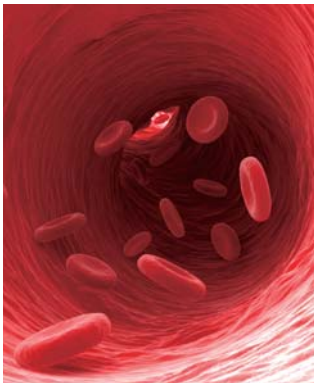




降钙素原 (Procalcitonin, PCT)



降 钙素原 (Procalcitonin, PCT) 是一个小分子蛋白，分子量约为13kDa，通常由甲状腺的C细胞产生。PCT 现已被视为是伴随有全身性炎症和败血症的主要标志物。

PCT与诊断

1993年，有报道发现PCT水平在细菌系统感染患者中有所升高(1)。经证实，与炎症相关的PCT并非由甲状腺C细胞产生，而是由所有薄壁组织和已分化类细胞产生(2-4)。PCT是一种很理想的细菌感染标志物，因为它在正常人中浓度非常低，而病毒性感染只会使PCT浓度略微升高。此外，PCT更重要的诊断价值在于它的浓度与炎症的严重程度密切相关(1,5)。

除了炎症或败血症能引起PCT升高外，手术、多处创伤、高温休克、烧伤和心源性休克有时同样可以导致PCT浓度的升高(1)。此外，多项研究已证实心脏手术或心脏移植后PCT水平监测的重要性，PCT的改变可以用来鉴别急性排斥反应和由细菌或者真菌引起的感染(5)。

PCT由CALC-1基因编码，是降钙素的前体。PCT来源于降钙素原前体，后者由141个氨基酸组成，去除信号肽(1-25位氨基酸)后得到含有116个氨基酸残基的PCT，PCT经过连续的裂解，最终形成三个分子，分别是N端片段(N端PCT，57个氨基酸残基)，降钙素(32个氨基酸残基)和抗钙素(21个氨基酸残基)(图1)。

PCT属于CAPA肽家族，该蛋白家族还包括降钙素，降钙素基因相关肽I和II，糊精和肾上腺髓质素。

临床应用

- ✓ 全身性炎症
- ✓ 败血症



PCT免疫检测系统的开发及配对推荐

HyTest提供用于开发PCT免疫检测系统的单克隆抗体可识别PCT分子的不同区域：N端片段，降钙素和抗钙素。通过使用特异识别不同片段的抗体配对可以检测全长PCT或部分裂解的PCT分子。抗体的特异性以及推荐的

捕获抗体-检测抗体配对参见图1。此外，我们还提供全长的重组PCT抗原，该产品可以用于PCT或者降钙素免疫检测系统中的校准品制备。

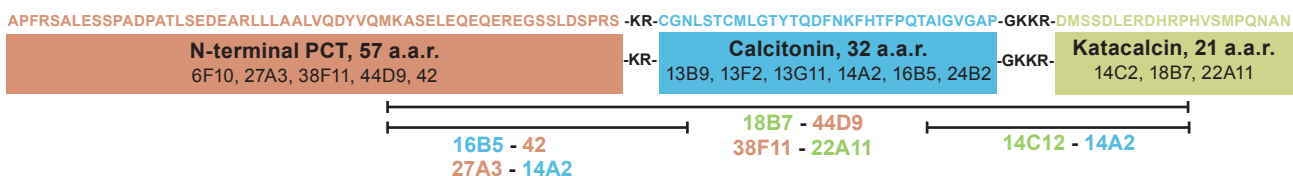


图1. 人PCT分子的氨基酸序列（116个氨基酸残基），单抗特异性以及PCT夹心免疫分析系统的推荐配对（捕获-检测）。

人重组PCT抗原

我们提供的人重组PCT是由大肠杆菌表达的全长序列，含有116个氨基酸残基，无信号肽和亲和性Tag的修饰（该序列与除去信号肽的Uniprot P01258相比完全一致）。该抗原经免疫亲和层析以及离子交换层析纯化，纯度高达95%以上（见图2）。根据MALDI-MS分析（图3），纯化后的抗原包括含有一个额外N末端甲硫氨酸残基的全长PCT分子（Ala₁-Pro₁₁₆），和少量首个丙氨酸截断的PCT片段（Pro₂-Pro₁₁₆）。

