



技术报告

临床与科研领域

炎症



人血清淀粉样蛋白A (SAA)



血清淀粉样蛋白A载脂蛋白家族包含三种家族蛋白，分别由SAA1、SAA2和SAA4基因编码（1-3）。其中SAA1和SAA2为急性亚型。当机体对炎症产生应答时，其表达水平会升高。SAA4是组成型，在急性反应应答期间，其表达水平不会发生改变。此外，还有一种SAA相关基因（SAA3）也已经得到了鉴别，该基因在人类中并没有表达。

已经得到了鉴别，该基因在人类中并没有表达。

临床用途



- ✓ 炎症
- ✓ 组织损伤

SAA 的生化性质

SAA1和SAA2由肝脏合成并分泌释放进入血液循环。在血液中，SAA会与高密度脂蛋白（HDL）形成复合物。

SAA1和SAA2都有不同形式的等位基因，SAA1有三个不同的变异型而SAA2有2个不同的变异型，这些变异型之间存在1-3个氨基酸残基的差异。SAA1和SAA2均含有104个氨基酸残基。在人类的血液样本中，全长序列的SAA以及N末端精氨酸被酶切的SAA均有发现。急性SAA1和SAA2蛋白具有高度同源性，这两种蛋白至少存在97个相同的氨基酸残基。SAA4由112个氨基酸残基组成，SAA4与两种急性SAA蛋白的同源性接近50%。

最近，包含有N末端组氨酸Tag的重组人SAA1的晶状结构已被发表。报告显示，SAA包含4条 α 螺旋，其氨基酸序列区域分别为1-27、32-47、50-69以及73-88(4)。在溶液中，人重组SAA与纯化的内源性SAA都有聚集为低聚物的倾向（4-6）。据推测，这种聚集是由位于1号 α 螺旋（氨基酸序列区域为2-8）和3号 α 螺旋（氨基酸序列区域为52-59）内的氨基酸残基所介导的（4）。

SAA的生物学功能

SAA在炎症反应中的生物学功能尚未研究透彻。有研究认为，SAA参与了损伤组织中胆固醇的回收。SAA可能扮演着一种信号分子，可以重新配置HDL颗粒从而激活巨噬细胞并介导巨噬细胞中储存的胆固醇的清除。这些被释放的胆固醇随后与高密度脂蛋白（HDL）结合然后被用于新细胞的细胞膜，这些新细胞在急性炎症和组织修复时发挥作用（7）。此外，根据已经发表的研究，重组的SAA在体外研究中具有显著的促炎症活性，这种活性是通过诱导多种细胞因子的合成以及促进单核细胞和中性粒细胞的趋药性而产生的（1,8）。然而在生理条件下，SAA是否也具有相同的特性仍然不得而知（9）。SAA在生理及病理条件下精确的生物学功能仍有待进一步研究。

SAA可作为一种诊断标志物

SAA是一种非特异性的炎症标志物。当机体受到如组织损伤、感染或创伤所引起的炎症刺激后，它在血液中的浓度水平会升高。与CRP类似，SAA是人类的一种主要的急性反应蛋白。正常情况下，血清中SAA的浓度大约为1-10μg/ml。然而，在急性反应中，SAA的浓度会达到1mg/ml甚至更高。急性反应通常会持续数天之久，当机体没有受到新的炎症刺激时，SAA的水平会逐渐下降。

SAA可以用于炎症的诊断、预后以及疗效评估。尤其在类风湿患者中，大量研究表明SAA的浓度可以反映患者的疾病活动度及炎症程度(10,11)。对于急性肾移植排斥反应而言，SAA是一种灵敏的标志物。对肾移植患者进行SAA监测可以用于急性排斥反应发生的早期检查(12,13)。在心肌梗死患者中，SAA的浓度会升高至极限高值，并与梗死后并发症及死亡率相关(14,15)。在由多种病原体所引起的细菌感染患者中，SAA浓度也会出现升高(16)。在尿路感染患者中，SAA的检测有助于评估抗菌疗效(17)。

人SAA特异性单克隆抗体

HyTest可提供一系列小鼠抗SAA单克隆抗体，这些抗体适用于人外周血中SAA定量免疫检测系统的开发。我们提供的抗体除可以识别人SAA外，还可以识别其他物种的SAA（具体信息见表1）。关于更多用于检测犬、猫和马SAA的试剂原料信息，请参见我们的动物SAA技术报告或者访问我们的官方网站：www.hytest.cn。

