

# 人proBNP、BNP和NT-proBNP

BNP和NT-proBNP均是心衰诊断及预后的生物标志物。心衰的普遍性及其带来的经济负担已经对临床和公共健康造成了严重影响。根据美国心脏协会的数据显示，在美国心衰患者的人数已达650万人之众，并且每年都有近100万新发心衰病例；在全球范围内，心衰患病人数已经达到2300万人。慢性心脏疾病、高血压和糖尿病均是已知的诱发心衰的风险因素，且65岁以上人群更易发生心衰。心衰伴有较高的发病率和死亡率。

## BNP、NT-proBNP和proBNP作为诊断标志物

对于疑似急性心衰患者，临床指南建议首先使用BNP或NT-proBNP用于排除心衰。这两种标志物也可用于疾病进程监控。BNP和NT-proBNP的临床价值相似，目前均被广泛用于临床实践中。

在健康成年人体内，血浆BNP的参考上限为35pg/mL，NT-proBNP的参考上限为125pg/mL。然而测试结果水平取决于年龄和性别，老年人群和妇女的结果会偏高。

两种标志物的浓度与疾病严重程度成正比，浓度差异可达数百倍。有报道指出在心衰最早期的无症状阶段（纽约心脏病协会心功能I级）已经可以发现这两种标志物的水平升高。在纽约心脏病协会心功能II级和III级，特别是在IV级患者中，两种标志物的浓度则会显著升高。因此，血液中两种标志物的检测已经被广泛用于疑似心衰患者的评估及疾病严重程度评价。

BNP或NT-proBNP的浓度检测还可以用于不同心脏病患者的危险分层。在未来发生并发症的患者，其BNP或NT-proBNP的浓度要显著高于无并发症患者。对于充血性心衰患者，高浓度BNP或NT-proBNP可预测死亡风险和心血管危险。而对于患有急性冠状动脉综合症的患

者，两种标志物的水平升高则是严重心力衰竭和死亡的先兆。

此外，研究发现BNP和NT-proBNP的前体proBNP 1-108也大量存在于心衰患者的血液中。因此只检测proBNP的试剂可能会进一步提高检测结果的特异性。

## proBNP及其相关多肽的生化性质

当心脏由于压力或室壁过载发生扩张，BNP的编码基因会在心肌细胞中被激活。编码基因激活后会在细胞内表达134个氨基酸残基长度的preproBNP。随后preproBNP的信号肽被移除形成了proBNP，其进一步裂解为有生物活性的BNP（1-32aa）和生物活性未知的NT-proBNP（1-76aa）。BNP、NT-proBNP及未裂解的proBNP均会被释放进入外周循环（图1）。进入外周循环后，BNP会被有效地清除，半衰期约为20分钟。NT-proBNP的半衰期较长，为60-120分钟，这也解释了血液中NT-proBNP浓度显著高于BNP的原因。

ProBNP是一种O-多糖蛋白，存在7个糖基化位点。所有糖基化位点均位于NT-proBNP区域，而BNP分子上则无糖基化位点。在之前的研究中，我们发现T71糖基化位点是proBNP进一步裂解为NT-proBNP和BNP的关键。T71位点与发生分裂的部位很近，只有当T71位点没有被糖基化时，这种转换酶依赖的分裂才会发生。因此，血液中绝大多数未裂解的proBNP分子的T71残基是糖基化的，而在NT-proBNP分子中T71残基却非糖基化。

## 用于免疫检测分析系统开发的试剂原材料

HyTest已经对proBNP及其相关衍生多肽进行了多年研究。迄今为止，我们在相关同行评审期刊中发表了多篇文章。我们提供多株性能优异的单克隆抗体，可用于灵敏度高、性能可靠的检测临床样本的BNP、NT-proBNP和proBNP的免疫检测系统的开发。

