



技术报告

临床与科研领域

神经科学



胶质纤维酸性蛋白 (GFAP)



胶质纤维酸性蛋白是中枢神经系统（大脑和脊髓）星形胶质细胞的一种主要结构蛋白。该蛋白也存在于周围神经系统的非髓鞘化 Schwann 细胞中。GFAP 具有支撑细胞形状的作用，同时还参与调节相关细胞的增殖、突触可塑性及血脑屏障功能调控等生理过程。

GFAP的生化性质

GFAP属于中间丝III蛋白家族。迄今已发现十种蛋白亚型。然而，只有一种亚型具有临床价值，该亚型为GFAP的主要亚型——亚型1或GFAP- α (1)。

GFAP是一种纤维状蛋白，分子量约为50KDa。GFAP横向二聚体的形成及二聚体头尾连接的多聚物的形成是中间丝形成的重要环节。GFAP在不同物种之间呈高度保守，这与其他参与中间丝形成的蛋白类似，如波形蛋白、肌间丝蛋白、外周蛋白和 α 互联蛋白。

GFAP可作为一种诊断用途的生物标志物

GFAP是一种胶质细胞损伤的标志物。在胶质细胞出现损伤的情况下，GFAP将会从细胞中释放进入血液循环。胶质细胞损伤后，短时间内即可在血液中检测到GFAP (2,3)。



临床用途

✓ 外伤性脑损伤 (TBI)

外伤性脑损伤 (TBI) 的标志物。一些新的研究数据显示，GFAP可作为TBI诊断的标志物。对于轻度TBI和中度TBI，GFAP在损伤发生的8小时内会出现显著升高 (3)。另外，还有研究显示，GFAP的浓度水平可用于损伤后的结局预测 (4)。此外，目前市场上已经有一种用于评估轻度TBI的GFAP (和UCH-L1) 的检测试剂通过了FDA批准 (5)。

鉴别区分出血性卒中和缺血性卒中。越来越多的研究指出，GFAP可以用于鉴别区分出血性卒中和缺血性卒中。这两种卒中均会导致非常严重的后果，但是由于两种卒中的发病机制不同，治疗方面会采用相反的治疗策略。因此，寻找可以尽早区分两种卒中的诊断工具尤为重要。研究显示，GFAP在出血性卒中发生的两小时内即会出现升高，6-12小时内达到峰值。而对于缺血性卒中，GFAP的升高则相对较晚 (2,6)。

GFAP检测试剂

我们提供若干GFAP特异性单克隆抗体。此外，我们还提供重组GFAP抗原，可用于免疫检测的标准品或校准品。

GFAP特异性单克隆抗体

HyTest提供若干株性能优异的GFAP特异性单克隆抗体。这些抗体可用于血清、血浆或脑脊液GFAP定量检测试剂的开发。

GFAP夹心免疫检测系统

对于检测肝素/柠檬酸盐血浆或血清的GFAP夹心免疫检测系统的开发，我们推荐三组配对（表1）。这些配对均和波形蛋白、肌间丝蛋白、外周蛋白和 α 互联蛋白无交叉反应。其中配对GFAP83cc - GFAP81cc的校准曲线如图1所示。

表1. 推荐捕获-检测抗体配对。数据来源于化学发光免疫分析平台。LoD，最低检测限。

捕获抗体	检测抗体	LoD (pg/ml)
GFAP83cc	GFAP81cc	4.8
GFAP94cc	GFAP98cc	15.3
GFAP15cc	GFAP81cc	13.3
GF5	GFAP98cc	7.4

