۱۹۵۰ شناسایی شد. آنتی‌ژن Duffy دارای زیر گروه‌های مختلف است که هر کدام به نوبه خود دارای اهمیت بالینی می‌باشند(۱). گزارش‌های متعددی مبنی بر ایجاد آنمی همولیتیک نوزادان(HDN) و ایجاد ناسازگاری حین انتقال خون به واسطه آنتی‌ژن Duffy در مقالات مختلف ذکر شده است و شناسایی آنتی‌بادی علیه این آنتی‌ژن اهمیت به سزایی در طی چرخه انتقال خون دارد(۲).

خالص‌سازی آنتی‌ژن از غشای گلبول‌های قرمز نیاز به محلول‌سازی دارد و برای این منظور می‌توان از مواد دترژانت کمک گرفت. حل شدن غشاهای بیولوژیکی توسط مواد دترژانت سال‌ها است که مورد بررسی قرار گرفته است. دترژانت‌ها ترکیباتی هستند که پروتئین‌ها و لیپیدهای غشایی را حل می‌کنند و منجر به تخریب غشای سلولی در غلظت‌های مناسب می‌شوند. با توجه به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن‌ها مانند بار و غلظت بحرانی میسل(CMC : Critical micelle Concentration) برهمکنش‌های متفاوتی رخ می‌دهد و پروتئین‌های غشایی دناتوره می شوند. در دهه‌های گذشته، دترژانت‌های جدیدی برای بهبود حلالیت پروتئین‌های غشایی طراحی شده‌اند. دترژانت‌های آمیدوسولفوبتائین zwitteronic ASB-14 و ASB-16 (آلکیل آمیدو پروپیل دی‌متیل آمینو پروپانوسولفونات‌های خطی) با ۱۴ و ۱۶ اتم کربن در زنجیره آسیل از آن جمله می‌باشند.

مواد دترژانتی شامل تریتون X100 یا NP-40 (غیر یونی) و CHAPS (زوئیتریونیک) در زمان‌های متمادی برای الکتروفورز دو بعدی استفاده شده‌اند (۳). از پرکاربردترین مواد دترژانت برای حل کردن غشاء سلولی، انواع غیر یونی آن شامل Triton X-100 و NP-40 می‌باشند. NP-40 به عنوان یک جزء در بافر لیز سلولی برای استخراج پروتئین‌های غشاء سلولی به همراه مهارکننده‌های پروتئازی استفاده می‌شود(۴). لیز سلول‌های منفرد برای تجزیه و تحلیل را می‌توان با ابزارهای نوری، صوتی، مکانیکی، الکتریکی یا شیمیایی انجام داد که هر کدام نقاط قوت و ضعف مربوط به خود را دارند. انتخاب مناسب‌ترین روش لیز به ویژگی‌های مورد انتظار از پروتئین هدف و زمان لازم جهت دستیابی به آن بستگی دارد(۵). در این مطالعه، فرآیند محلول‌سازی غشای گلبول قرمز به کمک دترژانت، صورت گرفت. سپس، آنتی‌ژن Fy^a خالص‌سازی شده و بررسی ویژگی آن به وسیله روش ELISA انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، تهیه و حمل خون مطابق با دستورالعمل‌های سازمان بوده و در این رابطه، رضایت‌نامه اهداکنندگان مبنی بر مجوز استفاده پژوهشی توسط سازمان اخذ گردید. روش نمونه‌گیری بر مبنای انتخاب فرآورده گلبول قرمزکه بیان‌کننده آنتی‌ژن Fy^a و فاقد Fy^b بود، به صورت دسترسی آسان انجام شد.

آزمایش آگلوتیناسیون جهت بررسی ویژگی Fy^a در کیسه گلبول قرمز متراکم:

پس از تهیه کیسه خون، سوسپانسیون ۵-۲ درصد از گلبول‌های قرمز کیسه واجد Fy ، تهیه و پس از ۳ بار شست و شو، ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی Fy^a و در لوله مجزا، ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی Fy^b (هر دو از شرکت آلمانی، ایمونودیاگنوستیکا)، به ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی کیسه گلبول قرمز متراکم اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ۳ بار شست و شو، آنتی‌هیومن گلوبولین ریخته و پس از سانتریفوژ، با ذره‌بین ۱۰X مشاهده شد.

