

ST2 - маркер сердечной недостаточности

ST2 является членом семейства рецепторов интерлейкина-1 и известен также как рецептор, подобный интерлейкину-1 (IL1RL1). ST2 существует в двух изоформах: трансмембранной или клеточной (ST2L) и растворимой или циркулирующей (sST2). ST2 является рецептором интерлейкина-33 (IL-33), который представляет собой IL-1-подобный цитокин, который секретируется живыми клетками в ответ на повреждение клеток. IL-33 оказывает свое действие путем связывания с изоформой трансмембранного рецептора ST2L.

Было показано, что взаимодействие IL-33 и ST2L обладает кардиопротективным эффектом, снижая фиброз миокарда, гипертрофию кардиомиоцитов, апоптоз и улучшая функцию миокарда. Система IL-33/ST2 активируется в кардиомиоцитах и фибробластах в ответ на повреждение сердца. sST2 активно связывается с IL-33 и конкурирует с ST2L. Взаимодействие растворимого ST2 с IL-33 блокирует систему IL-33/ST2L и в результате устраняет кардиопротективный путь взаимодействия IL-33/ST2L.

ST2L содержит внеклеточный домен из трех иммуноглобулиноподобных фрагментов, трансмембранный сегмент и внутриклеточный цитоплазматический домен, тогда как sST2 лишен трансмембранного и цитоплазматического доменов. Три связанных иммуноглобулиноподобных мотива sST2 имеют общую длину 310 аминокислотных остатков. Экспрессия sST2 в значительной степени индуцируется и почти повсеместно встречается в живых клетках, таких как покоящиеся фибробласты. Было высказано предположение, что sST2 продуцируется как сердечными фибробластами, так и кардиомиоцитами в ответ на сердечное повреждение или сердечное напряжение, макрососудистыми (аортальная и коронарная артерия) и микрососудистыми эндотелиальными клетками сердца в ответ на диастолическую нагрузку.

Контрольные значения ST2

Согласно основному эталонному анализу Presage® ST2 (производитель Critical Diagnostics) средние концентрации ST2 составляют 23,6 нг/мл у мужчин и 16,2 нг/мл у женщин. Средняя концентрация ST2 у здоровых людей составляет 18,8 нг/мл.

Клиническое значение ST2

sST2 - это биомаркер, который используется для аддитивной стратификации риска и прогноза пациентов с сердечной недостаточностью (CH). В отличие от BNP и NT-proBNP, на ST2 не влияют смешанные факторы: возраст, индекс массы тела и нарушение функции почек. В сравнении с многими другими сердечными биомаркерами уровни ST2 быстро меняются при изменении состояния пациента. Это помогает врачам быстрее скорректировать надлежащий курс действий после изменений. Повышенные уровни sST2 у пациентов с острой и хронической сердечной недостаточностью (> 35 нг/мл) тесно связаны с показателями тяжести заболевания и позволяют прогнозировать как повторную госпитализацию, так и смертность.

У пациентов с хронической сердечной недостаточностью измеренные уровни ST2 можно использовать для оценки терапии, а пониженные уровни sST2, реагирующие на медицинское лечение, в свою очередь, будут свидетельствовать о благоприятных прогнозах для пациентов. Согласно большинству публикаций, ST2 является независимым маркером сердечной смертности от разных причин и предоставляет дополнительную прогностическую информацию не только для NT-proBNP (или BNP) анализов, но и для высокочувствительных анализов сердечного тропонина T (hs-cTnT).

Реагенты для разработки ST2 иммуноферментных анализов

Хайтест предоставляет несколько моноклональных антител (МоАт), специфичных к sST2 (кат. № 4ST2). В дополнении мы предлагаем рекомбинантный антиген ST2 (каталожный № 8STR4), который можно использовать в качестве стандарта или калибратора в иммуноферментных анализах.

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

- Прогностический маркер сердечной недостаточности

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА, СПЕЦИФИЧНЫЕ К ST2

Наши МоАт, специфичные к ST2, хорошо охарактеризованы, и их можно использовать для разработки чувствительных и точных иммуноферментных анализов. Эти антитела были получены после иммунизации различных видов животных (мышей, кроликов и крыс) рекомбинантным человеческим ST2, экспрессированным в линии клеток млекопитающих. Антитела к ST2, разработанные специалистами Хайтест, представляют собой гибридомные МоАт, полученные *in vitro*, а также рекомбинантные и рекомбинантные химерные МоАт (см. Информацию для заказа).

Антитела различных форматов могут работать по разному во всевозможных приложениях. Поэтому мы даем нашим клиентам возможность выбрать наиболее подходящие антитела для их платформ. МоАт Хайтест, специфичные к ST2, изучали в различных форматах иммуноферментных анализов, таких как «сэндвич»-ИФА и иммунофлуоресцентный анализ (ИХЛА). Обе аналитические платформы могут быть использованы для разработки высокочувствительных и точных ST2-специфичных иммуноферментных анализов.

