



技术报告



临床与科研领域

心肌标志物



心型脂肪酸结合蛋白 (H-FABP)



脂 肪酸结合蛋白 (FABP) 为一组相对较小的细胞

质蛋白 (12kDa ~ 15kDa)，该种蛋白大量存在于脂肪酸新陈代谢活跃的组织 (包括心脏) 中 (1)。所有 FABP 显示出相当复杂的三级结构且 FABP 的 10 个反

平行 α -链被组合为两个接近正交的 α -片，该正交 α -片形成略微椭圆的 α -桶状，带有将最前面两个 α -链连接起来的 8 ~ 10 个残基螺旋 (2)。

心型脂肪酸结合蛋白 (H-FABP 或 FABP3) 由 133 个氨基酸组成，分子量为 14858Da、理论 pI 为 6.29。近 20 年来，FABP 已作为一个早期高灵敏度的心肌损伤标志物被用于临床实践。它被广泛应用于急性冠脉综合征患者的急诊检测 (3)。虽然 H-FABP 大量存在于心肌细胞质基质中，但其极易随心肌损伤进入循环过程。在急性心肌梗塞 (AMI) 后，H-FABP 从受损的心肌细胞中释放的速度远快于其他蛋白，如心肌损伤最具特异性的标志物——肌钙蛋白。出现症状后的 1 ~ 3 小时内，可检测到患者血液内 H-FABP 浓度开始上升，6 小时内达到峰值，随后在 12 ~ 24 小时内恢复为正常水平 (3,4)。另一方面，H-FABP 与另一种心脏损伤早期标志物肌红蛋白相比，更具有明显的特异性。H-FABP 在心脏中的分布 (约为 0.6mg/g) 约为其在骨骼肌组织中分布的 1/10，然而肌红蛋白在心脏中的分布 (2.7mg/g)，等于

或甚至低于其在骨骼肌组织中的分布 (2.2 ~ 6.7mg/g) (5)。

这种在组织中分布的差异可以用来区分心肌损伤与骨骼肌损伤。先前的研究表明 H-FABP 可作为下述疾病的可靠诊断标志物：肥厚性心肌病和扩张性心肌病，心力衰竭，心肌梗死面积的早期估测，再灌注损伤标志物，以及作为冠状动脉搭桥手术病人、中风病人及阻塞性睡眠呼吸暂停综合征病人术后心肌组织缺损的早期检测标志物 (6-11)。另外，在长期随访中，H-FABP 水平与慢性血栓栓塞性肺动脉高压患者的死亡风险有关 (12)。此外，H-FABP 还显示出其可作为一种在早期无症状阶段对患有代谢综合症的患者进行成功的心脏损伤检测的标志物 (13)。

H-FABP 作为 AMI 的诊断标志物也有不足之处，包括相对较低 (与肌钙蛋白相比) 的心肌特异性，较短的诊断窗口期 (在胸痛开始 1 ~ 24 小时)，且其血浆清除路径主要通过肾脏，在肾功能不全的患者中可能会产生假阳性。但上述缺陷可通过之后的更特异性的标志物联检来克服，如 cTnI。

由 HyTest 公司生产的新一代 FABP 单克隆抗体，使得开发高灵敏度的快速夹心免疫法检测成为可能。我们的内部测定数据显示线性检测范围为 0.15 μ g/L ~ 500 μ g/L (检测下限为 0.05 μ g/L)。所有建议的单抗配对均经过小规模临床检测，血液样本来自 AMI 患者。

心型脂肪酸结合蛋白单克隆抗体

杂交瘤细胞由Sp2/O骨髓瘤细胞和用纯化的人FABP免疫的Balb/c小鼠的脾细胞融合产生。单克隆抗体可用于直接法ELISA、Western blot、夹心法免疫测定或其他方法的FABP 免疫化学检测。

