

Белок, связывающий жирные кислоты сердечного типа (Н-FABP)

Белки, связывающие жирные кислоты (FABP), представляют собой группу небольших (12-15 кДа) цитоплазматических белков, которые обильно присутствуют в тканях с активным метаболизмом жирных кислот. Они участвуют во внутриклеточном транспорте длинноцепочечных жирных кислот. Сердечный белок, связывающий жирные кислоты (Н-FABP), состоит из 132 аминокислот и является одним из наиболее распространенных белков в ткани миокарда, который составляет 5-15% цитоплазматических белков в сердце человека.

Н-FABP в диагностике

Н-FABP является одним из ранних маркеров острого коронарного синдрома. Его специфичность намного выше, чем у миоглобина, который является еще одним ранним маркером повреждения сердца (1). После приступа острого инфаркта миокарда уровень Н-FABP в крови быстро увеличивается. Белок может быть обнаружен намного раньше, чем сердечные тропонины, которые являются наиболее специфическими биомаркерами инфаркта миокарда. Концентрация Н-FABP достигает пика в течение шести часов и возвращается к норме через 12-24 часа. После этого он теряет свою клиническую ценность.

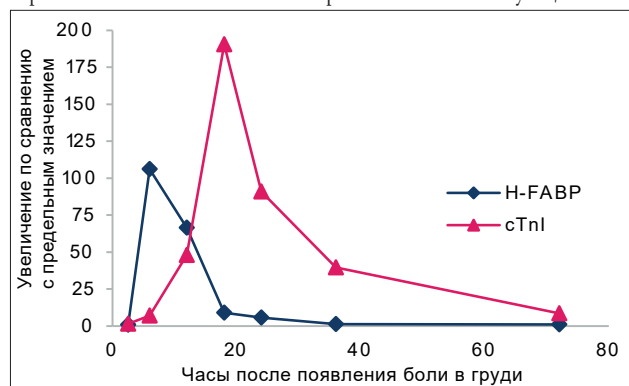


Рисунок 1.

Последовательные измерения концентрации Н-FABP и сердечного тропонина I в крови типичного пациента с ОИМ.

Концентрации двух сердечных биомаркеров определялись в семи различных временных точках после возникновения стенокардии. Профили концентраций показывают, что Н-FABP достигает пика раньше сердечного тропонина I. Его уровень в крови также быстрее нормализуется.

Н-FABP позволяет получить ценную информацию для диагностики пациентов с подозрением на инфаркт миокарда. Н-FABP сам по себе недостаточно специфичен в качестве маркера повреждений сердца, поскольку он также экспрессируется и в других тканях. Кроме того, его диагностический диапазон не такой широкий, например, как у тропонина. Однако, как часть мультимаркерной панели, Н-FABP приносит дополнительную пользу для клинико-диагностических решений и применяется при оказании экстренной помощи пациентам с острым коронарным синдромом (2). Измерения Н-FABP можно использовать для выявления пациентов с низким риском острого инфаркта миокарда (ОИМ) и, следовательно, для их скорейшего выздоровления (3).

Н-FABP был идентифицирован как биомаркер для определения неблагоприятного прогноза у пациентов с тромбоэмболией легочной артерии. Европейское общество кардиологов по диагностике и лечению острой легочной эмболии (4) рекомендует Н-FABP в качестве одного из биомаркеров, который можно использовать для выявления стратификации риска в подтвержденных случаях легочной эмболии.

Реагенты для иммуноанализа Н-FABP

Мы предлагаем восемь различных моноклональных антител, специфичных к Н-FABP. Они позволяют разрабатывать чувствительные иммуноанализы с пределом обнаружения 0,05 г/л (на нашей собственной флуоресцентной иммуноаналитической платформе). Кроме того, мы предоставляем нативный человеческий FABP, очищенный из сердечной ткани.

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

- Ранний маркер острой сердечной недостаточности
- Прогноз неблагоприятного прогноза тромбоэмболии легочной артерии

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА, СПЕЦИФИЧНЫЕ К Н-FAVP

Сэндвич-иммуноанализ для количественного определения Н-FAVP

Мы протестировали все МоАТ попарно в качестве подложки и детектирующих антител, чтобы выбрать наиболее эффективные комбинации антител. Калибровочные кривые для нескольких «сэндвич»-иммуноанализов показаны на рисунке 2. В таблице 1 перечислены лучшие комбинации антител.

