

中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL)

NGAL（中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白，也被称为载脂蛋白-2）是一种小型糖蛋白，属于载脂蛋白超家族。NGAL发现于中性粒细胞的次级颗粒中，但当机体对损伤产生应答时，有数种细胞可表达NGAL（1）。NGAL的功能仍没有被完全研究透彻，然而研究已经证实NGAL通过与细菌所产生的铁载体结合参与机体先天免疫应答。细菌的生长需要铁载体进行铁转运，NGAL通过与铁载体结合限制了细菌进行铁运载，因此可以抑制细菌生长（2）。

NGAL在血液和尿液中均可被检出，且存在三种不同的分子形式，分别是25KDa的单体、45KDa的二硫键连接的同源二聚体和135KDa的异质二聚体。异质二聚体形式的NGAL由NGAL和基质金属蛋白酶9（MMP-9）通过共价结合所组成（3）。

NGAL的诊断学价值

NGAL被认为是一种非常有潜力的急性肾损伤（AKI）标志物（4）。AKI会导致肾功能急剧下降，患者血清肌酐在48小时内出现升高或者尿量在6小时内出现下降均可定义为AKI（5）。NGAL由肾小管上皮细胞产生，当肾小管出现损坏后的两小时内，NGAL的水平会迅速升高（6）。因此，相比血清肌酐，NGAL是一种更快速的检测AKI的标志物（7,8）。通过将NGAL与其他肾脏标志物组合使用，可以提高AKI的早期诊断。在欧洲，已经有少数NGAL检测试剂通过批准可应用于临床。

NGAL还可能与慢性肾病（CKD）有关。NGAL水平与肾损伤的严重程度相关（9），因此，NGAL是一种结构

性肾损伤的直接标志物，可用于早期肾损害的鉴别与预测肾病的发病进展。

NGAL除了对于AKI有潜在价值外，还可作为一种非特异性的急性感染标志物——与CRP或PCT类似（10）。与炎症相关的NGAL可能是NGAL的同源二聚体。同源二聚体NGAL是中性粒细胞颗粒中发现的NGAL的主要形式。

用于NGAL检测系统开发的试剂

我们提供若干株小鼠和兔来源的单克隆抗体，可用于NGAL免疫检测系统的开发。此外，我们还提供重组NGAL抗原，可用于制备NGAL免疫检测系统的校准品或用于NGAL生化及免疫学性质的研究。

NGAL特异性单克隆抗体

我们提供的抗体对于不同分子形式的NGAL具有不同的亲和力，具体见表1。我们推荐数种抗体配对，可用于NGAL夹心免疫检测系统的开发（见表2）。使用抗体配对N316-N417检测重组NAGL的校准曲线如图1所示。配对N316-N417和N308-N432（数据未列出）在我们内部的两步法免疫荧光夹心反应系统中均展示出了很宽的线性范围（1-1000ng/mL）。

表1. NGAL单抗的特异性

单抗	单体	同源二聚体	异质二聚体
N308	•	•	
N316	•	•	•
N417	•	•	•
N422	•	•	•
N432	•	•	
N457	•	•	
N461	•	•	•

表2. 针对不同形式NGAL夹心免疫检测系统的配对推荐

捕获抗体	检测抗体	待测物形式		
		单体	同源二聚体	异质二聚体
N316	N417	•	•	•
N316	N461	•	•	•
N422	N417	•	•	•
N422	N461	•	•	•
N308	N432	•	•	
N316	N457		•	

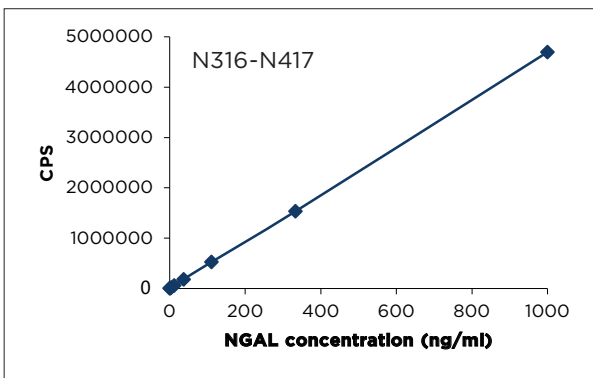


图1. 抗体配对N316-N417的校准曲线。检测抗体为Eu3+标记，重组抗原（货号8NL2）为待测抗原。结果显示，该配对具有很宽的线性范围。

血浆样本中NGAL的检测

我们使用配对N308-N432和N316-N417对29例肾病患者样本和14例表观健康人群血浆样本进行了检测。结果显示，肾病患者和表观人群患者的结果具有数倍以上的差异（如图2所示）。