Иммуноферментный анализы «сэндвич» типа

Для обнаружения ST2 в образцах плазмы пациентов с сердечной недостаточностью мы рекомендуем различные комбинации МоАт (см. Таблицу 1). Некоторые из них имеют показывают лучшую чувствительность в «сэндвич»-ИФА платформе, в то время как другие показывают более быстрое время для проведения анализа характеристики (время анализа) при использовании в «сэндвич»-ИХЛА платформе.

Все рекомендованные пары МоАТ для захвата и детекции, протестированные в «сэндвич»-ИФА, обладают чувствительностью, сравнимой или превосходящей чувствительность эталонного анализа Presage® ST2, при использовании серийных разведений объединенной плазмы пациентов с СН. Калибровочная кривая

Таблица 1.

Рекомендуемые пары захват-детекция (прототины анализов в формате «сэндвич»-ИФА отмечены черным, прототины анализов в формате «сэндвич»-ИХЛА отмечены синим).

Граница обнаружения (LoD) определяли как среднее контрольное значение (буфер TBST (ИФА) / буфер для анализа (ИХЛА)) + 2 * SD. Восстановленный в соответствующем буфере рекомбинантный ST2 (каталожный № 8STR4) использовали в качестве аналита.

Захваты- вающие АТ	Детекти- рующие АТ	Граница обнаружения (пг/мл) для ИФА/ИХЛА	Формат образца, ИФА/ИХЛА
S207	S103	30	+/-
S207	S501	40	+/-
S501	S103	40/70	+/+
S215	S103	30/70	+/+ (в обратной ориентации)
S512	S103	40	+/-
S985	S501	90	-/+
S985	S512	70	-/+
S985	S103	50	-/+
S101	S985	70	-/+

для прототипа анализа на базе пары S215-S103 представлена на рисунке 1.

Степень насыщения оценивалась для всех прототипов «сэндвич»-ИХЛА анализа. Согласно полученным результатам, для прототипов анализа на базе захватывающих МоАт S985 и любых из детектирующих МоАт (S501, S512 или S103), а также для прототипа анализа на базе МоАт S101-S985, уровень насыщения был выше по сравнению с другими анализами на базе других комбинаций антител. Таким образом, эти пары можно рекомендовать для разработки анализов на ST2.

Детекция ST2 в клинических образцах

При проведении корреляционных исследований между прототипными иммуноферментными анализами Хайтест и эталонным анализом Presage® ST2, концентрации ST2 были измерены в образцах ЭДТА-плазмы 5 здоровых людей и 26 людей с сердечной недостаточностью.

На рисунке 2 показаны корреляционные исследования между иммуноферментными анализами, в которых используются МоАт S215-S103, и коммерчески доступным диагностическим тестом Presage® ST2. Концентрации ST2, полученные с помощью этих анализов напрямую сопоставимы (коэффициент корреляции Пирсона 0,98).

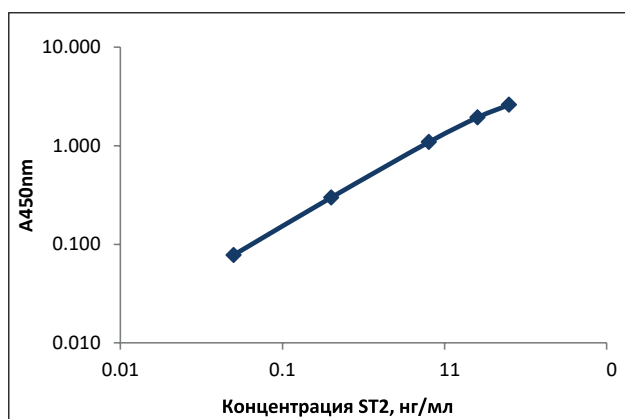


Рисунок 1.

Типичная калибровочная кривая для анализа прототипа ST2 (S215-S103, «сэндвич»-ИФА) с использованием рекомбинантного ST2 (Хайтест, по каталогу № 8STR4) в качестве антигена.

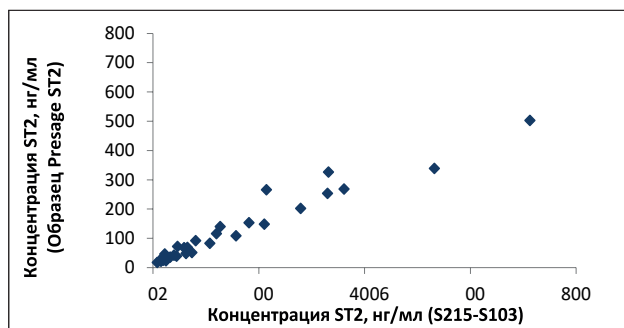


Рисунок 2.

