

研究快报

载脂蛋白(a)单克隆抗体的制备及其性能研究

任关仁 王大宝 刘一文 陆梅生 潘晓平

(上海市第六人民医院, 上海 200233)

关键词 脂蛋白(a), 杂交瘤, 位点, ELISA

载脂蛋白(a)简称 apo(a), 是脂蛋白(a) (Lp(a)) 中特征性蛋白成分, 分子量在 400—700kD, apo(a) 以二硫键与低密度脂蛋白(LDL)的载脂蛋白 B100 相连构成 Lp(a), 分子量在 1 200—1 500kD^[1]. 近年来国内外学者认为 Lp(a) 和 apo(a) 是研究动脉粥样硬化危险因素的重要指标^[1]. 我们为了探索脂质代谢紊乱引起的心血管系统疾病, 进行了 apo(a) 的单克隆抗体研究.

apo(a) 提取的脂蛋白 Lp(a) 经密度为 1.182—1.21g/ml 的密度梯度离心 (49 000r/min) 25h, 制备 apo(a) 纯化剂分子量 570 000 kD. 使用约 150μg apo(a) 与完全弗氏佐剂混合, 以腹腔注射免疫 8 周龄 BALB/C 小鼠, 每两周加强一次, 8 周后取血作阳性血清对照, 滴度在 1:1 000. 取脾脏制成脾细胞悬液与小鼠骨髓瘤细胞 SP2/0, ×63 以 5:1 之比用 PEG (Mr: 2 000) 融合, 融合率在 80% 以上. 将含小鼠饲养层细胞的 20% FBS-DMEM 培养液分种于 96 孔培养板中置 CO₂ 温箱培养. 第 10 天进行筛选, 以 apo(a) 及纤溶酶原 (PG·Sigma 产品) 包被作为抗原, 用 ELISA 方法进行筛选, 取 apo(a) 阳性而 PG 阴性的细胞进行克隆化, 以有限稀释法连续 5 次克隆筛选, 共得 2H₅, 4E₉, 7G₁₂, 7A₇ 和 4H₁₁ 5 株分泌抗 apo(a) 的单抗细胞株, 并进行了性能研究. 5 株单抗用双扩散法测其亚类, 4 株为 IgG₁, 一株为 IgG_{2a}. 腹水抗体效价在 1:800—1:12 800 滴

度. 按 Beatty 等改进的间接 ELISA 方法^[2]测 5 株单抗亲和常数在 2.3×10^7 — 8.96×10^8 之间. 5 株单抗从 Spot-ELISA 检测, 对 apo(a) 全为强阳性. 对 Lp(a) 3 株呈强阳性, 2 株为中等度阳性. 对 PG 3 株为阴性, 2 株有轻度交叉的弱阳性. 对 LDL (apo B) 5 株全为阴性. 对人新鲜血浆呈不同程度的阳性. 按 Friguert 的 ELISA 相加试验作抗原表位特异性研究^[3], 以 apo(a) 作抗原时, 5 株单抗中有 4 株单抗识别同一抗原表位, 1 株单抗识别另一抗原表位. 以 Lp(a) 作为抗原, 5 株单抗有 2 株识别同一抗原表位, 3 株各识别各自的抗原表位. 因此我们实验结果表明, 5 株单克隆抗体识别 apo(a) 位点, 同时也识别 Lp(a) 位点, 是不同于 Guo^[4] 及 Duvic^[5] 所获的单克隆特点, 该单克隆具备特异性检测人血浆 Lp(a) 特性, 可以作为检测 Lp(a) 或 apo(a) 的试剂盒. 在用夹心 ELISA 酶标方法中检测正常人血清 Lp(a), 线性良好.

参考文献

- 1 叶平、黄宛. 脂蛋白(a)与动脉粥样硬化的研究进展. 国外医学老年医学分册, 1992; 13 (4): 151
- 2 Beatty J D, Beatty B G, Vlahos W G. Measurement of monoclonal antibody affinity by non-competitive enzyme immunoassay. *J Immunol Methods*, 1987; 100: 173

- 3 Frignet B, Djavadi-Ohanian L, Pages J *et al.* A convenient enzyme linked immunosorbent assay for testing whether monoclonal antibodies recognize the same antigenic site. *J Immunol Methods*, 1983; **60**: 351
- 4 Guo H G, Armstrong V W, Luc G *et al.* Characterization of five mouse monoclonal antibodies to apolipoprotein (a) from human Lp (a); evidence for weak plasminogen reactivity. *J Lipid Research*, 1989; **30**: 23
- 5 Duvic R D, Smith G, Sledge W E *et al.* Identification of a mouse monoclonal antibody, LHLp-1, specific for human Lp (a). *J Lipid Research*, 1985; **26**: 540

ZS-1 型半自动生化分析仪的研制

林波海 吴 维 徐冠群* 刘 燕* 张幼苓 曹绍启

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

关键词 半自动生化分析仪, 生化检验, 酶学检测方法

为了普遍推广临床诊断酶学检测方法, 大力提高广大医院临床生化检验的灵敏度、准确度和工作效率, 我们在研制成 BC-1 型半自动生化分析仪的基础上, 又研制了 ZS-1 型半自动生化分析仪。后者在微量流动吸收池、吸样泵、微机软件、光学部件、仪器外形结构和工艺等方面都有改进, 更符合实际使用需要。由于改进了焊接与抛光技术, 提高了微量流动吸收池内表面的光洁度, 大大减少了高低值样品间的交叉污染; 由于改进了光栅单色器的消除杂散光及二级光谱的装置, 降低了仪器的杂散光, 使酶动力学法常用的 340nm 波长的杂散光减少到 1/10, 提高了仪器的测量精度, 扩大了线性范围。

ZS-1 型半自动生化分析仪已经北京医院、解放军 302 医院和北京医科大学附属第三医院的临床试用。试用单位对仪器的零点漂移、波长准确度、吸光度值准确度与重现性、仪器线性、相关性和交叉污染等进行了试验。并与日本的日立 7150 型和荷兰的 VITAL ISP 等生化分析仪进行了对照比较。结果表明, ZS-1 型半自动生化分析仪主要性能指标接近国外同类产品水平。该仪器操作简便, 分析迅速准确。如 302 医院用酶动力学法、两点法和终点法等测了

8 000 多个数据, 其统计结果说明仪器的线性和相关性良好, 样品的批内和批间的变异系数 (CV 值) 低于规定值。该仪器的检验范围广泛, 不但有医院常规的 20 几种检验的固化程序, 而且还可自编自改 30 几种分析程序, 以适应未来生化检验方法学的不断改进。

该仪器还通过了国家医药管理局医用生化分析仪质量检测中心的性能测试和全面环境试验, 如高低温、潮湿、振动、冲击和运输等 10 个试验。试验结果表明, 仪器满足了国家医药部门规定的《生化分析仪》行业标准的要求。

在临床试用和例行试验的基础上, ZS-1 型半自动生化分析仪又通过了国家医药管理局指定的北京医药总公司主持的鉴定。鉴定委员会认为, 该仪器设计合理, 试剂用量少, 国内外试剂盒均适用, 临床试用效果良好, 主要技术指标属国内领先, 可投入小批量生产。

主要技术指标如下:

- 1) 测量方式: 酶动力学法、两点法和终点法;
- 2) 波长范围: 320—800nm, 波长连续可调;

* 北京中生生物工程高技术公司, 北京 100083.

收稿日期: 1993-02-17