محلول‌سازی غشای RBC :

کیسه گلبول قرمز متراکم با گروه خونی O^-، Fy^{a+}، Fy^{b-} تهیه و پس از تایید ویژگی آن، به منظور محلول‌سازی از بافر حاوی EDTA و دترژانتNP-40 با فرمول:

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-11]

25 mM Tris-HCL, 150 mM NaCL, 10 mM EDTA, 1.0% NP-40, pH 7.5 and 2 mM phenylmethylsulfonyl fluoride

استفاده شد، به این ترتیب که ۱۴۰ mL از این بافر درون بشر ریخته شده و با گلبول قرمز متراکم به حجم ۲۵۰ mL رسانیده شد(۶). برای حذف پروتئازها، سریعاً مهارکننده پروتئازی PMSF به آن اضافه شد. سپس ۲ ساعت با مگنت چرخید تا کاملاً لیز غشای RBC انجام شود. خون لیز شده را به درون لوله فالکون منتقل کرده، لوله‌ها با دور g ۱۳۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس محتوی رویی لوله‌ها به کیسه‌های دیالیز با Cut off ۵۰۰۰ D منتقل شد. سر و ته کیسه‌های دیالیز بسته شده و درون بشر حاوی PBS قرار داده شده و با مگنت ۲ ساعت چرخید، سپس دو بار دیگر دیالیز در PBS تازه ادامه یافت.

ساخت ستون Fy^a:

برای تهیه بافر کربنات بی‌کربنات به عنوان بافر کنژوگه، ۴ میلی‌لیتر از محلول Na_2CO_3 ، ۰/۲ مولار با mL ۴۶ از محلول $NaHCO_3$ ، ۰/۲ مولار مخلوط و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانیده شد. ۵۰۰ میلی‌گرم از پودر ژل سفاروز فعال شده با سیانوژن بروماید(سیگما، آمریکا) با بافر کنژوگه، متورم شده و حدود ۳ ساعت روی روتاتور قرار داده شد. سیانوژن موجود در ژل نیاز به جفت الکترون آزاد دارد. لذا گروه آمین آنتی‌بادی به آن متصل می‌شود. پس از خارج کردن محلول رویی ژل، ۶۰ میکروگرم آنتی‌بادی اضافه و ۲ ساعت روی روتاتور قرار داده شد.

قبل از انتقال ژل به ستون، ابتدا یک دور آن را سانتریفوژ کرده و محلول رویی حاوی آنتی‌بادی اضافی، جدا شد. جذب نوری محلول رویی خوانش شد. سپس روی ژل، بافر فسفات(PBS) اضافه و به آرامی به ستون منتقل شد. در ادامه، روی ستون PBS اضافه شد تا OD ۲۸۰ nm خروجی برابر صفر شود. سپس گلایسین ۰/۲ مولار از ستون عبور داده شد تا اتصالات سست گسسته شود. در ادامه جهت جلوگیری از اتصال پروتئین‌های غیر اختصاصی، ظرفیت‌های خالی با مولکول‌های آمین‌دار کوچک پر شد. به این منظور، دی‌اتانول آمین mL/L ۳/۴ در ساختار بافر کنژوگه به ستون اضافه شد. پس از شستشوی ژل با بافر فسفات، پروتئین‌های حاصل از گلبول‌های قرمز پس از محلول‌سازی و دیالیز، ۱۰ برابر رقیق شده و از ستون عبور داده شدند. سپس شست و شو با PBS انجام شد به گونه‌ای که OD ۲۸۰ nm محلول خروجی برابر صفر شد. سپس جداسازی آنتی‌ژن متصل شده به ستون با استفاده از محلول گلایسین ۰/۱ مولار و pH ۲/۸ انجام شد.

