

# ST2 – 一种心脏应激标志物

ST2 是白介素 1 受体蛋白家族的成员，也被叫作白介素 1 受体样蛋白 1 (IL1RL1)。ST2 有两种亚型，分别为跨膜型或细胞型 ST2 (ST2L) 和可溶型或循环型 ST2 (sST2)。ST2 是白介素 33 (IL-33) 的受体，IL-33 是一种 IL-1 样的细胞因子，由活细胞在损伤应激时分泌。IL-33 通过与 ST2L 结合发挥生物功能。目前已知，IL-33 与 ST2L 的相互作用具有心脏保护功能、减少心肌纤维化、减少心肌肥大及细胞凋亡功能和改善心脏等功能。IL-33/ST2 系统是心肌细胞和成纤维细胞在心肌损伤应激时的一种正调控。sST2 与 ST2L 会竞争性地与 IL-33 结合，sST2 与 IL-33 的结合会阻断 IL-33/ST2L 系统，导致 IL-33/ST2L 系统心脏保护功能的清除。

ST2L 含有一个胞外结构域（由三个免疫球蛋白样的基序组成），一个跨膜区以及一个胞内胞质结构域。而 sST2 则不含跨膜结构域和胞质结构域。由三个相连的免疫球蛋白基序组成的 sST2 全长为 310 个氨基酸。sST2 的表达大部分是可诱导的，这在活细胞（如静息的成纤维细胞）中几乎无处不在。目前已知，当机体对心肌损伤或心脏压力产生应激时，sST2 会由心肌成纤维细胞和心肌细胞产生；当机体对舒张压负荷产生应激时，sST2 会由大血管（主动脉和冠状动脉）和心脏微血管内皮细胞产生。

## ST2的参考值

根据主要的 ST2 参考试剂 (Presage® ST2, Critical Diagnostics) 的信息，ST2 男性和女性的中位数浓度分别为 23.6 ng/ml 和 16.2ng/ml。正常人群的 ST2 中位数为 18.8 ng/ml。

## ST2的临床价值

sST2 作为一种生物标志物可用于心衰 (HF) 患者的危险分层以及预后评估。相比 BNP 和 NT-proBNP，ST2 不受年龄、BMI 指数以及肾功能不全等因素影响。与其他众多心脏标志物不同，ST2 的水平会随着患者病情的变化而快速改变。这意味着 ST2 可以帮助临床医师更快地做出响应。急慢性心衰患者的 sST2 水平的升高 (> 35ng/ml) 与心衰严重程度高度相关，并且可用于再入院及死亡率预测。

慢性心衰患者的 ST2 水平检测可用于治疗评估，即 sST2 水平的下降可提示治疗生效，这也与患者更好的预后结局相关。大量文献均显示 ST2 是一种全因心脏死亡率的独立预测因子，同时 ST2 还可以提供与 NT-proBNP (BNP) 以及超敏肌钙蛋白 T 互补的预后信息。

## 可用于ST2免疫检测系统开发的试剂原料

HyTest提供若干株sST2特异性单克隆抗体(货号4ST2)。同时，我们还提供重组ST2抗原(货号8STR4)，可用于检测系统的校准品或标准品制备。

## ST2特异性单克隆抗体

我们提供的ST2特异性单克隆抗体经过了充分的验证，可用于开发灵敏准确的ST2检测系统。这些抗体经由免疫了重组人ST2抗原的不同种属动物(鼠、兔和大鼠)而获得，并由哺乳细胞系表达生产。这些由HyTest科学家开发的抗体包括体外杂交瘤细胞培养生产的抗体，也包括重组及重组嵌合抗体(详见订购信息)。

不同类型的抗体可适用于不同的应用平台，有助于客户更具针对性地选择最适合自身平台的抗体。我们使用了ELISA和免疫荧光检测系统对抗体进行验证。结果显示，两种反应平台均可用于开发高灵敏准确的ST2免疫检测系统。