该抗原可作为降钙素原或者降钙素免疫检测的校准品。

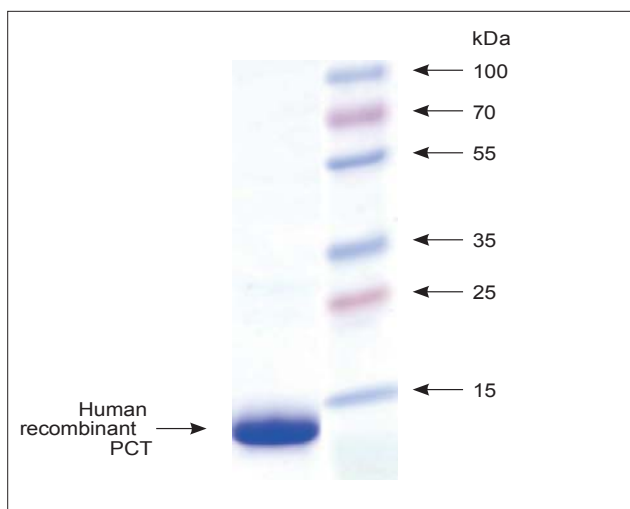


图2. 人重组PCT（5μg）还原性SDS-PAGE电泳图。纯度由凝胶的光密度测得。

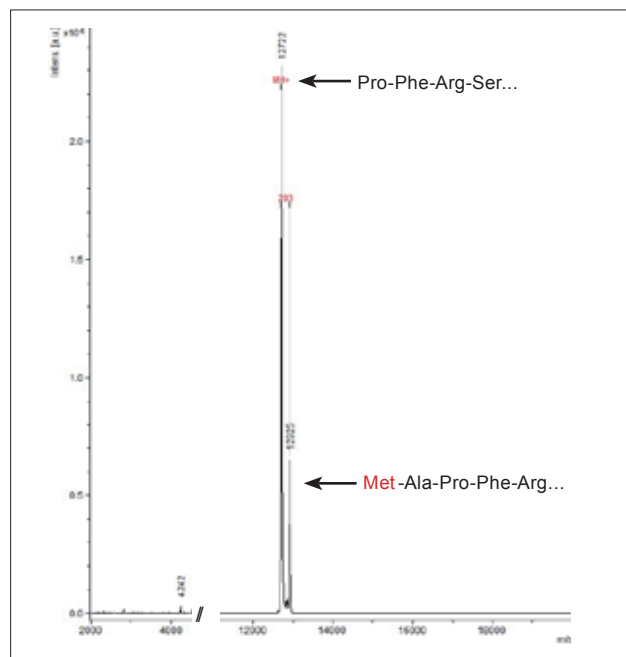


图3. 重组PCT的质谱分析

稳定性研究

为了研究我们的重组PCT抗原（冻干产品）溶解于缓冲液后免疫活性的保持状况，我们配制了1mg/ml的抗原稀释液（缓冲液成为为20 mM Tris, 150 mM NaCl, PH=8），然后将其保存于不同温度下并测定其免疫活性（图4）。我们也测试了其反复冻融后的免疫活性（图5）。研究结果表明，我们所生产的PCT重组抗原非常稳定，在不同的测试环境下均可保持很好的免疫活性。

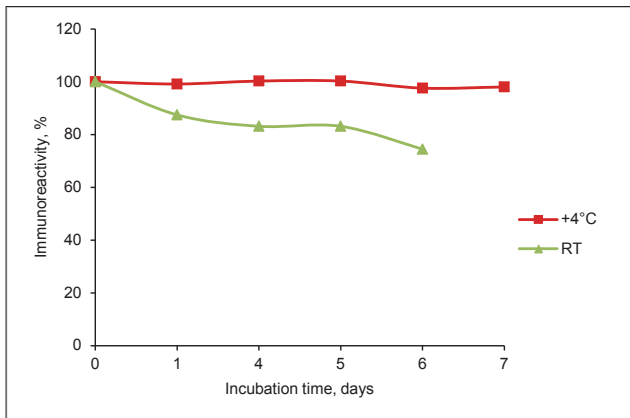


图4. 1mg/mL的抗原稀释液在4度和室温下（RT）的稳定性研究。1mg/mL浓度的PCT稀释液在不同温度下进行一定时间的孵育，然后使用ELISA夹心免疫检测系统（抗体对为16B5-42）测试其免疫活性

