



新一代心肌肌钙蛋白I 24-40表位 特异性单克隆抗体



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。

24-40 a.a.r 特异性单克隆抗体

针对cTnI的24-40 a.a.r，我们开发了2株鼠单抗（1017cc和1039cc，货号：4T21cc）和四株兔单抗（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1ng/L）以及极高的特异性（与cTnT和骨骼肌TnI无交叉反应）。

这是HyTest首次建议使用兔单抗进行高敏肌钙蛋白I试剂开发。从初代cTnI试剂盒到现在的大多数高敏肌钙蛋白I试剂盒，均使用了传统的小鼠单抗。与鼠单抗相比，由于抗体结构上的差异，兔抗体具有更高的抗原亲和力和，因此可以进一步提升试剂的灵敏度。

抗体配对推荐

我们将新抗体与其他HyTest cTnI单抗进行配对，并在化学发光平台中进行了验证。有若干最优配对展示出了极高的灵敏度（LoD低于1ng/L）并可高效识别AMI患者血液样本中的抗原。这些配对均可以用于高敏肌钙蛋白I试剂的开发（如表1所示）。

表1. 用于cTnI定量夹心免疫检测系统开发的配对推荐。

| 捕获抗体 | 检测抗体 |
|--------|--------|
| RecR1 | 20C6cc |
| RecR23 | 20C6cc |
| RecR85 | 20C6cc |
| RecR33 | MF4cc |
| MF4cc | RecR33 |
| 625 | 1017cc |
| 625 | 1039cc |
| 19C7cc | RecR33 |

与雅培ARCHITECT STAT肌钙蛋白I试剂以及贝克曼ACCESS 高敏肌钙蛋白I试剂的相关性分析

我们使用识别24-40 a.a.r的新抗体作为检测抗体或捕获抗体设计了原型肌钙蛋白I检测系统，可以高效检出AMI患者血清和血浆样本中的cTnI。这些配对与两种商品化试剂

