

XXI 视黄醇结合蛋白4 (Retinol-Binding Protein 4)

视黄醇结合蛋白4 (retinol-binding protein 4, RBP4) 属于脂质运载蛋白家族, 是血清维生素A的载体蛋白。血液中循环的人视黄醇结合蛋白含有183个氨基酸残基。文献中还描述了几种缺少C端1、2、4或6个残基的截断的RBP4亚型(7)。在血液中, RBP4作为视黄醇(维生素A)的载体, 同视黄醇以相同当量结合。除此以外, 大部分循环的RBP4还和前白蛋白(甲状腺素转运蛋白)形成复合物。根据Jaconi等人研究, 血清中只有一小部分游离的RBP4(7)。

作为视黄醇的载体蛋白, RBP4的研究起始于二十世纪六十年代。然而, 最新数据表明RBP4可能参与了II型糖尿病的发病过程。Yang等证实了血清RBP4水平在肥胖和II型糖尿病患者中有所升高。而小鼠研究则证实血清RBP4可能导致胰岛素耐受性(1)。因此, 一方面越来越多的证据证实RBP4是II型糖尿

病风险的有前景的标记物; 而另一方面, 文献中对RBP4在预测胰岛素耐受性和II型糖尿病方面有相矛盾的临床用途报道(3)。某些研究者指出了在肥胖和II型糖尿病患者以及有II型糖尿病家族病史的非肥胖患者中。循环RBP4和胰岛素耐受性程度的严格正比关系(2)。相反, 其他人没有发现这些变量间的任何关系(4, 5)。这种模糊情形至少可以被部分解释为血清RBP4的不均一性, 以及循环RBP4浓度检测方法的不足(6)。如果诊断抗体的识别部位被RBP4截断或与视黄醇以及前白蛋白形成的复合物影响, 那么使用这些抗体的检测系统检测的RBP4水平, 将和使用不受这些修饰影响的抗体的检测系统所检测的结果不同。

我公司提供一系列抗人RBP4单克隆抗体, 适用于夹心免疫检测系统的开发—此系统适用于定量检测人血浆中的RBP4, 也适用于RBP4的直接酶联免疫吸附分析、免疫印记分析和免疫沉淀。

1 纯化内源性RBP4

天然RBP4代表了RBP4最自然的形式，因此是检测系统校准品的首选。我们已知血清RBP4的主要存在形式是与前白蛋白（甲状腺素转运蛋白）以1:1形成的复合物，只有一小部分的RBP4以自由单体形式存在于血液中（7）。

我公司提供两种纯化的天然RBP4抗原：单体和与前白蛋白形成的复合物。这两种形式的内源性RBP4都是在温和的条件下使用几种层析步骤从正常人混合血清中提纯（图107）。

