

一、背景及技术原理

流式荧光技术,是基于编码微球和流式技术的一种临床应用型的高通量发光检测技术,又被称为液态芯片、悬浮阵列及 Luminex[®] xMAP 技术等。该项技术是继生物芯片技术、化学发光技术之后的新一代高通量分子诊断技术平台,是临床诊断领域及生命科学研究中的一大热点。其综合了有色微球、应用流体学、激光技术及高速数字信号处理技术的技术优势,目前已被广泛应用于免疫分析、核酸检测、酶学分析、受体和配体识别分析等研究领域^[1]。流式荧光技术是首个通过美国 FDA 认证的临床应用型高通量诊断技术,并被全球科技产业和行业的权威机构 Frost&Sullivan 授予“2005 年度诊断技术革新大奖”殊荣,是目前唯一纳入美国临床实验室质控网络的高通量诊断技术。相关的研究论文在《自然》、《临床化学》等权威学术杂志上频频发表。

以目前最主要的仪器机型 Luminex 200TM 为例,平台中包含一种直径 5.6 μm 的聚苯乙烯微球,其被两种光谱特性不同的荧光染料染色。通过精确控制两种荧光染料的浓度配比(10 \times 10),可以获得一个 100 种荧光编码的微球阵列,每种微球表面可结合一种反应物。微球表面拥有 108 个活化羧基基团,可以与蛋白抗体的氨基或核酸探针的氨基共价交联。由于微球可通过其编码荧光被识别,因而可以实现在一个混合反应体系中同时进行 100 项反应的检测。另一种荧光物质与报告分子交联,用于测定微球表面生物反应的量。在高速通过的流体束中,微球逐颗被两束激光进行分析。一束 635nm 的红色激光激发微球自身的荧光物质,而另一束 532 nm 的绿色激光激发结合在微球表面的报告荧光物质(藻红蛋白、Alexa 532 或 Cy3)。高速的激光信号处理读取微球编码对其分类,同时对其表面的反应进行定量。每种检测物的检测读取 100 颗微球的信号值,取中位值。在 xMAP 技术的基础上,Luminex 公司于 2007 年推出的新一代液相芯片检测平台 Flexmap 3D 进一步提高了检测精度和线性范围。Flexmap 3D 技术通过加入 3 种不同的荧光素,根据荧光素的比例不同可同时对一个样本中的 500 种不同目的分子进行检测,并且可以一次检测 384 个不同样本。

简要说,在进行多重指标的联合检测时,首先将针对不同检测物的核酸探针/抗体或抗原以共价交联方式结合到特定荧光编码的微球上,通过免疫反应或核酸杂交,使特定荧光编码微球与被测物(可以是血清中的抗原/抗体或酶等,

也可以是 PCR 产物) 及荧光示踪物特异性结合, 最后微球排成单列通过检测管道, 进行荧光信号的读取报告。

二、技术特色及优势

相比于传统的固态芯片杂交、ELISA 及化学发光法等, 流式荧光法具有诸多突出优势:

1、流式荧光技术具有通量高、速度快、操作简便等特点, 一次检测可高达 100 个指标, 同时可实现样本的批量处理。高速的激光信号处理, 30s 即可出一个样本报告, 最快可达 10000 测试/小时。平台的整个反应过程只涉及加样和孵育, 反应所需的时间短, 杂交后常不用清洗, 即可直接读数, 尤其适用于多指标的联合检测。

2、流式荧光技术的检测结果更可靠。其最高检测下限低至 0.01pg/ml, 而传统的酶联免疫吸附试验(ELISA)仅为 μg 级, 灵敏度提高了 10—100 倍。相比于 ELISA 法, 流式荧光法的线性范围也更宽, 可达 3-5 个数量级。此外, 流式荧光技术具有很好的重复性, 采用类均相的反应模式, 其结果稳定, 重复性非常好。检测时, 抽取其中的 100 颗微球读数, 最终的数据取其中位值, 将误差减至最小。

3、流式荧光技术所用的标本量更少, 一次检测仅需 10-20 μl , 远小于传统化学或电化学发光法, 更适合珍贵样本。此外, 试剂耗材等的用量也更少。

4、流式荧光技术具有更广的适用性。在 Luminex 200™ 上即可以检测蛋白又可以检测核酸, 既可用于临床又可以服务于科研, 不断推出的新产品使其具有很好的平台延展性。

三、应用领域

流式荧光技术一经推出即在医学检验及生命科学领域受到了广泛关注和积极的推动。其在 HLA 配型、SNP 分型、微生物的检测、基因突变检测、肿瘤标志物检测、HPV 分型等众多免疫、分子检测领域具有广泛应用。