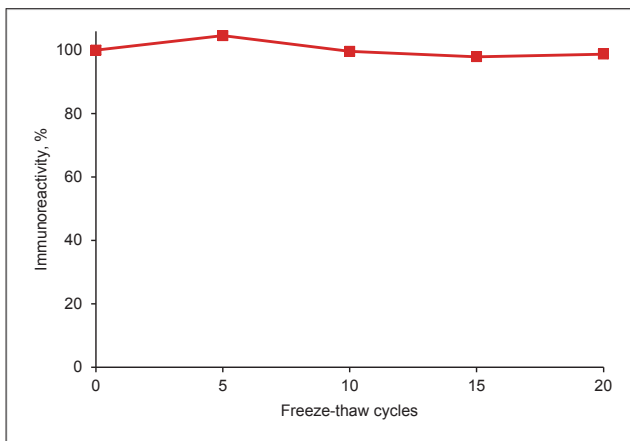


图5. 1mg/mL的抗原稀释液经过反复冻融后的稳定性研究。1mg/mL浓度的PCT稀释液在-70度下冷冻，在室温条件下解冻，以此循环孵育数次后使用ELISA夹心免疫检测系统（抗体对为16B5-42）测试其免疫活性

比对研究

将我们的无Tag修饰重组PCT抗原与另一个供应商提供的无Tag修饰重组PCT抗原进行了比对研究。结果显示，两者的免疫活性无任何差异（图6）。

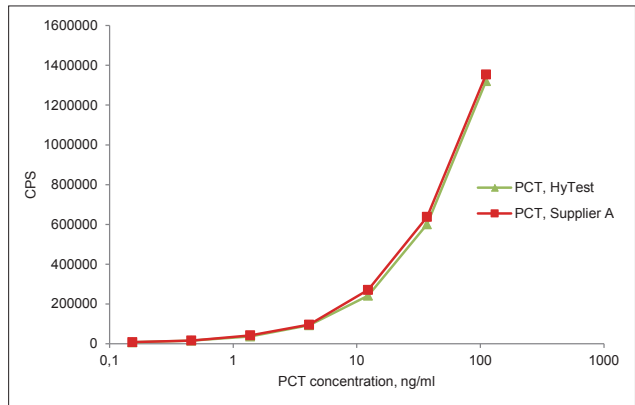


图6. Hytest的无Tag重组PCT与供应商A的无Tag重组PCT的滴度曲线比对情况。免疫活性由夹心ELISA免疫分析系统测得（抗体对为16B5-42）。

特异性识别PCT、抗钙素和降钙素的单克隆抗体

PCT单克隆抗体

基于我们内部的免疫分析检测平台 (DELFI[®]免疫检测系统) 的评测结果, 针对PCT检测, 灵敏度最佳的配对组合为单抗16B5 (特异性识别抗钙素, 捕获抗体) 和单抗42 (N末端PCT, 检测抗体), 如图7所示。此外, 我们提供的绝大多数单抗可以进行不同的配对组合, 在不同的技术平台上最佳的配对可能会不同。

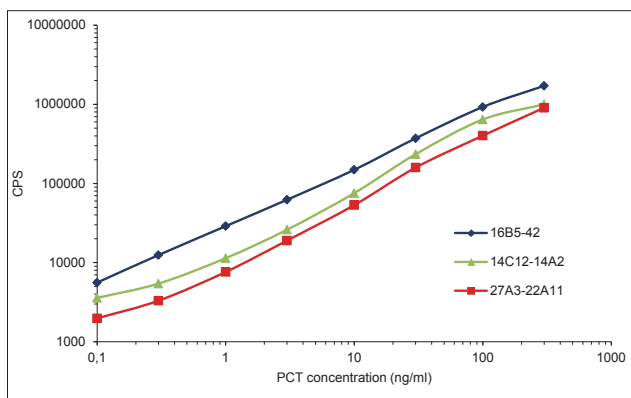


图7. 使用识别PCT分子不同片段的三组人PCT夹心荧光免疫检测系统的校准曲线
 捕获抗体: 1µg/孔
 检测抗体 (标记): 0.1µg/孔
 抗原: 人重组PCT
 孵育时间: 30分钟