表1. 抗人SAA单抗的与其他物种SAA的交叉反应情况

货号	克隆	特异性			
		人 SAA	犬 SAA	马 SAA	猫 SAA
4SA11	A491	+	+	+	+
	A496	+	-	-	-
	VSA6	+	+	+	-
	VSA25	+	+	+	+
	SAA1cc	+	+	-	-
	SAA6	+	+	-	-
	SAA15cc	+	+	-	-
4VS4	SAA19cc	+	+	+	+
	SAA21cc	+	+	+	+
	VSA38cc	+	+	+	+
	VSA31cc	+	+	+	+

人SAA夹心免疫检测系统的开发

我们推荐4组配对（表2），可用于开发人SAA夹心免疫检测系统已用于检测人血浆中的SAA。所有推荐配对均可识别重组SAA1抗原（货号8SA1）、重组SAA2抗原（货号8SA2）和天然人SAA。

表2. 人SAA抗体配对推荐

捕获抗体	检测抗体
A496	A491
A496	SAA19cc
SAA19cc	A496
A496	SAA21cc

我们用健康人以及炎症患者血浆对上述配对进行了测试（图1），结果显示，炎症患者血浆中的SAA水平显著升高。

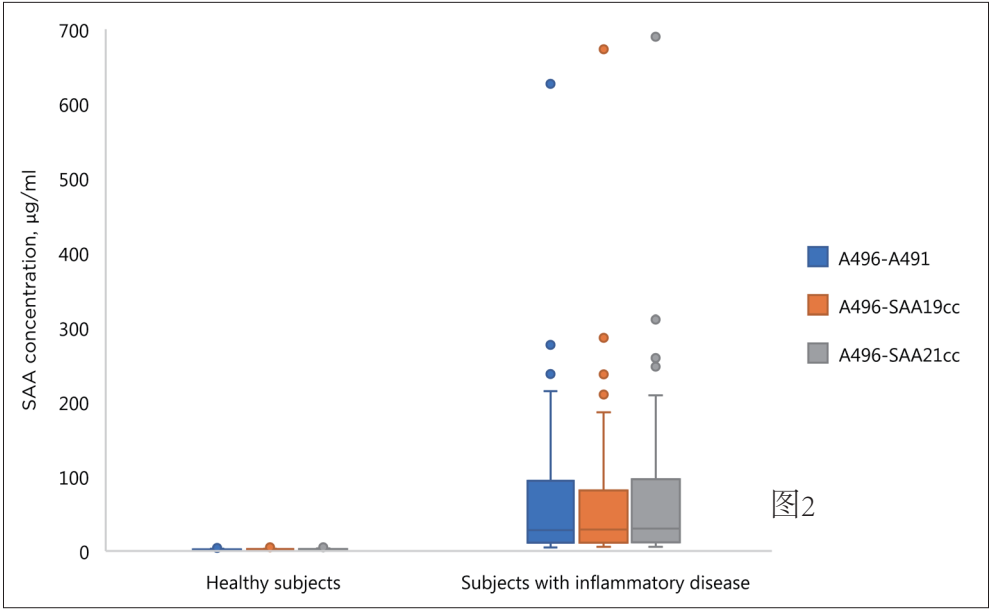


图1. 18例健康人和28例炎症患者血浆SAA的内部原型试剂测试结果。

不同人SAA变异型的交叉反应研究

我们对推荐配对对于SAA1.1、SAA1.3、SAA1.5、SAA2.1和SAA2.2等常见人SAA变异型的交叉反应进行了分析，不同变异型的氨基酸序列如图2所示。重组SAA抗原由大肠杆菌表达。所有推荐配对均可识别全部SAA变异型（图3）。