1、肿瘤标志物

Sun 等^[2]基于 Luminex 100 平台, 建立了 5 个肿瘤标志物的联检方法, 与传统的 ELISA 法相比, 不仅省时省力, 且有更宽的线性范围。谢冲等^[3]建立了 Luminex 液相芯片同时检测 tPSA、fPSA 的方法, 与 ELISA 测定结果高度相关, 且显示了灵敏度高、重复性好、系统误差小等优点。在流式荧光平台上, Doseeva

等^[4]对 NCLC 确诊患者及有同等吸烟史的阴性对照的肿瘤抗原 (CEACA125CYFRA21-1) 和自身抗体(NY-ESO-1)进行了测定,并构建了肺癌预测模型。Cañadas 等^[5]采集了 43 名非小球细胞肺癌 (SCLC) 患者的诊断及预后的血样,并同时利用 Luminex 技术对血清中血管生成素相关细胞因子 (血管生成素-2、VEGF-A 和 D) 进行测定,结果发现显著高出常人的量,为血管生成素-2 导致 SCLC 不理想的临床表现提供了新的证据。Chen 等^[6]基于该技术发现循环肿瘤细胞结合血清中 CEA 水平监控可有效提高 NCLC 的临床预测率。Song 等^[7]利用流式荧光技术研究比较了卵巢癌筛查时用血清和尿液样本中生物标志物的表现差异。Nassi 等^[8]利用流式荧光技术,发现肿瘤标志物 HE4、CA125 的联合检测可有效辅助评估上皮性卵巢癌复发的风险。

2、细胞因子与自身免疫疾病

Luminex xMAP 技术常被用于细胞因子的测定。如 Dernfalk 等^[9]成功将 Luminex xMAP 技术用于 IL-1、IL-6 及 α -TNF。Mikelsone 等^[10]在研究吸烟对心血管炎症状态的影响时,单核细胞趋化蛋白 1、 α -肿瘤坏死因子及白介素 6 的测定也使用了 xMAP 技术。钱源等^[11]在此技术平台上进行了与胰岛素抵抗相关的脂肪细胞因子水平在妊娠期糖耐量受损孕妇中的相关性研究,发现血清瘦素水平与妊娠期糖耐量受损(GIGT)密切相关,如果改善血清瘦素水平,提高胰岛素敏感性,将对 GIGT 的防治有重要的临床意义。而 IL-6、TNF- α 、MCP-1 等细胞因子水平与 GIGT 则无关。Preuner 等^[12]使用 Luminex xMAP 技术,对大范围的临床相关致病真菌进行了特异性种属鉴定。Szliszka 等^[13]在研究阿替匹林 C 对活化的 RAW264.7 巨噬细胞炎症反应的抑制作用时,即使用该技术测定培养上清中巨噬细胞释放的各种细胞因子的量。Rusnak 等^[14]在确定玻璃体视网膜的病变程度时,也用到了液相芯片法测定前房细胞因子的浓度。Lang 等^[15]基于 Luminex xMAP 技术测定了 P13K 抑制剂对一组人神经母细胞瘤的抑制效用,构建出 P13K 磷酸蛋白轮廓,对于特异性 P13K 靶向治疗具有指导意义。

马小美等^[16]将流式荧光技术引入系统性红斑狼疮外周血 IFN- γ 、IL-6 及 IL-7 的检测研究中,发现患者外周血中上述细胞因子表达失衡,即 CD4+T 辅助细胞亚群失衡,参与了疾病的发生过程和发展。Cho 等^[17]利用 Luminex 200 平台,对包括 IL-6 在内的细胞因子进行测定,发现低水平的血清 IL-6 可作为乙肝病毒相

