



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01823732.0

[43] 公开日 2004 年 12 月 29 日

[11] 公开号 CN 1559005A

[22] 申请日 2001.9.12 [21] 申请号 01823732.0

[86] 国际申请 PCT/AU2001/001141 2001.9.12

[87] 国际公布 WO2002/023191 英 2002.3.21

[85] 进入国家阶段日期 2004.4.22

[71] 申请人 澳大利亚悉尼大学

地址 澳大利亚新南威尔士

[72] 发明人 R·I·克里斯托弗尔森

C·G·多斯勒密迪奥斯

D·S·赛勒玛伊尔

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利  
商标事务所

代理人 吴亦华

权利要求书 11 页 说明书 48 页 附图 8 页

[54] 发明名称 诊断分析

[57] 摘要

本发明涉及一种诊断设备，包括用于预后性症状分析的参数，这些参数可以指示与全身性血管系统相关的病症或事件。更特别的是，本发明提供一种分析方法来检测与血管疾病相关的参数，这些疾病包括：心血管的、中风、肺部的、肾血管的、脑血管的、血栓性、或者全身性动脉或静脉的病症或事件，还包括急性冠状综合症，例如但不局限于急性心肌梗塞、心力衰竭、动脉粥样化和血栓症。对这些参数甚或它们一种参数模式的确认，有助于诊断与全身性血管系统病症或事件有关的病症或事件，或者确定发生与全身性血管系统病症或事件有关的病症或事件的可能性。更特别的是，本发明提供的诊断设备包括了一套组分，其中的一个或多个所述组分具有特定或者非特定的与生物样品（该生物样品取自动物，包括人）的结合配偶体，与结合配偶体连接组分的模式指示或预测全身性血管

系统的病症或事件，或者发生与全身性血管系统病症或事件有关的病症或事件的可能性。特定或者非特定结合配偶体检测的缺失也具有指示或者预测价值。当患者自己不能与医生交流病情时，例如手术过程中或者患者处于昏迷状态时，这些就变得非常重要。并且这些在确定患血管疾病的风险性时也很有价值，血管疾病包括心血管的、中风、肺部的、肾血管的、脑血管的、血栓性、或者全身性动脉或静脉的病症或事件，还包括健康受试者的状况或者即将面临手术、化学治疗等危险的患者状况。本发明还可用于全身性血管系统的病症或事件的生化标记的定性定量，包括心脏病、心率不齐、心脏感染、中风、血栓症，以及确定患这些病症的可能性，当然也包括不患病或者不具有患病的可能性。对这些因素的评估可应用于临床，作为治疗类选法的一部分，作为例行体检方案的一部分或者作为实验过程的一部分。

1. 一种评估与全身性血管系统病症或事件相关的或评估与其发生病症或事件的危险性相关的参数的方法，所述方法包括了从受试者获得生物样品的步骤，所述生物样品在所述病症或事件之前、期间或之后包括一种或多种在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活或上、下调节的组分，并且所述生物样品与第二套组分相接触，所述一种或多种第二套的组分是一种或多种第一套的组分的结合配偶体，所述第一、二套组分之间的相互作用的模式包括不存在的相互作用的模式显示所述的病症或事件或发生所述病症或事件的风险。

2. 根据权利要求1的方法，其特征在于，在生物样品中的组分选自下面所述物质中的两种或更多种：肌红蛋白、肌球蛋白轻链（MLC），肌球蛋白重链（MHC）、包含CK-MB的总肌酸激酶（CK）、乳酸脱氢酶（LDH-H4）、天冬氨酸转氨酶（AST）、心脏肌钙蛋白I和T（分别为cTn-I和cTn-T）和cTn-I和cTn-T RNA、包括FABP1和人心型的脂肪酸结合蛋白（FAB蛋白）、糖原磷酸化酶-BB同工酶、 $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽（ANP）、细胞质FABP、脑促尿钠排泄肽（BNP）、肾上腺髓质蛋白（ADM）、低密度脂蛋白（LDL）、极低密度脂蛋白（VLDL）、高密度脂蛋白（HDL）、和中密度脂蛋白（IDL）、C反应蛋白（CRP）、血清淀粉样A、P-选择蛋白、前列腺素类、血小板激活因子（PAF）、组胺、肿瘤坏死因子 $\alpha$ （TNF $\alpha$ ）、可溶性TNF受体2（sTNFR2）、纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维蛋白溶解肽、经修饰的血红蛋白（HbA1c）、铁蛋白、包含可溶性细胞间粘附分子-1（ICAM1）的可溶性细胞间粘附分子（ICAM）、热休克蛋白apoB、apoA、apoE、高半胱氨酸或其部分、链球菌（*Streptococcus sp.*）、牙龈卟啉单胞菌（*Porphyromonas gingivalis*）、幽门螺杆菌（*Helicobacter pylori*）和肺炎衣原体（*Chlamydia pneumoniae*）或者它们的免疫学亲缘物、坏死和血小板标记、减肥蛋白、心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂、肝素、金属蛋白酶-9、包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶-1、血管紧张素转化酶、CD95/Apo1/Fas、肝细胞生长因子、可溶性血管细胞粘附分子-1

(VCAM1)、血浆脑促尿钠排泄肽、血管紧张素 II 型受体、内皮结构的氮氧化合成酶、基因多态性糖蛋白 IIIa、因子 VIIa、凝血酶、内皮缩血管肽-1、心脏肌原纤维蛋白、Fas 和 Fas 配体、它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体，将所述生物样品与第二套组分相接触，所述一种或多种第二套的组分是结合配偶体。

3. 根据权利要求 1 或 2 的方法，所述生物样品组分的结合配偶体是免疫学相互作用的分子。

4. 根据权利要求 3 的方法，所述的免疫学相互作用的分子是抗体。

5. 根据权利要求 1-4 之一所述的方法，所述的第二套组分是固定在固体支持物上的。

6. 根据权利要求 5 的方法，组分与结合配偶体的结合是用对于生物样品组分特异的标记抗体来检测的。

7. 根据权利要求 6 的方法，其中，结合组分与结合配偶体的结合是如下检测的：

(i) 生物素化所有血浆蛋白，然后将其与微芯片抗体结合，再与链霉抗生物素蛋白-AP/HRP 结合；

(ii) 荧光标记所有血浆蛋白；

(iii) 对不同表位特异性的荧光标记抗体；以及

(iv) 用稀释的经固定的抗体确定血清标记物的浓度。

8. 根据权利要求 1-7 之一所述的方法，其中所述病症或事件是血管疾病包括心血管的、中风、肺部的、肾血管的、脑血管的、血栓性、或者全身性动脉或静脉的病症或事件。

9. 用于来自受试者的生物样品的组分的结合配偶体的阵列，所述组分子所述与全身性血管系统相关的病症或事件之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活，其中所述结合配偶体用  $(x, y)$  坐标来定义，该阵列包括了  $n$  个结合配偶体，用坐标  $(x, y)$ ,  $(x_2, y_2)$ , ...,  $(x_n, y_n)$  表示，所述组分与结合配偶体之间的相互作用的模式显示了所述病症或事件。

10. 根据权利要求 9 所述的阵列, 其中的生物样品的组分选自于下面所述物质中的两种或更多种: 肌红蛋白、肌球蛋白轻链 (MLC), 肌球蛋白重链 (MHC)、包含 CK-MB 的总肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH-H4)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、心脏肌钙蛋白 I 和 T (分别为 cTn-I 和 cTn-T) 和 cTn-I 和 cTn-T RNA、包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白 (FAB 蛋白)、糖原磷酸化酶 - BB 同工酶、 $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽 (ANP)、细胞质 FABP、脑促尿钠排泄肽 (BNP)、肾上腺髓质蛋白 (ADM)、低密度脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、和中密度脂蛋白 (IDL)、C 反应蛋白 (CRP)、血清淀粉样 A、P-选择蛋白、前列腺素类、血小板激活因子 (PAF)、组胺、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )、可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2)、纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维蛋白溶解肽、经修饰的血红蛋白 (HbA1c)、铁蛋白、包含可溶性细胞间粘附分子 - 1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM)、热休克蛋白 apoB、apoA、apoE、高半胱氨酸或其部分、链球菌 (*Streptococcus sp.*)、牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 和肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 或者它们的免疫学亲缘物、坏死和血小板标记、减肥蛋白、心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂、肝素、金属蛋白酶 - 9、包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶 - 1、血管紧张素转化酶、CD95/Apo1/Fas、肝细胞生长因子、可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1)、血浆脑促尿钠排泄肽、血管紧张素 II 型受体、内皮结构的氮氧化合成酶、基因多态性糖蛋白 IIIa、因子 VIIa、凝血酶、内皮缩血管肽-1、心脏肌原纤维蛋白、Fas 和 Fas 配体、它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体。

11. 根据权利要求 9 或 10 的阵列, 所述生物样品组分的结合配偶体是免疫学相互作用的分子。

12. 根据权利要求 11 的阵列, 所述的免疫学相互作用的分子是抗体。

13. 根据权利要求 9-12 之一所述的阵列, 所述的第二套组分是固定

在固体支持物上的。

14. 根据权利要求 9-13 之一所述的阵列,其中所述的病症或事件是血管疾病包括心血管的、中风、肺部的、肾血管的、脑血管的、血栓性、或者全身性动脉或静脉的病症或事件。

15. 一种估算受试者梗塞或类似病情的程度的方法,该梗塞 ( $I_s$ ) 的大小用下述公式计算:

$$I_s = \frac{\int_0^t f(t) dt \times Bw \times Kw}{Ed \times Kr}$$

其中  $I_s$  是梗塞的大小;

$F(t) dt$  是生物样品中一种组分的释放率,所述组分在受试者于所述导致心肌梗塞与全身性血管系统相关的病症或事件之后存在、缺失、提高或以其他方式被激活, [ $f(t)$  也可作为组分的表象功能];

$Bw$  是受试者的体重;

$Kw$  是体重与所释放的组分的比例;

$Ed$  从计算中去除组分比率; 以及

$Kr$  是总的组分释放量除以梗塞组织中释放的组分量;

所述方法包括了将从受试者获得的生物样品与一种或多种所述组分的结合配偶体相接触的步骤,所述生物样品包含一种或多种在所述病症或事件或与心血管失常相关的病症或事件发生之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分,所述结合配偶体被固定于固体支持物上,所述组分与结合配偶体之间的相互作用的模式可以指示梗塞的大小,或者提供评估梗塞大小的输入数据。

16. 一种评估与全身性血管系统病症或事件相关参数的方法,所述方法包括对生物样品的两个或多个 mRNA 分子进行筛选,该 mRNA 可翻译成所述病症或事件或与心血管失常相关的病症或事件发生之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分,所述筛选包括将

生物样品与可杂交的寡核苷酸或其他能捕获所述 mRNA 的物质的阵列相接触，并检测所述杂交或者捕获，其中所述 mRNA 分子的存在与否可指示所述病症或事件或患病的风险性。

17. 根据权利要求 16 所述的方法，其中的 mRNA 分子被首先反转录成可读 cDNA。

18. 根据权利要求 15 或 16 所述的方法，其中所述病症或事件是血管疾病包括心血管的、中风、肺部的、肾血管的、脑血管的、血栓性、或者全身性动脉或静脉的病症或事件。

19. 一种用于评估全身性血管系统病症或事件的数据处理方法，所述数据处理方法执行下述步骤：

(1) 用固定于生物芯片阵列上的组分，检测用于指示相互作用与否的报告分子；

(2) 分析步骤 (1) 所获得数据，以辨认存在于生物样品上的组分；

(3) 步骤 (2) 获得的组分的选择性定量；

(4) 分析数据以评估一种病症或事件的可能性。

20. 一种治疗方法，该方法包括评估与全身性血管系统病症或事件相关的参数或评估发生所述病症或事件的可能性。所述方法包括一种从受试者获得生物样品的步骤，所述生物样品包含一种或多种在所述病症或事件或与心血管失常相关的病症或事件发生之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分，所述的组分选自于下面所述物质中的两种或更多种：肌红蛋白、肌球蛋白轻链 (MLC)，肌球蛋白重链 (MHC)、包含 CK-MB 的总肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH-H4)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、心脏肌钙蛋白 I 和 T (分别为 cTn-I 和 cTn-T) 和 cTn-I 和 cTn-T RNA、包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白 (FAB 蛋白)、糖原磷酸化酶 - BB 同工酶、 $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽 (ANP)、细胞质 FABP、脑促尿钠排泄肽 (BNP)、肾上腺髓质蛋白 (ADM)、低密度脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、和中密度脂蛋白 (IDL)、C 反应蛋白 (CRP)、血清淀粉样 A、P-选择蛋白、前列腺素类、血小板激活因子 (PAF)、组胺、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )、可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2)、

纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维蛋白溶解肽、经修饰的血红蛋白 (HbA1c)、铁蛋白、包含可溶性细胞间粘附分子-1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM)、热休克蛋白 apoB、apoA、apoE、高半胱氨酸或其部分、链球菌 (*Streptococcus sp.*)、牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 和肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 或者它们的免疫学亲缘物、坏死和血小板标记、减肥蛋白、心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂、肝素、金属蛋白酶-9、包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶-1、血管紧张素转化酶、CD95/Apo1/Fas、肝细胞生长因子、可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1)、血浆脑促尿钠排泄肽、血管紧张素 II 型受体、内皮结构的氮氧化合成酶、基因多态性糖蛋白 IIIa、因子 VIIa、凝血酶、内皮缩血管肽-1、心脏肌原纤维蛋白、Fas 和 Fas 配体、它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体，并将所述生物样品与一种或多种抗体或其免疫学等同物接触，所述一种或多种抗体或其免疫学等同物能够与在所述生物样品中的一种或多种组分结合。所述组分与抗体之间的相互作用包括不存在的相互作用的模式显示所述的病症或事件，然后产生适宜的治疗方案。

21. 根据权利要求 20 所述的方法，其中所述的病症或事件是血管疾病包括心血管的、中风、肺部的、肾血管的、脑血管的、血栓性、或者全身性动脉或静脉的病症或事件。

22. 一种用于评估患全身性血管系统相关疾病的风险性或可能性的计算机程序，该程序包括：

- (1) 将获得的一个或多个特征的输入值进行编码，所述特征选自：
  - (a) 肌红蛋白的存在与否；
  - (b) 肌球蛋白轻链 (MLC) 存在与否；
  - (c) 肌球蛋白重链 (MHC) 存在与否；
  - (d) 包含 CK-MB 的总肌酸激酶 (CK) 存在与否；
  - (e) 乳酸脱氢酶 (LDH-H4) 存在与否；
  - (f) 天冬氨酸转氨酶 (AST) 存在与否；