انجام سنجش ELISA:

پروتئین خالص شده در غلظت µg/mL ۱۰ و حجم ۵۰ میکرولیتر، در چاهک‌های پلیت ELISA کوت شد. در یک ردیف، به جای آنتی‌ژن در coating از بافر فسفات استفاده شد. پس از خالی کردن پلیت، جهت Blocking ، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلبومین گاوی ۲ درصد، اضافه و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. آلبومین فضاهای خالی را پر می‌کند تا از چسبیدن غیر اختصاصی پروتئین‌های لایه بعدی، ممانعت به عمل آید. در هر چاهک پلیت ELISA که آنتی‌ژن خالص شده coat شده بود، µL ۵۰ آنتی‌بادی اختصاصی اضافه شد. آنتی Fy^a (ایونودیاگنوستیکا) و آنتی Fy^b تجاری (ایمونودیاگنوستیکا) به چاهک‌ها اضافه شد. پس از ۳۵ دقیقه انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و تخلیه چاهک‌ها، شست و شو انجام و µL ۵۰ آنتی‌بادی(آنتی‌هیومن گلوبولین) کنژوگه با HRP اضافه شد. پس از ۳۵ دقیقه انکوباسیون، شستشو انجام و سوبسترا TMB اضافه و حدود ۱۰ دقیقه زمان داده شد، سپس µL ۲۵ محلول stop اضافه شد. در نهایت جذب نوری محصول حاصل با دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از آزمایش آگلوتیناسیون جهت بررسی ویژگی Fy^a در کیسه خون(گلبول قرمز متراکم):

مطابق روش توضیح داده شده در قسمت روش کار، نتیجه

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-11]

جدول ۱: نتیجه آزمایش الایزا جهت بررسی ویژگی آنتی‌ژن خالص شده، نشان‌دهنده واکنش‌دهی آنتی‌ژن مورد نظر با آنتی‌بادی ضد Fy^a و عدم واکنش‌دهی آن با آنتی Fy^b می‌باشد.

آنتی‌بادی‌های مصرفی	جذب نوری نمونه‌ها OD_{450nm}	Mean ± SD	* CV%	جذب نوری PBS
آنتی Fy^a تجاری	۱/۱۵۳	۱/۰۵۶ ± ۰/۱۳۷	۱۲/۹۷	۰/۱۹۱
آنتی Fy^a تجاری	۰/۹۵۹			۰/۱۰۵
آنتی Fy^b تجاری	۰/۲۰۹	**۰/۱۹۷ ± ۰/۰۱۶	۸/۱۲	۰/۱۱۱
آنتی Fy^b تجاری	۰/۱۸۶			۰/۰۹۸

* CV=coefficient of variation (SD/mean×100)، بیانگر ضریب تغییرات بوده و میزان تکرارپذیری آزمایش را نشان می‌دهد و مقدار ایده آل آن ۱۰٪ و کمتر است. در این مورد، چون تنها مقادیر OD استفاده شده است و نه غلظت، و مقدار OD با اعداد کوچک سرو کار دارد، CV در یک مورد بالاتر از ۱۰، به دست آمده است.

** لازم به ذکر است که مقادیر جذب نوری ۰/۱۹۷ که برای Fy^b به دست آمده است نزدیک به رنگ زمینه می‌باشد و به نظر می‌رسد که اتصال اختصاصی را نشان نمی‌دهد زیرا نمونه مورد نظر از کیسه خون فاقد Fy^b به دست آمده است.

آزمایش آگلوتیناسیون، با به کارگیری آنتی‌بادی‌های ضد Fy^a و Fy^b ، به ترتیب مثبت و منفی شد که بیانگر ویژگی Fy^{a+} بودن کیسه خون مصرفی بود.

نتایج حاصل از تعیین ویژگی آنتی‌ژن توسط آزمایش الایزا :

جهت تعیین ویژگی آنتی‌ژن به دست آمده از روش الایزا و خوانش نتیجه، از دستگاه الایزا ریدر استفاده شده است(جدول ۱).

