



临床与科研领域

心肌标志物



新一代心肌肌钙蛋白I 24-40表位重组兔单克隆抗体



心肌肌钙蛋白I(cTnI)的24-40 a.a.r是一个非常适合抗体识别的表位。首先，cTnI的前32个氨基酸不存在于骨骼肌亚型的肌钙蛋白I中，其后的8个氨基酸残基(33-40 a.a.r)中有3个为cTnI所特有，因此这个区域更易获得与两种骨骼肌亚型的肌钙蛋白I无交叉反应的高特异性抗体。其次，与cTnI中间区域相比，24-40 a.a.r不会受到复合物其他组分的空间位阻影响，且该区域也几乎不受自身抗体的干扰。此外，我们最近的研究显示，尽管cTnI容易发生蛋白水解，但即便在急性心梗发作晚期，24-40 a.a.r依然相当稳定。基于上述原因，识别24-40 a.a.r的cTnI抗体成为了开发可靠cTnI试剂的有力工具。

HyTest 开发了一种基于兔源抗体的新型单抗制备技术。我们的核心优势之一就是长达25年之久的杂交瘤单克隆抗体制备经验。在这项新的抗体制备技术中，我们将杂交瘤工艺的可靠性与基因工程的快速及灵活性进行了充分结合，利用兔的天然免疫应答，结合稳定专属的工艺，将目标IgG的基因序列进行完整克隆。兔源抗体的亲和力通常高于鼠源抗体。对于超敏肌钙蛋白I这一类需检测超低浓度样本的试剂，抗体的高亲和力尤为重要。通过将重组单抗与传统鼠源单抗配对开发夹心免疫试剂，还可有效降低异嗜性抗体对试剂的影响。

针对cTnI的24-40 a.a.r，我们开发了4株兔单抗(RecR1、RecR23、RecR33和RecR85，货号：RC4T21)。这些单抗与识别cTnI其他表位的抗体进行配对用于夹心免疫系统，展示出了极高的灵敏度(LoD低于2ng/L，表2)。代表性配对的校准曲线如图1所示。这是HyTest首次

建议使用兔单抗进行高敏肌钙蛋白试剂开发。根据我们内部不同平台的评测结果，新一代兔单抗通过搭配其他位点的鼠单抗展示出了极佳的反应性能，推荐配对如表1所示。

建议使用兔单抗进行高敏肌钙蛋白试剂开发。根据我们内部不同平台的评测结果，新一代兔单抗通过搭配其他位点的鼠单抗展示出了极佳的反应性能，推荐配对如表1所示。

表1.cTnI免疫检测系统配对推荐

捕获抗体	检测抗体
RecR33+560cc	20C6cc*
RecR33+560cc	20C6cc+7B9cc
RecR1+560cc	20C6cc
RecR33	20C6cc
RecR1	20C6cc
RecR23	20C6cc
RecR85	20C6cc

*我们还提供嵌合抗体版本的20C6抗体(货号RC4TC2, RecChim20C6)，可以帮助进一步消除异嗜性抗体的干扰。

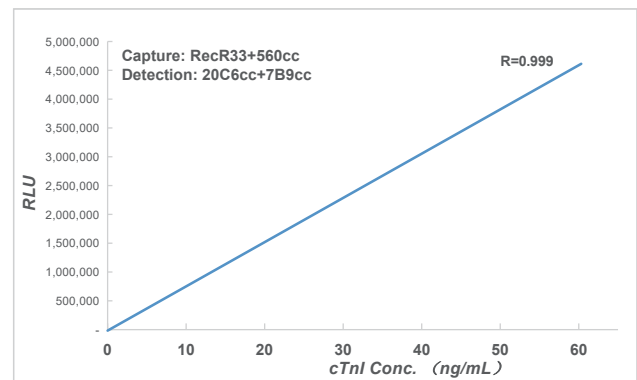


图1.代表性抗体配对校准曲线。捕获抗体为RecR33和560cc，包被在磁微粒上，检测抗体为20C6cc和7B9cc，标记吖啶酯，检测抗原为肌钙蛋白I复合物(货号81C63)。37°C孵育10分钟。

表2.部分代表性抗体配对的灵敏度

捕获抗体	检测抗体	LoD (ng/L)
RecR33+560cc	20C6cc+7B9cc	1.28
RecR1+560cc	20C6cc	1.45

*测试平台为吖啶酯化学发光平台

对于超敏肌钙蛋白试剂而言，抗体的特异性对检测结果至关重要，因为即使抗体与骨骼肌肌钙蛋白仅存在极小的交叉反应也有可能造成结果的假阳性。我们将新开发的24-40 a.a.r抗体与其他抗体进行了配对并考察了其与其他肌钙蛋白I的交叉反应。结果显示，在干扰物浓度高达1000 $\mu\text{g/L}$ 的情况下，所有配对与其均无交叉反应，结果见表3。