关性肝癌在治愈性治疗后复发的预测标志物。

Wang 等^[18]通过使用 Luminex 200 对转移性胃腺癌患者及未患病对照血清中的炎症因子进行测定,发现几种炎症因子与转移性胃腺癌病变程度密切相关。

3、核酸表达及突变的检测

Yang 等^[19]建立了一种微球阵列用于基因表达检测的方法 (BADGE),生物素标记的 cRNA 与结合在微球上的互补捕获探针杂交,用于对拟南芥特定基因的表达进行定量。测试结果与 GeneChip Probe 等同,且灵敏度低至 10-30 copy/细胞,可用于中等基因表达量的检测。Wang 等^[20]利用 Luminex xMAP 液态芯片技术,测定了非小球细胞肺癌组织中 miRNA 的表达量,由于该技术呈现诸多优点,如所需样本量少、无需扩增、检测速度快等,作者认为该技术是用于 miRNA 高通量检测十分优良可行的方法。此前, Lu 等^[21]也曾将该平台应用到了多种肿瘤相关的 miRNA 表达谱的构建上。结果显示流式荧光法的特异性要明显优于固态芯片法,且与反向斑点杂交法的检测结果完全一致。流式荧光法除了准确性高、效率高、成本低、成本外,具有更好的灵活性,可用于发现新的 miRNA。Xun 等^[22]提出将微阵列、Luminex 及 CyTOF 等高通量方法结合起来,用于监测免疫全程的转录、翻译及翻译后修饰各水平。

Colinas 等^[23]使用直接杂交法对新生儿血斑 DNA 的 PCR 产物进行 β -globin 变体的多通道分型,结果显示该法能有效区分 β -globin 基因的 S 及 E 等位基因及其野生型的血红蛋白 (Hb) A 等。Dubar 和 Jacobson^[24]将 14 个人 DNA 样本经 PCR 扩增后连接生物素,使用多通道的直接杂交法对囊性纤维化跨膜传导调节蛋白 (CFTR) 的 5 个突变体进行了准确地测定。Hadd 等^[25]建立了一种三通道直接杂交法用于分对 CFTR 基因的内含子 8 进行 5T/7T/9T 多态性分型。Wallace 等^[26]结合多通道 PCR 及 xMAP 多通道直接杂交法,开发出一种微球阵列编码测定急性淋巴细胞白血病的方法 (BARCODE-ALL),用于测定小儿淋巴细胞白血病中出现的染色体易位导致的融合转录本。Yeom 等^[27]将该方法用于男性不育中 Y 染色体微缺失的诊断,结果显示高灵敏度和高通量的特性。刘仁旺等^[28]联合使用 RT-PCR 和流式荧光法,比较研究了 EGFR 19 和 21 外显子突变肺癌患者的临床特征,发现 EGFR 19 突变肺癌患者相对 EGFR 21 突变肺癌患者年龄较小,且右侧原发较为多见。两者在性别、吸烟状况、组织类型、分化及分

化程度上无明显差别。张卉等^[29]在对肺腺癌 EGFR 及 KRAS 基因突变状态的研究中,使用流式荧光法测定突变基因,发现肺腺癌 EGFR 基因突变在女性及不吸烟者中较高,而 KRAS 只在 EGFR 基因野生型患者中较高,提示使用 TKI 靶向药物前,应同时对 EGFR 及 KRAS 突变状态进行检测。

4、HPV 分型

流式荧光平台在 HPV DNA 分型中具有广泛的应用。齐淑贞等^[30]研究比较了测序法和液相芯片法对生殖道 HPV 的分型效果,在多型别的感染中,液相芯片法展现出极大的优势。刘思瑶等^[31]也用流式荧光法对疑似 HPV 感染的病例进行分型,发现比反向点杂交法的多重感染阳性检出率要高出 4%。蒋汉梁^[32]以流式荧光技术为平台,设计了 HPV 特异性探针,获得了很好的检测效果,并统计出了浙江地区宫颈癌病变程度与 HPV 感染亚型之间的关系。此外,袁定芬等^[33]利用该技术对上海地区尖锐湿疣患者的 HPV 进行了分型统计,发现最常见的三种分别为 HPV16、52 和 18,并且对宫颈阴道脱落细胞和尖锐湿疣组织中的 HPV 进行了基因型的比较^[34]。Chung 等^[35]基于流式荧光法建立了一种可对 20 种高危型和 5 种低危型 HPV 进行分型的方法,发现对高度病变和高危型 HPV 感染检测的准确度很高。

此外, Schmitt^[36]结合多重 PCR 技术,成功地将 Luminex xMAP 技术用于牛乳头瘤病毒的分型。

5、SNP 分型

单核苷酸多态性 (SNP) 是人基因组中最丰富的序列变异,是用于疾病特异性位点鉴定的重要标志物,同时也多用于疾病和药物敏感性的预测。基于 xMAP 技术的悬浮阵列分析被广泛地应用于 SNP 的研究,研究手段包括基于微球的直接杂交法以及利用等位基因特异性引物延伸法 (ASPE)、单碱基延伸 (SBE)、寡核苷酸连接分析 (OLA) 等基于溶液的微球捕获基因分型。