盒之间也存在良好的相关性，相关系数在0.92到0.95之间（雅培和贝克曼的样本数分别为51例和38例，结果如图1所示）。

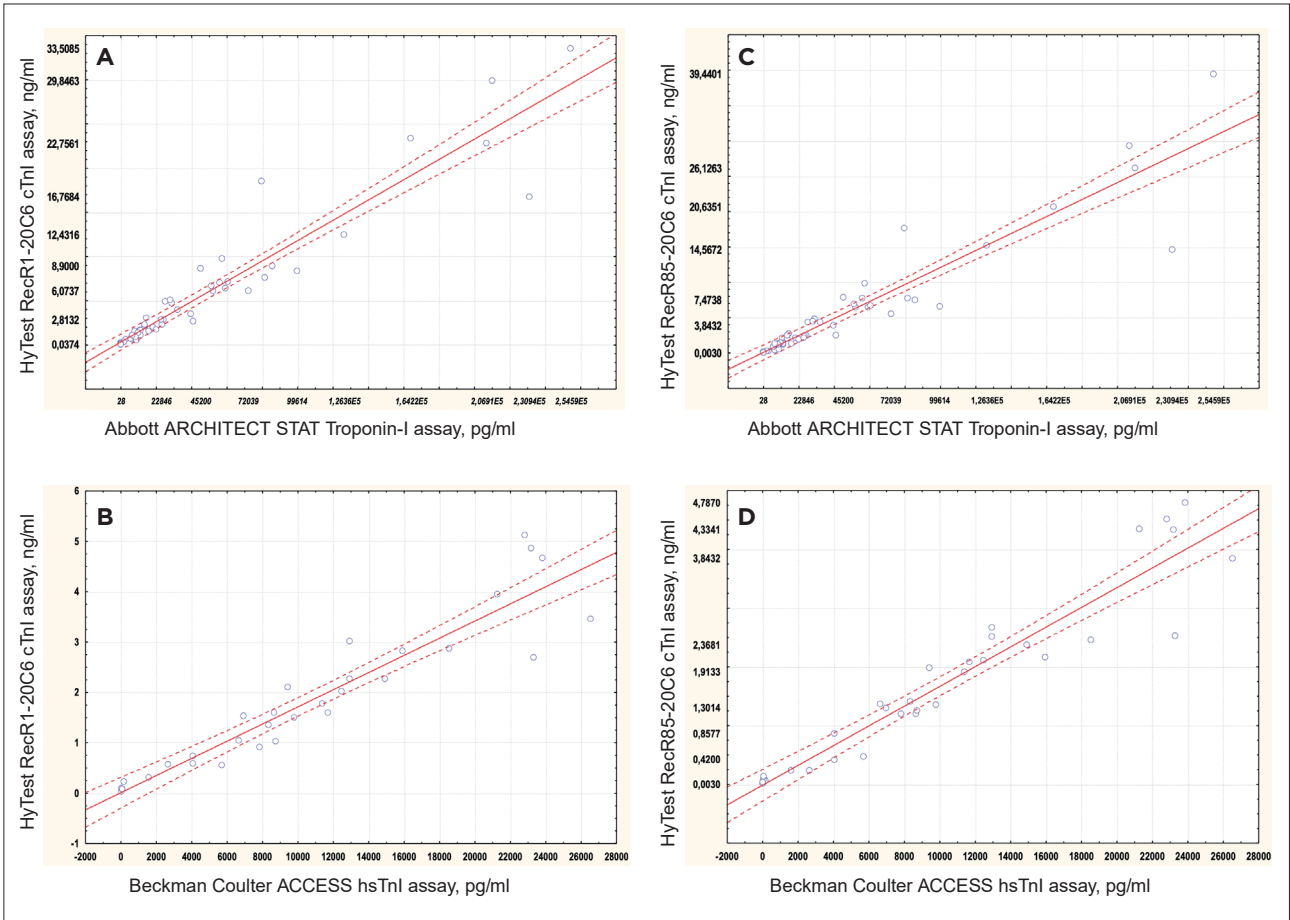


图1. HyTest重组兔单抗配对与商品化试剂盒的相关性结果。两组配对分别为RecR1-20C6和RecR85-20C6，商品化试剂为雅培ARCHITECT STAT Troponin-I试剂（51例样本，图A和图C）和贝克曼ACCESS hsTnI（38例样本，图B和图D）。

与骨骼肌亚型TnI的交叉反应

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导致结果的假阳性。

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骨骼肌肌钙蛋白的交叉反应。结果显示，在骨骼肌TnI浓度高达100µg/L的情况下，所有配对与其均无交叉反应。

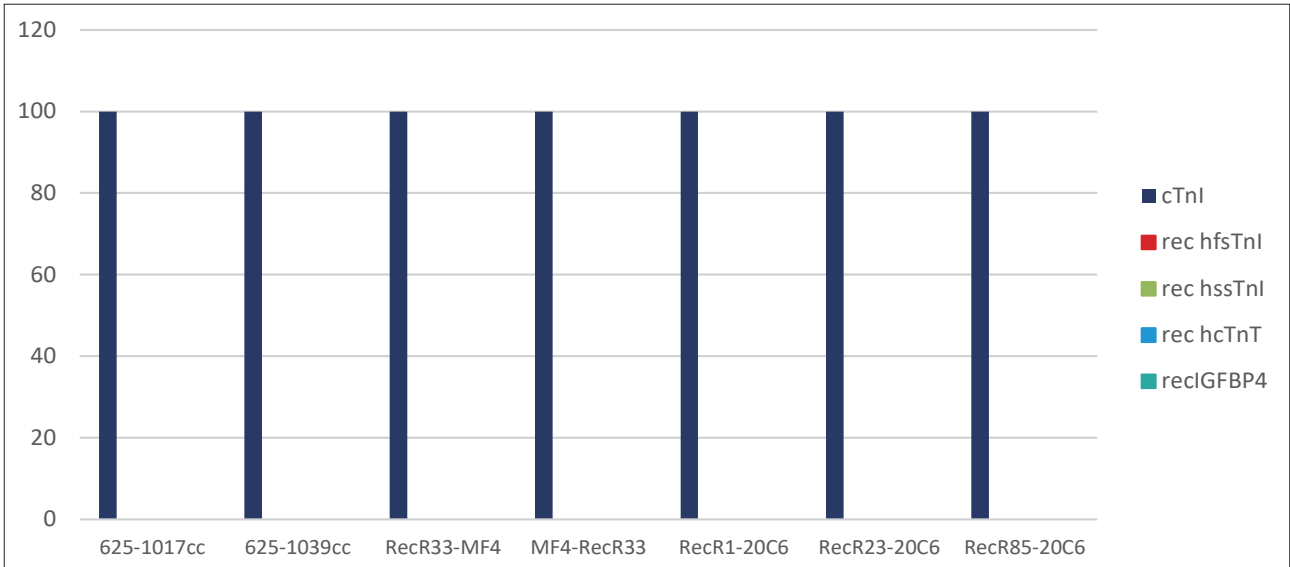


图2. 使用24-40 a.a.r抗体的配对，与骨骼肌TnI和心肌肌钙蛋白T无交叉反应。cTnT和骨骼肌TnI的浓度高达100 µg/L。

HAMA效应

患者样本中存在的异嗜性抗体（包括人抗鼠抗体，HAMA），是影响免疫检测特异性的因素之一。异嗜性抗体可能会导致结果出现假阳性或者假阴性（比较少见）。针对HAMA的影响，目前有若干解决方案，如添加非特异的小鼠