a.a.r.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
Human SAA1.1	R	S	F	F	S	F	L	G	E	A	F	D	G	A	R	D	M	W	R	A	Y	S	D	M	R	E	A	N	Y	I	G	S	D	K	Y	F	H
Human SAA1.3	R	S	F	F	S	F	L	G	E	A	F	D	G	A	R	D	M	W	R	A	Y	S	D	M	R	E	A	N	Y	I	G	S	D	K	Y	F	H
Human SAA1.5	R	S	F	F	S	F	L	G	E	A	F	D	G	A	R	D	M	W	R	A	Y	S	D	M	R	E	A	N	Y	I	G	S	D	K	Y	F	H
Human SAA2.1	R	S	F	F	S	F	L	G	E	A	F	D	G	A	R	D	M	W	R	A	Y	S	D	M	R	E	A	N	Y	I	G	S	D	K	Y	F	H
Human SAA2.2	R	S	F	F	S	F	L	G	E	A	F	D	G	A	R	D	M	W	R	A	Y	S	D	M	R	E	A	N	Y	I	G	S	D	K	Y	F	H
a.a.r.	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
Human SAA1.1	A	R	G	N	Y	D	A	A	K	R	G	P	G	G	V	W	A	A	E	A	I	S	D	A	R	E	N	I	Q	R	F	F	G	H	G	A	E
Human SAA1.3	A	R	G	N	Y	D	A	A	K	R	G	P	G	G	A	W	A	A	E	A	I	S	D	A	R	E	N	I	Q	R	F	F	G	H	G	A	E
Human SAA1.5	A	R	G	N	Y	D	A	A	K	R	G	P	G	G	A	W	A	A	E	V	I	S	D	A	R	E	N	I	Q	R	F	F	G	H	G	A	E
Human SAA2.1	A	R	G	N	Y	D	A	A	K	R	G	P	G	G	A	W	A	A	E	V	I	S	N	A	R	E	N	I	Q	R	L	T	G	H	G	A	E
Human SAA2.2	A	R	G	N	Y	D	A	A	K	R	G	P	G	G	A	W	A	A	E	V	I	S	N	A	R	E	N	I	Q	R	L	T	G	R	G	A	E
a.a.r.	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104							
Human SAA1.1	D	S	L	A	D	Q	A	A	N	E	W	G	R	S	G	K	D	P	N	H	F	R	P	A	G	L	P	E	K	Y							
Human SAA1.3	D	S	L	A	D	Q	A	A	N	E	W	G	R	S	G	K	D	P	N	H	F	R	P	A	G	L	P	E	K	Y							
Human SAA1.5	D	S	L	A	D	Q	A	A	N	E	W	G	R	S	G	K	D	P	N	H	F	R	P	A	G	L	P	E	K	Y							
Human SAA2.1	D	S	L	A	D	Q	A	A	N	K	W	G	R	S	G	R	D	P	N	H	F	R	P	A	G	L	P	E	K	Y							
Human SAA2.2	D	S	L	A	D	Q	A	A	N	K	W	G	R	S	G	R	D	P	N	H	F	R	P	A	G	L	P	E	K	Y							

