



神经纤维丝轻链(NfL)单克隆抗体



神经纤维丝是神经元中主要的细胞骨架结构蛋白(1)。其直径约为10纳米,尺寸介于肌动蛋白和肌球蛋白之间,因此被归类为中间丝(IF)蛋白。

除神经纤维丝以外,角蛋白丝以及核纤层蛋白也属于该蛋白家族。神经纤维丝由四个不同的亚基组成,其中神经纤维丝轻链(NfL)、神经纤维丝中链(NfM)和神经纤维丝重链(NfH)三种亚基属于IV型中间丝蛋白,在不同神经系统中均有存在;而神经纤维丝中的第四种亚基则以 α -丝联蛋白(IV型中间丝蛋白)或外周蛋白(III型中间丝蛋白)形式分别存在于中枢神经系统和外周神经系统中。上述亚基中,NfM和NfH含有高度带电的长C末端结构域,主要发现于神经纤维丝外部,化学计量相对稳定;而其余两种亚基的化学计量则会随神经元的成熟度而发生变化,NfL会与 α -丝联蛋白或外周蛋白组成神经纤维丝的主干(2)。因此,NfL对于神经丝聚合以及轴突结构维持至关重要。

NfL的生化性质

所有神经纤维丝均含有一个可变的N末端的球状头部结构域、一个保守的 α 螺旋杆结构域以及一个C末端尾部结构

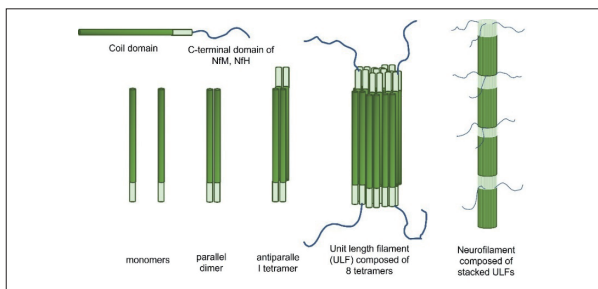


图1. 神经纤维丝聚集的简要示意图。

域。神经纤维丝会经历翻译后修饰,使其头部或者尾部区域发生磷酸化或糖基化(3)。这些翻译后修饰均与神经纤维丝的功能结构和聚集有关。人NfL的头部结构域含有的丝氨酸和苏氨酸残基会经历磷酸化或O-糖基化修饰。在NfM和NfH尾部结构域中,富含谷氨酸和赖氨酸的可变延长区则含有大量丝氨酸的磷酸化位点;NfL的C末端相对较短,因此磷酸化程度也相应偏低。人NfL含有543个氨基酸残基,理论等电点4.63,分子量约为61.4KDa。NfL在体外会形成多聚物,有关神经纤维丝在体内发生聚合的图示参考图1。

轴突损伤以及神经退行都会导致脑脊液(CSF)中出现神经元蛋白。神经纤维丝在神经元中高度表达,因此可以作为神经损伤的标志物(4)。若干研究指出,神经纤维丝蛋白可作为中风或创伤等急性事件的标志物,同时也作为阿尔茨海默病(AD)、多发性硬化症(MS)、肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)、额颞叶痴呆、糖尿病性神经病以及其他伴随中枢或外周神经病变病理过程的神经学疾病标志物(5)。脑脊液或血液中NfL水平的监测可用于预测各种急慢性神经系统疾病的进展以及疗效评估(4)。

用于开发高性能NfL试剂的抗体原料

HyTest提供若干株单抗可用于开发灵敏特异的脑脊液或血清NfL免疫检测系统。并且,这些抗体与三型中间丝蛋白(GFAP、波形蛋白、肌间线蛋白和外周蛋白)以及若干其他神经元蛋白均无交叉反应(图2)。

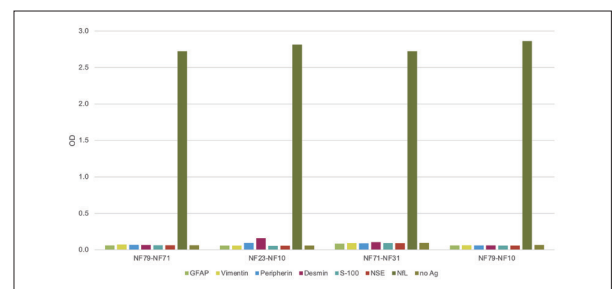


图2. HyTest NfL原型试剂的交叉反应分析。

待测物浓度为1000 ng/mL,重组NfL蛋白作为对照。

我们提供的 NfL 抗体来源于多种种属, 包括小鼠、大鼠和兔子。推荐配对可以高效识别重组 NfL 和内源性天然 NfL。适用于开发不同方法学的 NfL 免疫检测系统, 尤其是包括化学发光 (CLIA)、单分子检测 (SMOA)、邻位延伸分析 (PEA) 等高灵敏度 (HSIA) 的 NfL 检测试剂。我们推荐的配对在内部化学发光平台上展示出了极佳的反应性, 检测范围为