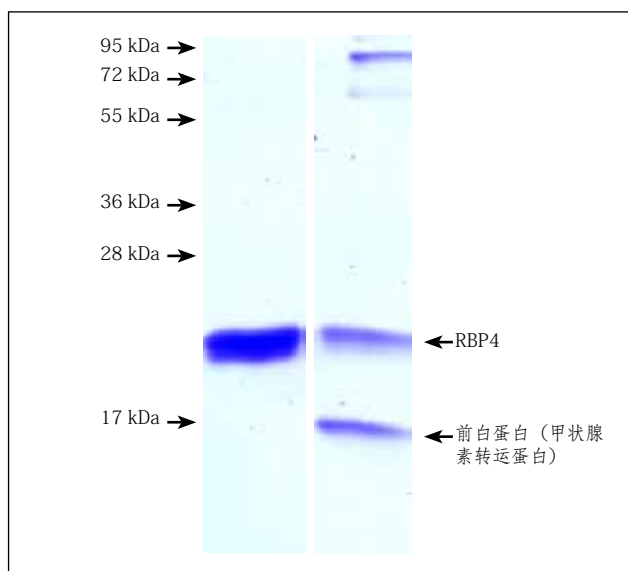


图107 从正常人混合血清中提取的RBP4（还原性SDS凝胶电泳后考马斯亮蓝染色）

泳道：

1：天然RBP4单体，3 μg/泳道

2：天然RBP4/前白蛋白复合物，共2 μg蛋白/泳道

箭头所示为分子量标记位置。

天然RBP4单体和天然RBP4复合物抗原都不受多次（至少5-7次）冻融的影响（图108）。

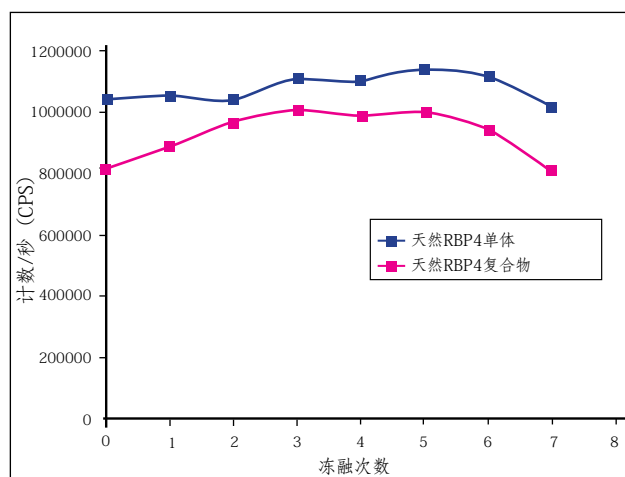


图108 反复冻融后，天然RBP4单体和复合物的免疫活性，通过RB48 - RB42检测系统测定

捕获抗体：RB48（1 μg/孔）

检测抗体：稳定辅螯合物标记RB42（0.2 μg/孔）

抗原：天然纯化RBP4

订购信息

产品名称	目录号	纯度	来源
人血浆视黄醇结合蛋白4（RBP4），与前白蛋白形成的复合物	8RP7	>70%	人血浆
人血浆视黄醇结合蛋白4（RBP4）单体	8RF9	>95%	人血浆

2 抗人RBP4单克隆抗体

宿主动物:	Balb/c小鼠
融合用细胞系:	Sp2/O
抗原:	人重组视黄醇结合蛋白
提纯方法:	蛋白A亲和层析
物理状态:	单抗溶于PBS, 并含有0.1%叠氮钠
应用:	酶联免疫吸附分析、RBP4夹心免疫检测、免疫印记分析

杂交瘤细胞由Sp2/O骨髓瘤细胞和用人重组RBP4免疫的Balb/c小鼠的脾细胞融合而产生。

2.1 应用

2.1.1 人血浆RBP4夹心免疫检测系统

抗人RBP4单抗从用人重组RBP4免疫的小鼠中获得。所有的单抗都在直接酶联免疫吸附分析中经人重组和天然RBP4(内源性, 从人血液中提纯)测试。最佳单抗在夹心免疫检测系统中进一步被测试。我们的专家筛选出多个对重组和内源性蛋白都表现出最高灵敏度的双部位抗体组合(图109), 并推荐用于RBP4夹心免疫检测系统的开发。

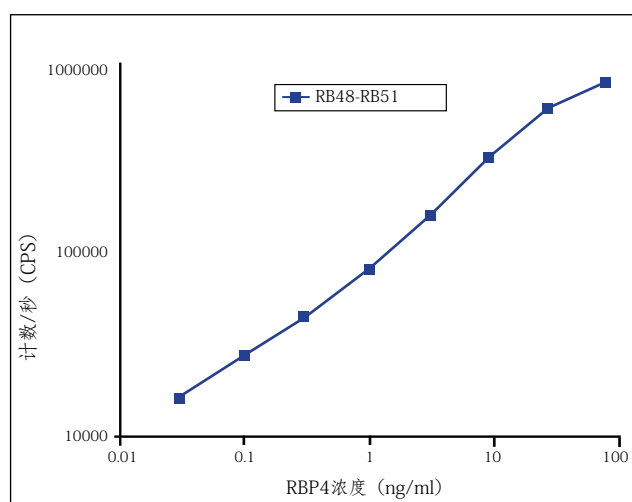


图109 RBP4夹心免疫检测系统的校准曲线
捕获抗体: RB48 (1 μ g/孔)
检测抗体: 稳定铈螯合物标记RB51 (0.2 μ g/孔)
抗原: 纯化内源性RBP4

我公司提供单抗RB42、RB48、RB45、RB49、RB51和RB55, 适合于用直接酶免吸附分析和夹心免疫检测系统检测天然RBP4。推荐用于夹心免疫检测系统开发的抗体组合为(捕获抗体-检测抗体):

RB48 - RB42
RB48 - RB49
RB48 - RB51
RB55 - RB45

筛选出的检测系统可在高度稀释的人血浆中识别内源性抗原(图110)。

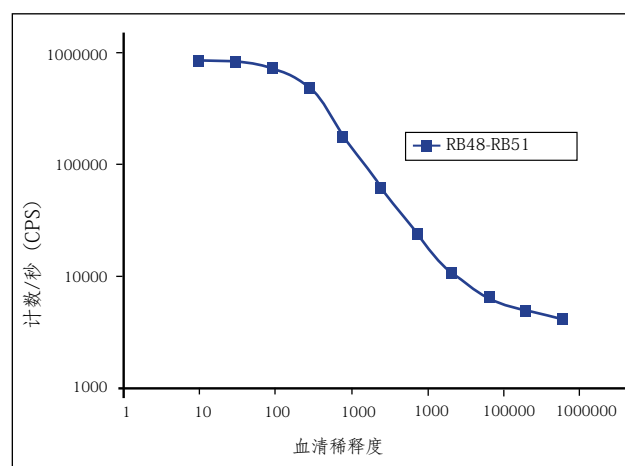


图110 人血浆样品的滴定曲线
捕获抗体: RB48 (1 μ g/孔)
检测抗体: 稳定铈螯合物标记RB51 (0.2 μ g/孔)
抗原: 正常人混合血清, 经含有0.1% Tween-20的PBS稀释。