表3. 干扰物质特异性测试

干扰物质 (1000 $\mu\text{g/L}$)	货号	交叉反应率
重组人骨骼肌肌钙蛋白C亚型2	8RKC3	0.00%
重组人慢型骨骼肌/心肌肌钙蛋白C	8RSC4	0.00%
人骨骼肌肌钙蛋白I	8T25	0.00%
人心肌钙蛋白T	8T13	0.03%
人肌钙蛋白C	8T57	0.01%
肌红蛋白	8M50	0.00%
髓过氧化物酶	8M80	0.00%

同时，我们将若干配对与贝克曼和雅培商品化试剂盒进行了临床样本比对，结果显示HyTest提供的推荐配对与雅培和贝克曼试剂之间均具有很好的相关性。与雅培和贝克曼商品化试剂盒的比对数据如图2和图3所示。

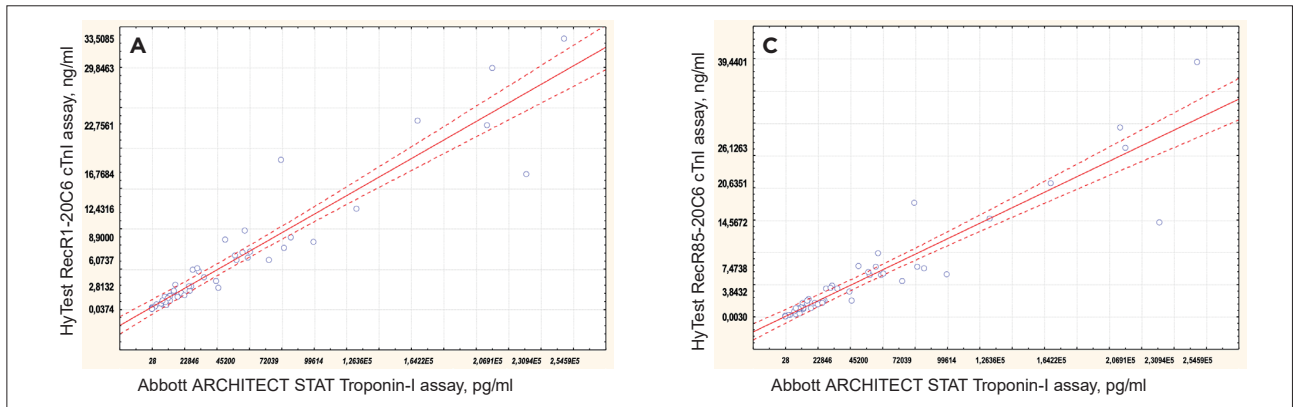


图2. HyTest重组兔单抗配对与商品化试剂盒的相关性结果。两组配对分别为RecR1-20C6cc和RecR85-20C6cc，商品化试剂为雅培ARCHITECT STAT Troponin-I试剂（51例样本，图A和图C）

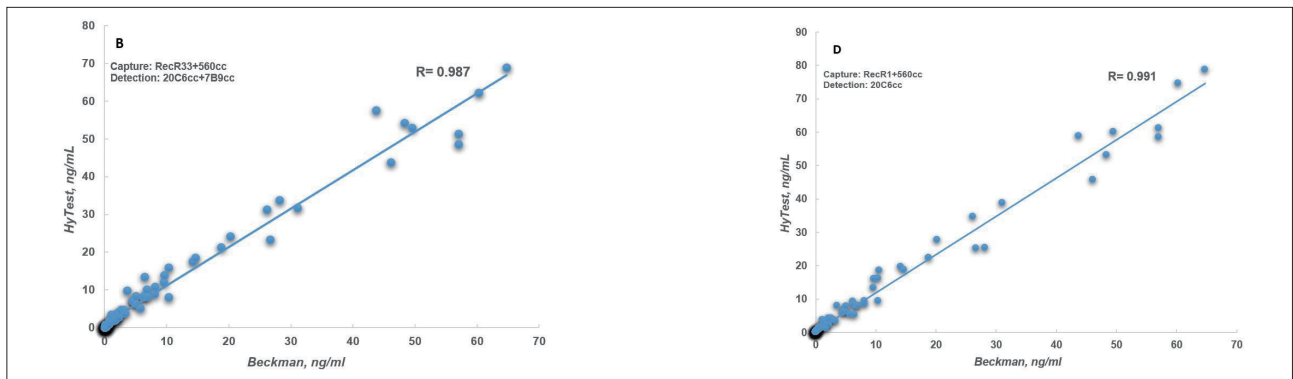
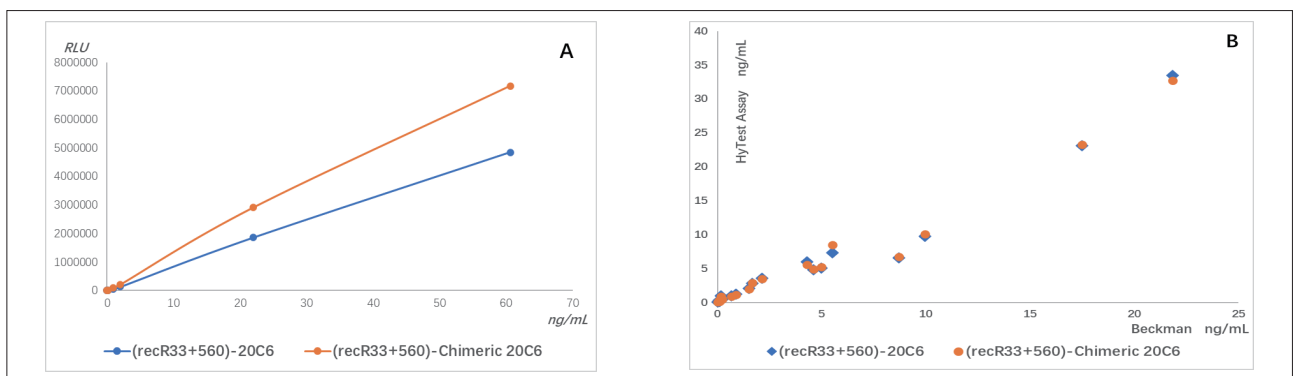