بحث

در این مطالعه، محلول‌سازی غشاء گلبول قرمز به کمک دترژانت غیر یونی NP-40 صورت گرفت. برای این منظور، از کیسه‌های خون کامل Fy^{a+} استفاده شد. در ادامه، خالص‌سازی آنتی‌ژن Fy^a با استفاده از روش کروماتوگرافی تمایلی انجام شد. ویژگی آنتی‌ژن به دست آمده، بررسی و تایید شد. حل شدن غشاهای بیولوژیکی توسط مواد دترژانت یکی از روش‌های معمول جهت دستیابی به پروتئین‌های غشایی مانند Fy^a است. در این رابطه، تاثیر دترژانت و ترکیب لیپیدی مشخص شده است(۷). دترژانت غیر یونی NP-40 منجر به تخریب غشای سلولی در غلظت مناسب می‌شود. در سال ۲۰۰۲، پرت و همکاران نیز مشابه این مطالعه، در دو مطالعه مستقل، از دترژانت‌های غیر یونی جهت محلول‌سازی غشای RBC استفاده کردند با این تفاوت که نوع دترژانت غیر یونی که آن‌ها به کار بردند، در یک مطالعه، از خانواده پلی‌اکسی‌اتیلن آلکیل اتر و در مطالعه دیگر، Triton X-100 بود در حالی که در این مطالعه از NP-40 استفاده شد(۹، ۸).

خالص‌سازی آنتی‌ژن‌های گروه خونی به روش‌های مختلفی قابل انجام است. کروماتوگرافی تمایلی، پر کاربردترین روش جداسازی برای خالص‌سازی و بازیابی بیومولکول‌های بسیار ارزشمند است. علاوه بر نوع ماتریس مورد استفاده، عنصر مهم دیگری که بر عملکرد کروماتوگرافی تمایلی تأثیر می‌گذارد، لیگاند میل ترکیبی است، که مولکولی است که باید به صورت کووالانت به سطح ماتریس متصل شود و در طول فرآیند پایدار باشد. در این مطالعه، از لیگاند آنتی‌بادی اختصاصی جهت جداسازی آنتی‌ژن Fy استفاده شد که با مطالعه داکور و همکاران هم راستا می‌باشد. آن‌ها نیز از لیگاند آنتی‌بادی مونوکلونال جهت جداسازی آنتی‌ژن‌های گروه خونی Le^a و Le^b استفاده نمودند(۱۰).

استفاده از کروماتوگرافی تمایلی در رابطه با گروه‌های

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-11]

خونی همواره جهت خالص‌سازی آنتی‌ژن صورت نگرفته است. بر خلاف مطالعه حاضر که جداسازی یک آنتی‌ژن گروه خونی را هدف قرار داده است، گربر و همکاران در تهیه IVIG ، یک مرحله کروماتوگرافی تمایلی گنجانیدند تا با به کارگیری آنتی‌ژن‌های سنتتیک(اولیگوساکارید های خالص) و تثبیت آن‌ها، منجر به کاهش آنتی‌بادی ضد گروه‌های خونی A و B (ایزوآگلوتینین‌ها) در محصول IVIG و کاهش احتمال همولیز به دنبال مصرف دارو شوند(۱۱). تورس و همکاران بر خلاف مطالعه حاضر که از آنتی‌بادی اختصاصی ضد یک آنتی‌ژن گروه خونی استفاده نموده است، به وسیله روش کروماتوگرافی تمایلی با استفاده از یک لکتین مربوط به حلزون "Helix pomatia"، اقدام به خالص‌سازی گلیکو لیپیدهای گروه A ، نموده‌اند(۱۲).

جهت تشخیص ویژگی آنتی‌ژن خالص شده Fy^a در این مطالعه، از روش الایزا استفاده شد. سوده ساکی و همکاران در تشخیص آنتی بادی بر علیه گروه‌های خونی A,B,M,N ، از روش مشابهی استفاده نمودند. آن‌ها آنتی ژن را به صورت غشاهای اریتروسیتی کوت کردند در حالی که در این مطالعه، اختصاصی‌تر عمل شده و آنتی‌ژن خالص شده کوت شد(۱۳).

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر نشان داد جهت دستیابی به آنتی‌ژن Fy^a، محلول‌سازی غشای گلبول قرمز با استفاده از دترژانت غیر یونی Nonidet P-40، و به کارگیری آنتی‌بادی تثبیت شده قابل انجام بوده و می‌توان در مطالعه‌های آتی، از آنتی‌ژن به دست آمده، در زمینه‌های مختلف از جمله ایمنی‌زایی و تولید آنتی‌بادی بهره برد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد با کد اخلاق IR.TMI.REC.1400.004 در مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون می‌باشد. بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تشکر خود را از همکاری مؤسسه اعلام می‌دارند.