我们还提供数种重组抗原，可以用于标准品和校准品的制备。

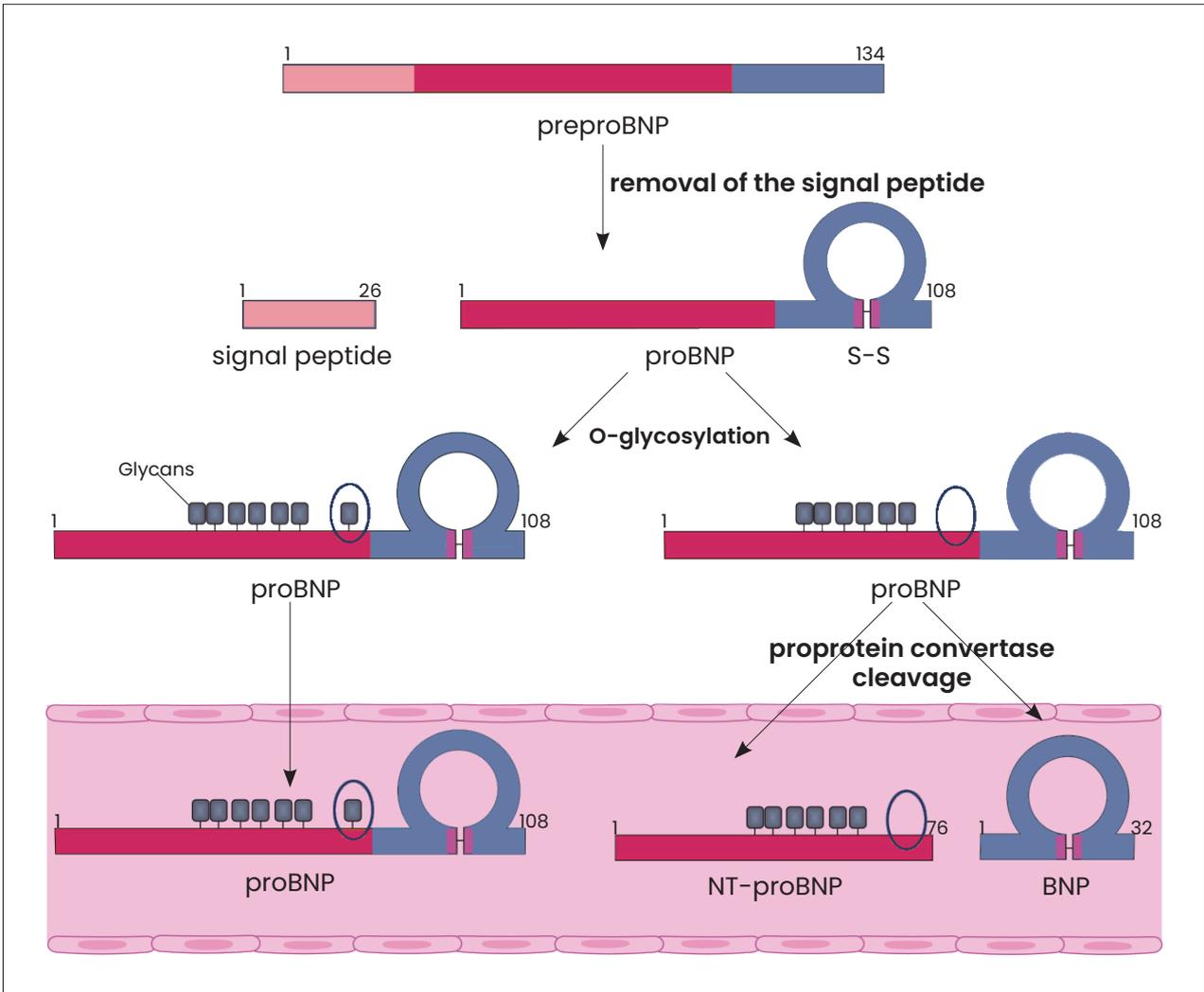


图1. proBNP分裂示意图。preproBNP翻译后经过信号肽的切除形成proBNP。proBNP分子上若干个糖基化位点会发生糖基化，进一步可分成T71糖基化和T71非糖基化两种proBNP分子。T71的糖基化会抑制proBNP进一步裂解。只有当proBNP的T71非糖基化，才能继续裂解为BNP和NT-proBNP。BNP、NT-proBNP及完整的proBNP均会被释放进入血液中。

## BNP试剂开发

人BNP是一种3.5KDa的肽段，由proBNP裂解而来（proBNP裂解后C端为BNP，N端为NT-proBNP）。BNP氨基酸序列即为proBNP的77-108氨基酸序列。对BNP分子而言，氨基酸序列通常记为1-32。BNP的理论等电点为10.95。

BNP是一种具有利尿、血管舒张和肾素抑制功能的多肽类激素，属于一类具有类似环状结构的多肽激素家族，该家族还包括ANP、CNP和尿扩张素。该家族的典型结构为一个由一对半胱氨酸之间二硫键所形成的17个氨基酸的环状结构。对于该家族不同的利钠肽成员，环状结构高度同源，17个氨基酸中有11个氨基酸完全一致。人BNP的二硫键位置为C10和C26（图2）。

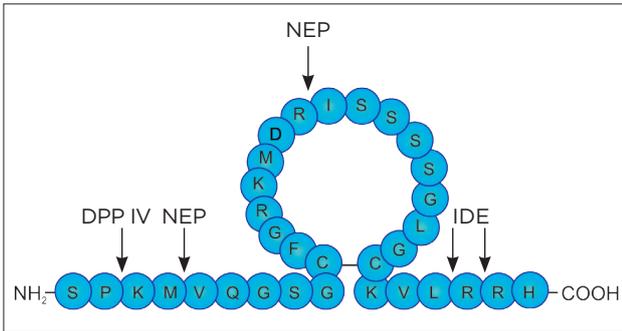


图2. BNP分子不同蛋白酶作用位点解析。DDP IV为二肽基肽酶IV，NEP为脑啡肽酶，IDE为胰岛素降解酶。

BNP分子极不稳定，已经有若干研究显示，在心衰患者血液中存在N端或C端部分截断的多种形式的BNP分子。其中全长1-32BNP仅占很小一部分。其中二肽基肽酶和脑啡肽酶会使BNP部分截断，从而分别产生3-32BNP和5-32BNP。此外还有研究显示，胰岛素降解酶也会使BNP部分截断。目前已知的BNP截断位点如图2所示。

针对BNP分子不稳定的特性及已知的酶切位点分布情况，HyTest开发了若干株可用于BNP检测的单克隆抗体（图3）。相关推荐配对可用于开发不同技术平台的高性能BNP检测试剂，可等效识别外周循环中不同形式的BNP，并与国际商品化试剂盒具有良好的相关性。相关推荐配对如表1所示。

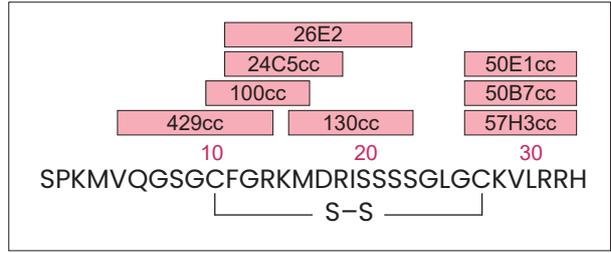


图3. BNP单抗位点信息。

表1. BNP夹心免疫检测系统推荐配对

化学发光		荧光侧向层析	
捕获抗体	检测抗体	捕获抗体	检测抗体
50E1cc	24C5cc	57H3cc	429cc
50E1cc	26E2	24C5cc	50E1cc
50B7cc	24C5cc	50B7cc	429cc
50E1cc	130cc	50E1cc	130cc

不同平台的代表性配对的校准曲线以及样本测试结果如表图4所示。其中化学发光代推荐配对50B7-24C5的LoD为2.5 pg/mL，线性范围：2.5 - 5000 pg/mL；荧光侧向层析代推荐配对57H3-429的LoD为1.85 pg/mL，线性范围：2 - 3000 pg/mL。

