想用免疫染色验证一个新亚群，怎么从几十个 marker 里挑出两个?

用真实 PBMC3K 的 32 个候选实算 496 个双标组合，逐类查看双阳性与误标，再对照公开抗体染色记录写出验证方案。



运行教学示例

Python 3.10 或以上，先安装 requirements.txt。

```
python run.py --input example --out results
```

在解压后的资料包根目录运行。example 是教学输入，results 保存本次输出，expected 保存可供核对的参考结果。

输入字段

cells.tsv.gz、extract.py 真实条码、参考类型、30 个按检出差选的候选及补充标记。

antibody_evidence.tsv 两位候选的公开 IHC 记录、可查编号与现场需要确认的实验条件。

核对输出，再换自己的数据

pair_screen.tsv、selected_by_type.tsv 496 对的目标与最大相邻类阳性率、指定候选的四格表。

double_positive_cells.tsv、same_cell_pairs.png 双阳性的真实条码、原始计数以及逐类组成。

用示例验算

1 342 颗参考 B 细胞中，277 双阳性、17 仅 MS4A1、43 仅 CD79A、5 双阴性。

2 非 B 细胞里的双阳性分别为 CD4 T 四颗、CD8 T 一颗、树突细胞一颗。

3 HLA-DPB1 与 HLA-DRA 在 B 群 338 颗双阳性，但在参考树突细胞中双阳比例也达 100%。

换用真实数据

把目标替换为待验证亚群，同时加入同谱系近邻、同供者对照、组织定位和适合实验的抗体证据。

本例演示选标，未进行组织实验；已知广谱 B 细胞组合不能识别一个新 B 细胞亚群。

方法资料

Human Protein Atlas 的 MS4A1 组织抗体记录

Human Protein Atlas 的 CD79A 组织证据

公开 PBMC3K 参考分析