我们还测试了不同分析系统对于人血清中天然PCT的识别能力。我们用不同的抗体对检测三例血清样本, 其中两例来自于败血症病人, 一例为健康个体。16B5 (捕获抗体) 和单抗42 (检测抗体) 的血清滴度曲线见图8。

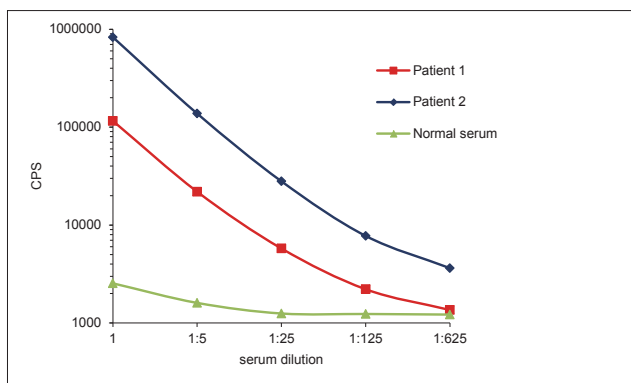


图8. 细菌性败血症患者和健康个体血清样本的滴度曲线
 夹心荧光免疫分析系统, 16B5 (捕获抗体) 和单抗42 (检测抗体)
 捕获抗体16B5: 1µg/孔
 检测抗体42 (标记): 0.1µg/孔
 孵育时间: 45分钟

降钙素单克隆抗体

降钙素是一种小分子的激素肽, 参与人体钙与磷的代谢。降钙素通过PCT分子的翻译后修饰酶切裂解而成。由酶切裂解得到的降钙素中间体通过脱去C末端的甘氨酸, 最终形成了成熟的降钙素分子。降钙素分子被贮存于细胞的分泌粒中, 其分泌受血液中钙离子浓度水平调控。成熟的降钙素分子含有32个氨基酸残基, 分子量约为3.4kDa, 理论等电点为6.72。

我们提供多种特异性识别降钙素分子不同抗原表位的单克隆抗体。同时, 我们也推荐使用其中的一部分抗体与PCT末端或抗钙素特异性抗体结合使用, 用于PCT的免疫检测。降钙素单抗13B9的滴度曲线见图9。

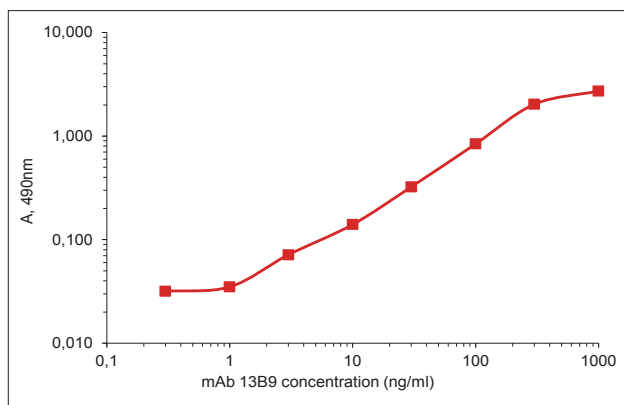


图9. 抗降钙素单抗13B9的直接ELISA滴度曲线
 抗原: 人重组降钙素—0.02µg/孔

我们在Western blotting平台测试了抗体识别PCT的能力。所有的单抗都能在还原性SDS凝胶电泳后通过免疫印迹识别PCT (图10)。

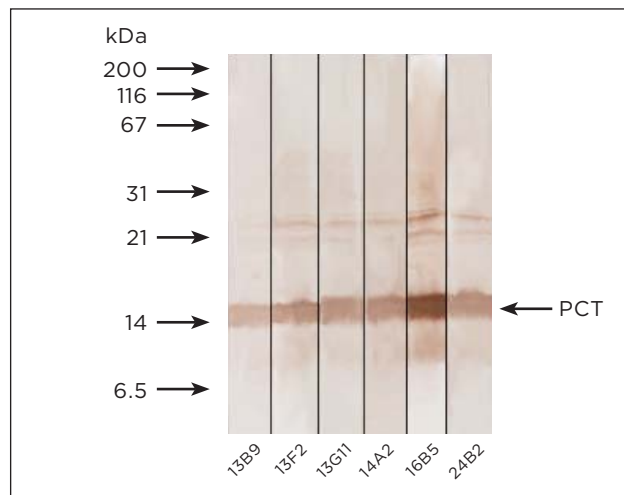


图10. 15%还原性SDS-PAGE后, 使用降钙素特异性单克隆抗体免疫印迹检测人重组PCT (100ng/泳道)