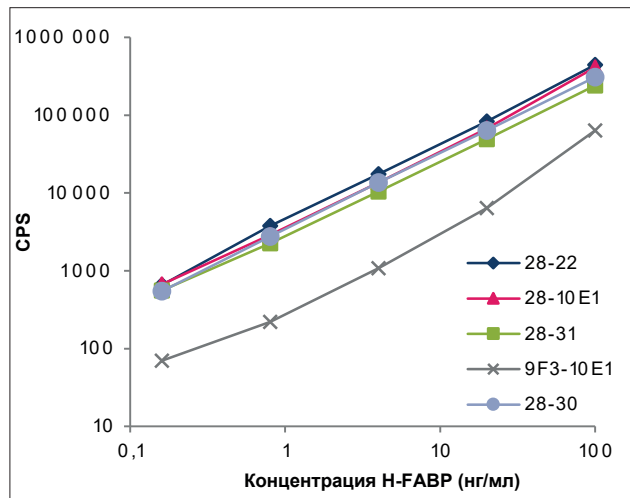


Рисунок 2.
Калибровочные кривые сэндвич-флуоресцентного иммуноанализа для определения Н-FAVP.
Детекторные антитела были помечены стабильным хелатом европия (Eu3+), в свою очередь используемым антигеном был очищенный нативный Н-FAVP.

Таблица 1.
Лучшие комбинации МоАТ для разработки количественных сэндвич-иммуноанализов для детекции Н-FAVP.
Данные основаны на результатах, полученных с помощью нашей собственной флуоресцентной иммуноаналитической платформы с временным разрешением.

Захват	Детекция
28cc	22
28cc	10E1
28cc	31
9F3cc	10E1

Измерение Н-FAVP в образцах пациентов

Для подтверждения эффективности работы антител с клиническими образцами мы определили концентрацию Н-FAVP в образцах сыворотки от сотен пациентов, у которых был диагностирован острый инфаркт миокарда. На рисунке 3 показаны результаты, полученные с несколькими различными комбинациями МоАТ из сыворотки шести пациентов с ОИМ.

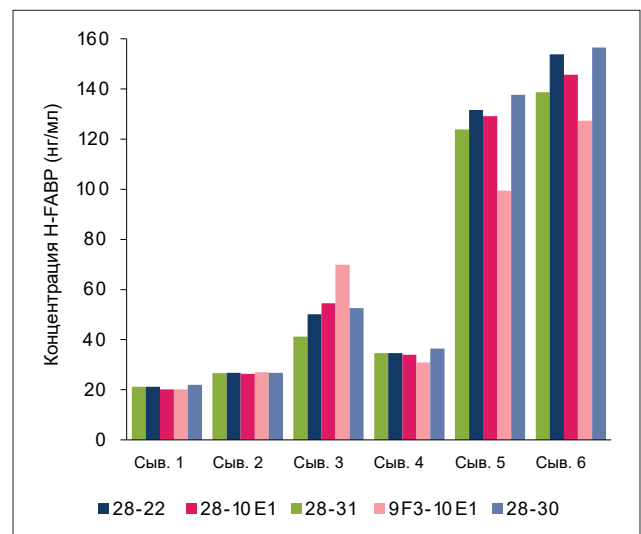


Рисунок 3.
Измерение концентрации Н-FAVP в образцах сыворотки крови шести разных пациентов с ОИМ с использованием нескольких комбинаций антител.
Все протестированные иммуноанализы дали вполне сопоставимые результаты.

Иммунодетекция Н-FABP в прямом ИФА

Все моноклональные антитела к FABP распознают человеческий FABP в прямом иммуферментном анализе (см. Рис.4).

Иммунодетекция Н-FABP в Вестерн-блоттинге

Все моноклональные антитела к FABP тестировали на их способность обнаруживать человеческий Н-FABP в вестерн-блоттинге. Для этих целей, мы рекомендуем использовать моноклоны 22, 30 или 31 (см. Рисунок 5).

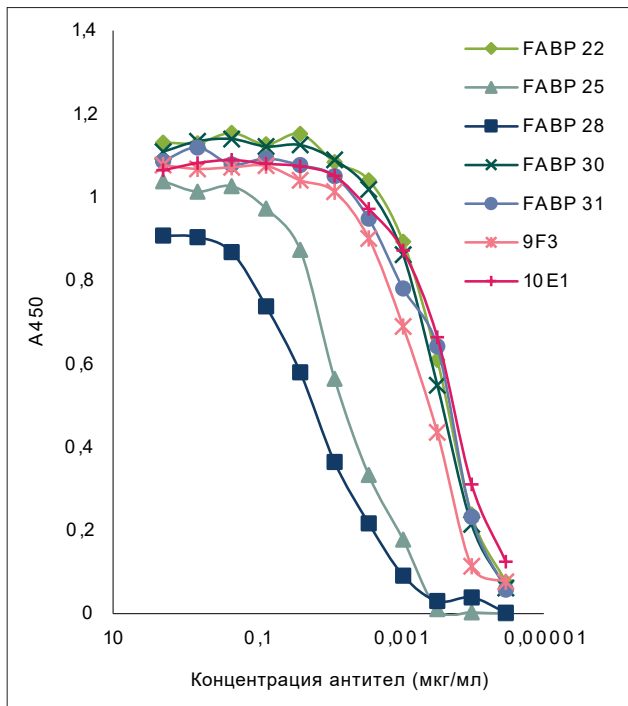


Рисунок 4.