图2. 不同人SAA变异型的氨基酸序列信息。变异型之间的氨基酸差异为蓝色标识，变异型的命名基于Sipe(18)的建议。

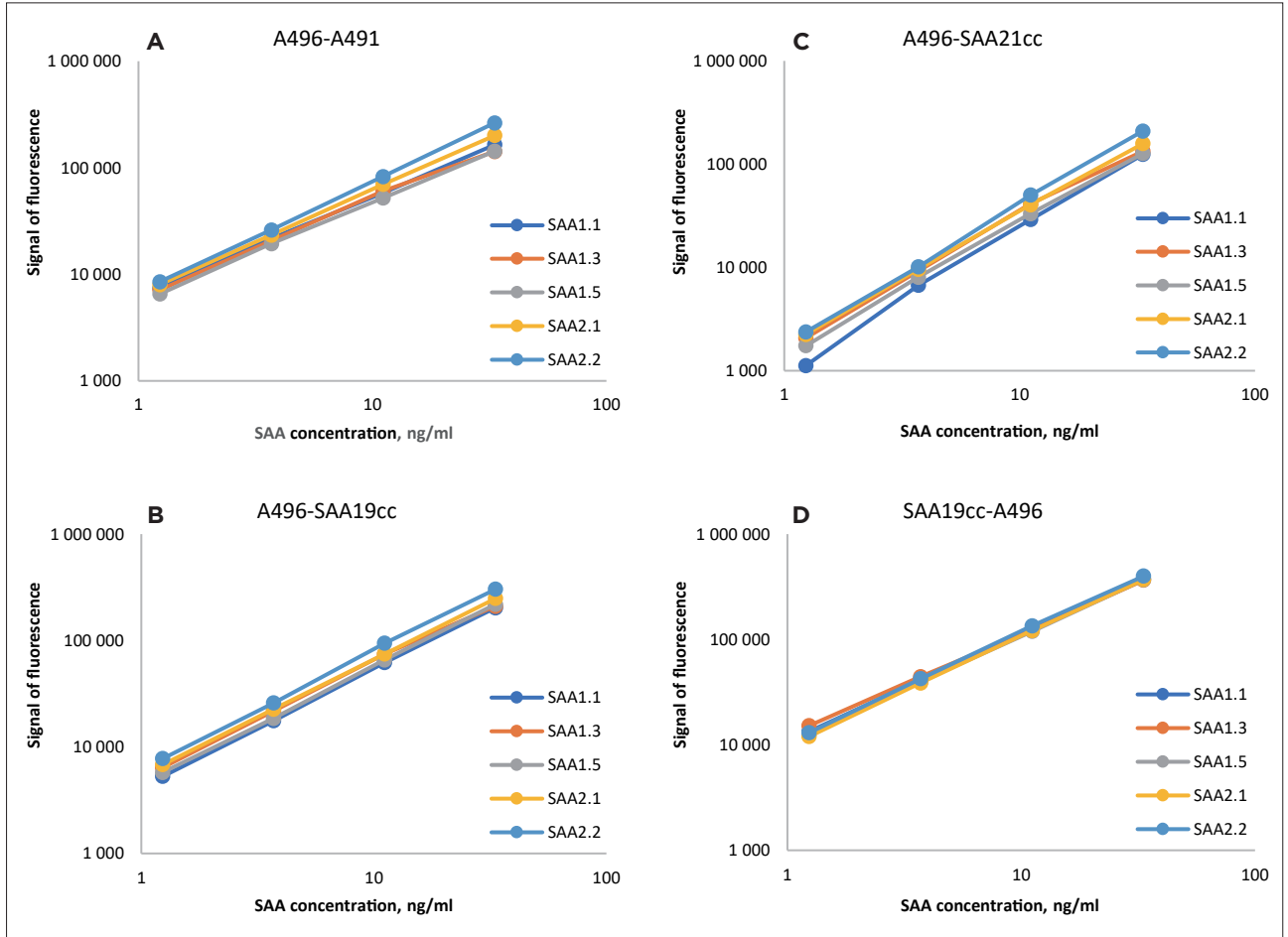


图3. 推荐配对的校准曲线。A: A496-A491, B: A496-SAA19cc, C: A496-SAA21cc, D: SAA19cc-A496。

重组SAA4也由大肠杆菌所表达，结果显示，推荐配对不会识别SAA4（图4）。

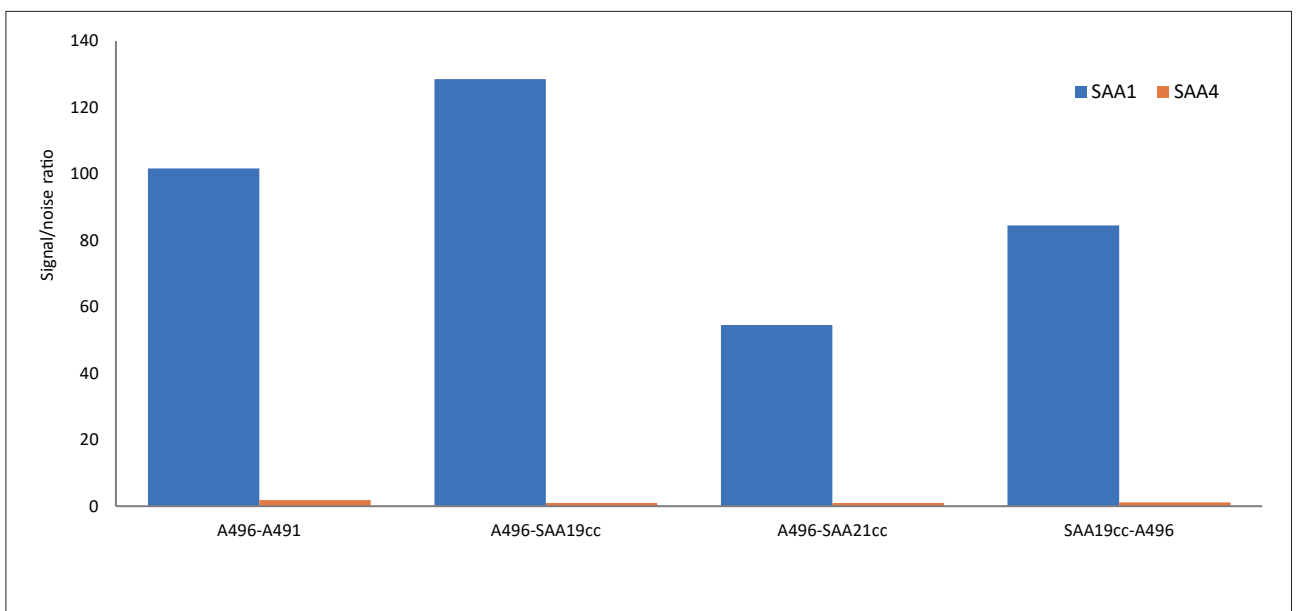


图4. 推荐配对对于SAA1和SAA4的识别情况。SAA1和SAA4的浓度均为33ng/mL。