Armstrong 等^[37]使用直接杂交法开发并验证了一种 SNP 32 分型的分析方法,可同时对 8 个不同多态性基因进行测定。Iannon 等^[38]通过在微球上进行 OLA 分析对来自 7 个不同 DNA 样本 ApoE 位点附近的 9 个 SNP 位点进行分型,在 OLA 反应过程中,一段特异性的捕获序列 (Zipcode) 被连到产物上去,因而能与微球上互补的捕获探针 (cZipcode) 杂交。与单通道检测相比,18 通道的荧光信号

没有丝毫损耗，显示出分析快速、节省试剂、通量高及准确度高等特点。Chen 等^[39]基于 Zipcode/cZipcode 系统利用单碱基延伸法（SBCE）对 ApoE 基因上的 58 个 SNP 位点进行分型。首次实验中 58 个 SNP 被成功分型。在 21 和 34 通道中，共计 181 个 SNP 被检出，且检测结果与 DNA 直接测序及 Taqman 高度一致，其余 3 个归因于实验失误。Cai 等^[40]使用类似的方法用于鉴别 HLA DPB1 位点上 GLU96 的变体以及 HLA DPA1 上的 8 个 SNP。通过该方法，他们成功对 30 个样本各自两个染色体上的 8 个位点进行了分型，共计 480 个位点。Pickering 等^[41]通过在 Luminex FlexMAP 上进行 ASPE 反应，建立了一种对细胞色素 P450（CYP）2C9 和 2C19 基因分型的方法，用该法测定的等位比例的批内及批间 CV 值分别为 $\leq 4.1\%$ 、 $\leq 9.1\%$ 。Maria 等^[42]基于此技术研究证明眼部弓形虫病与 MHC I 类链相关的 A 基因多态性及 HLA-B、HLA-C 等位基因的连锁不平衡之间并不显著相关。Bortolin 等^[43]基于 Luminex xMAP 技术开发出一个用于检测血栓形成相关的基因多态性的平台，与直接测序结果比对显示对于 736 个 SNP 位点的测试完全吻合。

6、HLA 基因分型

Fulton 等^[44]报道了用 xMAP 悬浮阵列法鉴别 HLA 的等位基因，HLA DQA1 基因第二个外显子中的等位序列含 17 个寡核苷酸，在进行多通道的竞争性杂交时，将其作为双链寡核苷酸的探针。在检测前，与探针互补的被标志的寡核苷酸先与未被标记的双链模板杂交，随后与交联在微球上的等位基因特异性的模板杂交。Ito 等^[45]利用流式荧光技术揭示了 HLA-DRB1*0405、DQB1*0401 以及 DQA1*0303 等位基因与拉莫三嗪 ADRs 之间的关系。Vilches 等^[46]在 Luminex 平台上对有过孕育史的女性外周血中抗 HLA 抗体进行了测定，结果显示怀孕所致的 HLA 敏化作用的高发性，作者提出对有过孕史的女性进行 HLA 分型对移植手术的风险评估具有很大的意义。Nishimura 等^[47]通过用 Luminex 200 对 HLA-A、B 及 DRB1 等位基因进行测定，发现 HLA-B*15:01 联合 DRB1B*15:01 等位基因与进行性胰腺癌患者中吉西他滨及埃罗替尼所致的肺部间质疾病的发生有关。

在越南地区，由卡马西平引起的严重皮肤不良反应（ADRs）高发。Nguyen 等^[48]通过结合 PCR 技术和序列特异性寡核苷酸探针，利用流式荧光技术对越南河内一所大型医院的 38 例有卡马西平 ADRs 的患者的 HLA-B*1502 等位

基因频率进行测定统计，发现该等位基因与卡马西平 ADRs 的密切相关性。

7、环境微生物的检测

传染性微生物的分子学鉴定在卫生、水质及食品工业等领域有广泛应用，而 Luminex 用于细菌、病毒、致病真菌的鉴别也有一席之地。Smith 等^[49]基于 Luminex FlowMetrix 系统开发了一种用于病毒核酸的多通道分析定量方法。在对 HIV、丙型肝炎病毒（HSV）及单纯疱疹病毒（HSV）等进行扩增时，病毒的内部扩增质控也一同扩增，并通过直接杂交法与连接在微球上的特异性探针杂交检测。Spiro 等^[50]报道了一种基于微球的分析方法，用于对环境 DNA 的 PCR 产物进行鉴定和定量。