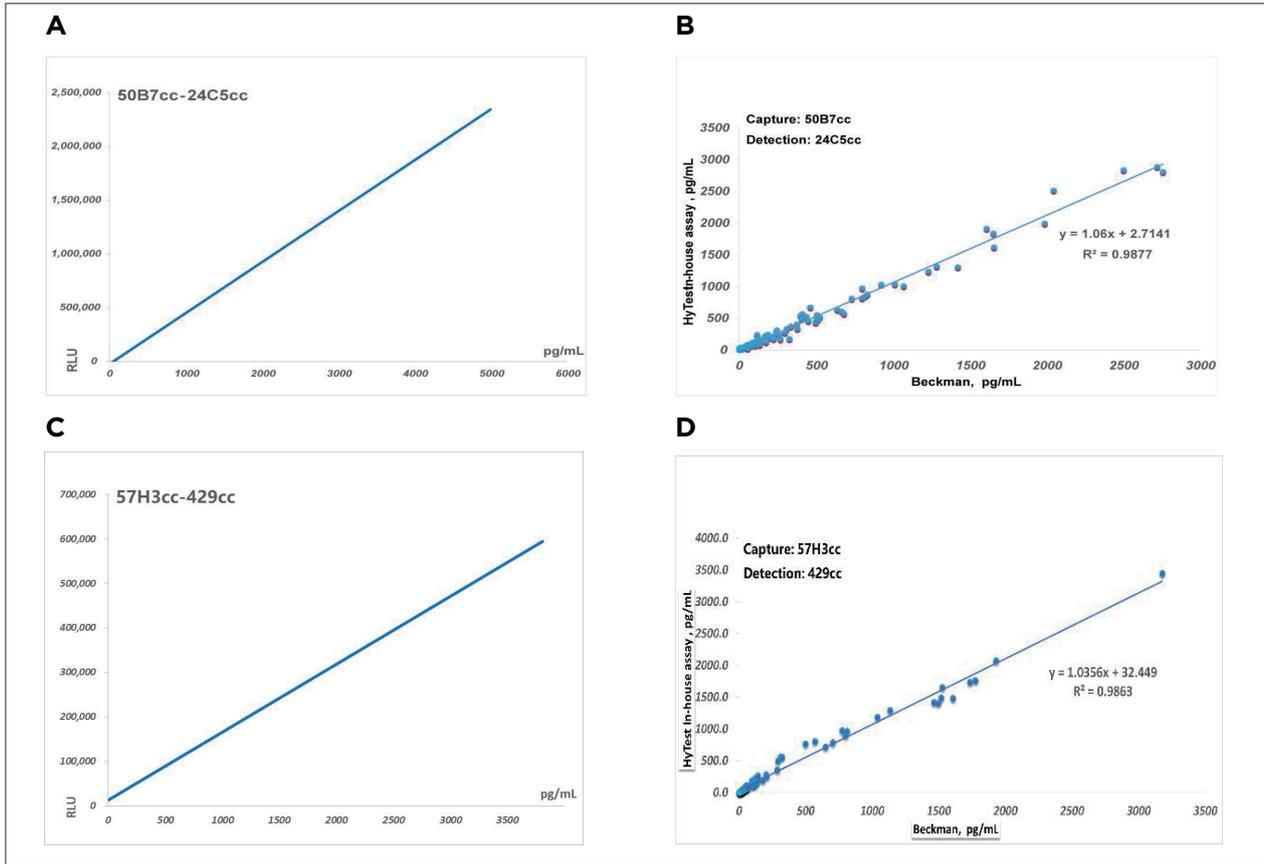


图4. 推荐配对的校准曲线与样本测试相关性结果。  
 A, B: 化学发光推荐配对50B7cc-24C5cc, n=147  
 C, D: 荧光侧向层析推荐配对57H3cc-429cc, n=80  
 校准品抗原为重组糖基化proBNP抗原, 货号: 8GBP3

## NT-proBNP试剂开发

NT-proBNP属于B型利钠肽的衍生分子。当心脏受到外界压力刺激时，心肌细胞会合成preproBNP，随着分子N末端26个氨基酸的信号肽被切除，preproBNP形成成熟的proBNP。进一步，proBNP会在蛋白酶的作用下被裂解为BNP和NT-proBNP，并释放进入血液。NT-proBNP对于心衰筛查、排除诊断、治疗监测和预后评估均具有重要意义。NT-proBNP还对其他疾病的危险分层和预后评价具有重要价值，包括肺栓塞、肺动脉高压、冠心病、慢性肾病、心源性卒中、肿瘤和术前评估。此外，NT-proBNP也是心血管疾病预防及健康筛查的重要工具。

NT-proBNP形成过程中，分子会经历翻译后修饰，使其分子部分氨基酸被糖基化，这种糖基化呈现出明显的个体间及个体内异质性。目前，已知的NT-proBNP糖基化位点为Thr36、Ser37、Ser44、Thr48、Ser52、Thr58和Thr71。值得一提的是，HyTest科学家的研究发现，Thr71的糖基化是proBNP裂解的分子开关，当该位点为去糖基化状态时，proBNP会裂解为BNP和NT-proBNP；而当该位点为糖基化状态时，proBNP则不会发生裂解。据推测，这可能是由于糖基化产生的空间位阻阻断了蛋白酶的作用所致。另一方面，由于BNP具有心脏保护作用，proBNP的糖基化水平可能与疾病状态以及预后相关。

外周循环中的NT-proBNP由proBNP裂解而来。同时，完整的proBNP也可直接被释放进入血液。由于proBNP包含有完整NT-proBNP氨基酸序列，因此目前临床上使用的商品化NT-proBNP试剂所识别的待测物实际为糖基化与非糖基化的proBNP和NT-proBNP的混合物。而试剂对于混合物中不同组分的检出率或交叉反应率则取决于待测物的糖基化程度，以及试剂所选择的抗体对于糖基化的敏感程度。由于待测物糖基化呈高度异质性，使得结果准确性充满不确定性，因此试剂抗体的选择是检测结果准确性的关键。

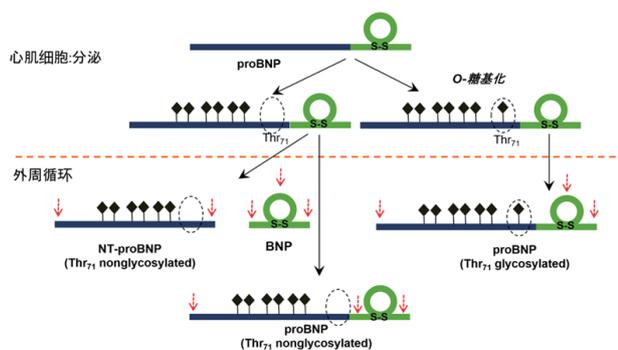


图5. NT-proBNP的释放形式。

## NT-proBNP免疫检测系统建立

对于NT-proBNP免疫检测试剂的开发，糖基化是我们考虑的首要因素。由于NT-proBNP分子糖基化的存在，若检测试剂使用的抗体识别位点位于糖基化区域可能会导致结果的低估，从而对NT-proBNP的临床应用产生潜在影响。目前，应用于临床的商品化NT-proBNP检测试剂盒可主要分为两类。一类为部分识别糖基化区域的NT-proBNP试剂（Ser44非糖基化NT-proBNP试剂），这也是目前最为主流的NT-proBNP商品化试剂。该试剂使用的两株抗体中有一株抗体的识别位点为42-46aa，恰好位于Ser44的潜在糖基化位点上。因此，该类试剂仅能检出Ser44非糖基化的NT-proBNP。若NT-proBNP部分分子的Ser44发生糖基化，则会导致结果的低估，同时临近的Thr48的糖基化也可能导致结果的低估。另一类NT-proBNP试剂则是以HyTest产品概念为代表的总NT-proBNP检测试剂，该类试剂使用的抗体位于NT-proBNP分子两端的非糖基化区域，因此可检出外周循环中所有形式（糖基化与非糖基化）的总NT-proBNP(图6)。