References:

1- Cutbush M, Mollison PL, Parkin DM. A new human blood group. Nature 1950; 165: 188-9.
2- Pogo AO, Chaudhuri A. The Duffy protein: a malarial and chemokine receptor. Semin Hematol 2000; 37(2): 122-9.
3- Rabilloud T, Luche S, Santoni V, Chevallet M. Detergents and chaotropes for protein solubilization before two-dimensional electrophoresis. Methods Mol Biol 2007; 355: 111-9.
4- https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/np-40.
5- Brown RB, Audet J. Current techniques for single-cell lysis. J R Soc Interface 2008; 5 Suppl 2(Suppl 2): S131-8.
6- Dargahi T, Yari F, Rezaei N. The source of HLA molecules on platelets: Does platelets adsorb soluble HLA molecules from their environment? Iran J Ped Hematol Oncol 2019; 9(4): 236-43.
7- Mouhib M, Benediktsdottir A, Nilsson CS, Chi CN. Influence of Detergent and Lipid Composition on Reconstituted Membrane Proteins for Structural Studies. ACS Omega 2021; 6(38): 24377-81.
8- Prete PS, Gomes K, Malheiros SV, Meirelles NC, de Paula E. Solubilization of human erythrocyte membranes by non-ionic surfactants of the polyoxyethylene alkyl ethers series. Biophys Chem 2002; 97: 45-54.
9- Prete PS, Malheiros SV, Meirelles NC, de Paula E. Quantitative assessment of human erythrocyte membrane solubilization by Triton X-100. Biophys Chem 2002; 97: 1-5.
10- Dakour J, Lundblad A, Zopf D. Detection and isolation of oligosaccharides with Lea and Leb blood group activities by affinity chromatography using monoclonal antibodies. .Arch Biochem Biophys 1988; 264(1): 203-13.
11- Gerber S, Gaida A, Spiegl N, Wymann S, Antunes AM, Menyawi IE, *et al*. Reduction of Isoagglutinin in Intravenous Immunoglobulin (IVIG) Using Blood Group A- and B-Specific Immunoaffinity Chromatography: Industry-Scale Assessment. BioDrugs 2016; 30(5): 441-51.
12- Torres BV, Smith DF. Purification of Forssman and human blood group A glycolipids by affinity chromatography on immobilized Helix pomatia lectin. Anal Biochem 1988; 170(1): 209-19.
13- Sodesaki K. A cell surface ELISA for detection of blood group antibodies- on anti-ABO and -MN blood group antibodies. Nihon Hoigaku Zasshi 1990; 44(2): 109-14.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-11]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2023;20 (1): 28-33

Original Article

Investigating the solubilization conditions of packed red blood cells to obtain Duffy a antigen in the laboratory

Abedini K.[1], Yari F.[1], Milani S.[1]

[1]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

One of the antigens of the blood group is Duffy, which includes different subtypes. This system is of clinical importance in terms of blood transfusion, so accurate identification of this antigen is very important. In this study, the process of solubilization of the membrane of red blood cell (RBC) and purification of the Duffy antigen, were investigated.

Materials and Methods

In this experimental study, packed RBCs (O- and Fy^{a+}) were obtained from the blood donation center of Tehran province. The membranes of RBCs were solubilized using Nonidet P-40 detergent. In the next step, Fy^a antigen was purified by affinity chromatography method using a specific antibody against this antigen. The specificity of the purified protein was tested by ELISA technique.

Results

The Fy^{a+} characteristic of red blood cells of the RBC bag was confirmed. In addition, the specificity of the antigen was confirmed by ELISA method. The absorbance levels of the purified antigen (OD450nm) in ELISA method were 1.056 ± 0.137 and 0.197 ± 0.016 by employing the Fy^a and Fy^b antibodies, respectively.

Conclusions

The present research showed that red blood cell membrane solubilization can be done to purify Fy antigen and this antigen may be used in various fields including immunization and antibody production.

Key words: Affinity Chromatography, RBC, Duffy Blood Group system

Received: 11 Sep 2022
Accepted: 29 Oct 2022

Correspondence: Yari F., PhD of Immunology. Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82052237; Fax: (+9821) 88601555
E-mail: *f.yari@ibto.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-10-11]