抗钙素单克隆抗体

抗钙素是降钙素原的C端部分，由21个氨基酸残基组成，分子量大约为2.4kDa，理论等电点为5.26。抗钙素的生理作用不详。抗抗钙素特异性单克隆抗体可特异且灵敏地检测人血液中的PCT。建议主要将抗钙素抗体作为PCT免疫分析系统中的捕获抗体使用。抗钙素单抗14C12的滴度曲线见图11。

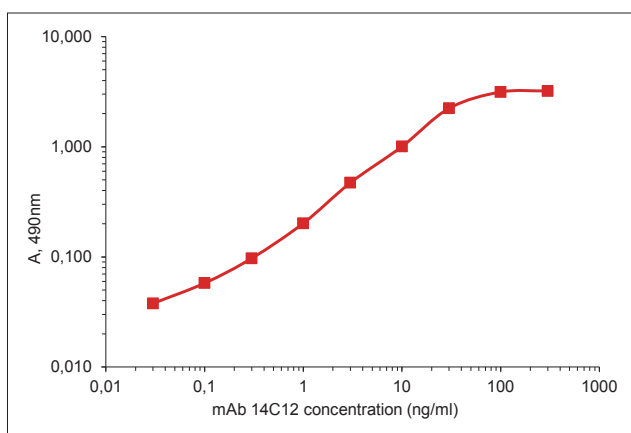


图11. 抗钙素单抗14C12在直接ELISA中的滴度曲线。
抗原：交联了BSA的抗钙素—0.02μg/孔

我们在 Western blotting 平台上测试了抗体识别PCT的能力。所有的单抗都能在还原性SDS凝胶电泳后通过免疫印迹识别PCT (图12)。

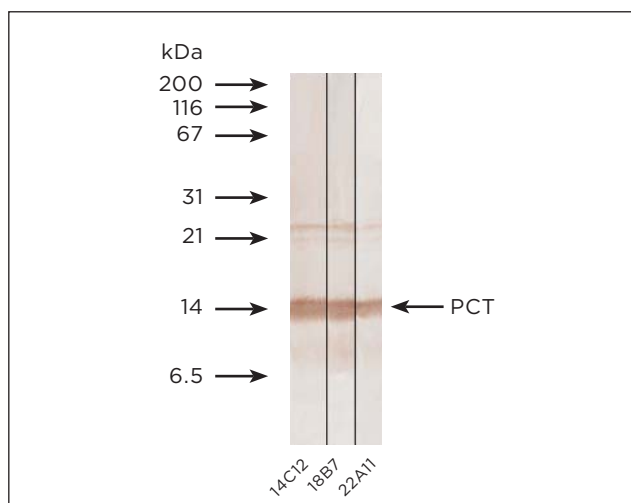


图12. 15%还原性SDS-PAGE后，使用抗钙素特异性单克隆抗体免疫印迹检测人重组PCT (100ng/泳道)

抗N末端PCT单克隆抗体

PCT分子的N末端片段是一段含有57个氨基酸残基的多肽。推荐使用特异性抗N末端PCT单抗和抗降钙素或抗抗钙素抗体一起用于PCT免疫检测。抗N末端PCT抗体在夹心免疫检测系统中作为检测抗体效果更好。抗N末端PCT单抗42的滴度曲线见图13。