Концентрации ST2, полученные с помощью прототипа иммуноферментного анализа S215-S103 и анализа Presage® ST2. Коэффициент корреляции (Пирсон) между анализом S215 (подложка) - S103 (детекция) и анализом Presage ST2 составляет 0,98. Оба анализа представляют собой «сэндвич»-ИФА, используемый протокол был аналогичен тому, который использовался в анализе Presage® ST2.

РЕКОМБИНАНТНЫЙ ST2

Рекомбинантный ST2, предлагаемый Хайтест (каталожный № 8STR4), подходит для использования в качестве стандарта или калибратора в иммуоферментных анализах. Фрагмент синтетической ДНК, кодирующий аминокислоты 19-328 человеческого ST2 (UniProtKB Q01638, ILRL1_HUMAN, изоформа B), используют для экспрессии рекомбинантного белка в клеточной линии млекопитающих. Рекомбинантный ST2 состоит из 310 аминокислотных остатков и содержит N-концевую His6-метку. Белок имеет теоретическую молекулярную массу (Mw) приблизительно 36 кДа и несколько сайтов N-гликозилирования. Рекомбинантный ST2 мигрирует в виде диффузной полосы на SDS-PAGE из-за N-гликозилирования с кажущейся Mw 58 кДа (см. Рис. 3).

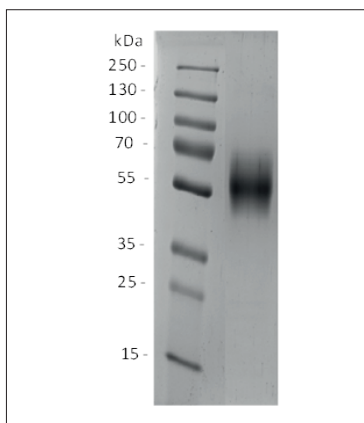


Рисунок 3.
Электрофорезграмма рекомбинантного ST2 (кат. № 8STR4) в восстанавливающих условиях в градиентном геле (8-16%). Нагель наносили 2 мкг очищенного белка. Чистота рекомбинантного ST2 составляет более 95%.

Рекомбинантный ST2 имеет тенденцию к образованию димеров, и поэтому вполне вероятно, что очищенный белковый препарат также содержит небольшое количество димерного ST2.

Рекомбинантный ST2 выдерживает циклы замораживания-оттаивания

Мы проверили иммуохимическую стабильность восстановленного рекомбинантного ST2 после нескольких повторных циклов замораживания-оттаивания. Иммуореактивность, измеренная с помощью прототипа иммуоанализа на базе пары МоАт S207-S103 с европейской меткой, существенно не изменилась, после того, как белок был подвергнут пяти циклам замораживания-оттаивания (см. Рис. 4).

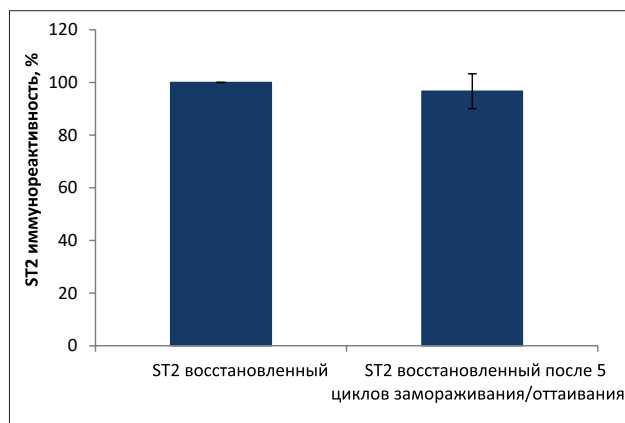


Рисунок 4.
Восстановленный рекомбинантный ST2 после 5 циклов замораживания-оттаивания.
Данные представлены как среднее значение трех тестируемых разведений образца со стандартным отклонением в виде разброса.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

Название продукта	Кат. №	Клон	Подкласс	Примечания
ST2	4ST2	S985	IgG1	In vitro, ИХЛА
		S101	IgG1	In vitro, ИХЛА
		S103	IgG1	ИФА, ИХЛА, рекомбинантное химерное антитело
		S207	IgG	ИФА, рекомбинантное кроличье антитело
		S215	IgG	ИФА, ИХЛА, рекомбинантное кроличье антитело
		S501	IgG1	ИФА, ИХЛА, рекомбинантное химерное антитело
		S512	IgG1	ИФА, ИХЛА, рекомбинантное химерное антитело

АНТИГЕН

Название продукта	Кат. №	Чистота	Источник
Белок ST2/ IL1RL1 человека, рекомбинантный	8STR4	>95%	Рекомбинантный