Ye 等^[51]通过多通道 SNP 分型对 17 种革兰氏阳性和阴性菌的不同 16S rDNA 进行鉴别，所用的 ASPE 和 SBE 法结果均与直接测序法一致。直接杂交法在食源性疾病中常见病原微生物的检测和定量具有广泛的应用。Daiz 和 Fell^[52]建立了一种鉴定毛霉菌属的直接杂交法。

Ishii 等^[53]首次将 PCR-Luminex 系统引入致病真菌的分子诊断，研究其抗药性和种属特异性，对农作物的防护及农业科学的发展具有重要作用。范丽等^[54]基于流式荧光技术建立了可同时检测六种虫媒病毒的方法，多批次实验均未出现交叉反应，批间 CV 值均小于 7%，稳定性和特异性均较好，与 ELISA 法相比，灵敏度更高、重复性更好、时间更短且成本更低。

呼吸道感染会加大医院和急诊中心的就诊量，造成很大的医疗压力。对有上呼吸道感染症状的患者进行快速的呼吸道病原体检测对做出最有抗菌策略、避免不必要的诊断和实施减少疾病传播的手段。快速的病原体诊断也有助于节省医院开销、缩短疗程等。流式荧光技术在呼吸道病原体的检测中也有其广泛应用。

Hwang 等^[55]Luminex xTAG 技术用于流感病毒及呼吸道合胞病毒的检测，表现出的灵敏度和特异性均很高。Tang 等^[56]采用 Luminex NxTAG 对 404 例呼吸道标本的病原体群进行检测评估。与推荐方法相比，此法的临床灵敏度和特异性分别为 80.0-100.0%、98.9-100.0%。对流感 A 病毒的正确分型率达 95.5%。封闭试管简化了工作流程并减少了污染。紧随其后，Chen 等^[57]对此法用于呼吸道病原体群的多联检进行了评估。总体上，此法对绝大多数的病原体具有良好的检测效果，由于此法通量高、周转时间较短，因而可适用于医院实验室常规的呼吸道样

本的多联检筛查。Wang 等^[58]基于流式荧光技术，开发出了检测 B19V、巨细胞病毒及弓形虫抗体的单检及联检技术，此法不仅具有高灵敏度、高特异性，且具有很宽的线性范围。

此外，流式荧光技术在细胞信号通路调控及激素的表达以及优生优育 TORCH 项目等方面也具有广泛的应用。

许维东等人^[59]将此技术用于测定氨甲喋呤 (MTX) 对映体耐药 A549 细胞株中的磷酸化酪氨酸激酶受体，并发现在 MTX 对映体诱导的耐药细胞株中，p-EGFR 表达水平存在手性差异。Khan 等^[60]人将流式荧光技术用在了淋巴细胞的胞内信号通道多通道的分析研究，与免疫沉淀反应、免疫印迹以及 ELISA 等方法相比，展现了诸多优势。徐潞君^[61]将该技术用在了慢性肾脏病肾组织的 AKT/mTOR 信号通路研究中，找出了可能的生物标记物，并探讨了 AKT 通路因子与相关临床指标之间的关系。刘民等^[62]用液相芯片技术建立了促甲状腺激素的检验方法，其主要技术指标与拜尔的化学发光法相近，具有临床应用价值。

四、小结与展望

上世纪 90 年代中期，随着以功能基因组学和蛋白质组学为核心的后基因组时代的到来，流式荧光技术应运而生。从发明至今不过二十年左右时间，却已经应用于生命科学研究和临床中的诸多领域。实际上，流式荧光技术由于其高通量、高效率、线性范围宽、高灵敏度和高特异性等显著优势，已逐渐取代 ELISA 等传统的检测手段，在临床上被广泛地用于肿瘤标志物的检测、遗传性疾病的基因诊断、HLA 分型、病原体鉴别以及自身免疫性疾病的早期诊断等方面。此外，随着微流体技术、激光技术和数字信号处理技术研究的不断深入，流式荧光技术还将在医学基础研究、新药物的开发、司法鉴定、食品卫生监督及环境监测等领域具有更广泛的应用前景^[63]。

参考文献

- [1]刘宏涛,柴秀华,孙琰. 流式荧光发光法检测北京市 23566 名健康人群血清 AFP、CEA 结果分析[J]. 临床检验杂志,2015,33(05):400
- [2]Sun K, Wang Q, Huang X H, et al. Establishment of multiplexed, microsphere-based flow cytometric assay for multiple human tumor markers[J]. 中国药理学报, 2007, 28(12):2011-2018.
- [3]谢冲, 唐群业, 王国民. Luminex 液相芯片同时检测 tPSA 和 fPSA 方法的建立与评价[J]. 复

旦学报(医学版), 2010, 37(4):391-395.