- (g) 心脏肌钙蛋白 I 和 T (分别为 cTn-I 和 cTn-T)和 cTn-I 和 cTn-T RNA 存在与否;
- (h) 包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白 (FAB 蛋白) 存在与否;
- (i) 糖原磷酸化酶 - BB 同工酶存在与否;
- (j)  $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽 (ANP) 存在与否;
- (k) 细胞质 FABP;
- (l) 脑促尿钠排泄肽 (BNP) 存在与否;
- (m) 肾上腺髓质蛋白 (ADM) 存在与否;
- (n) 低密度脂蛋白 (LDL), 极低密度脂蛋白 (VLDL), 高密度脂蛋白 (HDL), 和中密度脂蛋白 (IDL) 存在与否;
- (o) C 反应蛋白 (CRP) 存在与否;
- (p) 血清淀粉样 A 存在与否;
- (q) P-选择蛋白存在与否;
- (r) 前列腺素存在与否;
- (s) 血小板激活因子 (PAF) 存在与否;
- (t) 组胺存在与否;
- (u) 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) 存在与否;
- (v) 可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2) 存在与否;
- (w) 纤维蛋白存在与否;
- (x) 纤维蛋白原存在与否;
- (y) 纤维蛋白溶解肽存在与否;
- (z) 经修饰的血红蛋白 (HbA1c) 存在与否;
- (aa) 铁蛋白存在与否;
- (bb) 包含可溶性细胞间粘附分子 - 1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM) 存在与否;
- (cc) 热休克蛋白存在与否;
- (dd) apoB, apoA, apoE 存在与否;
- (ee) 高半胱氨酸或其部分存在与否;
- (ff) 链球菌 (Streptococcus sp.), 牙龈卟啉单胞菌 (

Porphyromonas gingivalis), 幽门螺杆菌 (Helicobacter pylori) 和肺炎衣原体 (Chlamydia pneumoniae) 或者它们的免疫学亲缘物存在与否;

- (gg) 坏死和血小板标记存在与否;
- (hh) 减肥蛋白存在与否;
- (ii) 心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂存在与否;
- (jj) 肝素存在与否;
- (kk) 金属蛋白酶-9 存在与否;
- (ll) 包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶-1 存在与否;
- (mm) 血管紧张素转化酶存在与否;
- (nn) CD95/Apo1/Fas 存在与否;
- (oo) 肝细胞生长因子存在与否;
- (pp) 可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1) 存在与否;
- (qq) 血浆脑促尿钠排泄肽存在与否;
- (rr) 血管紧张素 II 型受体存在与否;
- (ss) 内皮结构的氮氧化合成酶存在与否;
- (tt) 基因多态性糖蛋白 IIIa 存在与否;
- (uu) 因子 VIIa 存在与否;
- (vv) 凝血酶存在与否;
- (ww) 内皮缩血管肽-1 存在与否;
- (xx) 心脏肌原纤维蛋白存在与否;
- (yy) Fas 和 Fas 配体存在与否; 以及
- (zz) 它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体; 以及

(2) 存储了编码的计算机可读介质。

23. 一种用于评估受试者患全身性血管系统相关病症或事件的可能性的计算机系统, 该计算机系统包括:

- (1) 一种机器可读数据存储介质, 包括一种用机器可读数据编码的数据存储材料, 所述机器可读数据包括了一种或多种特征的值, 所

述特征选自：

- (a) 肌红蛋白的存在与否；
- (b) 肌球蛋白轻链 (MLC) 存在与否；
- (c) 肌球蛋白重链 (MHC) 存在与否；
- (d) 包含 CK-MB 的总肌酸激酶 (CK) 存在与否；
- (e) 乳酸脱氢酶 (LDH-H4) 存在与否；
- (f) 天冬氨酸转氨酶 (AST) 存在与否；
- (g) 心脏肌钙蛋白 I 和 T (分别为 cTn-I 和 cTn-T) 和 cTn-I 和 cTn-T RNA 存在与否；
- (h) 包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白 (FAB 蛋白) 存在与否；
- (i) 糖原磷酸化酶 - BB 同工酶存在与否；
- (j)  $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽 (ANP) 存在与否；
- (k) 细胞质 FABP；
- (l) 脑促尿钠排泄肽 (BNP) 存在与否；
- (m) 肾上腺髓质蛋白 (ADM) 存在与否；
- (n) 低密度脂蛋白 (LDL), 极低密度脂蛋白 (VLDL), 高密度脂蛋白 (HDL), 和中密度脂蛋白 (IDL) 存在与否；
- (o) C 反应蛋白 (CRP) 存在与否；
- (p) 血清淀粉样 A 存在与否；
- (q) P-选择蛋白存在与否；
- (r) 前列腺素存在与否；
- (s) 血小板激活因子 (PAF) 存在与否；
- (t) 组胺存在与否；
- (u) 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) 存在与否；
- (v) 可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2) 存在与否；
- (w) 纤维蛋白存在与否；
- (x) 纤维蛋白原存在与否；
- (y) 纤维蛋白溶解肽存在与否；

- (z) 经修饰的血红蛋白 (HbA1c) 存在与否;
- (aa) 铁蛋白存在与否;
- (bb) 包含可溶性细胞间粘附分子-1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM) 存在与否;
- (cc) 热休克蛋白存在与否;
- (dd) apoB, apoA, apoE 存在与否;
- (ee) 高半胱氨酸或其部分存在与否;
- (ff) 链球菌 (Streptococcus sp.), 牙龈卟啉单胞菌 (Porphyromonas gingivalis), 幽门螺杆菌 (Helicobacter pylori) 和肺炎衣原体 (Chlamydia pneumoniae) 或者它们的免疫学亲缘物存在与否;
- (gg) 坏死和血小板标记存在与否;
- (hh) 减肥蛋白存在与否;
- (ii) 心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂存在与否;
- (jj) 肝素存在与否;
- (kk) 金属蛋白酶-9 存在与否;
- (ll) 包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶-1 存在与否;
- (mm) 血管紧张素转化酶存在与否;
- (nn) CD95/Apo1/Fas 存在与否;
- (oo) 肝细胞生长因子存在与否;
- (pp) 可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1) 存在与否;
- (qq) 血浆脑促尿钠排泄肽存在与否;
- (rr) 血管紧张素 II 型受体存在与否;
- (ss) 内皮结构的氮氧化合成酶存在与否;
- (tt) 基因多态性糖蛋白 IIIa 存在与否;
- (uu) 因子 VIIa 存在与否;
- (vv) 凝血酶存在与否;
- (ww) 内皮缩血管肽-1 存在与否;
- (xx) 心脏肌原纤维蛋白存在与否;

- 
- (yy) Fas 和 Fas 配体存在与否; 以及
- (zz) 它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体; 以及
- (2) 一种用于储存处理所述机器可读数据指令的暂存器;
- (3) 一种中央处理器, 与所述暂存器以及机器可读数据存储介质相匹配, 用于处理所述机器可读数据, 以提供对所述数值的总结, 该数值与所述候选序列的预测值相关; 以及
- (4) 一种输出硬件, 与用于接收所述预测值的所述中央处理器相匹配。

## 诊断分析

### 发明领域

本发明涉及一种诊断设备，包括用于预后性症状分析的参数，这些参数可以指示与全身性血管系统相关的病症或事件。更特别的是，本发明提供一种分析方法来检测与血管疾病相关的参数，这些疾病包括：心血管的、中风、肺部的、肾血管的、脑血管的、血栓性、或者全身性动脉或静脉的病症或事件，还包括急性冠状综合症，例如但不局限于急性心肌梗塞、心力衰竭、动脉粥样化和血栓症。对这些参数甚或它们一种参数模式的确认，有助于诊断与全身性血管系统病症或事件有关的病症或事件，或者确定发生与全身性血管系统病症或事件有关的病症或事件的可能性。更特别的是，本发明提供的诊断设备包括了一套组分，其中的一个或多个所述组分具有特定或者非特定的与生物样品（该生物样品取自动物，包括人）的结合配偶体，与结合配偶体连接组分的模式指示或预测全身性血管系统的病症或事件，或者发生与全身性血管系统病症或事件有关的病症或事件的可能性。特定或者非特定结合配偶体检测的缺失也具有指示或者预测价值。当患者自己不能与医生交流病情时，例如手术过程中或者患者处于昏迷状态时，这些就变得非常重要。并且这些在确定患血管疾病的风险性时也很有价值，血管疾病包括心血管的、中风、肺部的、肾血管的、脑血管的、血栓性、或者全身性动脉或静脉的病症或事件，还包括健康受试者的状况或者即将面临手术、化学治疗等危险的患者状况。本发明还可用于全身性血管系统的病症或事件的生化标记的定性定量，包括心脏病、心率不齐、心脏感染、中风、血栓症，以及确定患这些病征的可能性，当然也包括不患病或者不具有患病的可能性。对这些因素的评估可应用于临床，作为治疗类选法的一部分，作为例行体检方案的一部分或者作为实验过程的一部分。

## 发明背景

本说明书中作者所引用的出版物的目录列于本文的最后。

本说明书所引用的任何现有技术不是，也不应该被当作是承认或是以任何形式建议所述的现有技术形成澳大利亚或任何其他国家的公知常识的一部分。

心血管疾病诸如冠状动脉疾病、急性心肌梗塞（AMI）就是与全身性血管系统有关的病症或事件的实例。在西方世界，心血管疾病影响了超过7千万人。AMI是其中最大的病因，每年大约影响150万患者。患AMI的人分为两种类型。

第一类约占20-30%的患者，其特征为“沉默”梗塞。这类梗塞之所以沉默，是因为患者感觉不到疼痛而常常在不知不觉中梗塞。第二种类型占到了剩余三分之二的患者，其特征是患者向医生抱怨有剧烈的胸痛。

对任何一种类型AMI的诊断都需要一系列诱导测试，需要多种独立的血液分析，来确定心肌组织损伤的潜在危险性。典型的AMI与剧烈而长期的胸痛联系在一起，或者也叫做绞痛。目前的诊断包括了几种心电图的变化，通常包括升高了的S-T波，其中有Q或者QS扑动波以及血清酶水平的变化。

沉默型局部贫血和梗塞同样是重要的临床问题。心肌梗塞可导致呼吸暂停，当其发生时需要及时评估心脏受到的破坏。

然而，对沉默型心肌梗塞的检测充满了困难。这是因为需要24小时不间断的对ECG进行检测才能获得实验结果。监测到ECG的ST波降低(>1mm)具有诊断性，但是三分之一AMI患者的却有明显正常的ECG。另外一种检测方法就是血管造影术。对小型梗塞（该梗塞可导致一些沉默型梗塞的发生）的检测因某些生化标记的相对不敏感而受到了限制。因小型心肌梗塞导致的死亡目前呈上升趋势。对沉默型心肌梗塞特别有效的标记物，是对肌酸激酶（CK-MB）的MB同型的鉴定，但是却与其他标记物的范围不相关。

导致 AMI 的原因有很多种，但是对他们均没有清楚了解。最近的一项研究建立了一种概念，即，AMI 是发生在别处的感染（例如牙周感染）引起了心脏的炎症反应（Herzberg 和 Meyer, 1998），其表现于心脏。

微生物感染所产生的蛋白质可以引起患者的免疫反应，从而进一步导致了动脉粥样硬化以及血管内皮的损伤。源自诸如大肠杆菌和衣原体之类微生物的热休克蛋白（HSPs）是高度保守的，并且可以与相关的人类蛋白发生交叉免疫反应，该人类蛋白是由心血管系统的诸如内皮细胞所表达的（Mayr 等人, 1999）。

如上所述，心血管疾病是全身性血管系统病症或事件中的一个病症和发病的实例。全身性血管系统还包括毛细血管、静脉、动脉、微动脉、（小静脉）venuoles、心脏及其他器官。一系列病症例如肾衰竭、血栓形成、器官移植注射、感染及肿瘤血管形成、癌的增长均与全身性血管系统相关。

需要开发一种分析方法，对多种参数同步进行诊定，用以评估全身性血管系统的病症或事件。本文中术语“多种”指两个或者多个。本发明人开发了一种分析方法用于确定以人为对象的病症或事件发生的风险，先前发病或病症的现状以及术后预测和未来发病。

## 发明概述

通观整篇说明书，除非另有所指，术语“包含”或其变形诸如“由...组成”，均被理解为对所述元素、或元素的集合或一类、或集合中并不排除任何其他元素或元素的类或集合或集合组的包括。

本发明部分基于多种标记物或者参数的应用以协助诊断或预测与全身性血管系统相关的特定病症或事件。这样的诊断或预测的应用实例在于评定健康或者病态的人或动物，诊断特定病症或事件，诸如血管疾病包括心血管疾病、中风、肺病、肾血管疾病、脑血管疾病、血栓病、或者全身性动脉或静脉病症，或者肾或心力衰竭，以及确定诸如健康者或者面临如手术、疗程或接种疫苗等某些可能性的患者，他们发生这样的

病症或事件的风险。

据此，本发明的一个方面是要提供一种评估与全身性血管系统病症或事件相关的或评估与其发生病症或事件的危险性相关的参数的方法，所述方法包括了从受试者获得生物样品的步骤，所述生物样品在所述病症或事件之前、期间或之后包括一种或多种在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活或上、下调节的组分，并且所述生物样品与第二套组分相接触，所述一种或多种第二套的组分是一种或多种第一套的组分的结合配偶体，所述第一、二套组分之间的相互作用的模式包括不存在的相互作用的模式显示所述的病症或事件或发生所述病症或事件的风险。

本发明的另一个方面是要提供一种评估与全身性血管系统病症或事件相关的参数的方法，所述方法包括一种从受试者获得生物样品，所述生物样品在所述病症或事件之后包括一种或多种在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分，所述的组分选自于下面所述物质中的两种或更多种：肌红蛋白、肌球蛋白轻链（MLC），肌球蛋白重链（MHC）、包含 CK-MB 的总肌酸激酶（CK）、乳酸脱氢酶（LDH-H4）、天冬氨酸转氨酶（AST）、心脏肌钙蛋白 I 和 T（分别为 cTn-I 和 cTn-T）和 cTn-I 和 cTn-T RNA、包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白（FAB 蛋白）、糖原磷酸化酶 - BB 同工酶、 $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽（ANP）、细胞质 FABP、脑促尿钠排泄肽（BNP）、肾上腺髓质蛋白（ADM）、低密度脂蛋白（LDL）、极低密度脂蛋白（VLDL）、高密度脂蛋白（HDL）、和中密度脂蛋白（IDL）、C 反应蛋白（CRP）、血清淀粉样 A、P-选择蛋白、前列腺素类、血小板激活因子（PAF）、组胺、肿瘤坏死因子  $\alpha$ （TNF $\alpha$ ）、可溶性 TNF 受体 2（sTNFR2）、纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维蛋白溶解肽、经修饰的血红蛋白（HbA1c）、铁蛋白、包含可溶性细胞间粘附分子 - 1（ICAM1）的可溶性细胞间粘附分子（ICAM）、热休克蛋白 apoB、apoA、apoE、高半胱氨酸或其部分、链球菌（*Streptococcus sp.*）、牙龈卟啉单胞菌（*Porphyromonas gingivalis*）、幽门螺杆菌（*Helicobacter pylori*）和肺炎衣原体（*Chlamydia pneumoniae*）或者它们的免疫学亲缘物、坏死和血小板标