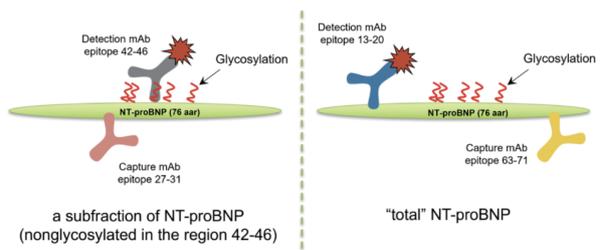


图6. NT-proBNP检测模型概览

根据HyTest科学家与武汉亚心医院张主任团队的最新研究结果显示，总NT-proBNP试剂的结果较Ser44非糖基化NT-proBNP试剂结果高2倍左右。当对样本进行去糖基化处理后，Ser44非糖基化NT-proBNP试剂检测结果显著升高，且两组试剂的检测结果趋于一致，而总NT-proBNP则不受去糖基化处理的影响，样本去糖基化前后的检测结果基本保持不变（图7）。由此我们可以看出，若检测试剂的抗体位于分子糖基化区域，会导致结果的显著低估。虽然两种不同NT-proBNP试剂结果差异显著，但是通过对所有入组病例样本测试的ROC曲线分析显示，Ser44非糖基化的NT-proBNP与总NT-proBNP试剂对于心衰诊断具有等效的价值（0.943 vs 0.935）。

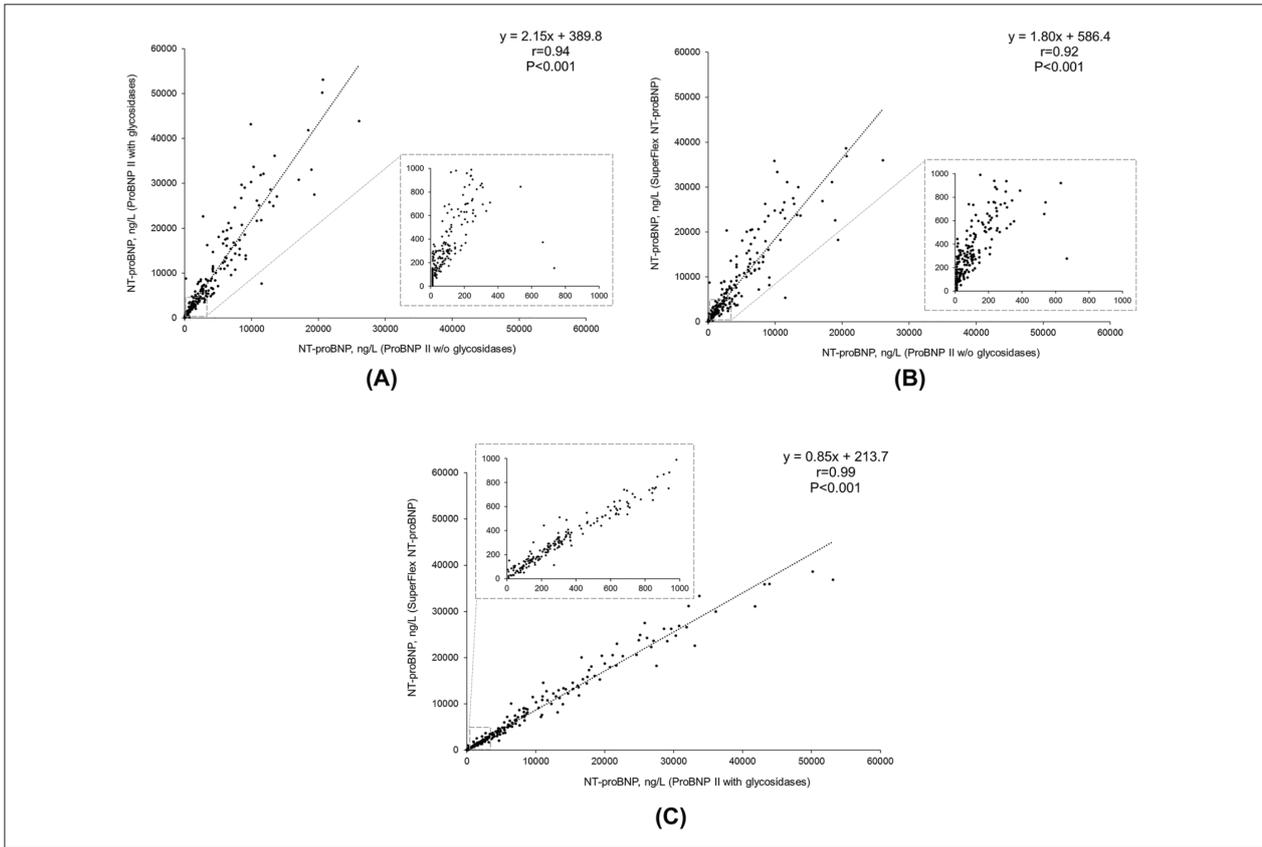


图7. 糖基化对于NT-proBNP检测试剂结果的影响。

然而，心衰患者外周循环中NT-proBNP的非糖基化程度显著高于非心衰患者。低浓度的NT-proBNP水平与心脏结构以及心衰发生风险相关。由此可以推测，这些低估的NT-proBNP可能对于那些处于心衰风险期的患者更具意义。因此，总NT-proBNP检测相比Ser44非糖基化NT-proBNP试剂，在心衰预测、特定人群风险筛查、疾病状态检测以及治疗监测方面会更具优势。此外，使用Ser44非糖基化NT-proBNP试剂建立的参考值存在明显的地域和种族差异，这可能也与不同人群糖基化水平差异有关。因此，使用总NT-proBNP试剂可能更有助于提升检测结果的一致性。