[4]Doseeva V, Colpitts T, Gao G, et al. Performance of a multiplexed dual analyte immunoassay for the early detection of non-small cell lung cancer.[J]. Journal of Translational Medicine, 2015, 13(1):1-15.

[5]Israel C, Álvaro, Taus, Xavier V, et al. Angiopoietin-2 is a negative prognostic marker in small cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2015, 90(2):302-6.

[6]Chen X, Wang X, He H, et al. Combination of circulating tumor cells with serum carcinoembryonic antigen enhances clinical prediction of non-small cell lung cancer.[J]. Plos One, 2015, 10(5):e0126276.

[7]Song HJ, Jeong KS, Kim JD, et al. Performance comparison of serum and urine biomarkers from independent samples for ovarian cancer screening[J]. Sains Malaysiana, 2015, 44(12):1671-6

[8]Nassir M, Guan J, Luketina H, et al. The role of HE4 for prediction of recurrence in epithelial ovarian cancer patients-results from the OVCAD study.[J]. Tumor Biology, 2016, 37(3):3009-3016.

[9]Dernfalk J, Waller K P, Johannisson A. The xMAP technique can be used for detection of the inflammatory cytokines IL-1beta, IL-6 and TNF-alpha in bovine samples.[J]. Vet Immunol Immunopathol, 2007, 118(1-2):40-49.

[10]Miķelsone I, Bormane I, Simsone Z, et al. The effect of chronic cigarette smoking on microvascular function, insulin resistance and inflammatory state[J]. 2011, 9:23-28.

[11]钱源, 宗迪, 马润玫, 等. Luminex 液相芯片技术检测与胰岛素抵抗相关的脂肪细胞因子水平在妊娠期糖耐量受损孕妇中的相关性研究[J]. 中国产前诊断杂志:电子版, 2012, 4(4):10-13.

[12]Preuner S, Lion T. Species-Specific Identification of a Wide Range of Clinically Relevant Fungal Pathogens by the Luminex®, xMAP Technology[J]. Methods in Molecular Biology, 2013, 968(4):119.

[13]Szliszka E, Mertas A, Czuba Z P, et al. Inhibition of Inflammatory Response by Artepillin C in Activated RAW264.7 Macrophages[J]. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM, 2013, 2013:735176.

[14]Rusnak S, Vrzalova J, Hecová L, et al. Defining the seriousness of proliferative vitreoretinopathy by aspiration of cytokines from the anterior chamber.[J]. Biomarkers in

Medicine, 2013, 7(5):759-767.

[15]Lang W H, Sandoval J A. Detection of PI3K inhibition in human neuroblastoma using multiplex luminex bead immunoassay: a targeted approach for pathway analysis.[J]. Journal of Biomolecular Screening, 2014, 19(9):1235-45.

[16]马小美, 陈金烟, 余莲. Luminex 液相芯片检测系统性红斑狼疮患者外周血 IFN- γ 、IL-4 和 IL-17 水平[J]. 现代免疫学, 2015(4):311-315.

[17]Cho H J, Kim S S, Ahn S J, et al. Low serum interleukin-6 levels as a predictive marker of recurrence in patients with hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma who underwent curative treatment.[J]. Cytokine, 2015, 73(2):245-252.

[18]Wang J, Ma R, Sharma A, et al. Inflammatory Serum Proteins Are Severely Altered in Metastatic Gastric Adenocarcinoma Patients from the Chinese Population[J]. Plos One, 2015, 10(4):e0123985.

[19]Yang L, Tran D K, Wang X. BADGE, Beads Array for the Detection of Gene Expression, a high-throughput diagnostic bioassay.[J]. Genome Research, 2001, 11(11):1888-98.

[20]Wang Y, Shi J, Wu Y, et al. Use of Luminex xMAP bead-based suspension array for detecting microRNA in NSCLC tissues and its clinical application.[J]. Tumori, 2012, 98(6):792-9.

[21]Lu J, Getz G, Miska E A, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers.[J]. Nature, 2005, 435(7043):834-8.

[22]Xun Y, Chen G, Du H. Combinatorial Application of Multiple High-throughput Biotechnologies for the Study of Autoimmune Diseases[J]. Current Pharmaceutical Analysis, 2015, 11(3):156-163.

[23]Colinas R J, Bellisario R, Pass K A. Multiplexed Genotyping of β -Globin Variants from PCR-amplified Newborn Blood Spot DNA by Hybridization with Allele-specific Oligodeoxynucleotides Coupled to an Array of Fluorescent Microspheres[J]. Clinical Chemistry, 2000, 46(7):996-998.

