

重组甲状腺过氧化物酶 (rTPO)

甲状腺过氧化物酶 (TPO) 是一种甲状腺滤泡细胞必须的顶端膜糖蛋白。TPO参与甲状腺球蛋白酪氨酸残基的反应, 从而形成甲状腺素 (Ruf, Carayon, 2006)。在细胞膜上, TPO以二聚体形量约为100KDa (Baker et al. 1994)。抗甲状腺过氧化物酶抗体是患有自身免疫性甲状腺疾病患者血清中最为常见的一种自身抗体; 90%的桥本氏甲状腺炎患者和75%的格雷夫氏病患者的血清中均有该抗体的存在 (Mariotti et al. 1990)。因此, 定量检测抗TPO自身抗体的免疫检测系统被广泛应用于临床实践。多年来, 该免疫检测系统主要使用从人甲状腺纯化的天然TPO作为关键性原料—抗原。据90年代早期的研究显示, 由昆虫细胞重组表达的重组TPO胞外域具有与天然TPO抗原类似的免疫学活性 (Haubruck et al. 1993)。但是当时大规模量产的技术瓶颈却使重组TPO在免疫检测系统开发中的广泛应用受到了制约。

我们隆重介绍HyTest所提供的可量产重组TPO, 其具有与人甲状腺纯化的天然TPO抗原相似的免疫学活性。可以作为抗原以用于开发检测TPO特异性自身抗体的免疫检测系统, 从而应用于自身免疫性甲状腺疾病的临床诊断。

该重组抗原经昆虫细胞表达, 为人TPO的可溶性胞外域 (氨基酸序列为19-846)。估算分子量为91981Da, 且不含有任何标签。该抗原经基于特异性单克隆抗体的亲和层析和离子交换层析纯化, 如图1所示。经SDS电泳后, 有两条可见的TPO蛋白条带 (100-110KDa), 该两条蛋白条带均能于蛋白免疫印迹中与特异性单抗反应。电泳条带的异质性可能是由蛋白的糖基化程度不同所导致。此外, 该TPO抗原还经过MALDI质谱鉴定。

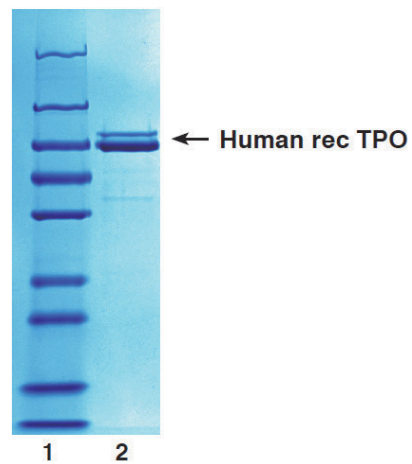


图1. 由昆虫细胞表达的重组TPO的还原性SDS电泳
泳道1: 标准分子量物质, Fermentas(250, 130, 100, 70, 55, 35, 25, 15 和10kDa)
泳道2: 人重组TPO抗原, 1 μ g
凝胶染色: 考马斯亮蓝G-250

血清学 (抗体) 检测可用于监测临床样本中特异性 SARS-CoV-2 抗体存在情况。在典型的感染过程中, B细胞会产生不同亚型的抗体。通常情况下, IgA和IgM在新冠病毒感染的早期 (初始病症的7天内) 即可被检出, 而IgG的出现时间则相对较晚。另外, 在疾病恢复期IgG的滴度较急性感染期要高四倍。

通过与经甲状腺纯化的天然TPO抗原进行比较，我们对重组TPO抗原的免疫学活性进行了分析。将两种不同的TPO抗原分别进行包被，然后对患有各种不同自身免疫性甲状腺疾病患者的血清进行测定（图2）。

如图2所示，HyTest提供的重组TPO抗原具有和天然TPO抗原非常相似的免疫学活性。重组抗原和天然抗原测试结果之间的相关系数为0.92（n=28）。该数据显示，HyTest提供的重组抗原可以成功用于开发人TPO特异性自身抗体的定量免疫检测系统。