在Western blot中的H-FABP 免疫检测

对于在蛋白免疫印迹中的H-FABP免疫检测，我们推荐使用克隆22，30或31。

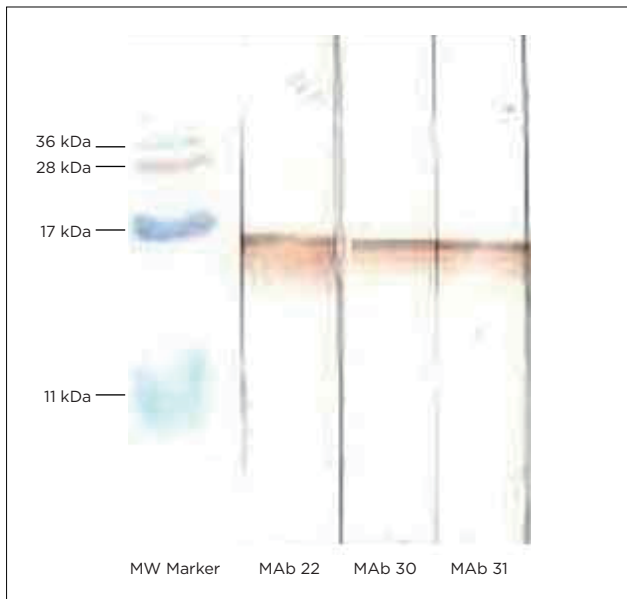


图1. 在还原性PAGE电泳后，使用22，30和31在Western blot中检测H-FABP

显色：辣根过氧化物酶标记抗小鼠IgG
底物：DAB

在直接法ELISA 中的H-FABP 免疫检测

所有克隆均可在直接法ELISA中识别人H-FABP(图2)。

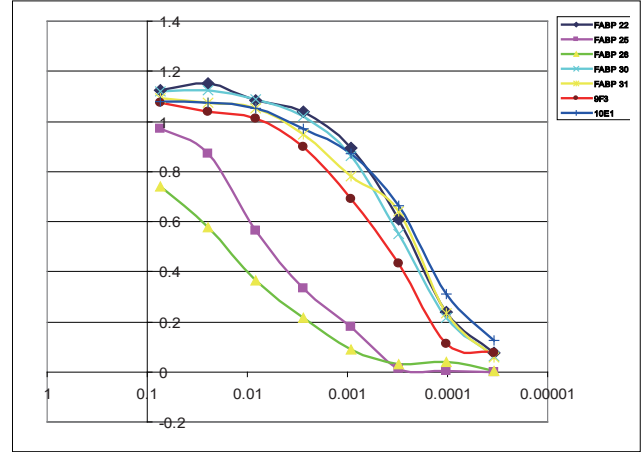


图2.在直接法ELISA中，克隆9F3，10E1，22，25，28，30，31与分离自心脏的H-FABP的相互作用
每孔包被40ng人H-FABP。个别克隆(25和28)与其他抗体相比，表现出较低的反应性。这是因为抗原被吸附到板表面后，相应的抗原表位结构发生了改变。

夹心法定量免疫检测H-FABP

所有克隆分别作为捕获和检测抗体配对检测，以选出最适用于开发定量夹心免疫检测的组合。

图3显示的是几个最佳的H-FABP单克隆抗体配对的校准曲线。检测抗体以稳定的Eu³⁺螯合物进行标记。从图3中可以看出，新一代FABP单抗与选自第一代单抗的最佳配对(9F3-10E1)相比，灵敏度明显提高。