重组人SAA

HyTest提供重组人SAA1 (SAA1.1变异型) 和SAA2 (SAA2.1变异型) 两种抗原, 均由大肠杆菌表达, 纯度超过95% (图5)。上述抗原的氨基酸序列由图2所示。两种重组抗原的N末端均含有一个额外的甲硫氨酸。

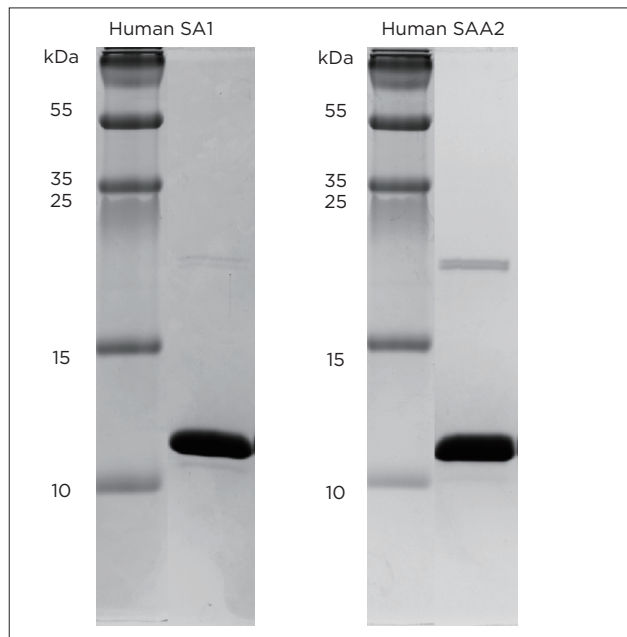


图5. SAA抗原的还原性SDS-PAGE电泳结果。上样量为5 μ g。

两种重组抗原均展示出了类似的免疫学活性 (图6A)。使用推荐配对对重组蛋白和人血浆样品的系列稀释度进行测试, 结果显示重组蛋白与天然蛋白展示出了平行的反应曲线 (图6B)。