由此可见，针对糖基化对于NT-proBNP的影响，我们可以根据临床预期用途对NT-proBNP试剂开发制定针对策略：

**a. 基于现有NT-proBNP心衰诊疗用途，可使用识别NT-proBNP糖基化区域的抗体开发非糖基化的NT-proBNP试剂；对应此应用场景，总NT-proBNP也适用。**

针对该类试剂，HyTest推出了新一代重组兔单抗产品，相比初代鼠单抗产品，亲和力和灵敏度得到了进一步提升，可用于开发高性能NT-proBNP定量检测试剂。尤其侧向层析平台上，新一代单抗的单位微球抗体标记用量相比初代产品可减少30-50%，有助于客户进一步降低生产成本。同时，推荐配对与主流商品化试剂存在良好的相关性。推荐配对如表2所示，代表性配对的校准曲线和样本测试结果如图8所示。

表2. 侧向层析平台NT-proBNP配对推荐

捕获抗体	检测抗体
NT13	NT45
15F11cc	NT45
15F11cc	16E6cc

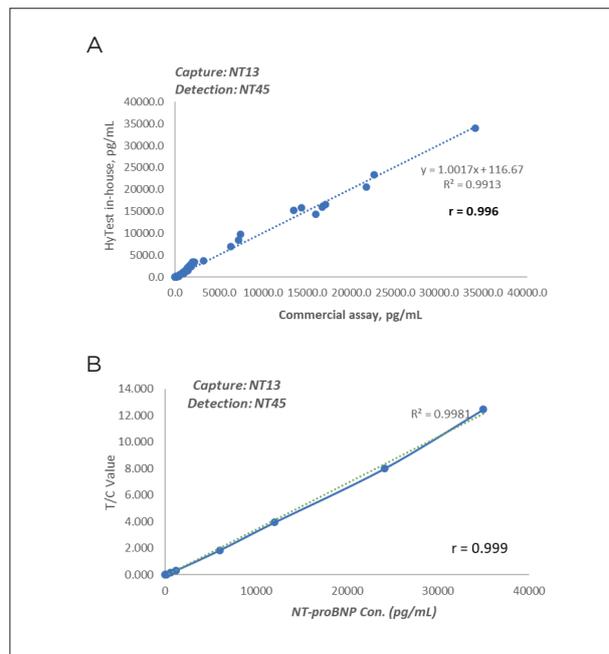


图8. 代表性配对的校准曲线(A)和样本相关性测试结果(B)。

b. 基于未来NT-proBNP更加多样化的临床应用场景，如心衰早筛、心血管风险筛查、健康人心脏功能评测、疾病发展以及治疗监测等。则推荐使用识别非糖基化区域的抗体开发总NT-proBNP检测试剂。该模型已被我国2022年新发布的《B型利钠肽及N末端B型利钠肽前体实验室检测与临床应用中国专家共识》所推荐。

针对该类试剂，我们推荐使用识别NT-proBNP 13-24aa和63-73aa的非糖基化区域的抗体进行配对。该类配对可完全规避NT-proBNP分子糖基化的影响，从而检出外周循环中总NT-proBNP。配对推荐如表3所示，代表性配对的校准曲线和样本测试结果如图9所示。

表3. 总NT-proBNP配对推荐

捕获抗体	检测抗体
15C4cc	18H5cc

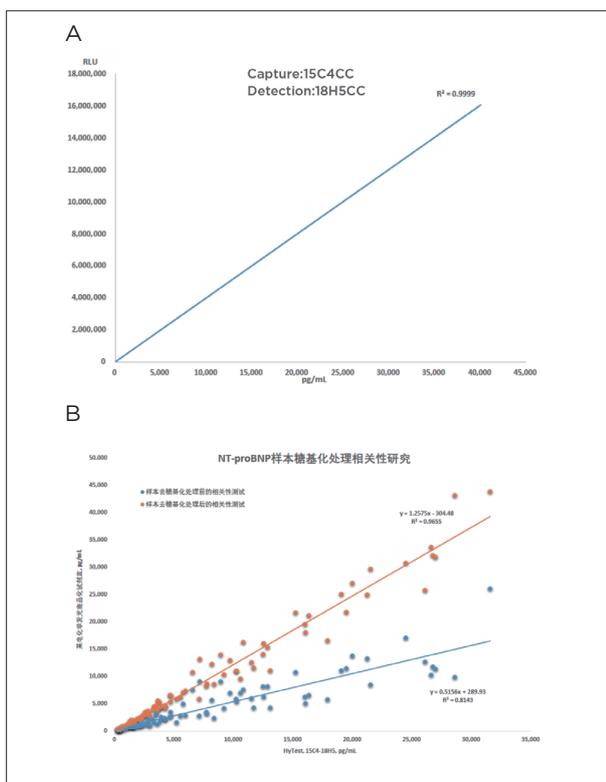


图9. 总NT-proBNP代表性配对的校准曲线(A)和样本相关性测试结果(B)。

除抗体选择外，合适的抗原也是NT-proBNP试剂开发的关键要素。由于NT-proBNP的糖基化呈现出高度的个体间和个体内差异。因此，想要获得具有代表性的天然糖基化NT-proBNP几乎不可能（图10）。同时，NT-proBNP的糖基化还会影响抗体的识别，从而进一步增大试剂间结果差异。因此，对于NT-proBNP试剂开发过程中的校准品抗原，我们仅建议选用非糖基化的NT-proBNP抗原。一方面，非糖基化NT-proBNP可被不同位点的抗体等效识别；另一方面，使用非糖基化NT-proBNP可消除糖基化抗原带来的异质性，有助于推进NT-proBNP检测标准化。

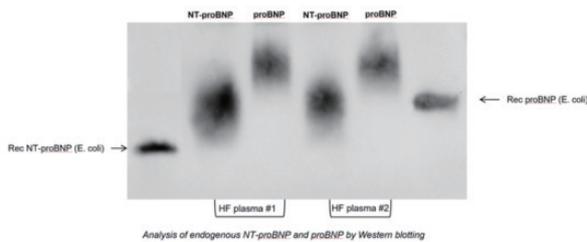


图10. 不同患者内源性NT-proBNP的WB结果分析。

HyTest提供的重组非糖基化NT-proBNP抗原，有大肠杆菌表达（纯度大于95%），可用于不同NT-proBNP试剂的校准品制备。该抗原已经被中国计量科学院选为NT-proBNP国家标准物质原料，标物号为GBW(E)091242，这也是全球范围内首个NT-proBNP的有证标准物质。