此外，我们还和一种商品化NGAL试剂盒进行了比对（Human NGAL ELISA kit, BioPorto）。我们的内部平台所使用的校准品为重组NGAL抗原，商品化试剂盒按照说明书进行使用。在相关性研究的预实验中，我们使用的样本有限（样本总数18例，涵盖AKI患者、CKD患者和非肾病人群），结果显示我们所用的配对与商品化试剂盒的Spearman Rank Order相关系数为中到高水平（见表3）。

HyTest免重组单克隆抗体

HyTest已经开发出了一种基于兔源抗体的新型单克隆抗体技术。HyTest的核心竞争力之一就是长达25年以上的杂交瘤单克隆抗体制备技术。我们新开发的免重组单克隆抗体技术将杂交瘤技术与灵活快速的基因工程技术进行了结合。该技术基于兔的天然免疫应答，包含HyTest独有的目标IgG基因克隆为全长兔抗体骨架的工艺。

重组兔单抗可大规模生产以适用于商品化体外诊断试剂开发。

通过重组兔单抗与传统鼠源抗体的搭配使用，还有助于规避异嗜性抗体的影响。

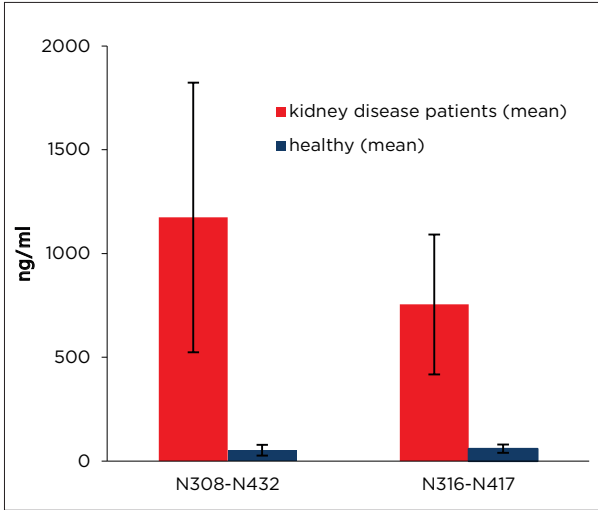


图2. 肾病患者与表现健康人群的NGAL平均检测结果。肾病患者的NGAL浓度水平比表现健康人群高数倍。使用的抗体配对为：N308-N432 和N316-N417。肾病患者样本数29，表现健康人群样本数为14。

表3. HyTest 两组抗体配对的原型检测系统与BioPorto NGAL ELISA试剂盒的Spearman Rank Order相关系数。

两组试剂的检测结果显示存在显著相关 ($P < 0.05$)

检测系统	N308-N432	N316-N417
BioPorto	0.77	0.97

重组NGAL抗原

HyTest提供一种重组的NGAL抗原，可用于制备NGAL免疫检测系统的校准品或用于NGAL生化及免疫学性质的研究。该抗原由哺乳细胞表达，含有一个C末端的His标签。重组NGAL使用层析技术进行纯化（图3）。

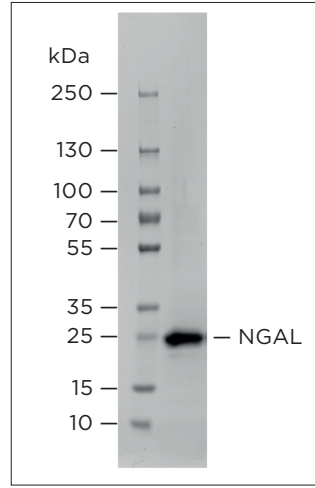


图3.重组NGAL还原性 SDS-PAGE电泳结果。上样量为4 μ g。

天然NGAL与重组NGAL的平行校准曲线

我们通过与血浆样本中内源性NGAL的比对，对重组NGAL的免疫活性进行了验证。如图4所示，重组NGAL的校准曲线与天然NGAL的校准曲线平行。因此，重组NGAL抗原可以用于制备免疫检测系统的校准品。