记、减肥蛋白、心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂、肝素、金属蛋白酶-9、包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶-1、血管紧张素转化酶、CD95/Apo1/Fas、肝细胞生长因子、可溶性血管细胞粘附分子-1(VCAM1)、血浆脑促尿钠排泄肽、血管紧张素 II 型受体、内皮结构的氮氧化合成酶、基因多态性糖蛋白 IIIa、因子 VIIa、凝血酶、内皮缩血管肽-1、心脏肌原纤维蛋白、Fas 和 Fas 配体、它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体，并将所述生物样品与第二套组分相接触，所述一种或多种第二套的组分是一种或多种第一套的组分的结合配偶体，所述第一、二套组分之间的相互作用包括不存在的相互作用的模式显示所述的病症或事件或者一种病症或事件。

本发明更进一步的方面是要提供一种治疗方法，所述方法包括评估与全身性血管系统病症或事件相关的参数或评估发生所述病症或事件的可能性。所述方法包括一种从受试者获得生物样品的步骤，所述生物样品包含一种或多种在所述病症或事件或与心血管失常相关的病症或事件发生之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分，所述的组分选自于下面所述物质中的两种或更多种：肌红蛋白、肌球蛋白轻链(MLC)，肌球蛋白重链(MHC)、包含CK-MB的总肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH-H4)、天冬氨酸转氨酶(AST)、心脏肌钙蛋白 I 和 T(分别为cTn-I和cTn-T)和cTn-I和cTn-T RNA、包括FABP1和人心型的脂肪酸结合蛋白(FAB蛋白)、糖原磷酸化酶-BB同工酶、 $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽(ANP)、细胞质FABP、脑促尿钠排泄肽(BNP)、肾上腺髓质蛋白(ADM)、低密度脂蛋白(LDL)、极低密度脂蛋白(VLDL)、高密度脂蛋白(HDL)、和中密度脂蛋白(IDL)、C反应蛋白(CRP)、血清淀粉样A、P-选择蛋白、前列腺素类、血小板激活因子(PAF)、组胺、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF $\alpha$ )、可溶性TNF受体2(sTNFR2)、纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维蛋白溶解肽、经修饰的血红蛋白(HbA1c)、铁蛋白、包含可溶性细胞间粘附分子-1(ICAM1)的可溶性细胞间粘附分子(ICAM)、热休克蛋白apoB、apoA、apoE、高半胱氨酸或其部分、链球菌(*Streptococcus sp.*)、牙龈卟啉单胞菌

(*Porphyromonas gingivalis*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 和肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 或者它们的免疫学亲缘物、坏死和血小板标记、减肥蛋白、心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂、肝素、金属蛋白酶-9、包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶-1、血管紧张素转化酶、CD95/Apo1/Fas、肝细胞生长因子、可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1)、血浆脑促尿钠排泄肽、血管紧张素 II 型受体、内皮结构的氮氧化合成酶、基因多态性糖蛋白 IIIa、因子 VIIa、凝血酶、内皮缩血管肽-1、心脏肌原纤维蛋白、Fas 和 Fas 配体、它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体，并将所述生物样品与一种或多种抗体或其免疫学等同物接触，所述一种或多种抗体或其免疫学等同物能够与在所述生物样品中的一种或多种组分结合。所述组分与抗体之间的相互作用包括不存在的相互作用的模式显示所述的病症或事件，然后产生适宜的治疗方案。

本发明的另一个方面包括了一用于来自受试者的生物样品的组分的结合配偶体的阵列 (array)，所述组分子所述与全身性血管系统相关的病症或事件之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活，其中所述结合配偶体用 (x, y) 坐标来定义，该阵列包括了 n 个结合配偶体，用坐标 (x, y), (x<sub>2</sub>, y<sub>2</sub>)... (x<sub>n</sub>, y<sub>n</sub>) 表示，所述组分与结合配偶体之间的相互作用的模式显示了所述病症或事件。

本发明的还有一个方面是要提供一种估算受试者梗塞或类似病情的程度的方法，该梗塞 (Is) 的大小用下述公式计算：

$$Is = \frac{\int_0^t f(t) dt \times Bw \times Kw}{Ed \times Kr}$$

其中 Is 是梗塞的大小；

F(t) dt 是生物样品中一种组分的释放率，所述组分在受试者于所述导致心肌梗塞与全身性血管系统相关的病症或事件之后存在、缺失、提高或以其他方式被激活，[f(t) 也可作为

组分的表象功能];

Bw 是受试者的体重;

Kw 是体重与所释放的组分的比例;

Ed 从计算中去除组分比率; 以及

Kr 是总的组分释放量除以梗塞组织中释放的组分量;

所述方法包括了将从受试者获得的生物样品与一种或多种所述组分的结合配偶体相接触的步骤, 所述生物样品包含一种或多种在所述病症或事件或与心血管失常相关的病症或事件发生之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分, 所述结合配偶体被固定于固体支持物上, 所述组分与结合配偶体之间的相互作用的模式可以指示梗塞的大小, 或者提供评估梗塞大小的输入数据。

甚至本发明另一方面还提供了一种评估与全身性血管系统病症或事件相关参数的方法, 所述方法包括对生物样品的两个或多个 mRNA 分子进行筛选, 该 mRNA 可翻译成所述病症或事件或与心血管失常相关的病症或事件发生之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分, 所述筛选包括将生物样品与可杂交的寡核苷酸或其他能捕获所述 mRNA 的物质的阵列相接触, 并检测所述杂交或者捕获, 其中所述 mRNA 分子的存在与否可指示所述病症或事件或患病的风险性。

甚至本发明的另一方面还提供了一种评估受试者发生全身性血管系统病症或事件风险性的方法, 其中风险是指一种或多种下述物质存在与否的可能性, 所述物质为肌红蛋白、肌球蛋白轻链 (MLC), 肌球蛋白重链 (MHC)、包含 CK-MB 的总肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH-H4)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、心脏肌钙蛋白 I 和 T (分别为 cTn-I 和 cTn-T) 和 cTn-I 和 cTn-T RNA、包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白 (FAB 蛋白)、糖原磷酸化酶 - BB 同工酶、 $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽 (ANP)、细胞质 FABP、脑促尿钠排泄肽 (BNP)、肾上腺髓质蛋白 (ADM)、低密度脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、和中密度脂蛋白 (IDL)、C 反应蛋白 (CRP)、血清淀粉样 A、P-选择蛋白、前列腺素类、血小板激活因子 (PAF)、组胺、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )、可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2)、

纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维蛋白溶解肽、经修饰的血红蛋白 (HbA1c)、铁蛋白、包含可溶性细胞间粘附分子-1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM)、热休克蛋白 apoB、apoA、apoE、高半胱氨酸或其部分、链球菌 (*Streptococcus sp.*)、牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 和肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 或者它们的免疫学亲缘物、坏死和血小板标记、减肥蛋白、心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂、肝素、金属蛋白酶-9、包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶-1、血管紧张素转化酶、CD95/Apo1/Fas、肝细胞生长因子、可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1)、血浆脑促尿钠排泄肽、血管紧张素 II 型受体、内皮结构的氮氧化合成酶、基因多态性糖蛋白 IIIa、因子 VIIa、凝血酶、内皮缩血管肽-1、心脏肌原纤维蛋白、Fas 和 Fas 配体、它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体。

本发明的另一方面提供了一种评估受试者患 ACS 包括 AMI 或相关病症风险性的方法，所述方法包括对生物样品的两个或多个 mRNA 分子进行筛选，该 mRNA 可翻译成所述病症或事件或与心血管失常相关的病症或事件发生之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分，所述筛选包括将生物样品与可杂交的寡核苷酸或其他能捕获所述 mRNA 的物质的阵列相接触，并检测所述杂交或者捕获，其中所述 mRNA 分子的存在与否可指示所述心血管病症或事件或其他与心血管异常有关病症或事件或患病的风险性。

本发明的更进一步的方面提供了一种数据处理方法，该方法用于评估全身性血管系统病症或事件，所述数据处理方法执行下述步骤：

- (1) 用固定于生物芯片阵列上的组分，检测用于指示相互作用与否的报告分子；
- (2) 分析步骤 (1) 所获得数据，以辨认存在于生物样品上的组分；
- (3) 步骤 (2) 获得的组分的选择性定量；
- (4) 分析数据以评估一种病症或事件的可能性。

本发明的更进一步的方面是提供一种计算机程序，用于评估患全身

性血管系统相关病症或事件的风险性或可能性，该程序包括：

- (1) 将获得的一个或多个特征的输入值进行编码，所述特征选自：
  - (a) 肌红蛋白的存在与否；
  - (b) 肌球蛋白轻链 (MLC) 存在与否；
  - (c) 肌球蛋白重链 (MHC) 存在与否；
  - (d) 包含 CK-MB 的总肌酸激酶 (CK) 存在与否；
  - (e) 乳酸脱氢酶 (LDH-H4) 存在与否；
  - (f) 天冬氨酸转氨酶 (AST) 存在与否；
  - (g) 心脏肌钙蛋白 I 和 T (分别为 cTn-I 和 cTn-T) 和 cTn-I 和 cTn-T RNA 存在与否；
  - (h) 包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白 (FAB 蛋白) 存在与否；
  - (i) 糖原磷酸化酶 - BB 同工酶存在与否；
  - (j)  $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽 (ANP) 存在与否；
  - (k) 细胞质 FABP；
  - (l) 脑促尿钠排泄肽 (BNP) 存在与否；
  - (m) 肾上腺髓质蛋白 (ADM) 存在与否；
  - (n) 低密度脂蛋白 (LDL), 极低密度脂蛋白 (VLDL), 高密度脂蛋白 (HDL), 和中密度脂蛋白 (IDL) 存在与否；
  - (o) C 反应蛋白 (CRP) 存在与否；
  - (p) 血清淀粉样 A 存在与否；
  - (q) P-选择蛋白存在与否；
  - (r) 前列腺素存在与否；
  - (s) 血小板激活因子 (PAF) 存在与否；
  - (t) 组胺存在与否；
  - (u) 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) 存在与否；
  - (v) 可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2) 存在与否；
  - (w) 纤维蛋白存在与否；
  - (x) 纤维蛋白原存在与否；
  - (y) 纤维蛋白溶解肽存在与否；

- (z) 经修饰的血红蛋白 (HbA1c) 存在与否;
- (aa) 铁蛋白存在与否;
- (bb) 包含可溶性细胞间粘附分子-1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM) 存在与否;
- (cc) 热休克蛋白存在与否;
- (dd) apoB, apoA, apoE 存在与否;
- (ee) 高半胱氨酸或其部分存在与否;
- (ff) 链球菌 (*Streptococcus sp.*), 牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*), 幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 和肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 或者它们的免疫学亲缘物存在与否;
- (gg) 坏死和血小板标记存在与否;
- (hh) 减肥蛋白存在与否;
- (ii) 心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂存在与否;
- (jj) 肝素存在与否;
- (kk) 金属蛋白酶-9 存在与否;
- (ll) 包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶-1 存在与否;
- (mm) 血管紧张素转化酶存在与否;
- (nn) CD95/Apo1/Fas 存在与否;
- (oo) 肝细胞生长因子存在与否;
- (pp) 可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1) 存在与否;
- (qq) 血浆脑促尿钠排泄肽存在与否;
- (rr) 血管紧张素 II 型受体存在与否;
- (ss) 内皮结构的氮氧化合成酶存在与否;
- (tt) 基因多态性糖蛋白 IIIa 存在与否;
- (uu) 因子 VIIa 存在与否;
- (vv) 凝血酶存在与否;
- (ww) 内皮缩血管肽-1 存在与否;
- (xx) 心脏肌原纤维蛋白存在与否;

(yy) Fas 和 Fas 配体存在与否; 以及

(zz) 它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体; 以及

(2) 存储了编码的计算机可读介质。

本发明的另一个方面可以扩展到一种计算机系统, 用于评估受试者患全身性血管系统相关病症或事件的可能性, 该计算机系统包括:

(1) 一种机器可读数据存储介质, 包括一种用机器可读数据编码的数据存储材料, 所述机器可读数据包括了一种或多种特征的值, 所述特征选自:

- (a) 肌红蛋白的存在与否;
- (b) 肌球蛋白轻链 (MLC) 存在与否;
- (c) 肌球蛋白重链 (MHC) 存在与否;
- (d) 包含 CK-MB 的总肌酸激酶 (CK) 存在与否;
- (e) 乳酸脱氢酶 (LDH-H4) 存在与否;
- (f) 天冬氨酸转氨酶 (AST) 存在与否;
- (g) 心脏肌钙蛋白 I 和 T (分别为 cTn-I 和 cTn-T) 和 cTn-I 和 cTn-T RNA 存在与否;
- (h) 包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白 (FAB 蛋白) 存在与否;
- (i) 糖原磷酸化酶 - BB 同工酶存在与否;
- (j)  $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽 (ANP) 存在与否;
- (k) 细胞质 FABP;
- (l) 脑促尿钠排泄肽 (BNP) 存在与否;
- (m) 肾上腺髓质蛋白 (ADM) 存在与否;
- (n) 低密度脂蛋白 (LDL), 极低密度脂蛋白 (VLDL), 高密度脂蛋白 (HDL), 和中密度脂蛋白 (IDL) 存在与否;
- (o) C 反应蛋白 (CRP) 存在与否;
- (p) 血清淀粉样 A 存在与否;
- (q) P-选择蛋白存在与否;
- (r) 前列腺素存在与否;

- (s) 血小板激活因子 (PAF) 存在与否;
- (t) 组胺存在与否;
- (u) 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) 存在与否;
- (v) 可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2) 存在与否;
- (w) 纤维蛋白存在与否;
- (x) 纤维蛋白原存在与否;
- (y) 纤维蛋白溶解肽存在与否;
- (z) 经修饰的血红蛋白 (HbA1c) 存在与否;
- (aa) 铁蛋白存在与否;
- (bb) 包含可溶性细胞间粘附分子 - 1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM) 存在与否;
- (cc) 热休克蛋白存在与否;
- (dd) apoB, apoA, apoE 存在与否;
- (ee) 高半胱氨酸或其部分存在与否;
- (ff) 链球菌 (Streptococcus sp.), 牙龈卟啉单胞菌 (Porphyromonas gingivalis), 幽门螺杆菌 (Helicobacter pylori) 和肺炎衣原体 (Chlamydia pneumoniae) 或者它们的免疫学亲缘物存在与否;
- (gg) 坏死和血小板标记存在与否;
- (hh) 减肥蛋白存在与否;
- (ii) 心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂存在与否;
- (jj) 肝素存在与否;
- (kk) 金属蛋白酶 - 9 存在与否;
- (ll) 包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶 - 1 存在与否;
- (mm) 血管紧张素转化酶存在与否;
- (nn) CD95/Apo1/Fas 存在与否;
- (oo) 肝细胞生长因子存在与否;
- (pp) 可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1) 存在与否;
- (qq) 血浆脑促尿钠排泄肽存在与否;

- (rr) 血管紧张素 II 型受体存在与否;
  - (ss) 内皮结构的氮氧化合成酶存在与否;
  - (tt) 基因多态性糖蛋白 IIIa 存在与否;
  - (uu) 因子 VIIa 存在与否;
  - (vv) 凝血酶存在与否;
  - (ww) 内皮缩血管肽-1 存在与否;
  - (xx) 心脏肌原纤维蛋白存在与否;
  - (yy) Fas 和 Fas 配体存在与否; 以及
  - (zz) 它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体; 以及
- (2) 一种用于储存处理所述机器可读数据指令的暂存器;
  - (3) 一种中央处理器, 与所述暂存器以及机器可读数据存储介质相匹配, 用于处理所述机器可读数据, 以提供对所述数值的总结, 该数值与所述候选序列的预测值相关; 以及
  - (4) 一种输出硬件, 与用于接收所述预测值的所述中央处理器相匹配。