### proBNP试剂开发

除了我们自己的研究，其他研究者也发现除了NT-proBNP和BNP，proBNP也大量存在于心衰患者血液中。ProBNP的理论等电点为10.12，理论分子量为11.9KDa。由于O-多糖的存在，实际分子量可能会更高。

目前现有的绝大多数BNP和NT-proBNP试剂均与proBNP的存在不同程度的交叉反应。这使得BNP/NT-proBNP与proBNP的相关性更加接近。

研究显示，心衰患者血液中proBNP水平与BNP和NT-proBNP高度相关，这使得proBNP可以用于长期随访中对患者心血管死亡高危风险进行评估。另一篇研究显示，外周proBNP水平与心血管不良事件结局风险相关，并且独立于BNP。

相比于目前商业化BNP和NT-proBNP试剂盒，仅检测proBNP 1-108的试剂可能会进一步提升分析特异性。

### proBNP夹心免疫检测系统

我们设计的proBNP夹心免疫检测系统模型，使用一株特异识别BNP区域的抗体和一株特异识别NT-proBNP区域的抗体。模型及抗体位点信息如图11所示，推荐配对见表4。

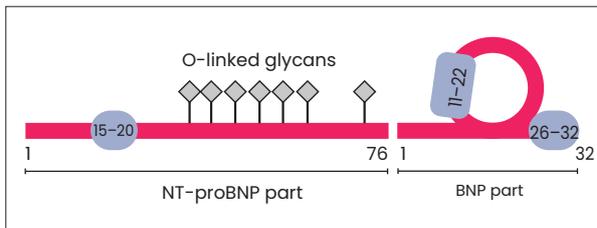


图11. ProBNP夹心免疫检测系统的推荐抗体位点。

**表4.ProBNP夹心免疫检测系统推荐配对。**

Capture	Detection
50E1cc	16F3
50E1cc	18H5cc

以上推荐配对均具有极佳的灵敏度及反应动力学。可以很好地识别重组非糖基化和糖基化proBNP及心衰患者血液中的内源性proBNP。

校准曲线。使用重组非糖基化proBNP（货号：8PRO9）作为校准品时，抗体配对50E1-16F3的灵敏度（LoD）可达到3pg/mL甚至更低（图12）。

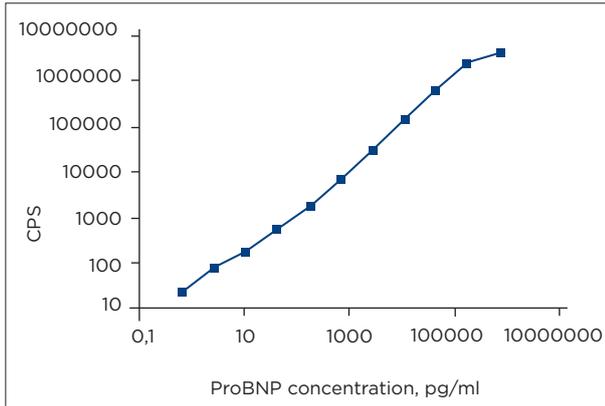


图12. 配对50E1-16F3的校准曲线。生物素标记的单抗50E1作为捕获抗体，链霉亲和素标记的16F3作为检测抗体。重组非糖基化proBNP（货号：8PRO9）作为抗原。抗体（50μL）和抗原（50μL）进行混合，于链霉亲和素包被微孔板中室温孵育反应30分钟。

## 重组抗原

### 人重组糖基化proBNP

我们提供由哺乳动物细胞表达的重组proBNP抗原（货号：8GBP3）。该抗原为糖基化抗原，SDS-PAGE条带为明显的弥散性条带，分子量在20-25kDa之间（图13）。我们推荐使用该抗原作为BNP和proBNP试剂的校准品。

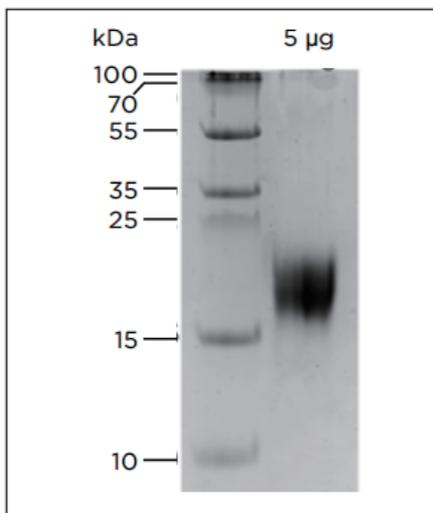


图13. 重组糖基化proBNP (Cat.#8GBP3)还原性SDS-PAGE电泳结果。

糖基化proBNP是BNP检测试剂的稳定校准品。不同BNP商品化试剂盒的检测结果之间存在显著差异，这使得检测结果的解读更加复杂。导致该差异的原因除了试剂之间抗体的选择不同之外，缺乏通用校准品是另一个主要原因。

一些BNP试剂所使用的校准品为合成BNP，然而血液中BNP主要的免疫活性形式却是proBNP。目前很多BNP试剂无法等效识别血液中的BNP和proBNP。另一方面，BNP溶解于血浆后的稳定性极差，这样进一步限制了其作为校准品的应用。

重组糖基化proBNP的优势在于它与内源性proBNP具有类似的O-多糖，稳定性远优于合成BNP。图14为用两种不同配对的BNP试剂对合成BNP、重组糖基化proBNP和心衰患者内源性proBNP的稳定性研究。结果显示，经过室温孵育24小时后，重组糖基化proBNP的活性仍然能保持90-96%，而合成BNP的活性则下降明显。