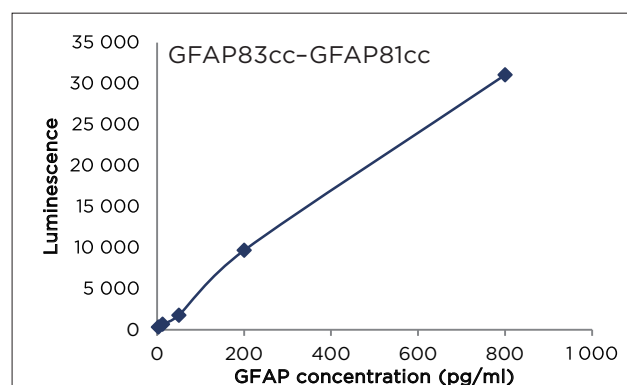


图1. 天然GFAP作为抗原，GFAP83cc - GFAP81cc（捕获抗体 - 检测抗体）的校准曲线。

临床样本的GFAP检测

我们对所有推荐配对的原型试剂进行了临床样本测试能力的评估。配对GFAP83cc-GFAP81cc对于出血性卒中（5例）和缺血性卒中（5例）患者血浆样本的测试结果如图2所示。所有样本的采血均于损伤发生的12小时内完成。结果显示，我们推荐的配对只能检测出血性卒中患者的GFAP。这与其他研究的数据结果一致，提示GFAP可用于两种不同卒中的鉴别诊断。对于缺血性卒中，GFAP升高的时间要相对较晚。

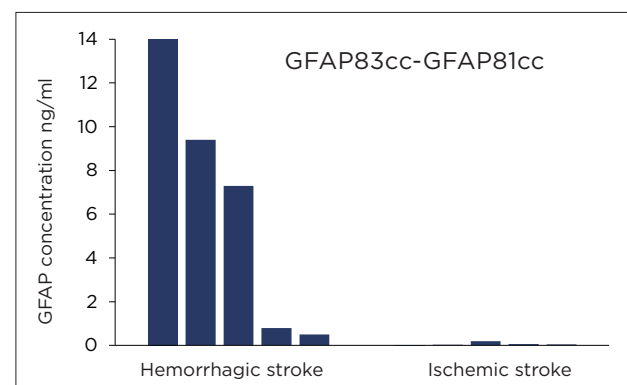


图2. 配对GFAP83cc - GFAP81cc对于出血性卒中和缺血性卒中患者血浆样本的测试结果。

适用于免疫组化的单抗

单抗GFAP15cc、GFAP81cc、GFAP83cc和GF5均可用于免疫组化。单抗GFAP81cc对于胶质细胞的染色结果如图3所示。

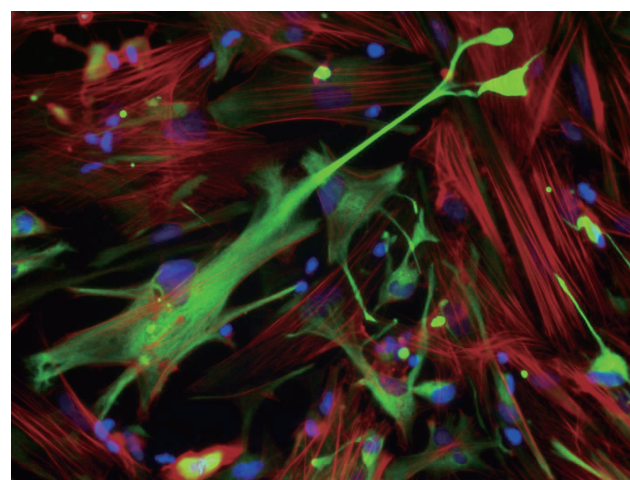


图3. 培养的胶质细胞的GFAP染色结果。一抗为GFAP81cc，二抗为标记了Alexa-488兔抗鼠多抗。

重组GFAP

HyTest提供重组GFAP抗原，可用于免疫分析检测中的标准品或校准品。该抗原由人GFAP的60-383位点氨基酸组成，表达于大肠杆菌。抗原纯度高达90%以上。重组GFAP的SDS-PAGE结果显示，分子量34 kDa处有一条明显的条带（见图 4）。