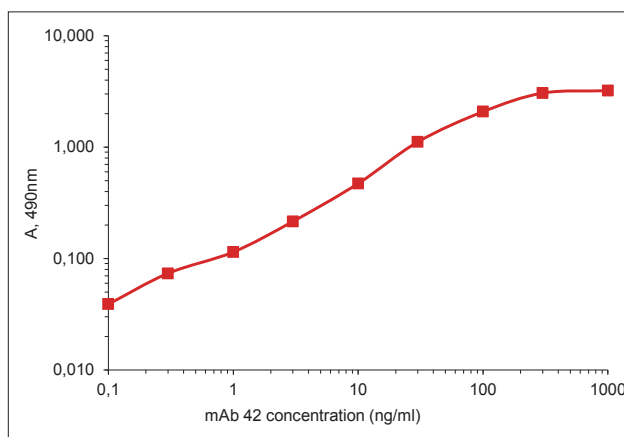


图13. 抗N末端PCT单抗 42在直接ELISA中的滴度曲线。
抗原：交联了BSA的N末端PCT—0.02μg/孔

我们在 Western blotting 平台上测试了抗体识别PCT的能力。所有的单抗都能在还原性SDS凝胶电泳后通过免疫印迹识别PCT (图14)。

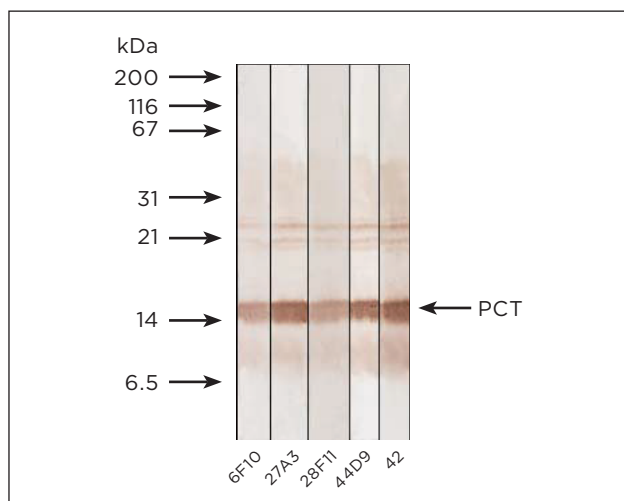


图14. 15%还原性SDS-PAGE后，使用抗N末端PCT单克隆抗体免疫印迹检测人重组PCT (100ng/泳道)

订购信息

单克隆抗体

产品名称	货号	克隆号	亚型	备注
降钙素	4C10	13B9	IgG2a	EIA, 识别位点 : PCT 60-69
		24B2	IgG1	EIA,WB, 识别位点 : PCT 72-81
		13F2	IgG1	EIA,WB, 识别位点 : PCT 72-81
		13G11	IgG1	EIA,WB, 识别位点 : PCT 72-81
		14A2	IgG1	EIA,WB, 识别位点 : PCT 72-81
		16B5	IgG2b	EIA,WB, 识别位点 : PCT 72-81
降钙素, 体外生产	4C10cc	14A2cc	IgG1	EIA,WB, 识别位点 : PCT 72-81
降钙素原	4PC47	44D9	IgG2a	EIA,WB
		6F10	IgG1	EIA,WB, 识别位点 : PCT 21-40
		27A3	IgG2a	EIA,WB, 识别位点 : PCT 21-40
		38F11	IgG1	EIA,WB, 识别位点 : PCT 21-40
		42	IgG2a	EIA,WB, 识别位点 : PCT 21-40
		22A11	IgG1	EIA,WB, 识别位点 : PCT 96-105
		14C12	IgG1	EIA,WB, 识别位点 : PCT 102-111
		18B7	IgG1	EIA,WB, 识别位点 : PCT 102-111

New!

多克隆抗体

产品名称	货号	宿主	备注
降钙素原	PPC3	山羊	EIA

New!

抗原

产品名称	货号	纯度	来源
降钙素原, 无tag修饰, 重组	8PC5	>95%	重组

New!

参考文献

1. **Assicot M, et al.** (1993) High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* 341(8844), 515-518.
2. **Linscheid P, et al.** (2003) In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: A novel product of human adipose tissue. *Endocrinology* 144, 5578-5584.
3. **Simon L, et al.** (2004) Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 39, 206-217.
4. **Sponholz C, et al.** (2006) Diagnostic value and prognostic implications of serum procalcitonin after cardiac surgery: a systematic review of the literature. *Critical Care* 10, R145.
5. **Meisner M and Reinhart K** (2001) Is procalcitonin really a marker of sepsis? *Int J Intensive Care* 8(1), 15-25.