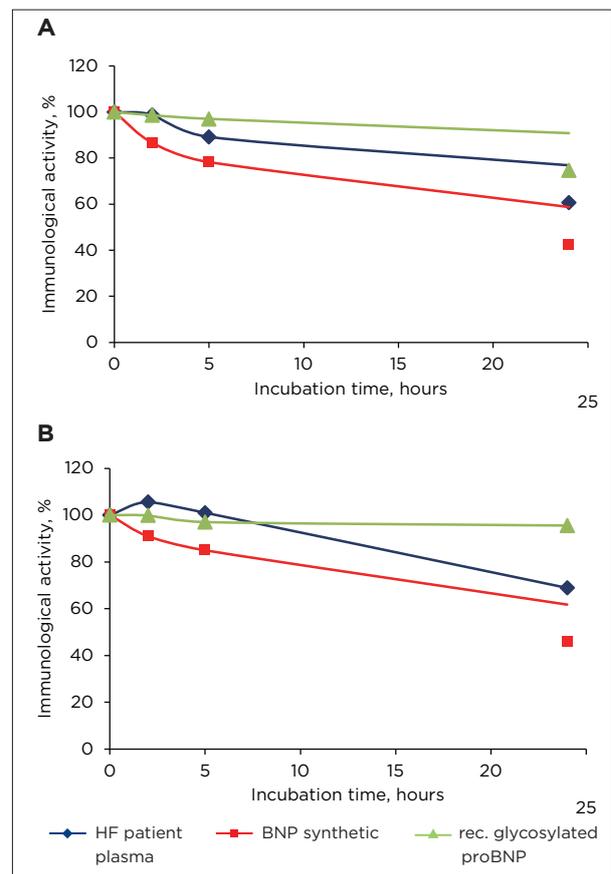


图14. 合成BNP、内源性proBNP和重组糖基化proBNP的稳定性研究。分别将合成BNP（红色）、内源性proBNP（蓝色）和重组糖基化proBNP（绿色）溶解于正常混合EDTA人血浆中，于室温条件下孵育不同时间，然后用50E1-24C5（A）和57H3-429（B）进行活性测定。

## 重组非糖基化proBNP

人重组proBNP抗原（货号：8PRO9, 1-108aa）由大肠杆菌表达，该多肽除了N端额外的甲硫氨酸之外，其序列与内源性proBNP序列完全一致。该抗原可被BNP特异性抗体（货号：4BNP2）和NT-proBNP特异性抗体（货号：4NT1）所识别。SDS-PAGE（图15）结果显示，该抗原的纯度超过95%。该抗原可以作为BNP、NT-proBNP和proBNP试剂的校准品或标准品。

## 重组非糖基化NT-proBNP

人重组NT-proBNP（货号：8NT2, 1-76aa）由大肠杆菌表达，该多肽除了N端额外的甲硫氨酸之外，其序列与内源性NT-proBNP序列完全一致。该抗原可被特异识别NT-proBNP不同位点的抗体（货号：4NT1）所识别。

SDS-PAGE（图15）和HPLC分析结果显示，该抗原的纯度超过95%，可以被用做NT-proBNP试剂的校准品与标准品。该抗原作为校准品的校准曲线如前文NT-proBNP产品部分的图9所示。

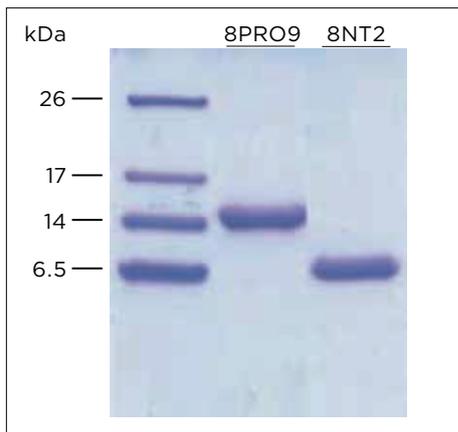


图15. 重组非糖基化proBNP（货号：8PRO9）和重组NT-proBNP（货号：8NT2）还原性SDS-PAGE电泳结果。

## HyTest科学家发表的proBNP及其相关多肽研究的精选文章

Seferian KR, Tamm NN, Semenov AG, Mukharyamova KS, Tolstaya AA, Koshkina EV, Kara AN, Krasnoselsky MI, Apple FS, Esakova TV, Filatov VL, Katrukha AG. The brain natriuretic peptide (BNP) precursor is the major immunoreactive form of BNP in patients with heart failure. Clin Chem. 2007 May;53(5):866-873

在本研究中，我们描述了proBNP、NT-proBNP和BNP单抗的开发。通过使用基于这些单抗的免疫分析检测系统和贝克曼BNP试剂，我们发现proBNP是心衰患者血液中BNP主要的免疫活性形式。同时我们还发现proBNP和BNP的比率比之前预想的要高很多。

Seferian KR, Tamm NN, Semenov AG, Tolstaya AA, Koshkina EV, Krasnoselsky MI, Postnikov AB, Serebryanaya DV, Apple FS, Murakami MM, Katrukha AG. Immunodetection of glycosylated NT-proBNP circulating in human blood. Clin Chem. 2008 May;54(5):866-873.

在本研究中，我们分析了糖基化对NT-proBNP抗体识别性能的影响。研究发现由于NT-proBNP分子中间区域O多糖的存在使得该区域很难被抗体识别。Roche Elecsys 2010 NT-proBNP试剂所使用的一个多抗的识别位点有部分包含糖基化区域，因此也会一定程度上受到影响。此外，我们还发现糖基化对于抗体检测性能的影响在不同患者样本间存在差异，说明NT-proBNP糖基化存在个体差异，这将会导致检测结果出现不可预估的偏差。最后，我们发现特异性识别NT-proBNP N末端和C末端的抗体几乎不受糖基化影响，因此在开发新一代的NT-proBNP定量检测试剂时应考虑使用不受糖基化影响的抗体。

Semenov AG, Postnikov AB, Tamm NN, Seferian KR, Karpova NS, Bloshchitsyna MN, Koshkina EV, Krasnoselsky MI, Serebryanaya DV, Katrukha AG. Processing of pro-brain natriuretic peptide is suppressed by O-glycosylation in the region close to the cleavage site. Clin Chem. 2009 Mar;55(3):489-598.

在本研究中，我们对proBNP代谢机制的研究取得了新的进展。我们的数据显示，包括弗林蛋白酶和一小部分的丝氨酸蛋白酶均参与了NT-proBNP和BNP的形成。我们也第一次发现心衰患者血液中存在一部分71号酪氨

酸未糖基化的proBNP，该位点的去糖基化通常会导致proBNP对于蛋白酶非常敏感从而裂解为NT-proBNP和BNP。这些发现使我们对外周循环中proBNP的多样性及其代谢机制有了更深的理解。

Semenov AG, Tamm NN, Seferian KR, Postnikov AB, Karpova NS, Serebryanaya DV, Koshkina EV, Krasnoselsky MI, Katrukha AG. Processing of pro-B-type natriuretic peptide: furin and corin as candidate convertases. *Clin Chem*. 2010 Jul;56(7):1166-1176.