### 附图的简要描述

图 1a、图示了对心脏病标记 (CM) 的检测, 该标记与固定于固体支持物 (SS) 上的结合配偶体 (BP) 相互作用。一个报告分子 (RM) 与 CM 相连, 并且 RM 提供了一种识别信号 (IS)。

图 1b - 1e、图示了经固定的组分 (一种抗体; Ab) 与其结合配偶体 (心脏病标记; CM) 之间相互作用过程的不同检测。一方面, (图 1b) 中的生物素 (—) 用于标记 CM。一种由链霉抗生物素蛋白 (SA) 和碱性磷酸酶 (AP) 组成的融合蛋白被用于与用生物素标记了的 CM 的生物素部分相连接。AP 将底物 (S) 转化为可检测物 (P)。Ab, 被固定于一种固体底物上。在图 1c 中, 被捕获的 CM 用荧光 (F1) AP/HRP 或者放射性 (Rad) 标记了的抗 CM 抗体进行检测。在图 1d 中, 可溶性抗 CM 抗体被用于连接

到经固定的 CM 上，其自身用标记了荧光标记或其他 RM 的抗免疫球蛋白抗体进行检测。在图 1e 中，CM 用荧光组分或其他 RM 进行标记。

图 2、图示了自胸痛发作起，心脏病标记释放入血液的时间过程。

图 3、图示了用于诊断特定全身性血管系统病症或事件的运行指令系统，该指令由存储介质编码。

图 4、图示了一种磁存储介质的横切面，该介质用于诊断特定全身性血管系统病症或事件。

图 5、图示了一种光学可读数据存储系统的横切面，该介质用于诊断特定全身性血管系统病症或事件。

### 优选实施例的详细描述

本发明宣称一方面开发出了一种分析设备，该设备能够分析两种或多种与全身性血管系统病症或事件相关的参数。对参数的检测可以实现预测和诊断两种分析。术语“预测”在本文中包括了对受试者健康或不健康风险性的确定，受试者包括了将要发病或正在发病的人类。

据此，本发明的一个方面是要提供一种评估与全身性血管系统病症或事件相关的或其发生病症或事件的危险性有关参数的方法，所述方法包括了从受试者获得生物样品的步骤，所述生物样品在所述病症或事件之前、期间或之后包括一种或多种在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活或上、下调节的组分，并且所述生物样品与第二套组分相接触，所述一种或多种第二套的组分是一种或多种第一套的组分的结合配偶体，所述第一、二套组分之间的相互作用包括不存在的相互作用的模式显示所述的病症或事件或发生所述病症或事件的风险。

与全身性血管系统相关的病症或事件包括血管疾病（包括心血管的、中风、肺部的、肾血管的、脑血管的、血栓性、或者全身性动脉或静脉的病症或事件）、器官衰竭（包括肝、肾或心力衰竭）、组织排斥诸如器官移植排斥、血栓性发病包括深静脉血栓形成、感染、对循环系统血管的损坏、固定模失败或由固定模或起搏器或其他弥补术装置引起的损伤、

肿瘤血管形成、外科手术诸如臀部复位 (hip replacement)、膝盖重建所引发的病症或事件、创伤或老年性疾病以及内皮损伤。

这里所涉及的“心血管病症或事件”包括心脏病、心脏发病作、心脏失调、心脏的感染，以及心力衰竭。在特别优选的实施例中，心血管病症或事件是指急性冠状综合症 (ACS)，或者相关的失调例如但不限制于冠状动脉疾病，以及治疗性干涉后的再灌注 (例如气囊血管成形术 (balloon angioplasty)，或者溶血栓疗法)。术语“ACS”包括急性心肌梗塞 (AMI)。心血管病症或事件包括充血性心力衰竭，该病发生于心脏不能足够输出以满足身体的代谢需要。该衰竭有四种类型：

类型 I：患者患有冠状动脉疾病 (CAD)，以及其他失调，其中普通的身体活动不导致疲劳、心悸、呼吸短促、心绞痛的疾病；

类型 II：与类型 I 类似，但是患者处于静止状态时，感觉良好，运动状态时受到轻微限制；

类型 III：与类型 II 类似，但是身体活动明显受到限制；以及

类型 IV：与类型 III 类似，但是任何身体活动都会导致绞痛以及其他不适。

所有上述病症或事件均包含在术语“心血管病症或事件”的范围内，并且也包含在与全身性血管系统病症或事件相关的病症或事件中。心血管病症或事件包括心血管失常，例如微生物及病毒引起的感染。微生物感染的例子包括那些由肺炎衣原体 (肺)，牙龈卟啉单胞菌 (口腔)，血链球菌或者幽门螺杆菌 (消化道) 所引起或与之相关的感染。病毒感染的例子包括那些由巨细胞病毒或柯萨奇病毒所引起或与之相关的感染。

术语“生物样品”采用了其最宽泛的含义，包括血液、血清、唾液、组织液、关节滑液、淋巴、组织或组织分泌物、心脏组织、粘液、脑脊液、尿、精液、排泄物样品或任何其他从受试者身上获得的样品，可能包括一种或多种于全身性血管系统病症或事件后在受试者体内存在、缺失、提高或以其他方式被激活的组分。生物样品还可能包括感染物及其产物。可以在任何时间获取生物样品，包括当受试者或患者不在医疗站的情况，也包括当其处于紧急救护的过程中，或处于治疗类选法中或处

于外科手术及其他任何处于医药治疗过程中的时间。“生物样品”也可能包括血液的补给、处于血库或器官库中的血液制品或者组织诸如。

所涉及的“受试者”或者“患者”包括人类、灵长类动物、家畜（例如羊、马、猪、牛、驴），实验用动物（例如小鼠、大鼠、兔子、豚鼠），以及宠物（例如狗、猫）。本发明可应用于人类、医疗、兽医以及畜牧业。

生物样品中的“组分”包括酶（例如同功酶）、肽、多肽、蛋白质、抗体、类脂类、以及包含类脂类的复合物（包括脂蛋白）和/或碳水化合物和包含碳水化合物的复合物以及核酸分子（包括RNA或DNA或其片断）、以及包含核酸分子的复合物。在这里“组分”也可以是指“标记”。组分还可以是指微生物或病毒或其部分或其产物。微生物或病毒的“部分”包括了细胞壁、细胞壁片断或其组分，细胞膜，鞭毛、碳水化合物复合物以及抗原。“产物”包括了代谢副产物、细胞质和细胞膜的相关组分。RNA或DNA可源自细胞坏死或者当DNA的表达量增加或减少时所检测到mRNA水平的变化。

生物样品中的组分，优选在心脏或其他器官的组织中明显地或实质性地存在或缺失，或者在其他组织中有明显的分布，并且提供对心肌损伤的最先的合理指示，提供对全身性血管系统病症或事件（例如心血管病症或事件，如心肌损伤）的中期指示。

对组分的分析因此提供一种对病症或事件的存在或其严重程度的指示，或者提供一种对无症状病症或事件的指示。例如，本发明的分析可对梗塞或无症状局部缺血或不稳定绞痛的存在及其程度作出判断。

优选的，分析应当具备在医疗站的可操作性，如上所述，可在不同地点实施分析或者收集样品。

特别优选在生物样品中的组分包括肌红蛋白、肌球蛋白轻链（MLC），肌球蛋白重链（MHC）、包含CK-MB的总肌酸激酶（CK）、乳酸脱氢酶（LDH-H4）、天冬氨酸转氨酶（AST）、心脏肌钙蛋白I和T（分别为cTn-I和cTn-T）和cTn-I和cTn-T RNA、包括FABP1和人心型的脂肪酸结合蛋白（FAB蛋白）、糖原磷酸化酶-BB同工酶、 $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽（ANP）、细胞质FABP、脑促尿钠排泄肽（BNP）、肾上腺髓质蛋白（ADM）、低密度

脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、和中密度脂蛋白 (IDL)、C 反应蛋白 (CRP)、血清淀粉样 A、P-选择蛋白、前列腺素类、血小板激活因子 (PAF)、组胺、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )、可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2)、纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维蛋白溶解肽、经修饰的血红蛋白 (HbA1c)、铁蛋白、包含可溶性细胞间粘附分子 - 1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM)、热休克蛋白 apoB、apoA、apoE、高半胱氨酸或其部分、链球菌 (*Streptococcus sp.*)、牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 和肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 或者它们的免疫学亲缘物、坏死和血小板标记、减肥蛋白、心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂、肝素、金属蛋白酶 - 9、包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶 - 1、血管紧张素转化酶、CD95/Apo1/Fas、肝细胞生长因子、可溶性血管细胞粘附分子 - 1 (VCAM1)、血浆脑促尿钠排泄肽、血管紧张素 II 型受体、内皮结构的氮氧化合成酶、基因多态性糖蛋白 IIIa、因子 VIIa、凝血酶、内皮缩血管肽 - 1、心脏肌原纤维蛋白、Fas 和 Fas 配体、它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体。

涉及对链球菌、牙龈卟啉单胞菌、幽门螺杆菌以及肺炎衣原体的检测，包括在一个优选的实施例中对来自生物体的抗原或其他细胞特异性分子的检测。

虽然上述组分存在于生物样品中，但它们也可以构成第二套组分的一部分。在这种情形下，在生物样品中寻找它们的结合配偶体。基本上，其中一套组分中的一个或多个组分具有在另一套组分中的结合配偶体。

上述提到的组分或者存在于第一套组分，或者存在于第二套组分。第二套组分通常固定于支持物上，例如但不限制于固体支持物上。

有代表性的固体支持物是玻璃或者聚合物，例如但不限制于纤维素、陶瓷材料、硝化纤维、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯及其衍生物，聚偏二氟乙烯 (PVDF)，异丁烯酸及其衍生物，聚氯乙烯或聚丙烯。根据本发明硝化纤维特别有用并且是优选的。固体支持物还可以是一种杂化物，

例如玻璃或聚合物基质支持的确化纤维膜。所涉及的“杂化物”包括一种层状排列的上述两种或多种玻璃或聚合物表面。固体支持物可以是膜状、或管状、珠状盘状或小板状，或者任何一种适用于实施分析的表面。分子的固定化结合过程是本领域的公知常识，通常为共价结合（例如，交联）或者将分子物理吸附于固体基质上。通常，固体支持物与阻断剂相接触，例如但不限于脱脂乳、牛血清白蛋白、人血清白蛋白、角叉菜提取物或其他来源的角叉菜聚糖或明胶。

术语“相互作用的模式”采用了其最宽泛的含义，包括相对于背景相互作用的相互作用的存在与缺失；相互作用的相对密度，例如相对于背景而言，与固体支持物上结合配偶体相结合的组分的相对密度；在支持物上不连续的检测点上溶解的细胞的细胞内分子的存在与否，其位于的离散斑；生物样品中的组分的相对数量，和或；特定组分不同表达形式。上述标准中的任一条或者全部均可用于评估经固定的分子与其结合配偶体的相互作用。该表达或相互作用的模式也可用于定量。所涉及的“存在”和“缺失”包括实质上的“存在”或者“缺失”以及相对于彼此或者其他标记物的相对“存在”或者“缺失”。

所涉及的“对参数的评估”包括对生物样品中组分的确定，该结果可用于指示心血管病症或事件，或者用于指示与全身性血管系统相关的病症或事件的存在。该评估可作物病症或事件的风险性分析的一部分。

因此，本发明的另一个方面提供了一种评估与全身性血管系统病症或事件相关的参数的方法，所述方法包括一种从受试者获得生物样品的步骤，所述生物样品包含一种或多种在所述病症或事件发生之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分，所述的组分选自于下面所述物质中的两种或更多种：肌红蛋白、肌球蛋白轻链（MLC），肌球蛋白重链（MHC）、包含 CK-MB 的总肌酸激酶（CK）、乳酸脱氢酶（LDH-H4）、天冬氨酸转氨酶（AST）、心脏肌钙蛋白 I 和 T（分别为 cTn-I 和 cTn-T）和 cTn-I 和 cTn-T RNA、包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白（FAB 蛋白）、糖原磷酸化酶 - BB 同工酶、 $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽（ANP）、细胞质 FABP、脑促尿钠排泄肽（BNP）、肾上腺髓质蛋白（ADM）、低密度

脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、和中密度脂蛋白 (IDL)、C 反应蛋白 (CRP)、血清淀粉样 A、P-选择蛋白、前列腺素类、血小板激活因子 (PAF)、组胺、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )、可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2)、纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维蛋白溶解肽、经修饰的血红蛋白 (HbA1c)、铁蛋白、包含可溶性细胞间粘附分子-1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM)、热休克蛋白 apoB、apoA、apoE、高半胱氨酸或其部分、链球菌 (*Streptococcus sp.*)、牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 和肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 或者它们的免疫学亲缘物、坏死和血小板标记、减肥蛋白、心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂、肝素、金属蛋白酶-9、包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶-1、血管紧张素转化酶、CD95/Apo1/Fas、肝细胞生长因子、可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1)、血浆脑促尿钠排泄肽、血管紧张素 II 型受体、内皮结构的氮氧化合成酶、基因多态性糖蛋白 IIIa、因子 VIIa、凝血酶、内皮缩血管肽-1、心脏肌原纤维蛋白、Fas 和 Fas 配体、它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体，并将所述生物样品与第二套组分相接触，所述一种或多种第二套的组分是一种或多种第一套的组分的结合配偶体，所述第一、二套组分之间的相互作用包括不存在的相互作用的模式显示所述的病症或事件或者一种病症或事件。

在一个特别优选的实施例中，第二套组分固定于包含抗体的固体支持物上，该抗体特异或非特异于生物样品中的相关结合组分。后者包括免疫学相互作用的分子，例如但不限于抗原片段或类似物、或者包含其片段的抗原表位。

根据本发明，发明人确定，与全身性血管系统病症或事件的相关标记物范围的同步鉴定，提供了一种更有效的检测病症或事件的方法，例如，该事件为心肌梗塞时，还可对其时间和程度作出估计，监测再灌注和随后的干涉治疗（例如，气囊血管成形术或者溶血栓治疗），并且还可以确定所述病症或事件的相关风险因子。同时对超过一种的参数进行检

测, 相比于单测一种参数, 会减少诊断的次数和 / 或误诊的可能 (例如, 提高了特定诊断的准确性), 并能更快执行一种治疗方案包括服药, 例如心脏抗凝血药 (例如, 组织纤维蛋白溶酶原活化剂 (tPA) 或者链激酶), 以及用于外科手术或者事故处理、急诊室、急诊中心、或情形包括治疗类选方法。