10-150,000pg/mL, 且存在进一步优化空间。具体配对推荐如表 1 所示, 典型配对的校准曲线如图 3 所示。此外, 我们对若干配对进行了临床样本比对, 23 例脑脊液样本的测试结果显示, 我们的推荐配对与 Uman 商品化 ELISA 试剂盒之间存在良好的相关性 (图 4)。

表1. NfL抗体配对推荐

捕获抗体	检测抗体
NF79	NF71
NF79	NF36
NF36	NF71
NF23	NF10

*由于不同客户平台的反应体系差异, 我们也建议尝试其他配对组合包括3抗体配对模式, 以实现最优的反应性。

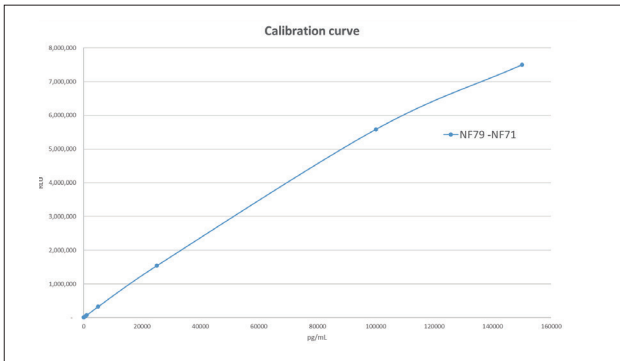


图3. 推荐配对NF79-NF71的校准曲线。

待测抗原: 重组NfL

捕获抗体: 生物素标记抗体, 链霉亲和素磁珠

标记抗体: 吡啶酯标记

反应时间: 10分钟

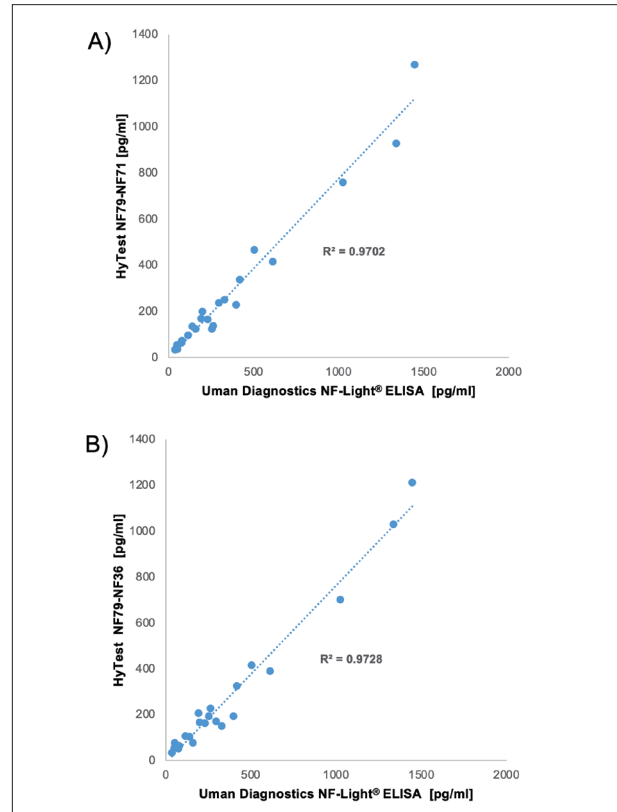


图4. HyTest推荐配对与NF-Light ELISA (Uman Diagnostics)试剂盒的相关性分析。

订购信息

单克隆抗体

产品名称	货号	克隆号	亚型	应用
NfL单克隆抗体	4NF3	NF10	IgG1	EIA, HSIA
		NF23	IgG2a	EIA, HSIA
		NF31	IgG2b	EIA, HSIA
		NF36	IgG	EIA, HSIA, 免疫组化
		NF71	IgG2b	EIA, HSIA
		NF79	IgG2b	EIA, HSIA

参考文献

- Lee MK and Cleveland DW 1996. Neuronal intermediate filaments. Annu Rev Neurosci. 19 pp.187-217.
- Yuan A. et al. Neurofilaments and Neurofilament Proteins in Health and Disease. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2017 Apr 3;9(4): a018309.
- Grant P and Pant HC. Neurofilament protein synthesis and phosphorylation. J Neurocytology. 2000; 29(11-12) pp. 843-72
- Khali M., et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. 2018, Nature Review Neurology Oct; 14(10) pp. 577-589.
- Braissant O. Neurofilament Proteins in Brain Diseases. 2007 New Research on Neurofilament Proteins. pp. 25-51