[24]Dunbar S A, Jacobson J W. Application of the Luminex LabMAP in Rapid Screening for Mutations in the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Gene: A Pilot Study[J]. Clinical Chemistry, 2000, 46(9):1498.

[25]Hadd A G, Laosinchai-Wolf W, Novak C R, et al. Microsphere bead arrays and sequence validation of 5/7/9T genotypes for multiplex screening of cystic fibrosis polymorphisms.[J].

Journal of Molecular Diagnostics, 2004, 6(4):348-355.

[26]Wallace J, Zhou Y, Usmani G N, et al. BARCODE-ALL: accelerated and cost-effective genetic risk stratification in acute leukemia using spectrally addressable liquid bead microarrays.[J]. Leukemia, 2003, 17(7):1404.

[27]Yeom H J, Her Y S, Oh M J, et al. Application of multiplex bead array assay for Yq microdeletion analysis in infertile males[J]. Molecular & Cellular Probes, 2008, 22(2):76-82.

[28]刘仁旺, 刘京豪, 李昕,等. EGFR 19 和 21 外显子突变肺癌患者的临床特征比较和预后分析[J]. 中国肺癌杂志, 2014(11):804-811.

[29]张卉, 杨新杰, 秦娜,等. 肺腺癌 EGFR 与 KRAS 基因突变状态分析[J]. 中国肺癌杂志, 2015(11):621-625.

[30]齐淑贞, 王千秋, 谈玉,等. 测序法及液相芯片杂交法对生殖道人乳头瘤病毒感染分型的比较[J]. 中国医学科学院学报, 2007, 29(2):181-185.

[31]刘思瑶, 丁显平, 朱一剑,等. 液相芯片技术在人乳头瘤病毒检测和分型中的应用[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2007, 44(5):1111-1114.

[32]蒋汉梁. 人乳头瘤病毒的悬浮芯片分型及其临床意义[D]. 浙江大学医学院 浙江大学, 2008.

[33]袁定芬, 丁徐安, 邓辉. 应用液相芯片技术对上海地区尖锐湿疣患者进行人乳头瘤病毒分型[J]. 上海医学, 2009, 32(10):892-895.

[34]袁定芬, 邓辉, 丁徐安. 尖锐湿疣 HPV 的分型及宫颈阴道脱落细胞和疣组织中 HPV 检测的比较[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2008, 24(10):773-776.

[35]Chung M Y, Kim Y W, Bae S M, et al. Development of a bead-based multiplex genotyping method for diagnostic characterization of HPV infection[J]. Plos One, 2012, 7(2):e32259.

[36]Schmitt M, Fiedler V, Muller M. Prevalence of BPV genotypes in a German cowshed determined by a novel multiplex BPV genotyping assay[J]. Journal of Virological Methods, 2010, 170(2):67-72.

[37]Armstrong B, Stewart M, Mazumder A. Suspension arrays for high throughput, multiplexed single nucleotide polymorphism genotyping[J]. Cytometry, 2000, 40(2):102.

[38]Iannone M A, Taylor J D, Chen J, et al. Multiplexed single nucleotide polymorphism genotyping by oligonucleotide ligation and flow cytometry.[J]. Cytometry, 2000, 39(2):131.

[39]Chen J, Iannone M A, Li M S, et al. A microsphere-based assay for multiplexed single

nucleotide polymorphism analysis using single base chain extension.[J]. *Genome Research*, 2000, 10(4):549.

[40]Cai H; White PS; Torney D; Deshpande A; Wang Z; Keller RA; Marrone B; Nolan JP. Flow Cytometry-Based Minisequencing: A New Platform for High-Throughput Single-Nucleotide Polymorphism Scoring[J]. *Genomics*, 2000, 66(2):135-143.

[41]Pickering JW, Mcmillin GA, Gedge F, et al. Flow cytometric assay for genotyping cytochrome p450 2C9 and 2C19: comparison with a microelectronic DNA array.[J]. *American journal of pharmacogenomics : genomics-related research in drug development and clinical practice*, 2004, 4(3):199.

[42]Maria AC, Silveira CAVD, Batista FF, et al. MHC Class I Chain-Related Gene A Polymorphisms and Linkage Disequilibrium with HLA-B and HLA-C Alleles in Ocular Toxoplasmosis[J]. *Plos One*, 2015, 10(12):e0144534.