## 夹心免疫检测系统

我们推荐若干不同的配对组合，可用于检测HF患者血浆中的ST2（见表1）。其中一些配对在ELISA平台上展示出了更好的灵敏度，而另一些配对在免疫荧光（FIA）平台上则展示出了更快的反应速率。

**表 1. 配对推荐**（经ELISA验证的配对为黑色字体，经FIA验证的配对为蓝色字体）。最低检测限（LoD）经空白值平均值（TBST buffer（ELISA）/assay buffer（FIA））+2\*SD计算而来。待测分析物为溶解于缓冲液的重组ST2抗原（货号8STR4）。

捕获抗体	检测抗体	LoD (pg/ml) for ELISA/FIA	Assay format, ELISA/FIA
S207	S103	30	+/-
S207	S501	40	+/-
S501	S103	40/70	+/+
S215	S103	30/70	+/+ (in revers orientation)
S512	S103	40	+/-
S985	S501	90	-/+
S985	S512	70	-/+
S985	S103	50	-/+
S101	S985	70	-/+

使用HF患者的混合血浆进行系列稀释，所有推荐用于ELISA的配对推荐均展示出了与参考试剂Presage® ST2相当或更好的灵敏度。配对S215-S103原型试剂的校准曲线如图1所示。

我们对所有FIA原型试剂的反应饱和率进行了评估。结果显示，使用单抗S985作为捕获抗体，单抗S501、S512或S103作为检测抗体组成的配对以及配对S101-S985具有着更高的反应饱和率，因此这些配对可用于快速检测试剂的开发。

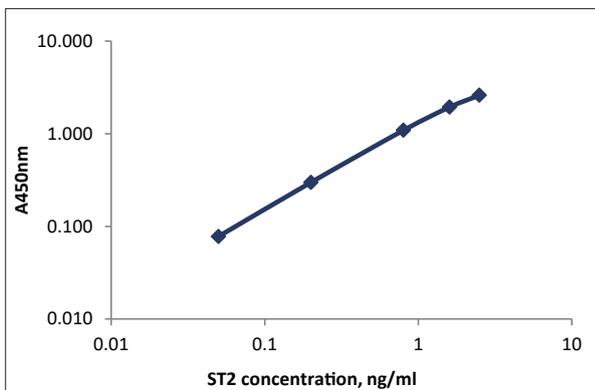


图1. 配对S215-S103的校准曲线（ELISA），校准品抗原为重组ST2（HyTest, 货号 8STR4）。

## ST2的临床样本检测

我们通过对5例健康人以及26例心衰患者的EDTA血浆进行ST2检测，对HyTest ST2原型试剂与参考试剂Presage® ST2试剂的相关性进行了研究。图2为配对S215-S103原型试剂与Presage® ST2试剂的相关性结果。结果显示，两种试剂具有可比性，相关系数为0.98。

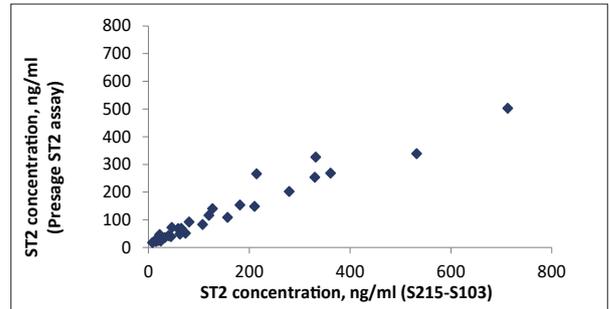


图2. 配对S215-S103的原型试剂与 Presage® ST2 试剂的相关性结果。两种试剂的相关系数R为0.98。两种试剂均为ELISA试剂，HyTest原型试剂的操作步骤与Presage® ST2 试剂类似。