据此, 本发明更进一步的方面是要提供一种治疗方法, 所述方法包括评估与全身性血管系统病症或事件相关的参数或评估发生所述病症或事件的可能性。所述方法包括一种从受试者获得生物样品的步骤, 所述生物样品包含一种或多种在所述病症或事件或与心血管失常相关的病症或事件发生之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分, 所述的组分选自于下面所述物质中的两种或更多种: 肌红蛋白、肌球蛋白轻链 (MLC), 肌球蛋白重链 (MHC)、包含 CK-MB 的总肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH-H4)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、心脏肌钙蛋白 I 和 T (分别为 cTn-I 和 cTn-T) 和 cTn-I 和 cTn-T RNA、包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白 (FAB 蛋白)、糖原磷酸化酶 - BB 同工酶、 $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽 (ANP)、细胞质 FABP、脑促尿钠排泄肽 (BNP)、肾上腺髓质蛋白 (ADM)、低密度脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、和中密度脂蛋白 (IDL)、C 反应蛋白 (CRP)、血清淀粉样 A、P-选择蛋白、前列腺素类、血小板激活因子 (PAF)、组胺、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )、可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2)、纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维蛋白溶解肽、经修饰的血红蛋白 (HbA1c)、铁蛋白、包含可溶性细胞间粘附分子 - 1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM)、热休克蛋白 apoB、apoA、apoE、高半胱氨酸或其部分、链球菌 (*Streptococcus sp.*)、牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 和肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 或者它们的免疫学亲缘物、坏死和血小板标记、减肥蛋白、心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂、肝素、金属蛋白酶 - 9、包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶 - 1、血管紧张素转化酶、CD95/Apo1/Fas、肝细胞生长因子、可溶性血管细胞粘附分子 - 1 (VCAM1)、血浆脑促尿钠排泄肽、血管紧张素

II 型受体、内皮结构的氮氧化合成酶、基因多态性糖蛋白 IIIa、因子 VIIa、凝血酶、内皮缩血管肽-1、心脏肌原纤维蛋白、Fas 和 Fas 配体、它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体，并将所述生物样品与一种或多种抗体或其免疫学等同物接触，所述一种或多种抗体或其免疫学等同物能够与在所述生物样品中的一种或多种组分结合。所述组分与抗体之间的相互作用包括不存在的相互作用的模式显示所述的病症或事件，然后产生适宜的治疗方案。

本发明可特别用于治疗手段的补充，例如注入 tPA(即，溶血栓疗法)，气囊血管成形术、固定模插入和 / 或冠状动脉移植手术 (CAGS)。本发明还是临床实践的重要辅助手段。

与全身性血管系统相关的病症或事件还包括心血管病症或事件，损伤包括下列手术，器官衰竭(包括心脏、肝或者肾衰竭)、中风、血栓事件包括深静脉血栓形成、肺病、血栓事件以及肿瘤或癌组织的血管化。分析可被用于确定健康受试者发生病症或事件的风险，或者正在手术或服药的患者发生病症或事件的风险。本发明所能预测的特别重要的病症或事件包括心血管疾病、肺病、血栓形成病，以及发生病症或事件的风险。

特殊的标记物也可用于某些疾病。例如，中风或脑损伤或外伤标记物，包括白细胞介素(例如 IL-1、IL-6、IL-8、IL-10、IL-17)和 TGF  $\beta$ ；神经学标记物包括淀粉状蛋白  $\beta$ -1-42、淀粉状蛋白  $\beta$ -1-40、tau、apoE、apoE4、S-100B，特定神经元烯醇酶、泛蛋白和或上述其他标记物的替代物。肾损伤或疾病可用标记物鉴定，例如尿谷胱甘肽 S-转移酶 (GST)、 $\alpha$ -GST、肌酸、黑色素 A、前列腺特异性抗原、柠檬酸、乙酸、促红素。还可以采用其他的特异性标记物，例如肺或肺部疾病。

本发明的方法可方便地使用生物样品组分的经固定的结合配偶体阵列进行。术语“阵列”并非暗示任何涉及形状或顺序或阵列的结合配偶体的模式的限制，结合配偶体可以按规定的模式排列，也可以随机或半随机地排列。通常，阵列包含两个或多个结合配偶体，但优选包含大约 2

- 10000 个，特别优选大约 10 - 5000，特别尤其优选大约 20 - 1000。优选的，阵列上的检测点可按顺序排列，例如矩形、三角形或球形矩阵，其中免疫球蛋白区的位置用横竖坐标定义。免疫球蛋白的位置可以涵盖任何方便的区域，例如从大约  $0.1\text{mm}^2$  到约  $100\text{mm}^2$ ，优选大约  $0.5\text{mm}^2$  到约  $15\text{mm}^2$ 。通常，每个区域或检测点均由具有一个单独区别特异性的免疫球蛋白所组成。特异性在本文中是与不同抗原或抗原的不同部位相关。免疫球蛋白检测点的优选数量为约 7 - 1000，更优选约 10 - 1000。最优选地，免疫球蛋白成倍数排列，例如，两倍、三倍或更多。优选的，所述阵列包含由对  $(x, y)$  坐标定义的结合配偶体，由此每一个结合配偶体用坐标  $(x, y)$ ,  $(x_2, y_2)$ ...  $(x_n, y_n)$  定义，其中  $n$  是对应于生物样品中组分的结合配偶体的数量。用两个或多个相互作用来获取相互作用的模式。

据此，本发明的另一个方面包含了一种来自受试者的生物样品组分的结合配偶体的阵列，所述组分在受试者患有全身性血管系统病症或事件后存在、缺失、提高或以其他方式被激活，其中结合配偶体用  $(x, y)$  坐标定义，由此所述阵列在坐标  $(x, y)$ ,  $(x_2, y_2)$ ...  $(x_n, y_n)$  包含  $n$  个结合配偶体，并且组分与结合配偶体之间相互作用的模式指示所述病症或事件。上述坐标的下标“1”、“2”、“ $n$ ”并非暗示  $x$ 、 $y$  坐标值是相同的。

在某个有用的实施例中，本发明瞬时检测到了心肌组织损伤，例如发生了 ACS 包括 AMI。本发明也可用于确定梗塞的大小。获知真实心脏损伤的存在推动了早期及时的干涉治疗。

据此，本发明的另一个方面提供了一种评估受试者梗塞或相关病症程度的方法，该梗塞 ( $I_s$ ) 的程度用下述公式计算：

$$I_s = \frac{\int_0^t f(t) dt \times Bw \times Kw}{Ed \times Kr}$$

其中  $I_s$  是梗塞的大小；

$F(t) dt$  是生物样品中一种组分的释放率，所述组分在受试者于所述导致心肌梗塞与全身性血管系统相关的病症或事件之

后存在、缺失、提高或以其他方式被激活, [f(t)也可作为组分的表象功能];

Bw 是受试者的体重;

Kw 是体重与所释放的组分的比例;

Ed 从计算中去除组分比率; 以及

Kr 是总的组分释放量除以梗塞组织中释放的组分量;

所述方法包括了将从受试者获得的生物样品与一种或多种所述组分的结合配偶体相接触的步骤, 所述生物样品包含一种或多种在所述病症或事件或与心血管失常相关的病症或事件发生之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分, 所述结合配偶体被固定于固体支持物上, 所述组分与结合配偶体之间的相互作用的模式可以指示梗塞的大小, 或者提供评估梗塞大小的输入数据。

上述公式可以用结合常数赋值  $K_d$  简化, 定义  $f(t)$  为  $\frac{dE}{dt} + K_d E$ 。

据此, 相应的公式变为  $K_d \int E(t) dt + E(T)$ , 其中当参数的结果涉及基线条件时,  $E(T)$  为组分的活性或水平。

优选的, 生物样品中的组分包括一种或多种肌红蛋白、肌球蛋白轻链 (MLC), 肌球蛋白重链 (MHC)、包含 CK-MB 的总肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH-H4)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、心脏肌钙蛋白 I 和 T (分别为 cTn-I 和 cTn-T) 和 cTn-I 和 cTn-T RNA、包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白 (FAB 蛋白)、糖原磷酸化酶 - BB 同工酶、 $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽 (ANP)、细胞质 FABP、脑促尿钠排泄肽 (BNP)、肾上腺髓质蛋白 (ADM)、低密度脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、高密度脂蛋白 (HDL)、和中密度脂蛋白 (IDL)、C 反应蛋白 (CRP)、血清淀粉样 A、P-选择蛋白、前列腺素类、血小板激活因子 (PAF)、组胺、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )、可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2)、纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维蛋白溶解肽、经修饰的血红蛋白 (HbA1c)、铁蛋白、包含可溶性细胞间粘附分子 - 1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM)、热休克蛋白 apoB、apoA、apoE、高半胱氨酸或其部分、链球菌 (*Streptococcus sp.*)、牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*)

和肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 或者它们的免疫学亲缘物、坏死和血小板标记、减肥蛋白、心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂、肝素、金属蛋白酶-9、包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶-1、血管紧张素转化酶、CD95/Apo1/Fas、肝细胞生长因子、可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1)、血浆脑促尿钠排泄肽、血管紧张素 II 型受体、内皮结构的氮氧化合成酶、基因多态性糖蛋白 IIIa、因子 VIIa、凝血酶、内皮缩血管肽-1、心脏肌原纤维蛋白、Fas 和 Fas 配体、它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体。

即使单倍检测点对于检测心肌损伤的存在也是有用的，其定量测定多倍的心脏标记物，并计算它们的血浆比率水平。当然，优选使用多倍检测点（例如两倍或更多）。多倍检测点涵盖了数秒、数分钟、数小时、数周以及数月，并提供更多的信息，例如，发病的时间、受损的程度和或治疗方法的功效。优选的，挑选约 2-10 倍的检测点。分析可用于确定该过程中优选两个或多个组分的相对量或定量或质量。可以作出一系列的曲线，曲线下边的面积与梗塞大小实质上成比例。对时间起点的推断就可以确定梗塞大致的发生时间。

与全身性血管系统相关的其他病症或发病（包括血栓形成包括深度静脉血栓形成、内皮损伤、新生肿瘤或癌组织的血管化，肺病以及动静脉病症）的检测中出现类似结果。

如上所述，本发明的分析可用于分析生物样品中的核酸分子。一方面，可以检测血清或其他来自细胞坏死的组织液的所有核酸分子（例如，包括 mRNA、RNA 以及 DNA）。另一方面，可以用增加或减少基因序列的表达水平来检测 mRNA 的水平。本文所指的“表达”包括转录和或核苷酸序列的翻译，以产生 mRNA 以及相应的氨基酸序列。不管哪种情况，核酸分子的水平都可因心血管病症或事件而变化。

据此，本发明的一个方面是要提供一种评估与全身性血管系统病症或事件相关参数的方法，所述方法包括对生物样品的两个或多个 mRNA 分子进行筛选，该 mRNA 可翻译成所述病症或事件或与心血管失常相关的病

症或事件发生之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分，所述筛选包括将生物样品与可杂交的寡核苷酸或其他能捕获所述 mRNA 或所述 mRNA 分子的相应 cDNA 的物质的阵列相接触，并检测所述杂交或者捕获，其中所述 mRNA 或 cDNA 分子的存在与否可指示所述病症或事件或患病的风险性。

优选的，mRNA 分子先反转录为互补（或复制）DNA（cDNA）。反转录聚合酶链式反应（RT-PCR）特别有用，并为本发明所用。

实时 PCR 也用于研究过程中基因序列表达水平的变化。实时 PCR 采用了由 PE Biosystems (Foster City, CA, USA) 开发的 TaqMan (注册商标) 系统，可以快速检测和定量 DNA，无需费力的进行后 PCR 处理（例如，凝胶电泳和放射活性杂交(Heid 等人, 1996)。另外，内置式 96 孔格式极大的增加了同步检测的样品的数量。该方法在引物延伸期间，使用了 Taq 聚合酶 (AmpliTaq Gold, PE Biosystems, Foster City, CA, USA) 的 5' 核酸外切酶活性切开双标记荧光探针，该探针与 PCR 引物间的靶 DNA 杂交。在切割之前，一种报告染色物，例如 6-羧基荧光素(6-FAM)，在所述探针的 5' 端用 6-羧基-四甲基若丹明 (TAMRA) 通过荧光共振能量转移抑制。接下来进行消化，FAM 被释放出来。在产物累计的对数期，所得到的荧光连续实时测量于 518nm，其与靶序列的拷贝数成比例。

采用报告分子方便地检测了组分与结合配偶体之间的相互作用。例如，分析设备可以包括一种免疫球蛋白阵列。用生物样品与经固定的免疫球蛋白阵列相接触。接触所持续的时间和符合的条件足以使抗原被经固定的免疫球蛋白所捕获。被捕获的抗原可以用任何便利的方法进行检测，例如，生化法、组织化学法、免疫学法、显微镜法。特别适用免疫检测法。例如，可加入第二种特异于被捕获的抗原的免疫球蛋白，该球蛋白用报告分子标记。对报告分子的鉴定就指示了抗原已被捕获。另外，加入第二种免疫球蛋白之后，它与被捕获的抗原形成了一种复合物，加入一种用报告分子标记的抗免疫球蛋白，从而确定了来自报告分子信号的存在。图 1a 展示了一种常用的方法。更特别的和优选的方法用图 1b-1e 展示。

本说明书所用的“报告分子”是指一种分子，该分子的化学特性可以提供一种可用于分析鉴定的信号，该信号可用于检测免疫球蛋白与抗原的结合。检测可以定性和定量。这类分析中常用的报告分子包括酶，例如与发光分子、荧光或放射性分子（例如，放射性同位素）结合的酶。就酶免疫测定而言，该酶与第二或第三种免疫球蛋白结合，通常采用双功能交联的方法，该方法采用，例如，试剂，例如戊二醛、琥珀酰亚胺衍生物及其类似物。易于选择的，本领域技术人员可以采用现有的大量不同的便于使用的结合技术。通常采用酶包括辣根过氧化物酶、葡萄糖氧化酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶以及碱性磷酸酶，以及其他酶。通常选择特异性酶所使用的底物，该底物被相应的酶水解后产生一种可检测的颜色变化。也可以采用荧光底物，该底物可以产生荧光，或其他光信号，例如闪光。

另外，荧光化合物，例如荧光素或若丹明，可以与免疫球蛋白化学连接，而无需改变其结合能力。当用特定波长的光激活后，荧光色素标记的免疫球蛋白吸收光能，诱导了该分子中的一种兴奋状态，接下来，发出特征颜色的光，其可被视觉检测显微镜，或者用其他成像设备例如共焦显微镜或二维激光扫描器（例如，FluorImager or Typhoon, Molecular Dynamics, Inc., Sunnyvale, USA)检测到。

在某个特别有用的方法中，经固定的免疫球蛋白捕获了一种组分。针对于不同或重叠表位的第二抗体随后发生免疫反应，形成一种抗体-组分-抗体的复合物。第二抗体连接于，例如，链霉抗生物素蛋白和碱性磷酸酶，该酶可产生一种可识别的信号。

完成本发明分析的分析设备以及方法已经适用于自动化。例如，机器人系统可用发送适量的免疫球蛋白，包括毫微升或微微升，到固体支持物上，例如硝化纤维素薄膜或者微滴度板上。适当处理后，经固定的免疫球蛋白可用于任何分析。重申一次，这可以实现自动化，或者由机器人来操作。