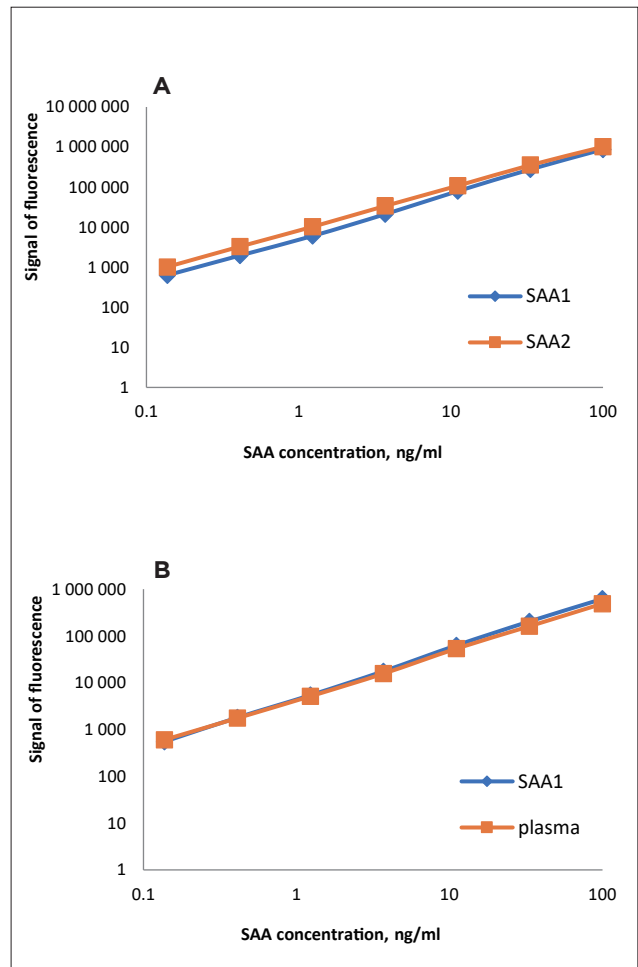


图6. 配对A496-SAA19cc测试不同抗原的校准曲线。

(A) 重组SAA1和SAA2作为待测抗原

(B) 重组SAA1和血浆天然SAA作为待测抗原

如何避免SAA与微孔板发生吸附

根据早期的文献报道，人SAA会与微孔板表面的聚苯乙烯发生非特异吸附（19,20）。在我们的评测过程中，也遇到了类似情况。因此在开发板式SAA免疫检测系统时，避免非特异性吸附非常重要。在封闭以及抗原稀释过

程中，要对工艺进行优化。根据我们的实验数据，对于SAA免疫检测系统而言，酪蛋白是一种非常有效的封闭剂（详见图7）。针对于我们推荐的抗体配对，我们采用的封闭液中包含有1%酪蛋白以及0.05%吐温20。

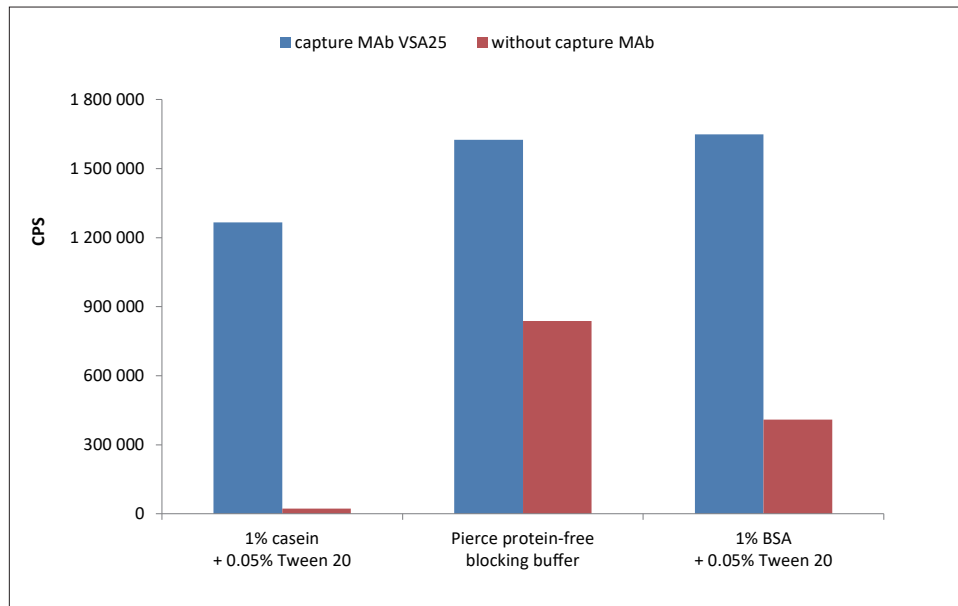


图4. 抗体配对为VSA25-VSA31cc的SAA免疫检测系统中，三种不同的封闭剂对于非特异吸附的影响情况对比。

将Costar EIA/RIA微孔板一半包被捕获抗体VSA25（货号4SA11），另一半不被任何抗体。微孔板分别用三种不同的封闭液进行封闭：（1）1%酪蛋白（Sigma-Aldrich，#C7078）和0.05%吐温20，（2）Pierce无蛋白封闭液（ThermoScientific，#37572），（3）1% BSA（Calbiochem，无脂肪酸，#126575）和0.05%吐温20。封闭条件为室温30分钟。将SAA浓度为2490μg/mL的EDTA血浆用含有0.05%吐温20的缓冲液稀释3200倍后，添加于包被了捕获抗体以及未被抗体包被的微孔板中。同时将标记了钨螯合物的检测抗体VSA31（货号4VSA）添加于微孔板中，37℃孵育1小时。