适用于定量检测人H-FABP免疫分析系统的最佳单抗组合为(捕获-检测)：

- 28 - 22
- 28 - 30
- 28 - 31
- 28 - 10E1
- 22 - 25

如上所述，所有推荐的配对均通过AMI患者血液样本进行了小规模临床试验评估。图4显示了各配对在几例代表性患者血清中的H-FABP测量结果的比较。

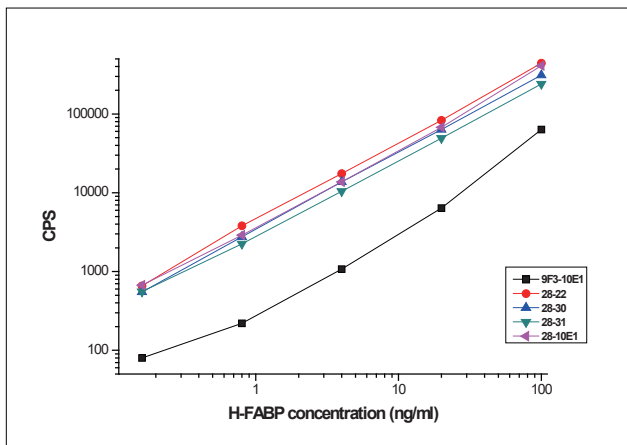


图3. H-FABP夹心荧光免疫反应的校准曲线
 抗原：人H-FABP
 捕获抗体 - 未标记
 检测抗体：以稳定的Eu³⁺螯合物标记

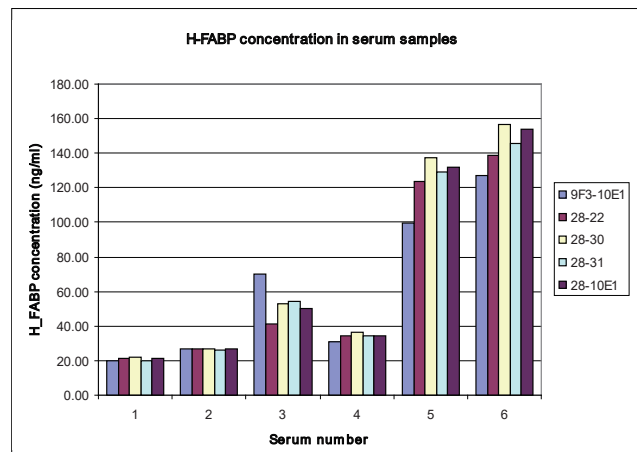


图4. 不同配对检测出的AMI患者血清样本中的H-FABP浓度

订购信息

单克隆抗体

产品名称	货号	克隆号	亚型	应用
脂肪酸结合蛋白	4F29	5B5	IgG1	EIA
		9F3	IgG1	EIA
		10E1	IgG1	EIA
		22	IgG1	EIA, WB
		25	IgG1	EIA
		28	IgG1	EIA
		30	IgG1	EIA, WB
		31	IgG1	EIA, WB

抗原

产品名称	货号	纯度	来源
脂肪酸结合蛋白	8F65	>95%	人心肌

去H-FABP血清

产品名称	货号	来源
去脂肪酸结合蛋白血清	8FFS	混合人血浆

参考文献

1. **Storch and A.E. Thumser**, The fatty acid transport function of fatty acid-binding proteins, *Biochim Biophys Acta* 1486 (2000), pp. 28–44
2. **Zhang F, Lücke C, Baier LJ, Sacchettini JC, Hamilton JA**. Solution structure of human intestinal fatty acid binding protein: implications for ligand entry and exit. *J Biomol NMR*. 1997 Apr;9(3):213-28.
3. **H.A. Alhadi and K.A. Fox**, Do we need additional markers of myocyte necrosis: the potential value of heart fatty-acid-binding protein, *QJMed* 97 (2004), pp. 187–198.
4. **Azzazy HM, Pelsers MM, Christenson RH**. Unbound free fatty acids and heart-type fatty acid-binding protein; diagnostic assays and clinical applications. *Clin Chem* 2006; 52: 19-29.
5. **Wu A**. Cardiac markers. Second edition, 2003, Humana Press
6. **Wodzig KW, Kragten JA, Hermens WT, Glatz JF, van Dieijen-Visser MP**. Estimation of myocardial infarct size from plasma myoglobin or fatty acid-binding protein. Influence of renal function. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1997 Mar;35(3):191-8.
7. **Ishii J, Nagamura Y, Nomura M, Wang JH, Taga S, Kinoshita M, Kurokawa H, Iwase M, Kondo T, Watanabe Y, Hishida H, Tanaka T, Kawamura K**. Early detection of successful coronary reperfusion based on serum concentration of human heart-type cytoplasmic fatty acid-binding protein. *Clin Chim Acta*. 1997 Jun 27;262(1-2):13-27.
8. **Petzold T, Feindt P, Sunderdiek U, Boeken U, Fischer Y, Gams E**. Hearttype fatty acid binding protein (hFABP) in the diagnosis of myocardial damage in coronary artery bypass grafting. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2001 Jun;19(6):859-64
9. **Fransen EJ, Maessen JG, Hermens WT, Glatz JF** Demonstration of ischemiareperfusion injury separate from postoperative infarction in coronary artery bypass graft patients.. *Ann Thorac Surg*. 1998 Jan;65(1):48-53.
10. **Lescuyer P, Allard L, Hochstrasser DF, Sanchez JC**. Heart-fatty acid-binding protein as a marker for early detection of acute myocardial infarction and stroke. *Mol Diagn*. 2005;9(1):1-7.
11. **Oktay B, Akbal E, Firat H, Ardic S, Akdemir R, Kizilgun M**. Evaluation of the relationship between heart type fatty acid binding protein levels and the risk of cardiac damage in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Breath*. 2008 Aug;12(3):223-8. Epub 2008 Jan 19.
12. **Claudia Dellas , Miriam Puls , Mareike Lankeit MDa, Katrin Schäfer MDa, Mayumi Cuny, Maik Berner, Gerd Hasenfuss and Stavros Konstantinides** Elevated Heart-Type Fatty Acid-Binding Protein Levels on Admission Predict an Adverse Outcome in Normotensive Patients With Acute Pulmonary Embolism *Journal of the American College of Cardiology*. Volume 55, Issue 19, 11 May 2010, Pages 2150-2157
13. **Akbal E, Ozbek M, Güneş F, Akyürek O, Ureten K, Delibaşı T**. Serum heart type fatty acid binding protein levels in metabolic syndrome. *Endocrine*. 2009 Oct 6.