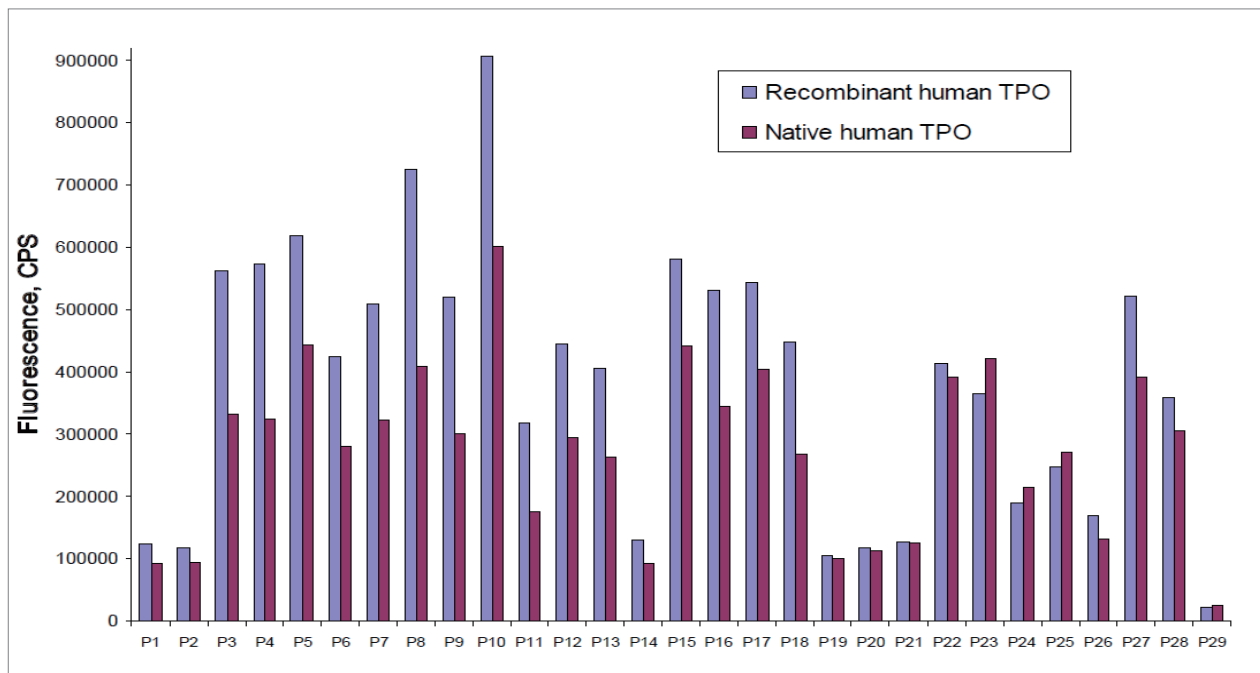


图2. 重组TPO和天然TPO分别作为包被抗原的免疫活性比对。重组TPO或天然TPO包被浓度为0.1μg/孔。28例自身免疫性甲状腺疾病患者血清和1例健康人血清（P29）均稀释50倍并于微孔板中孵育1小时。之后用荧光标记的抗人IgG抗体对被捕获的自身抗体进行检测。发光信号如CPS所示。

订购信息

抗原

产品名称	货号	纯度	来源
重组TPO	8RTPO	>95%	昆虫细胞

参考文献

1. Ruf J, Carayon P, Structural and functional aspects of thyroid peroxidase. Arch. Biochem. Biophys. 2006, 445 (2): 269-77.
2. Baker JR, Arscott P, Johnson J, An analysis of the structure and antigenicity of different forms of human thyroid peroxidase. Thyroid. 1994, 4(2):173-8.
3. Mariotti S, Caturegli P, Piccolo P, Barbesino G, Pinchera A, Antithyroid peroxidase autoantibodies in thyroid diseases. J Clin Endocrinol Metab. 1990, 71(3):661-9.
4. Haubruck H, Mauch L, Cook NJ, Steffens U, Hunt N, Berthold H, Niemann H, Wirbelauer C, Northemann W. Expression of recombinant human thyroid peroxidase by the baculovirus system and its use in ELISA screening for diagnosis of autoimmune thyroid disease. Autoimmunity. 1993, 15(4):275-84.