本发明进一步打算将结合配偶体阵列用于下述分析设备的制造，该设备用于检测心血管病症或事件或与全身性血管系统相关的病症。

本发明的阵列也可适用于微芯片。微芯片技术可以产生数以千计的

结合配偶体用于大范围的病征，并且进一步可实现自动化和或计算机分析。“微芯片”包括一种包含一种由衔接分子、配体或潜在结合配偶体构成的阵列的矩阵载体。

所述矩阵载体也可以是一种生物芯片。所涉及的“生物芯片”也包括一种“基因芯片”。基因芯片包括任何由固定于固体支持物上的两种或多种寡核苷酸或多核苷酸的阵列。寡核苷酸或多核苷酸相应于可以编码某种特定心脏标记物的基因或 mRNA。实时 PCR 是筛选标记物升降的机理。读取 mRNA 的序列并反推相应的 cDNA 序列，RT-PCR 也可用于检测靶核苷酸序列的存在与否。实时 PCR 以及特定实时 RT-PCR 在确定标记物表达模式的变化中特别有用。

本发明进一步打算用于一种数据处理方法以分析和或筛选组分与它们结合配偶体之间的相互作用。数据处理方法优选包含一种合适的程序化的计算机，该方法的步骤优选采用适宜的程序化计算机进行处理。本发明的不同形式中，输入信息可以是数值形态、标识符或者其他数据，只要它们与相互作用对或者相互作用的缺失的鉴定有关。输入数据可以被数字化。另外，为了实现本发明，可采用一种快速傅立叶转化芯片，至少作为处理方法的一部分。

在本发明的一种优选的形式中，代表性的测量值可用于鉴定或评价组分与结合配偶体之间相互作用的存在。

据此，本发明的另一方面是要提供一种数据处理方法，用于评估全身性血管系统病症或事件，所述数据处理方法执行以下步骤：

- (1) 用固定于生物芯片阵列上的组分，检测用于指示相互作用与否的报告分子；
- (2) 分析步骤 (1) 所获得数据，以辨认存在于生物样品上的组分；
- (3) 步骤 (2) 获得的组分的选择性定量；
- (4) 分析数据以评估一种病症或事件的可能性。

在某个特别有用的实施例中，本发明提供了一种患 ACS 例如 AMI 可能性的指示。

据此，本发明的另一有用的方面是提供了一种评估受试者患全身性

血管系统病症或事件风险性的方法，其中风险是指一种或多种下述物质存在与否的可能性，所述物质为肌红蛋白、肌球蛋白轻链（MLC），肌球蛋白重链（MHC）、包含 CK-MB 的总肌酸激酶（CK）、乳酸脱氢酶（LDH-H4）、天冬氨酸转氨酶（AST）、心脏肌钙蛋白 I 和 T（分别为 cTn-I 和 cTn-T）和 cTn-I 和 cTn-T RNA、包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白（FAB 蛋白）、糖原磷酸化酶 - BB 同工酶、 $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽（ANP）、细胞质 FABP、脑促尿钠排泄肽（BNP）、肾上腺髓质蛋白（ADM）、低密度脂蛋白（LDL）、极低密度脂蛋白（VLDL）、高密度脂蛋白（HDL）、和中密度脂蛋白（IDL）、C 反应蛋白（CRP）、血清淀粉样 A、P-选择蛋白、前列腺素类、血小板激活因子（PAF）、组胺、肿瘤坏死因子  $\alpha$ （TNF $\alpha$ ）、可溶性 TNF 受体 2（sTNFR2）、纤维蛋白、纤维蛋白原、纤维蛋白溶解肽、经修饰的血红蛋白（HbA1c）、铁蛋白、包含可溶性细胞间粘附分子 - 1（ICAM1）的可溶性细胞间粘附分子（ICAM）、热休克蛋白 apoB、apoA、apoE、高半胱氨酸或其部分、链球菌（*Streptococcus sp.*）、牙龈卟啉单胞菌（*Porphyromonas gingivalis*）、幽门螺杆菌（*Helicobacter pylori*）和肺炎衣原体（*Chlamydia pneumoniae*）或者它们的免疫学亲缘物、坏死和血小板标记、减肥蛋白、心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂、肝素、金属蛋白酶 - 9、包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶 - 1、血管紧张素转化酶、CD95/Apo1/Fas、肝细胞生长因子、可溶性血管细胞粘附分子 - 1（VCAM1）、血浆脑促尿钠排泄肽、血管紧张素 II 型受体、内皮结构的氮氧化合成酶、基因多态性糖蛋白 IIIa、因子 VIIa、凝血酶、内皮缩血管肽 - 1、心脏肌原纤维蛋白、Fas 和 Fas 配体、它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体。

在某个特别有用的实施例中，本发明提供了一种评估受试者患 ACS 包括 AMI 或相关病症风险性的方法，所述方法包括对生物样品的两个或多个 mRNA 分子进行筛选，该 mRNA 可翻译成所述病症或事件或与心血管失常相关的病症或事件发生之后在受试者体内存在、缺失、被提高或以其他方式被激活的组分，所述筛选包括将生物样品与可杂交的寡核苷酸

或其他能捕获所述 mRNA 或所述 mRNA 分子的相应 cDNA 的物质的阵列相接触，并检测所述杂交或者捕获，其中所述 mRNA 或 cDNA 分子的存在与否可指示所述病症或事件或患病的风险性。

心血管失常或全身性血管系统病症或事件的风险性的确定对于鉴定风险的不存在是具有商业利益的，例如，医院或急救病床或急救车可能不需要使用。对于检查人或受试者的一般健康状态也是有用的。计算机筛选特别有用于风险分析确定。

这样，另一方面，本发明提供了一种计算机程序产品，用于评估患全身性血管系统病症或发病的可能性，所述产品包括：

- (1) 将获得的一个或多个特征的输入值进行编码，所述特征选自：
  - (a) 肌红蛋白的存在与否；
  - (b) 肌球蛋白轻链 (MLC) 存在与否；
  - (c) 肌球蛋白重链 (MHC) 存在与否；
  - (d) 包含 CK-MB 的总肌酸激酶 (CK) 存在与否；
  - (e) 乳酸脱氢酶 (LDH-H4) 存在与否；
  - (f) 天冬氨酸转氨酶 (AST) 存在与否；
  - (g) 心脏肌钙蛋白 I 和 T (分别为 cTn-I 和 cTn-T) 和 cTn-I 和 cTn-T RNA 存在与否；
  - (h) 包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白 (FAB 蛋白) 存在与否；
  - (i) 糖原磷酸化酶 - BB 同工酶存在与否；
  - (j)  $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽 (ANP) 存在与否；
  - (k) 细胞质 FABP；
  - (l) 脑促尿钠排泄肽 (BNP) 存在与否；
  - (m) 肾上腺髓质蛋白 (ADM) 存在与否；
  - (n) 低密度脂蛋白 (LDL), 极低密度脂蛋白 (VLDL), 高密度脂蛋白 (HDL), 和中密度脂蛋白 (IDL) 存在与否；
  - (o) C 反应蛋白 (CRP) 存在与否；
  - (p) 血清淀粉样 A 存在与否；
  - (q) P-选择蛋白存在与否；

- (r) 前列腺素存在与否;
- (s) 血小板激活因子 (PAF) 存在与否;
- (t) 组胺存在与否;
- (u) 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) 存在与否;
- (v) 可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2) 存在与否;
- (w) 纤维蛋白存在与否;
- (x) 纤维蛋白原存在与否;
- (y) 纤维蛋白溶解肽存在与否;
- (z) 经修饰的血红蛋白 (HbA1c) 存在与否;
- (aa) 铁蛋白存在与否;
- (bb) 包含可溶性细胞间粘附分子 - 1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM) 存在与否;
- (cc) 热休克蛋白存在与否;
- (dd) apoB, apoA, apoE 存在与否;
- (ee) 高半胱氨酸或其部分存在与否;
- (ff) 链球菌 (*Streptococcus sp.*), 牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*), 幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 和肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 或者它们的免疫学亲缘物存在与否;
- (gg) 坏死和血小板标记存在与否;
- (hh) 减肥蛋白存在与否;
- (ii) 心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂存在与否;
- (jj) 肝素存在与否;
- (kk) 金属蛋白酶 - 9 存在与否;
- (ll) 包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶 - 1 存在与否;
- (mm) 血管紧张素转化酶存在与否;
- (nn) CD95/Apo1/Fas 存在与否;
- (oo) 肝细胞生长因子存在与否;
- (pp) 可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1) 存在与否;
- (qq) 血浆脑促尿钠排泄肽存在与否;

(rr) 血管紧张素 II 型受体存在与否；  
 (ss) 内皮结构的氮氧化合成酶存在与否；  
 (tt) 基因多态性糖蛋白 IIIa 存在与否；  
 (uu) 因子 VIIa 存在与否；  
 (vv) 凝血酶存在与否；  
 (ww) 内皮缩血管肽-1 存在与否；  
 (xx) 心脏肌原纤维蛋白存在与否；  
 (yy) Fas 和 Fas 配体存在与否；以及  
 (zz) 它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体；以及

(2) 存储了编码的计算机可读介质。

本发明的另一个方面可以扩展到一种计算机系统，用于评估受试者患全身性血管系统相关病症或事件的可能性，该计算机系统包括：

(1) 一种机器可读数据存储介质，包括一种用机器可读数据编码的数据存储材料，所述机器可读数据包括了一种或多种特征的值，所述特征选自：

- (a) 肌红蛋白的存在与否；
- (b) 肌球蛋白轻链 (MLC) 存在与否；
- (c) 肌球蛋白重链 (MHC) 存在与否；
- (d) 包含 CK-MB 的总肌酸激酶 (CK) 存在与否；
- (e) 乳酸脱氢酶 (LDH-H4) 存在与否；
- (f) 天冬氨酸转氨酶 (AST) 存在与否；
- (g) 心脏肌钙蛋白 I 和 T (分别为 cTn-I 和 cTn-T) 和 cTn-I 和 cTn-T RNA 存在与否；
- (h) 包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白 (FAB 蛋白) 存在与否；
- (i) 糖原磷酸化酶 - BB 同工酶存在与否；
- (j)  $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽 (ANP) 存在与否；
- (k) 细胞质 FABP；
- (l) 脑促尿钠排泄肽 (BNP) 存在与否；

- (m) 肾上腺髓质蛋白 (ADM) 存在与否;
- (n) 低密度脂蛋白 (LDL), 极低密度脂蛋白 (VLDL), 高密度脂蛋白 (HDL), 和中密度脂蛋白 (IDL) 存在与否;
- (o) C 反应蛋白 (CRP) 存在与否;
- (p) 血清淀粉样 A 存在与否;
- (q) P-选择蛋白存在与否;
- (r) 前列腺素存在与否;
- (s) 血小板激活因子 (PAF) 存在与否;
- (t) 组胺存在与否;
- (u) 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) 存在与否;
- (v) 可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2) 存在与否;
- (w) 纤维蛋白存在与否;
- (x) 纤维蛋白原存在与否;
- (y) 纤维蛋白溶解肽存在与否;
- (z) 经修饰的血红蛋白 (HbA1c) 存在与否;
- (aa) 铁蛋白存在与否;
- (bb) 包含可溶性细胞间粘附分子 - 1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM) 存在与否;
- (cc) 热休克蛋白存在与否;
- (dd) apoB, apoA, apoE 存在与否;
- (ee) 高半胱氨酸或其部分存在与否;
- (ff) 链球菌 (Streptococcus sp.), 牙龈卟啉单胞菌 (Porphyromonas gingivalis), 幽门螺杆菌 (Helicobacter pylori) 和肺炎衣原体 (Chlamydia pneumoniae) 或者它们的免疫学亲缘物存在与否;
- (gg) 坏死和血小板标记存在与否;
- (hh) 减肥蛋白存在与否;
- (ii) 心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂存在与否;
- (jj) 肝素存在与否;

- (kk) 金属蛋白酶-9 存在与否;
  - (ll) 包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶-1 存在与否;
  - (mm) 血管紧张素转化酶存在与否;
  - (nn) CD95/Apo1/Fas 存在与否;
  - (oo) 肝细胞生长因子存在与否;
  - (pp) 可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1) 存在与否;
  - (qq) 血浆脑促尿钠排泄肽存在与否;
  - (rr) 血管紧张素 II 型受体存在与否;
  - (ss) 内皮结构的氮氧化合成酶存在与否;
  - (tt) 基因多态性糖蛋白 IIIa 存在与否;
  - (uu) 因子 VIIa 存在与否;
  - (vv) 凝血酶存在与否;
  - (ww) 内皮缩血管肽-1 存在与否;
  - (xx) 心脏肌原纤维蛋白存在与否;
  - (yy) Fas 和 Fas 配体存在与否; 以及
  - (zz) 它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体; 以及
- (2) 一种用于储存处理所述机器可读数据指令的暂存器;
  - (3) 一种中央处理器, 与所述暂存器以及机器可读数据存储介质相匹配, 用于处理所述机器可读数据, 以提供对所述数值的总结, 该数值与所述候选序列的预测值相关; 以及
  - (4) 一种输出硬件, 与用于接收所述预测值的所述中央处理器相匹配。

这些实施例的一个版本展示于图 3, 该图展示了一种系统 10, 该系统包括计算机 11, 由一个中央处理器 ("CPU") 20, 一个暂存器 22, 例如 RAM (随机存取存储器) 或 "核心" 内存, 大容量存储器 24 (例如一种或多种磁盘驱动器或 CD-ROM 驱动器), 一种或多种阴极射线管 ("CRT") 显示终端 26, 一个或多个键盘 28, 一个或多个输入线 30, 以及一个或多个输出线 40, 所有这些用常规双向系统总线 50 连通起来。

与计算机 11 用输入线 30 连接起来的输入硬件 36 也可采用不同的方法实现其功能。例如，本发明的机器可读数据可通过调制解调器或调制解调器 32 进行输入，该解调器用电话线或专用数据线 34 连接。另外，输入硬件 36 可以包括一种 CD。另外，与显示终端 26、键盘 28 相连的 ROM 驱动器或磁盘驱动器 24 也可用作输入设备。

与计算机 11 用输出线 40 相连的输出硬件 46 可类似的采用传统设备实现其功能。例如输出硬件 46 可以包括 CRT 显示终端 26 用于显示所述合成多核苷酸序列或合成多肽序列。输出硬件也可包括一种打印机 42，所以可以产生硬拷贝输出，或者一种磁盘驱动器 24，为将来使用而存储系统输出。

在运算中，CPU20 协调不同输入输出设备 36、46 的工作，协调读自大容量存储器 24 的数据，以及读自暂存器 22 的数据，并确定数据处理步骤的顺序。大量程序可用于处理本发明的机器可读数据。作为例证的程序包括下列步骤：