订购信息

单克隆抗体

产品名称	货号	克隆号	亚型	备注	
SAA, 人	4SA11	A496	IgG1	大鼠-小鼠异质杂交瘤抗体, EIA, 体外培养	New!
		A491	IgG2b	大鼠-小鼠异质杂交瘤抗体, EIA, 体外培养	New!
		VSA25	IgG1	EIA, WB	
		SAA1cc	IgG1	EIA, WB, 体外培养	
		SAA6	IgG1	EIA, WB	
		SAA15cc	IgG1	EIA, WB, 体外培养	
		VSA6	IgG1	EIA, WB	
SAA, 动物	4VS4	SAA19cc	IgG2a	EIA, 体外培养	
		SAA21cc	IgG2b	EIA, 体外培养	
		VSA38cc	IgG2a	EIA, WB, 体外培养	
		VSA31cc	IgG2a	EIA, WB, 体外培养	

抗原

产品名称	货号	纯度	来源
SAA1, 人, 重组	8SA1	>95%	重组
SAA2, 人, 重组	8SA2	>95%	重组

参考文献

- Uhlir CM and Whitehead AS. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. Eur. J. Biochem. 1999, 265:501-523.
- Yamada T. Serum amyloid A (SAA): a concise review of biology, assay methods and clinical usefulness. Clin Chem Lab Med. 1999, 37(4):381-388.
- Malle E and De Beer FC. Human serum amyloid A (SAA) protein: a prominent acute-phase reactant for clinical practice. Eur J Clin Invest. 1996, 26(6):427-435.
- Lu J et al. Structural mechanism of serum amyloid A-mediated inflammatory amyloidosis. PNAS 2014, 111(14):5189-5194.
- Malle E et al. Mapping of antigenic determinants of purified, lipid-free human serum amyloid A proteins. Scand J Immunol. 1998, 48(5):557-561.
- Patke S et al. Characterization of the oligomerization and aggregation of human serum amyloid A. PLoS One. 2013, 8(6):e64974.
- Kisilevsky R and Manley PN. Acute-phase serum amyloid A: perspectives on its physiological and pathological roles. Amyloid. 2012, 19(1):5-14.
- Ye RD and Sun L. Emerging functions of serum amyloid A in inflammation. J. Leukoc. Biol. 2015, Dec;98(6):923-9.
- Kim MH et al. SAA does not induce cytokine production in physiological conditions. Cytokine. 2013, 61(2):506-512
- Targońska-Stępnik B and Majdan M. Serum amyloid A as a marker of persistent inflammation and an indicator of cardiovascular and renal involvement in patients with rheumatoid arthritis. Mediators Inflamm. 2014:793628.
- Chambers RE et al. Serum amyloid-A protein concentration in rheumatoid arthritis and its role in monitoring disease activity. Ann. Rheum. Dis. 1983, 42(6):665-667.
- Maury CP et al. Serum amyloid A levels in human renal allograft rejection. Clin. Sci. (Lond.). 1983, 65(5):547-550.
- Hartmann A et al. Serum amyloid A protein is a clinically useful indicator of acute renal allograft rejection. Nephrol Dial Transplant. 1997, 12(1):161-166.
- Časl MT et al. Serum amyloid A protein in patients with acute myocardial infarction. Ann. Clin. Biochem. 1995, 32 (2):196-200.
- Nakayama T et al. Monitoring both serum amyloid A protein and C-reactive protein as inflammatory markers in infectious diseases. Clin. Chem. 1993, 39(2):293-297.
- Katayama T et al. Prognostic value of serum amyloid A protein in patients with acute myocardial infarction. Circ. J. 2005, 69(10):1186-1191.
- Časl MT et al. Clinical relevance of serum amyloid A protein monitoring in urinary tract infections. Ann. Clin. Biochem. 1993, 30(3):272-277.
- Sipe J. Revised nomenclature for serum amyloid A (SAA). Nomenclature Committee of the International Society of Amyloidosis. Part 2. Amyloid. 1999, 6:67-70.
- Marhaug G. Three assays for the characterization and quantitation of human serum amyloid A. Scand J. Immunol. 1983, 18:329-338.
- Časl MT and Grubb A. A rapid enzyme-linked immunosorbent assay for serum amyloid A using sequence-specific antibodies. Ann. Clin. Biochem. 1993, 30:278-286.