值得注意的是，GFAP是一种纤维状蛋白质，易于聚合。此外，重组GFAP有形成二聚体的趋势，因此纯化的蛋白质可能含有一定量的二聚体GFAP。

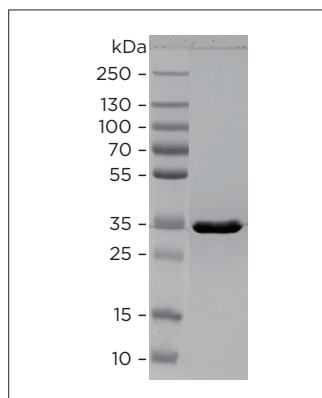


图4. 重组GFAP片段梯度凝胶（4-20%）还原性条件下SDS-PAGE结果。纯化蛋白的上样量为2.5μg。

避免重组GFAP沉淀

GFAP的聚集可能最终导致蛋白质在保存时发生沉淀。聚集取决于温度、浓度和缓冲液等条件。我们建议将蛋白质保存在-70°C，将冻干产品重新复溶至初始浓度（始终低于 1 mg/mL），并避免使用具有高离子强度的缓冲液，例如PBS。

重组GFAP冻融实验

我们在反复冻融循环后测试了重组GFAP的免疫化学稳定性。冻干蛋白使用蒸馏水或1% BSA复溶。使用GFAP83cc-GFAP81cc原型试剂测定蛋白质10次冻融循环的免疫活性，结果显示没有显著变化（见图 5）。

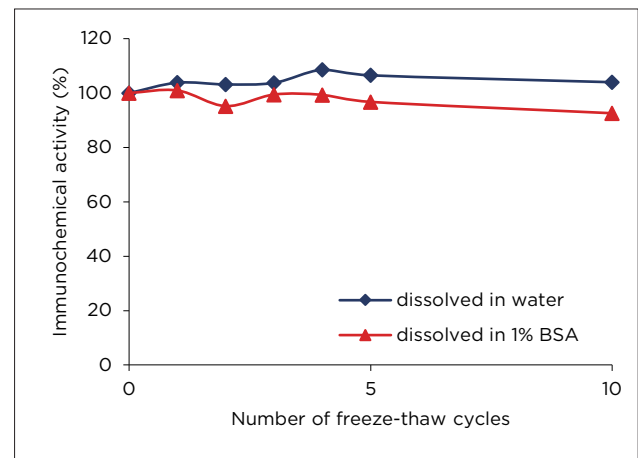


图5. 重组GFAP冻融稳定性。冻干重组GFAP使用蒸馏水或1% BSA复溶，进行10次冻融循环。随后使用免疫夹心法试剂（GFAP83cc-GFAP81cc）测定免疫活性。

参考文献

1. Middeldorp, J. & Hol, E. M. GFAP in health and disease. Progress in Neurobiology 93, 421-443 (2011).
2. Foerch, C. et al. Diagnostic accuracy of plasma glial fibrillary acidic protein for differentiating intracerebral hemorrhage and cerebral ischemia in patients with symptoms of acute stroke. Clinical Chemistry 58, 237-245 (2012).
3. Papa, L. et al. Time course and diagnostic accuracy of glial and neuronal blood biomarkers GFAP and UCH-L1 in a large cohort of trauma patients with and without mild traumatic brain injury. JAMA Neurology 73, 551 (2016).
4. Vos, P. E. et al. GFAP and S100B are biomarkers of traumatic brain injury: An observational cohort study. Neurology 75, 1786-1793 (2010).
5. U.S. Food & Drug Administration. FDA authorizes marketing of first blood test to aid in the evaluation of concussion in adults. FDA (2018). At <<http://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-authorizes-marketing-first-blood-test-aid-evaluation-concussion-adults>>
6. Herrmann, M. et al. Release of glial tissue-specific proteins after acute stroke: A comparative analysis of serum concentrations of protein S-100B and glial fibrillary acidic protein. Stroke 31, 2670-2677 (2000).

订购信息

单克隆抗体

产品名称	货号	克隆号	亚型	备注
胶质纤维酸性蛋白 (GFAP)	4G25	GFAP15cc	IgG1	体外生产, EIA, WB, IHC
		GFAP81cc	IgG1	体外生产, EIA, WB, IHC
		GFAP83cc	IgG1	体外生产, EIA, WB, IHC
		GFAP94cc	IgG1	体外生产, EIA, WB
		GFAP98cc	IgG1	体外生产, EIA, WB

抗原

产品名称	货号	纯度	来源
胶质纤维酸性蛋白 (GFAP), 人, 重组	8G45	>90%	重组