抗体、使用抗体片段或者嵌合抗体等。对于解决方案，这里我们提供的一种可供选择的策略，即使用兔-鼠混合配对。如图3所示，使用兔抗体替代夹心配对中的一株鼠抗体作为检测抗体或者捕获抗体，可以完全消除HAMA导致的假阳性。

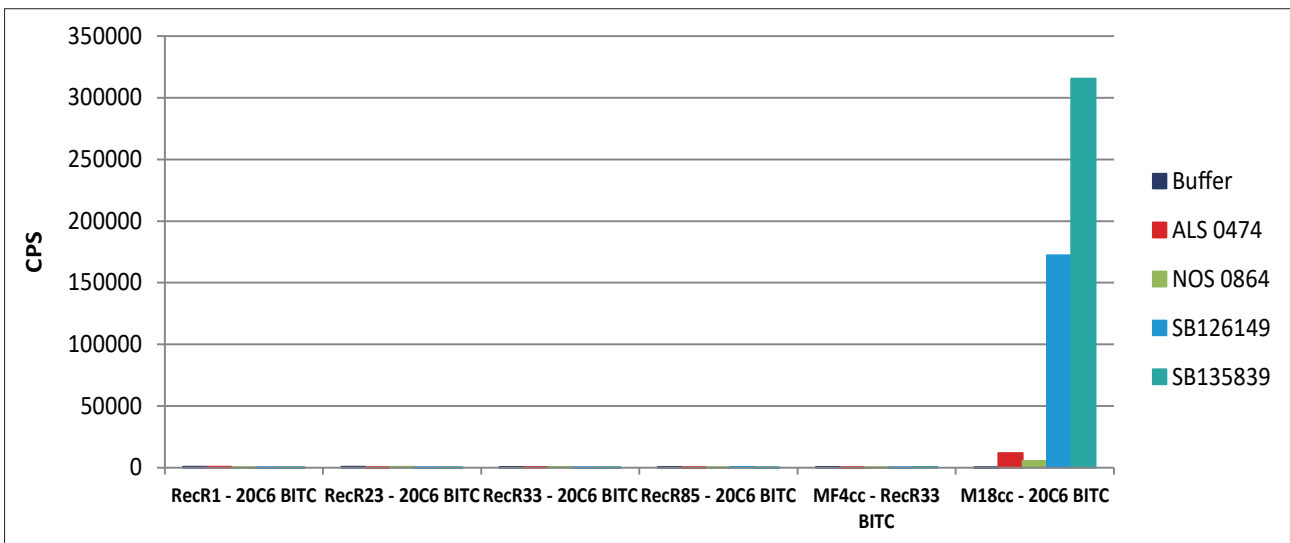


图3. 兔抗体可以消除HAMA阳性血清样本中的假阳性信号。M18cc-20C6配对使用了两株鼠单抗。

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 | 4T21 | 625 | IgG1 | EIA, WB, a.a.r. 169-178 |
| | 4T21cc | 1017cc | IgG1 | 体外培养, EIA, WB, a.a.r. 22-40 |
| | | 1039cc | IgG1 | 体外培养, EIA, WB, a.a.r. 22-40 |
| | | 19C7cc | IgG2b | 体外培养, EIA, WB, a.a.r. 41-49 |
| | | MF4cc | IgG1 | 体外培养, EIA, WB, a.a.r. 190-196 |
| | | RC4T21 | RecR1 | IgG |
| | | 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 |
| | 心肌肌钙蛋白复合物 | 4TC2 | 20C6cc | IgG2b |



HyTest 重组兔单克隆抗体技术

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。

我们提供的重组兔单抗可量产（克级以上），足以满足工业客户的用量需求。

通过将重组兔单抗与传统鼠源单抗配对开发夹心免疫试剂，也可有效降低异嗜性抗体对试剂的影响。