## 重组ST2

HyTest重组ST2（Cat.# 8STR4）可用于免疫检测系统的校准品或标准品制备。合成的DNA片段为编码人ST2的19-328氨基酸序列（UniProtKB Q01638, ILRL1\_HUMAN, isoform B），蛋白表达系统为哺乳细胞系。重组ST2含有310个氨基酸残基，同时在N末端含有一个His6-Tag的亲亲和标签。该蛋白的理论分子量约为36 kDa，同时该蛋白含有若干个N-糖基化位点。重组ST2的SDS-PAGE结果显示其条带为弥散性条带，分子量约为58kDa，这是由N-糖基化所致（图3）。

重组ST2具有形成二聚体的倾向，因此纯化后的重组ST2可能含有少量的ST2二聚体。

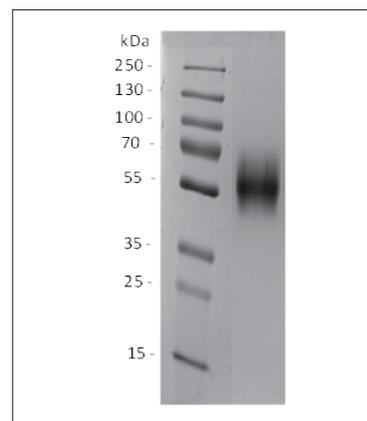


图3. 重组ST2的还原性SDS-PAGE结果。蛋白上样量为2μg，结果显示重组ST2的纯度高于95%。

使用HF患者的混合血浆进行系列稀释,所有推荐用于ELISA的配对推荐均展示出了与参考试剂Presage® ST2相当或更好的灵敏度。配对S215-S103原型试剂的校准曲线如图1所示。

我们对所有FIA原型试剂的反应饱和率进行了评估。结果显示,使用单抗S985作为捕获抗体,单抗S501、S512或S103作为检测抗体组成的配对以及配对S101-S985具有着更高的反应饱和率,因此这些配对可用于快速检测试剂的开发。

## 重组ST2的冻融循环测试

我们对重组ST2在经历若干个冻融循环后的免疫化学稳定性进行了测试。结果显示,在5个冻融循环后,使用配对为S207-S103的原型试剂(销标记)进行免疫活性测试,免疫活性未发生显著变化(见图4)。

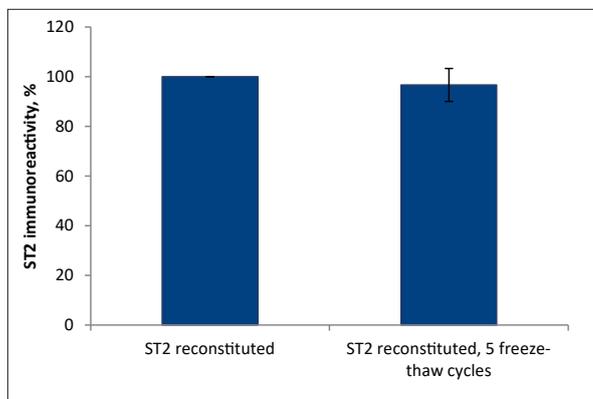


图 4. 复溶后的 ST2 在 5 个冻融循环后的免疫活性测试。数据取自于三次测试平均值的方差。

## 订购信息

### 单克隆抗体

产品名称	货号	克隆	亚型	备注
Anti-ST2	4ST2	S985	IgG1	体外生产, FIA
		S101	IgG1	体外生产, FIA
		S103	IgG1	重组人-鼠嵌合抗体, EIA, FIA
		S207	IgG	重组兔单抗, EIA
		S215	IgG	重组兔单抗, EIA, FIA
		S501	IgG1	重组大鼠-人嵌合抗体, EIA, FIA
		S512	IgG1	重组大鼠-人嵌合抗体, EIA, FIA

### 抗原

产品名称	货号	纯度	来源
人 ST2, 重组	8STR4	>95%	重组