在本研究中，我们提供了关于proBNP代谢新的发现。研究数据显示，包括Furin和一小部分Corin均参与了proBNP裂解为NT-proBNP和BNP的过程。我们首次发现，在心衰患者的外周循环中，有相当一部分Thr71非糖基化的proBNP，该类型的proBNP通常对于蛋白酶非常敏感，从而裂解为NT-proBNP和BNP。该发现提高了我们对于外周循环中多种形式的NPs的认识，同时也使我们对于proBNP的裂解机制有了进一步的了解。

Semenov AG, Seferian KR. Biochemistry of the human B-type natriuretic peptide precursor and molecular aspects of its processing. *Clin Chim Acta*. 2011 May 12;412(11-12):850-60.

综述，本文对proBNP产生及代谢领域的研究数据进行汇总，同时对proBNP潜在的临床价值进行讨论。

Semenov AG, Seferian KR, Tamm NN, Artem'eva MM, Postnikov AB, Bereznikova AV, Kara AN, Medvedeva NA, Katrukha AG. Human pro-B-type natriuretic peptide is processed in the circulation in a rat model. *Clin Chem*. 2011 Jun;57(6):883-90.

本研究中，我们向大鼠注射了人proBNP，之后用不同的BNP、NT-proBNP和proBNP免疫检测系统以及质谱分析对proBNP在鼠体内的代谢情况进行了分析。结果显示，proBNP在鼠外周循环中会发生裂解产生有活性的BNP，这说明proBNP的次级代谢是一种非常重要的调控环节而非简单的降解。

Semenov AG, Katrukha AG. Different Susceptibility of B-Type Natriuretic Peptide (BNP) and BNP Precursor (proBNP) to Cleavage by Nephilysin: The N-Terminal Part Does Matter. *Clin Chem*. 2016 Apr;62(4):617-22

本研究中，我们研究了BNP和proBNP在体外对于脑啡肽酶的敏感性。结果显示，proBNP作为BNP最主要的免疫活性形式，会抑制脑啡肽酶的降解作用。同时，脑啡肽酶抑制剂（Entresto™）对于BNP检测的影响可能取决于试剂。我们推断，BNP试剂所使用的抗体的识别区域若包含R17-I18，相比于不包含该位点的试剂将会对脑啡肽酶更加敏感。

Semenov AG, Katrukha AG. Analytical Issues with Natriuretic Peptides—has this been Overly Simplified? *EJIFCC*. 2016 Jul; 27(3): 189-207.

综述，本综述总结了近期利钠肽系统复杂性的相关研究进展，并对相关分析性问题进行了讨论，并对未来利钠肽相关临床诊断所面临过的挑战进行了展望。

Semenov AG, Tamm NN, Apple FS, Schulz KM, Love SA, Ler R, Feygina EE, Katrukha AG. Searching for a BNP standard: Glycosylated proBNP as a common calibrator enables improved comparability of commercial BNP immunoassays. *Clin Biochem*. 2017 Mar;50(4-5):181-185.

在该研究中，我们与Fred Apple教授及其团队合作，比对了6种不同的重组BNP相关蛋白，尝试寻找可以降低5种不同商品化试剂间差异的校准品候选蛋白。结果显示，一种糖基化的proBNP可以作为通用校准品降低试剂间结果差异。

## HyTest专利及商标

Immunoassay Kit for Quantification of BNP and proBNP (US 9,145,459)  
BNP及proBNP定量检测免疫分析试剂盒

Stable Standards for BNP Immunoassays (EP 2084544, CN 101641601, CA 2669024).  
BNP免疫检测系统的稳定标准品

Immunoassay for Quantification of an Unstable Antigen Selected from BNP and proBNP (US 9,034,591, US 9,034,592, JP 5686593, CN 101842707, CA 268391, EP 2135087).  
BNP和proBNP的不稳定形式抗原的定量免疫检测分析系统

## 订购信息

### 单克隆抗体

产品名称	货号	单抗	亚型	备注
BNP,利钠肽	4BNP2cc	429cc	IgG1	体外生产, EIA, a.a.r 5-13
		100cc	IgG2a	体外生产, EIA, a.a.r 10-15
		24C5cc	IgG1	体外生产, EIA, WB, a.a.r 11-17
		130cc	IgG1	体外生产, EIA, a.a.r 15-22
		50E1cc	IgG1	体外生产, EIA, WB, a.a.r 26-32
		50B7cc	IgG2a	体外生产, EIA, WB, a.a.r 26-32
		57H3cc	IgG2a	体外生产, EIA, WB, a.a.r 26-32
	4BNP2	26E2	IgG1	EIA, WB, a.a.r 11-22
NT-proBNP, N端利钠肽前体	4NT1cc	5B6cc	IgG1	体外生产, EIA, WB, a.a.r 1-12
		29D12cc	IgG2a	体外生产, EIA, WB, a.a.r 5-12
		15F11cc	IgG2b	体外生产, EIA, WB, a.a.r 13-24
		13G12cc	IgG2a	体外生产, EIA, WB, a.a.r 13-20
		18H5cc	IgG1	体外生产, EIA, WB, a.a.r 13-20
		7B5cc	IgG1	体外生产, EIA, WB, a.a.r 15-21
		NT34cc	IgG1	体外生产, EIA, WB, a.a.r 25-34
		11D1cc	IgG1	体外生产, EIA, WB, a.a.r 31-39
		16E6cc	IgG1	体外生产, EIA, WB, a.a.r 34-39
		15C4cc	IgG2b	体外生产, EIA, WB, a.a.r 63-71
		24E11cc	IgG2a	体外生产, EIA, WB, a.a.r 67-76
		NT13	IgG	重组免抗, EIA, a.a.r 27-31
		NT45	IgG	重组免抗, EIA, a.a.r 43-46
		NT46	IgG	重组免抗, EIA, a.a.r 43-46
	4NT1	16F3	IgG1	EIA, WB, a.a.r 15-20
		15D7	IgG1	EIA, WB, a.a.r 48-56
		28F8	IgG2a	EIA, WB, a.a.r 67-76

### 抗原

产品名称	货号	纯度	来源
NT-proBNP, N端利钠肽前体, 重组	8NT2	>95%	重组
proBNP, 利钠肽前体, 重组	8PRO9	>95%	重组
proBNP, 利钠肽前体, 糖基化, 重组	8GBP3	>95%	重组

### 基质

产品名称	货号	来源
去BNP和NT-proBNP血浆	8BFP	正常人混合血浆

注意: 在本技术手册中, 数据均来自于小鼠腹水体内生产的抗体。我们现提供的体外细胞培养生产的抗体与小鼠腹水体内生产的抗体具有相同的性能。