- (1) 输入至少一个与靶基因表达相关的特征值，所述特征选自：
  - (a) 肌红蛋白的存在与否；
  - (b) 肌球蛋白轻链 (MLC) 存在与否；
  - (c) 肌球蛋白重链 (MHC) 存在与否；
  - (d) 包含 CK-MB 的总肌酸激酶 (CK) 存在与否；
  - (e) 乳酸脱氢酶 (LDH-H4) 存在与否；
  - (f) 天冬氨酸转氨酶 (AST) 存在与否；
  - (g) 心脏肌钙蛋白 I 和 T (分别为 cTn-I 和 cTn-T) 和 cTn-I 和 cTn-T RNA 存在与否；
  - (h) 包括 FABP1 和人心型的脂肪酸结合蛋白 (FAB 蛋白) 存在与否；
  - (i) 糖原磷酸化酶 - BB 同工酶存在与否；
  - (j)  $\alpha$ -心房促尿钠排泄肽 (ANP) 存在与否；
  - (k) 细胞质 FABP；
  - (l) 脑促尿钠排泄肽 (BNP) 存在与否；
  - (m) 肾上腺髓质蛋白 (ADM) 存在与否；

- (n) 低密度脂蛋白 (LDL), 极低密度脂蛋白 (VLDL), 高密度脂蛋白 (HDL), 和中密度脂蛋白 (IDL) 存在与否;
- (o) C 反应蛋白 (CRP) 存在与否;
- (p) 血清淀粉样 A 存在与否;
- (q) P-选择蛋白存在与否;
- (r) 前列腺素存在与否;
- (s) 血小板激活因子 (PAF) 存在与否;
- (t) 组胺存在与否;
- (u) 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) 存在与否;
- (v) 可溶性 TNF 受体 2 (sTNFR2) 存在与否;
- (w) 纤维蛋白存在与否;
- (x) 纤维蛋白原存在与否;
- (y) 纤维蛋白溶解肽存在与否;
- (z) 经修饰的血红蛋白 (HbA1c) 存在与否;
- (aa) 铁蛋白存在与否;
- (bb) 包含可溶性细胞间粘附分子 - 1 (ICAM1) 的可溶性细胞间粘附分子 (ICAM) 存在与否;
- (cc) 热休克蛋白存在与否;
- (dd) apoB, apoA, apoE 存在与否;
- (ee) 高半胱氨酸或其部分存在与否;
- (ff) 链球菌 (*Streptococcus* sp.), 牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*), 幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 和肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 或者它们的免疫学亲缘物存在与否;
- (gg) 坏死和血小板标记存在与否;
- (hh) 减肥蛋白存在与否;
- (ii) 心脏内源激肽的血管肽酶抑制剂存在与否;
- (jj) 肝素存在与否;
- (kk) 金属蛋白酶 - 9 存在与否;
- (ll) 包含其自身组织抑制剂的金属蛋白酶 - 1 存在与否;

- (mm) 血管紧张素转化酶存在与否;
  - (nn) CD95/Apo1/Fas 存在与否;
  - (oo) 肝细胞生长因子存在与否;
  - (pp) 可溶性血管细胞粘附分子-1 (VCAM1) 存在与否;
  - (qq) 血浆脑促尿钠排泄肽存在与否;
  - (rr) 血管紧张素 II 型受体存在与否;
  - (ss) 内皮结构的氮氧化合成酶存在与否;
  - (tt) 基因多态性糖蛋白 IIIa 存在与否;
  - (uu) 因子 VIIa 存在与否;
  - (vv) 凝血酶存在与否;
  - (ww) 内皮缩血管肽-1 存在与否;
  - (xx) 心脏肌原纤维蛋白存在与否;
  - (yy) Fas 和 Fas 配体存在与否; 以及
  - (zz) 它们的配体或它们的结合配偶体、或编码它们的核酸分子、或所述核酸分子的片段、配体、或结合配偶体; 以及
- (2) 为所述特征赋值, 以此为所述序列提供一个预测值; 以及
  - (3) 输出所述预测值。

图 4 展示了一种磁性数据存储介质 100 的横切面, 该介质可用于编码机器可读的数据, 或者编码一套指令, 用于设计一种该发明的合成分子, 该功能可以用图 5 所示的系统 10 来完成。介质 100 可以是一种常规的软盘或者硬盘, 具有合适的常规基质 101, 以及一种合适的常规涂层 102。在其一边或双边上含有磁域 (不可视), 其极性或取向可磁性的改变。介质 100 也可以具有一种用于接受磁盘驱动器或其他数据存储设备 24 的开口 (未标出)。介质 100 涂层 102 上的磁域可以被极化或定向, 用于常规法编码所述用于诸如图 3 所示系统 10 的系统执行的机器可读数据。

图 4 展示了一种光学可读数据存储介质 110 的横切面, 其可用该机器可读数据编码, 或者用指令集编码, 用于筛选本发明的候选分子, 可用诸如图 3 所示的系统 10 的系统来完成该编码。介质 110 可以是一种常

规的只读光盘盒 (CD-ROM) 或者一种可擦写介质, 例如磁光盘, 它可以光学可读并且磁-光可写。介质 100 优选具有合适的可以是常规的基质 111, 以及合适的可以是常规的涂层 112, 通常位于基质 111 的一面。

CD-ROM 为例, 众多周知, 涂层 112 具反射性并印上了多元点隙 113, 来编码机器可读数据。点隙的排列用激光对涂层 112 表面的反射来读取。在涂层 112 的上面具有一种保护涂层 114, 优选基本透明。

以磁-光盘为例, 众所周知, 涂层 112 不具有点隙 113, 但具有多元磁域, 其极性和取向可以在加热到某温度时磁性改变, 例如用激光 (未标出)。可以用测量被涂层 112 反射的激光极性来读取磁域的取向。编码数据的磁域的排列如上所示。

本系统检索特征, 并将其形成复合特征。为了形成这些复合特征, 以不同方式合成不只一个特征。特别的, 复合特征可以是任何单一特征或其他复合特征的函数或其组合。函数可以是代数的、逻辑的、正弦的、对数的、线性的、双曲线的、统计的以及类似。另外, 可以以函数的方法获得不只一个特征 (例如, 算术、代数)。举例来讲, 复合特征可以为两个或多个特征的和, 或者复合特征对应于一个或多个特征的叠加除以其他特征的子分数。另外, 复合特征可以等于一个或多个特征的定值倍数。当然, 还有很多其他方法来定义复合特征。

本发明进一步描述但不限制于下述实施例。

### 实施例 1

#### 心脏病症或事件的早期生化标记物

肌红蛋白, CK-MB, 心脏肌钙蛋白-T 和心脏肌钙蛋白-I

对于早期标记物, 首要的是应在短期内尽快实施检测, 并且标记物应在 ACS (包括 AMI) 之后很快被释放出来。更为理想的是, 对 ACS (包括 AMI) 的早期诊断是使用 Point-of-Care 装置, 即一个小的, 适合手提的装置, 该装置可被用于当潜在的 ACS (包括 AMI) 患者出现在临床包括医院或者是普通内科医生的诊所中。

关于早期标记物, 肌红蛋白, 包括肌酸激酶 CK-MB 异构体的总肌酸激酶 (CK), 心脏肌钙蛋白-T (cTn-T) 和心脏肌钙蛋白-I (cTn-I) 中的任何

一个，基于以下几方面都轻微地表现出不同的特征：

- (1) 是否专门针对心脏组织；
- (2) 血清水平达到高峰的时间；
- (3) 高峰水平所持续的周期；
- (4) 临床敏感性；以及
- (5) 临床专一性(Dean, 1998)。

图 2 显示了心脏标记物出现的多条时间曲线

肌红蛋白不是心脏特异性的，但却是第一个达到高峰期的（图 2）。通常使用免疫测定法对其进行测定。使用单克隆或多克隆抗体或者它们的结合可方便地对其进行测定。血清水平在胸痛发作后的 4-5 小时可达到高峰，但此高峰期很短暂，并且在 10-12 小时后可下降到无法诊断的水平。CK-MB 是包含 AMI 的 ACS 的可靠标记物，它大约在 12 小时达到高峰，然后在胸痛发作后的 20-24 小时迅速下降到无法诊断的水平。

cTn-I 和 cTn-T 都是心脏特异性的。cTn-I 的优点在于，既然 cTn-T 在实验损伤的骨骼肌中可以表达，而 cTn-I 可在再生的骨骼肌中被检测到(Bordet 等人, 1997)。然而 cTn-T 在临床上却非常敏感，并且对 AMI 患者的检测率可达到 64%。当梗塞小的时候，cTn-T 试验能导致大量的假阴性。然而 cTn-T 的优点是，在胸痛发作后的 5-11 小时可提高到相当高的水平。它持续升高，5-8 天恒定不变。

胸痛是患者被送入急诊室最普通的原因了，但是对于 75% 的胸痛患者来讲，他们的痛并非源于心脏。因此，同样重要的是，在 ACS 的检测中建立一个负面预测值，以决定对患者进行安全的早期治疗还是不必住院。

大多数可用的早期标记物都是相关的。因此所面临的假阳性这一困难也就被相关的其它实验如肌红蛋白实验（CK-MB 抗体实验）大大克服。然而目前对于 CK-MB、cTn-I 和 cTn-T 实验，特别是需要短时间和大量专门医师在医院的生化实验室来操作诊断器械，既不方便而且也很昂贵。因此，使用本发明的微型阵列方法来检测大量的早期标记物是很有益的，因为它的可靠性得到了极大的提高。

### 中期和长期的生化标记物

这些标记物在 1.5 - 3 天或者是更晚才达到高峰。它们包括总肌酸激酶 (CK), 心脏肌钙蛋白 I (cTn-I), 天冬氨酸转氨酶 (AST), 乳酸脱氢酶 (LDH), 肌球蛋白轻链 (MLC), 肌球蛋白重链 (MHC), 脂肪酸结合蛋白 (FAB) 和 ABC。象早期标记物一样, 晚期标记物能被用于评估梗塞的大小。多数的中长期标记物对于表现晚且因此不能用短期标记物检测的患者来说是很有价值的。

可用的还有其它血清标记物, 例如脂肪酸结合蛋白, 其对于 AMI 来说是一个重要的早期标记物 (<10h)。

### 实施例 2

#### 诊断设备性能的有效性评估

诊断分析的有效性 (E) 可通过下面的公式得出:

$$E = \frac{TP}{TO} \times 100$$

其中, TP 为真正的阳性, TO 为实验总数量, TO 计算如下:  $TO = TP + FP + FN + TN$ , 其中 FP 为假阳性, FN 为假阴性, TN 为真阴性, E 取值范围:  $0 < E \leq 100$ 。

### 实施例 3

#### 梗塞大小的估计

用 autopsy 确定生化标记物的变化量, 并作为与梗塞大小相关的时间函数。显然, 如果可以用多种方式进行检验, 那么就加强了这些算法的可靠性。

梗塞的体积可作为以下几方面的函数:

- (1) 生化标记物被释放的时间跨度
- (2) 生化标记物的释放率 ( $f(t)$ );
- (3) 患者的体重 ( $B_w$ );
- (4) 所释放的生化标记物与体重的比例 ( $K_w$ );
- (5) 循环中生化标记物的去除比率 ( $E_d$ );
- (6) 梗塞的心肌膜 ( $K_r$ ) 释放的标记物量除以总的生化标记物释放量。

据此，梗塞大小（ $I_s$ ）用下面的公式确定：

$$I_s = \frac{\int_0^t f(t) dt \times Bw \times Kw}{Ed \times Kr}$$

#### 实施例 4

##### 对导致或与心肌炎相关的因素的评估

统计分析表明，心血管疾病的发病率与某些传染性因素相关。某些微生物包括细菌（例如卟啉单胞菌属和衣原体），某种细菌（例如幽门螺杆菌，可能是最广泛的治病因素），和某种病毒（柯萨奇病毒和细胞巨化病毒）有促使发生包括 ACS（如 AMI）在内的心血管疾病的倾向的作用。这些因素可通过炎性的单核细胞实现它们对心血管系统的作用。

这些微生物和病毒的存在，可通过针对病原体表面上特异性表位的抗体来检测。

#### 实施例 5

##### 生化标记物装置的本质

本发明提供了一种能够从体液样品中同时测定大量抗原的装置。用于 ACS（包括 AMI）的生化标记组合物提供了一种准确无误的诊断。

实验是在一个少量（10 - 100 微升）的血清上实施的，因而测量能在短时期内实施几次，并将误差减小到最低，从而提供了一种可靠的对 ACS 的诊断。

本发明也可用来化验其它的含有病原体（如卟啉单胞菌和其它微生物）的体液（如唾液），因此，为潜在炎症反应的来源提供了证据。

由于 ACS 和充血性心肌衰竭（CCF）（包括扩张的心肌症（DCM））的遗传性易感的模式是已知的，因此本测试可修改为，测试源于患者白细胞 DNA 的 mRNA 和 cDNA 标记物，以评估它们对心血管疾病的遗传性倾向。

#### 实施例 6

##### 以吸附或连接形成抗体在固体支持物上的阵列

用作标记蛋白（例如，从心脏组织中获得的蛋白）的特异性抗体，

被截留在或固定在固体表面。蛋白抗体的固定也可通过静电力或者是通过附着在固体支持物经活化的检测点上的链霉抗生物素蛋白的协助而实现，生物素化的抗体由此能附着在该固体支持物上。用于形成捕获点的抗体的量很小，大约 10 pL-100 纳升。它们在保护性化学分子如阿拉伯糖和低分子量（3000-5000 Da）的聚乙二醇的存在下干燥。特异于心脏标记物的抗体微阵列被作成了平面，通过使用每个抗体的微小（10 pL-10 nL）检测点采用了高精度的施料器将其固定在固体支持物的可寻址位点上，所述施料器如 Biodot 3000 (Cartesian Technologies, Irvine, CA, USA)。抗体被吸附到尼龙或硝基纤维素表面，或者是使用设定的程序共价联接到诸如 Immobilon P (Millipore Corporation) 的膜上。固体支持物通常浸入或另外与封闭剂连接，其中的封闭剂例如但不限于脱脂奶粉，爱尔兰藓类提取物，或者其它来源的角叉胶或明胶。

下面有几种用于检测血浆样品中抗原的方法，其中所述抗原已结合到抗体阵列上（图 1）：

(i) 血浆和 N-羧基琥珀酰亚胺生物素或 N-乙烷马来酰亚胺生物素反应，其中的两种化学物质分别能共价修饰赖氨酸和半胱氨酸残基。血浆中低分子量的成分包括残留的修饰剂经过分子筛，如 Sephadex G-10 离心脱盐被移去。去除盐分的血浆中的经生物素化的蛋白则被用于抗心脏标记物的抗体阵列中，并在 37℃ 温育 30min，没有结合的蛋白溶液被轻轻倒出，使用磷酸盐缓冲液（PBS）将阵列冲洗几次。可以使用链霉抗生物素蛋白与辣根过氧化物酶（HRP）的结合物，或者链霉抗生物素蛋白与碱性磷酸酶（AP）（图 1b）的结合物，或者经 fluorescein (FITC) 或 Texas Red 修饰的链霉抗生物素蛋白，来检测结合到抗体位点的经生物素化的蛋白。使用 HRP 和 AP 所能做的最敏感的检测包括对酶合成产物的检测，该产物可以化学发光。能由结合的 HRP 或 AP 产生化学发光的底物试剂盒可从 Amersham Pharmacia Biotech (Little Chalfont, UK), Bio-Rad Laboratories (Hercules, USA) and Pierce Chemical Company (Rockford, USA) 获得。在将底物加入到阵列上后，可将潮湿的膜放到 X 射线成像 2-5 分钟，然后显像以显示结合了心脏标记物的抗体位点。使用经

fluorescein (FITC) or Texas Red 修饰的链霉抗生物素能使结合到阵列上的经生物素化的心脏标记物直接可见。使用这三种操作之一可以通过光密度扫描仪（如购自 Molecular Dynamics, Sunnyvale, CA, USA）或者荧光扫描仪（如 STORM, Molecular Dynamics）定量阵列上的检测点的强度，从而能够在血液样品中计算这些蛋白的浓度。