图3. HyTest重组兔单抗配对与商品化试剂盒的相关性结果。两组配对分别为RecR33+560cc-20C6cc+7B9cc和RecR1+560cc-20C6cc，商品化试剂为贝克曼ACCESS II Tni试剂（98例样本，图B和图D）

针对HAMA等异嗜性抗体的干扰，HyTest提供若干株人源化嵌合抗体。通过基因重组技术，我们将原有抗体的Fc片段替换为人源化Fc片段，可有效降低HAMA所导致的干扰。于此同时，我们还发现，通过使用嵌合抗体可进一步提高反应信号（20%-50%），且对于样本的检测结果无任何影响。关于20C6与嵌合版本20C6（RecChim20C6）在我们上述配对推荐中的表现对比如图4所示。



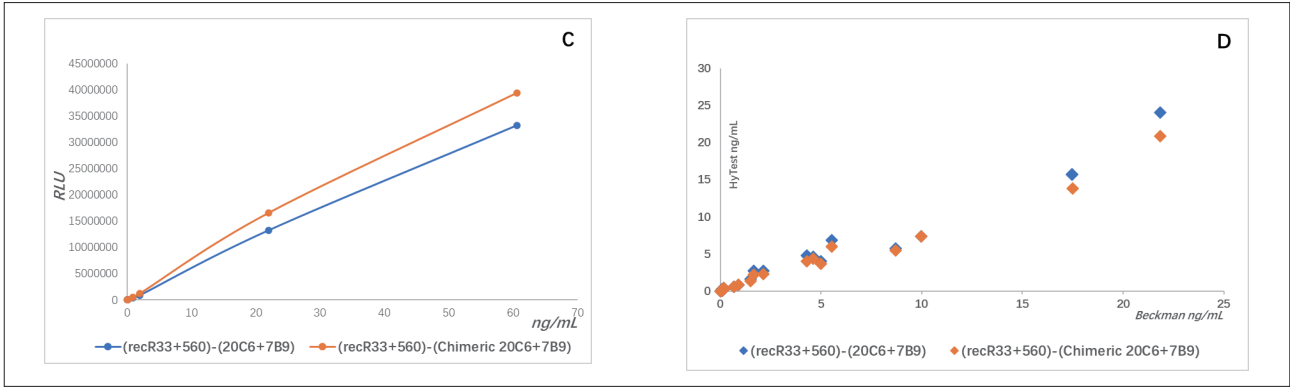


图4. 嵌合抗体20C6在不同标记平台上的评测结果。吡啶酯标记条件下的反应曲线和临床样本比对结果如A和B所示，碱性磷酸酶标记条件下的反应曲线和临床样本比对结果如C和D所示。

订购信息

单克隆抗体

产品名称	货号	单抗	亚型	备注
心肌肌钙蛋白I	RC4T21	RecR1	IgG	EIA, a.a.r. 24-40, 重组兔单抗
		RecR23	IgG	EIA, a.a.r. 24-40, 重组兔单抗
		RecR33	IgG	EIA, a.a.r. 24-40, 重组兔单抗
		RecR85	IgG	EIA, a.a.r. 24-40, 重组兔单抗
	4T21cc	560cc	IgG1	体外生产, EIA, WB, a.a.r. 83-93
心肌肌钙蛋白复合物	4TC2	20C6cc	IgG2b	体外生产, EIA
	RC4TC2	RecChim20C6	IgG1	EIA, 重组嵌合抗体
肌钙蛋白C	4T27cc	7B9cc	IgG1	体外生产, EIA, WB