Обнаружение очищенного нативного Н-FABP в прямом ИФА.

На рисунке показано нанесение 40 нг человеческого Н-FABP в лунки планшета для микротитрования, который титровали с помощью моноклональных антител к Н-FABP. В отличие от других клоны 25 и 28 показали наиболее низкую активность. Скорее всего, это вызвано изменением структуры или видимости их специфических эпитопов на Н-FABP после нанесения антигена на поверхность планшета.

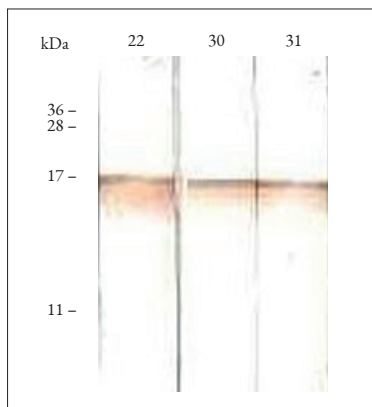


Рисунок 5.

Иммунодетекция Н-FABP моноклонами 22, 30 и 31 в Вестерн-блоттинге после PAGE в восстанавливающих условиях.
Вторичное антитело (анти-мышиные IgG) было конъюгировано с пероксидазой хрена.

НАТИВНЫЙ Н-FABP

Нативный FABP очищают из сердечной ткани человека с помощью нескольких хроматографических процедур. Его чистота составляет более 95%, определяли денситометрически после электрофореза в SDS-геле в восстанавливающих условиях (рисунок 6). В ДСН-электрофорезе (SDS-PAGE) белок мигрирует в виде одной полосы с молекулярной массой 15 кДа.

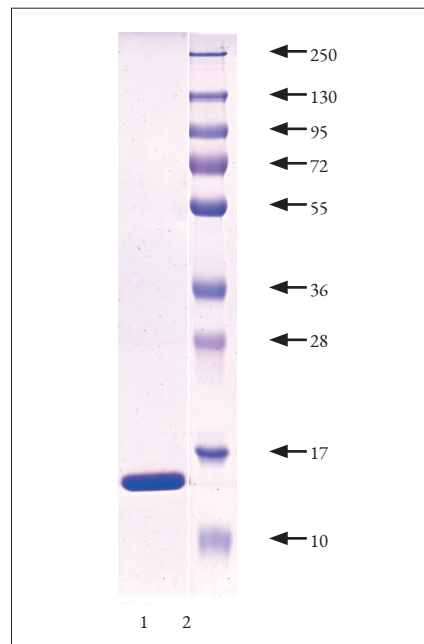


Рисунок 6.

SDS-PAGE очищенного Н-FABP (кат. № 8F65) в восстанавливающих условиях.

Гель окрашивали кумасси бриллиантовым синим R-250.
Полоса 1: Н-FABP, 2 мкг
Полоса 2: вессовой стандарт

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Wu A.** Cardiac markers. Second edition, 2003, Humana Press
2. **Alhadi HA and Fox KA.** Do we need additional markers of myocyte necrosis: the potential value of heart fatty-acid-binding protein, QJM. 2004, 97 (4): 187–198.
3. **Young JM. et al.** Heart fatty acid binding protein and cardiac troponin: development of an optimal rule-out strategy for acute myocardial infarction, BMC Emerg Med. 2006, 16: 34.
4. **Konstantinides SV et al.;** Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC). 2014 ESC guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism. Eur Heart J. 2014, 35 (43): 3033-3069.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

Название продукта	Кат. №	Клон	Подкласс	Примечания
Белок, связывающий жирные кислоты	4F29	5B5	IgG1	ИФА
		9F3cc	IgG1	<i>In vitro</i> , ИФА
		10E1	IgG1	ИФА
		22	IgG1	ИФА, ВБ
		25	IgG1	ИФА
		28cc	IgG1	<i>In vitro</i> , ИФА
		30	IgG1	ИФА, ВБ
		31	IgG1	ИФА, ВБ

АНТИГЕНЫ

Название продукта	Кат. №	Чистота	Источник
Белок, связывающий жирные кислоты	8F65	>95%	Сердечная мышца человека

Обратите внимание, что некоторые или все данные, представленные в настоящем техническом описании, были подготовлены с использованием моноклональных антител, произведенных *in vivo*. Ожидается, что моноклональные антитела, полученные *in vitro*, будут иметь аналогичные характеристики.