当样品中含有EDTA时,使用推荐的单抗组合所测得的天然RBP4的免疫活性不变(图111)。

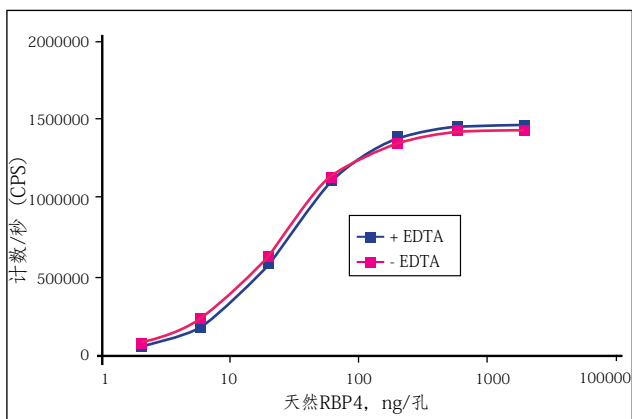


图111 在有(蓝线) / 无(粉红线) 5 mM EDTA情况下,通过单抗RB48-RB42夹心免疫检测系统检测纯化的内源性RBP4
捕获抗体: RB48 (1 μ g/孔)
检测抗体: 稳定辅螯合物标记RB42 (0.2 μ g/孔)
抗原: 纯化的天然RBP4

我公司所有的抗RBP4单抗都可识别RBP4单体和与前白蛋白形成的复合物。

2.1.2 免疫沉淀分析

将我公司抗RBP4单抗包被到BrCN活化琼脂糖凝胶上,可用作RBP4免疫沉淀分析的亲和基质。

2.1.3 免疫印记分析

我公司单抗RB42、RB45、RB48、RB51可被用于RBP免疫印记检测(图112)。

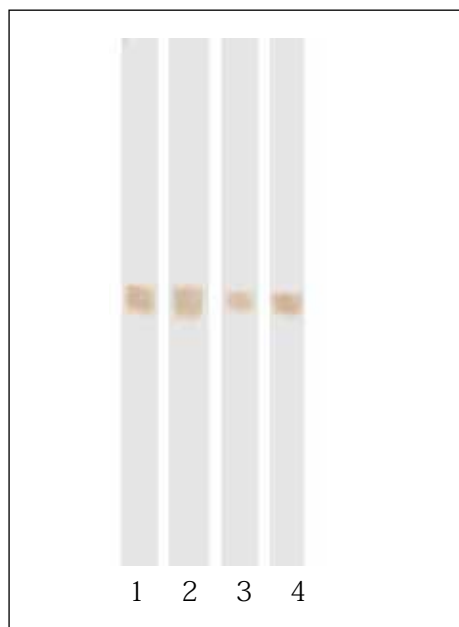


图112 还原性SDS凝胶电泳后,通过单抗RB42(泳道1), RB45(泳道2)、RB48(泳道3)和RB51(泳道4)免疫印记检测RBP4 每个泳道使用了1 μ g纯化天然RBP4。

订购信息

单抗名称	目录号	特异性	亚型	应用
RB42	4RB2	视黄醇结合蛋白	IgG1	EIA, WB
RB45	4RB2	视黄醇结合蛋白	IgG1	EIA, WB
RB48	4RB2	视黄醇结合蛋白	IgG1	EIA, WB
RB49	4RB2	视黄醇结合蛋白	IgG1	EIA, WB
RB51	4RB2	视黄醇结合蛋白	IgG1	EIA, WB
RB55	4RB2	视黄醇结合蛋白	IgG1	EIA, WB

EIA: 酶免疫分析 WB: 免疫印记分析

参考文献:

- Yang, Q., et al., Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*, 2005, 436, 356-362.
- Graham, T., et al., Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *New Engl. J. Med.*, 2006, 354, 24, 2552-2563.
- Qi, Q., et al., Elevated retinol-binding protein 4 levels are associated with metabolic syndrome in Chinese people. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007, 92, 4827-4834.
- Lewis, J., et al., Plasma retinol-binding protein is unlikely to be a useful marker of insulin resistance. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2008, 80, 13-15.
- Promintzer, M., et al., Insulin resistance is unrelated to circulating retinol binding protein and protein C inhibitor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007, 92, 4306-4312.
- Graham, T., et al., Shortcomings in methodology complicate measurements of serum retinol binding protein (RBP4) in insulin resistant human subjects. *Diabetologia*, 2007, 50, 814-824.
- Jaconi, S., Characterization of two post-translationally processed forms of human serum retinol-binding protein: altered ratios in chronic renal failure. *J. Lip. Res.*, 1995, 36, 1247-1253.