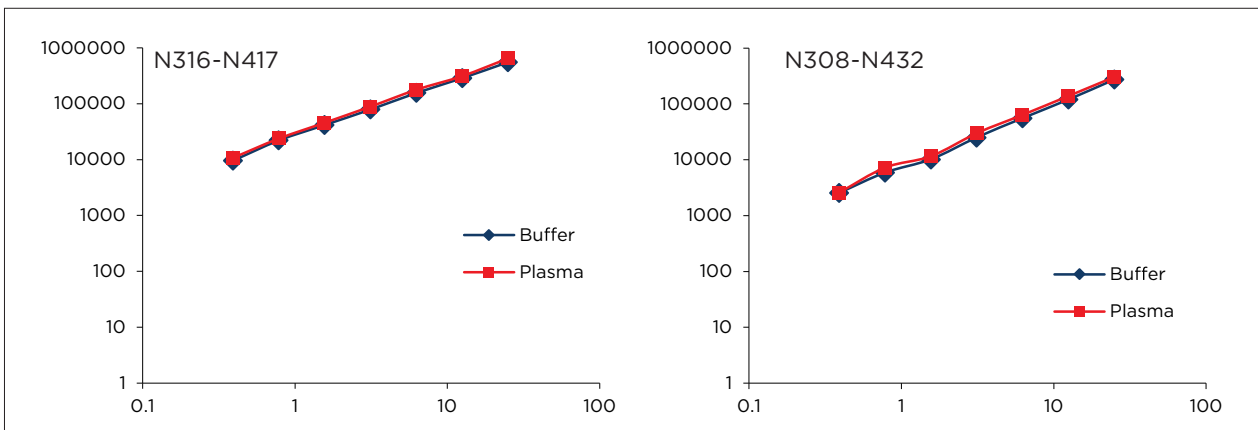


图4. 抗体配对N316-N417 (A)和N308-N432 (B)检测重组NGAL和人血浆天然NGAL的滴定曲线。

订购信息

单克隆抗体

产品名称	货号	克隆	亚型	备注
中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白 (NGAL)	4NG7	N308	IgG	EIA, WB, 重组兔单抗
		N316	IgG	EIA, WB, 重组兔单抗
		N417	IgG1	体外生产, EIA, WB
		N422	IgG1	体外生产, EIA
		N432	IgG1	体外生产, EIA
		N457	IgG1	体外生产, EIA
		N461	IgG1	体外生产, EIA

抗原

产品名称	货号	纯度	来源
中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白 (NGAL), human, recombinant	8NL2	>90%	重组

参考文献

- Cai, L et al.** The Origin of Multiple Molecular Forms in Urine of HNL/NGAL. Clin J Am Soc Nephrol. 2010 Dec;5(12):2229-35.
- Flo, TH et al.** Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. Nature. 2004 Dec;432(7019):917-21.
- Kjeldsen, L et al.** Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. J Biol Chem. 1993 May 15;268(14):10425-32.
- Soni, SS et al.** NGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions. Int Urol Nephrol. 2010 Mar;42(1):141-50.
- Khwaja, A.** KDIGO Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury. Nephron. 2012 Aug 7;120(4):c179-84.
- Bennett, M et al.** Urine NGAL Predicts Severity of Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery: A Prospective Study. Clin J Am Soc Nephrol. 2008 May;3(3):665-73.
- Koyner, JL et al.** Urinary Biomarkers in the Clinical Prognosis and Early Detection of Acute Kidney Injury. Clin J Am Soc Nephrol. 2010 Dec;5(12):2154-65.
- Zappitelli, M et al.** Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study. Crit Care. 2007;11(4):R84.
- Bolignano, D et al.** Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) and Progression of Chronic Kidney Disease. Clin J Am Soc Nephrol. 2009 Feb;4(2):337-44.
- Venge, P.** Human neutrophil lipocalin (HNL) as a biomarker of acute infections. Ups J Med Sci. 2018 Jan 2;123(1):1-8.