[43]Bortolin S, Black M, Modi H, et al. Analytical validation of the tag-it high-throughput microsphere-based universal array genotyping platform: application to the multiplex detection of a panel of thrombophilia-associated single-nucleotide polymorphisms.[J]. *Clinical Chemistry*, 2004, 50(11):2028-2036.

[44]Fulton R J, Mcdade R L, Smith P L, et al. Advanced multiplexed analysis with the FlowMetrix system[J]. *Clinical Chemistry*, 1997, 43(9):1749-56.

[45]Ito A, Shimada H, Ishikawa K, et al. Association between HLA-DRB1*0405, -DQB1*0401 and -DQA1*0303 alleles and lamotrigine-induced cutaneous adverse drug reactions. A pilot case-control study from Japan.[J]. *Journal of Affective Disorders*, 2015, 179:47-50.

[46]Vilches M, Nieto A. Analysis of Pregnancy-Induced Anti-HLA Antibodies Using Luminex Platform[J]. *Transplantation Proceedings*, 2015, 47(9):2608.

[47]Nishimura M, Toyoda M, Takenaka K, et al. The combination of HLA-B*15:01 and DRB1*15:01 is associated with gemcitabine plus erlotinib-induced interstitial lung disease in patients with advanced pancreatic cancer[J]. *Cancer Chemotherapy & Pharmacology*, 2016, 77(6):1165-1170.

[48]Nguyen DV, Chu HC, Nguyen DV, et al. HLA-B*1502 and carbamazepine-induced severe cutaneous adverse drug reactions in Vietnamese.[J]. *Asia Pacific Allergy*, 2015, 5(2):68-77.

[49]Smith P L, Walkerpeach C R, Fulton R J, et al. A rapid, sensitive, multiplexed assay for

detection of viral nucleic acids using the FlowMetrix system.[J]. Clinical Chemistry, 1998, 44(9):2054.

[50]Spiro A, Lowe M, Brown D. A bead-based method for multiplexed identification and quantitation of DNA sequences using flow cytometry[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2000, 66(10):4258.

[51]Ye F, Li M S, Taylor J D, et al. Ye, F. et al. Fluorescent microsphere-based readout technology for multiplexed human single nucleotide polymorphism analysis and bacterial identification. Hum. [52]Mutat. 17, 305-316[J]. Human Mutation, 2001, 17(4):305-316.

[53]Ishii H, Tanoue J, Oshima M, et al. First application of PCR-Luminex system for molecular diagnosis of fungicide resistance and species identification of fungal pathogens[J]. Journal of General Plant Pathology, 2008, 74(6):409-416.

[54]范丽, 李裕昌, 康晓平,等. Luminex 液相芯片技术检测 6 种虫媒病毒方法的建立[J]. 解放军医学杂志, 2012, 37(5):459-463.

[55]Hwang S M, Lim M S, Han M, et al. Comparison of xTAG respiratory virus panel and Verigene Respiratory Virus Plus for detecting influenza virus and respiratory syncytial virus.[J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2015, 29(2):116-121.

[56]Tang YW, Gonsalves S, Sun JY, et al. Clinical Evaluation of the Luminex NxTAG Respiratory Pathogen Panel.[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2016, 54(7):1912.

[57]Chen J H, Lam H Y, Yip C C, et al. Clinical evaluation of the new high-throughput Luminex NxTAG Respiratory Pathogen Panel assay for multiplex respiratory pathogen detection.[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2016, 54(7):1820.

[58]Wang Y, Hedman L, Perdomo M F, et al. Microsphere-based antibody assays for human parvovirus B19V, CMV and T. gondii[J]. BMC Infectious Diseases, 2016, 16(1):8.

[59]许维东, 何晓东, 孙利,等. Luminex 液相芯片技术测定氨甲喋呤对映体耐药 A549 细胞株中磷酸化酪氨酸激酶受体[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(8):564-566.

[60]Khan I H, Mendoza S, Rhyne P, et al. Multiplex analysis of intracellular signaling pathways in lymphoid cells by microbead suspension arrays.[J]. Molecular & Cellular Proteomics Mcp, 2006, 5(4):758-768.

[61]徐潞君. luminex xMAP 技术在慢性肾脏病肾组织 AKT/mTOR 信号通路中的应用[D]. 中南大学, 2013.

[62]刘民, 汤华, 杨洋,等. 促甲状腺激素液相芯片检测法的建立和方法学评价[J]. 检验医学, 2009, 24(1):48-51.

[63]谢冲, 王国民. Luminex 液相芯片的发展及应用[J]. 复旦学报(医学版), 2010, 37(2):241-244.

透景科技