(ii) 另外一种方法是将血浆和一种试剂反应，该试剂能将荧光基团共价连接到样品中所有蛋白的氨基或巯基基团上（图 1e）。可获得的合适的荧光团的作为蛋白标记试剂盒的是 Alexa488 和 CBQCA，它们能在 488nm 光下使用氩光激光激活。使用扫描荧光计或共焦显微镜能确定结合到抗体阵列上的被荧光标记的血浆蛋白的数量。在反应过程中应使用温和的反应条件，从而可使大多数抗原结合位点不受到影响。使用不同数量的荧光团能将不同的心脏标记物标记到不同的程度。在和荧光团反应之前，血浆样品可能据要被透析，并且应当在化学衍生反应（derivatization）之后脱盐。

(iii) 结合到阵列上的未标记的抗原能与可溶性的，经荧光标记的抗体发生反应，由于该抗体能连接到结合了的心脏标记物表面的不同表位上，从而能够定量经结合的抗原（图 1e）。对于一些样品而言，血浆抗原的水平可能超出了某个特定检测点上可结合的抗体的数量。因此，在最初筛选中所感兴趣的阳性抗原的数量可以随后对某一特定抗体进行一系列稀释。当在该阵列上的一个检测点的抗体的数量超过了样品中所使用的抗原的数量，荧光效应不会得到进一步加强。荧光对应抗体水平的图将反应出血浆样品中抗原的水平。通过使用上述操作 (i) 或 (ii) 能测定在此定量的阵列上经结合的抗原的水平在这个量化的芯片上所结合的抗原的水平，或者通过使用标准的荧光标记抗原能测定阵列上空白抗体的数量。

## 实施例 7

### 检测 AMI 的发作

本装置提供了一种关于 AMI 发作的时间指示，甚至不依赖于 AMI 是否被患者感觉到（胸痛发作）或者它是否是一个与诸如负荷实验的实

验相关的沉默型梗塞。以相对较高的频率对患者取样，从而改善生化标记物曲线形状（图 2）。测试的结果可能会增强抗体的价值，该抗体被证明对任何特殊患者都是最敏感的。早期标记物检验的结果为确定 AML 的发作提供了一个较好的基础。如果患者受测得晚（胸痛发作后 >24 个小时），那么就可在阵列中使用后期标记物来确定发作的时间。

### 实施例 9

#### 检测梗塞的大小

心脏肌球蛋白重链（cMHC）在延长一段时间后被释放出来，并且在 AMI 后的大约两天内未出现在血清中。它被认为是估计梗塞大小的一个可靠的标记物（Mair 等人，1994）。当心脏肌钙蛋白-T（cTn-T）具有一个晚的高峰期时，血清浓度和基于为测定梗塞大小的放射核苷酸成像方法的估计值是非常相关的。心脏肌球蛋白轻链（MLC）的水平也与梗塞大小相关（Omura 等人，1995）。

### 实施例 10

#### 对急性冠状综合症后心肌再灌注的检测

当患者确实表现为急性冠状综合症如 AMI 时，那么最常规的治疗目的就是重新打开闭塞的冠状动脉。该治疗目的的实施通常是使用溶解血栓的试剂如 TPA 或者是通过机械手段，如带有或不带有固定模的气囊血管成形术。这些治疗方法的目的是达到对受损心肌膜的再灌注。然而根据再灌注的时间和心肌膜成功获救的程度，通常很难判断再灌注是否成功。目前用于判断再灌注的临床设备是不敏感而且是非特异性的。它们包括如下的临床症状：如胸痛的消失，ECG 特征，如 ST 波的下降。血清标记物有时是很有用的，但通常仅用于验证。

因此，在目前的临床实践中，再灌注是不容易被诊断的，但却很有益处。当再灌注成功后，通常有一个“冲洗”阶段，在此阶段中，心脏受损的传统标记物如 CK-MB 和肌钙蛋白的水平在很短时间内将会有很大的提高。这可能是由于标记物的释放模式，和/或在释放阶段中一个标记物和另外一个标记物之间的比例能够给出再灌注时间和程度的相关数据。这是所提及方法的另一种可能的应用。

### 实施例 11

#### 检测与心肌炎相关的病原体的存在

感染可能是动脉粥样硬化形成的辅助因素。通过使用现有的免疫学方法可检测到某些感染因子，如微生物（衣原体、牙龈卟啉单胞菌、幽门螺杆菌），和某些病毒（巨细胞病毒、柯萨奇病毒）的存在，该免疫学方法可适用于心脏微阵列装置。

### 实施例 12

#### 冠状危险因素的判断

使用不同的血清标记物能估计出患动脉粥样硬化的危险。下面是一个关于潜在的载脂蛋白、脂蛋白、酶、受体和转运蛋白的列表，使用基于微阵列的抗体可对它们进行监控。

血浆脂蛋白以其密度、浮选率、平均直径和电泳迁移率为区别特征。血浆脂蛋白的主要类别包括：乳糜微粒、VLDL（ $\beta$ -脂蛋白前体）、LDL（ $\beta$ -脂蛋白）和 HDL。这些以脂蛋白为特征的脱辅基蛋白质组合物列于表 1 中。

表 1

脱辅基蛋白	MW (Da)	乳糜微粒	VLDL	LDL	HDL
		(总蛋白的%)			
ApoA-I	28,300	微量	微量	微量	66
ApoA-II	17,000	微量	微量	微量	20
ApoB <sub>100</sub>	512,000	5-20	37	97	-
ApoC-I	6,631	15	7	微量	3
ApoC-II	8,851	15	7	微量	微量
ApoC-III	8,864	40-50	40	2	4
ApoD	-	-	-	-	5
ApoB	~ 34,000	4	13	1	1

载脂蛋白通过和磷脂的相互作用帮助溶解胆固醇酯和甘油三酸酯。脱辅基蛋白质通过磷脂的脂肪酰基链和脱辅基蛋白质的非极性区域的疏

水性相互作用，以及较小程度地通过磷脂带电荷的头部和脱辅基蛋白质带相反电荷区域的离子间相互作用而大量结合到油脂上。

载脂蛋白 A (ApoA-I 和 ApoA-II) 是 HDL 的主要成分。它能再分成 ApoA-I (MW 28,300 Da) 和 ApoA-II (MW 17,000 Da)。

载脂蛋白 B (ApoB) 是非同源的。ApoB<sub>100</sub> 被发现主要存在于乳糜微、VLDL 和 LDL 中。ApoB<sub>48</sub> 代表了 ApoB<sub>100</sub> 氨基末端的一半，且不是 LDL 的受体的配体。

载脂蛋白 C (ApoC) 至少包含 3 个组分，它们作为 VLDL 的主要组分和 HDL 的次要组分出现。ApoC-I 的分子量为 6,631 Da, ApoC-II 的分子量为 8,837 Da, ApoC-III 的分子量是 8,767 Da。根据 ApoC-III 蛋白是否在它的糖基部分有 0、1 或 2 个唾液酸残基，其又有三种异构体。

载脂蛋白 D (ApoD) 是 HDL 的一个次要组分，通常来讲，其未被认为是有用的血浆标记物。

载脂蛋白 E (ApoE) 在 VLDL、LDL (在 VLDL 转变成 LDL 过程中形成的微粒) 和 HDL 中被发现。这个蛋白是非同源的，其分子量为 34000 Da。其含有包括 ApoE2 的几种亚型。

因此，下面的针对载脂蛋白的抗体可被用于监控乳糜微粒、VLDL、LDL 和 HDL (见 Alaupovic 等人, 1971):

ApoA-I (用于 HDL) 获自 Research Diagnostics Inc. (RDI-PR06182);  
ApoB<sub>100</sub> (用于 LDL) 获自 Research Diagnostics Inc (RI-PR0610800 和 RDI-OXLDLabm 用于氧化形式的 LDL);

ApoC-I (用于乳糜微粒和较少程度的 VLDL 和 HDL);

ApoC-II (用于乳糜微粒和较少程度的 VLDL);

ApoC-III (用于乳糜微粒和 VLDL 和较少程度的 LDL 和 HDL);

ApoD 获自 Research Diagnostics Inc. (RDI-AP0Dabm) 和

ApoE (用于 VLDL 和较少程度的乳糜微粒) 获自 Research Diagnostics Inc. (RDI-PR061085/61086 and RDI-AP0EabGX),  
ApoE2 用于识别 ApoE2 (RDI-AP061088)。

使用“三明治”试验可检测载脂蛋白。有两种形式的实验可被实施:

(i) 基于抗体的捕获实验；此为三明治实验，其中使用特异性的多克隆抗体或单克隆抗体捕获载脂蛋白抗原，然后使用结合到监测器/记录器 (detector/reporter) 部分 (如辣根过氧化物酶 (HRP)) 上的第二抗体对所捕获的抗原进行检测，接下来就会显现出颜色反应。

(ii) 基于受体的捕获实验；在此，载脂蛋白被特异性的受体蛋白所捕获，然后使用结合到报告分子 (如 HRP 上的二级抗体) 对其进行特异性识别，并如上所述对其进行检测。

基于抗体的捕获试验也可使用经固定的抗体，其在覆盖有硝酸纤维素膜的玻璃显微镜载物片上或者其它固体表面上，以如下方式实施：

(1) 纯化的抗体稀释于 PBS 中 (pH 值为 7.2 的 0.1 M 磷酸钠缓冲液, 0.137 M 氯化钠) 或未经稀释, 置于硝酸纤维素膜上, 用 BioDot arrayer 形成矩形阵列, 于 4℃ 下过夜;

(2) 用 PBS 洗 3 次以去除过量的抗体, 并且位点可干燥;

(3) 取少量经适当稀释的血浆 (~0.1ml 稀释到 1:100 或者某一标准) 加入到阵列中, 并于 37℃ 下温育 1-2 小时;

(4) 然后用 PBS 洗涤抗体阵列, 并使其变干;

(5) 加入第二多克隆抗体 (优选的, 是针对结合到生物素过氧化物酶上的载脂蛋白, 在含有 1% 牛血清白蛋白 (BSA) 的 PBS 中稀释到 1:15,000)

(6) 37℃ 温育 2h;

(7) 洗涤;

(8) 将底物 (pH 值为 5.5 的溶有 3g 邻-亚苯二胺二羟基氯化物的磷酸盐缓冲的柠檬酸盐, 其中包含 3.5mM 过氧化氢) 和阵列一起温育 30min (在黑暗中)

(9) 用 0.1M HCl 终止反应; 和

(10) 读取 OD<sub>492nm</sub> 值, 并将血浆样品与一个去除载脂蛋白的样品做比较。通常, 经异丙醇沉淀的 ApoB 被用作标准的脂蛋白。

基于受体的捕获试验也以与上面同样的步骤实施, 其中除了步骤 (1) 中的抗体被重组的受体蛋白所替换, 步骤 (5) 中的第二抗体被针对特定

的载脂蛋白的第一抗体所替换。

如同载脂蛋白与乳糜微粒、HDLs、VLDL 和 LDL 相关，在血浆中有一系列相关的酶（如脂蛋白脂肪酶（LPL）、肝脂肪酶（HPL）和卵磷脂胆固醇酰基转移酶（LCAT, 60 kDa））可通过使用特异性抗体被检测到。

### 实施例 13

#### 循环中的其它“危险因子”蛋白

在被认为处于心脏失常危险的患者的血清中，下述蛋白可检测到显著改变的量（参见 a1 Audelmottalab 等人，1999）：

- (i) 糖基化血红蛋白（Hb1c）；
- (ii) 胰岛素；
- (iii) 血纤蛋白原；
- (iv) 因子 VII；
- (v) 可溶性 ICAM-1；和
- (vi) C-反应蛋白（C 蛋白）。

使用上述的基于抗体的捕获试验可监控到这些蛋白。

### 实施例 14

#### 阵列的制备

所述阵列可包括所有已知的急性心肌梗塞的生化标记物，以及已知的与冠心病相关的因子。所述阵列可包含共价连接到膜上的单克隆抗体，该膜作为在平面基质中的多倍检测点。

由于使用了很小滴的抗体溶液（如 10 纳升），这些检测点的大小非常微小，与相邻的点分隔良好（100 微米）。

本领域技术人员在应用时，可以将本发明做适当的变异和修改，而不仅局限于本说明书所描述的那样。也可理解为本发明包括了所有的变异和修改形式。本发明也包括说明书中所指的或暗示的所有步骤、特征、组合物和组分，其个别的或组合的，以及任何两个或多个所述步骤或特征的所有组合。

---

参考书目:

Abdelmottaleb et al., Am. Heart J. 137 : 346-51,1999

Alupovic, Atherosclerosis 13: 141, 1971

Border et al., Clin. Chem. 43: 476-484, 1997

Dean, Cardiac Troponin-T as a marker of myocardial injury. In Cardiac Markers (ed AHB Wu) Humana Press, Totowa New Jersey) pp 205-227, 1998

Heid et al., 1996, Genome Res. 6: 986-994

Herzberg and Meyer, M. W., Ann. Periodontal. 3: 151-60, 1998

Mayr et al. Circulation 99: 1560-6, 1999

Omura et al., Int. Jpn. Circ. J. 59: 154-9, 1995

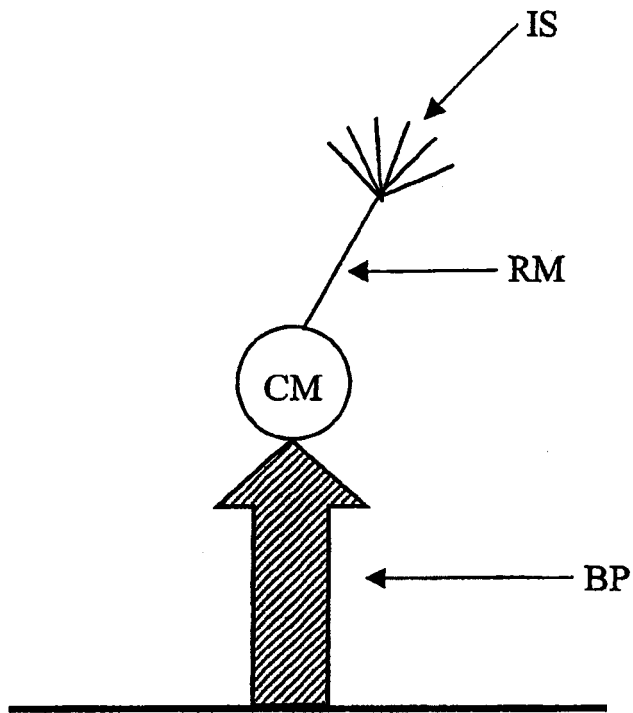


图1a

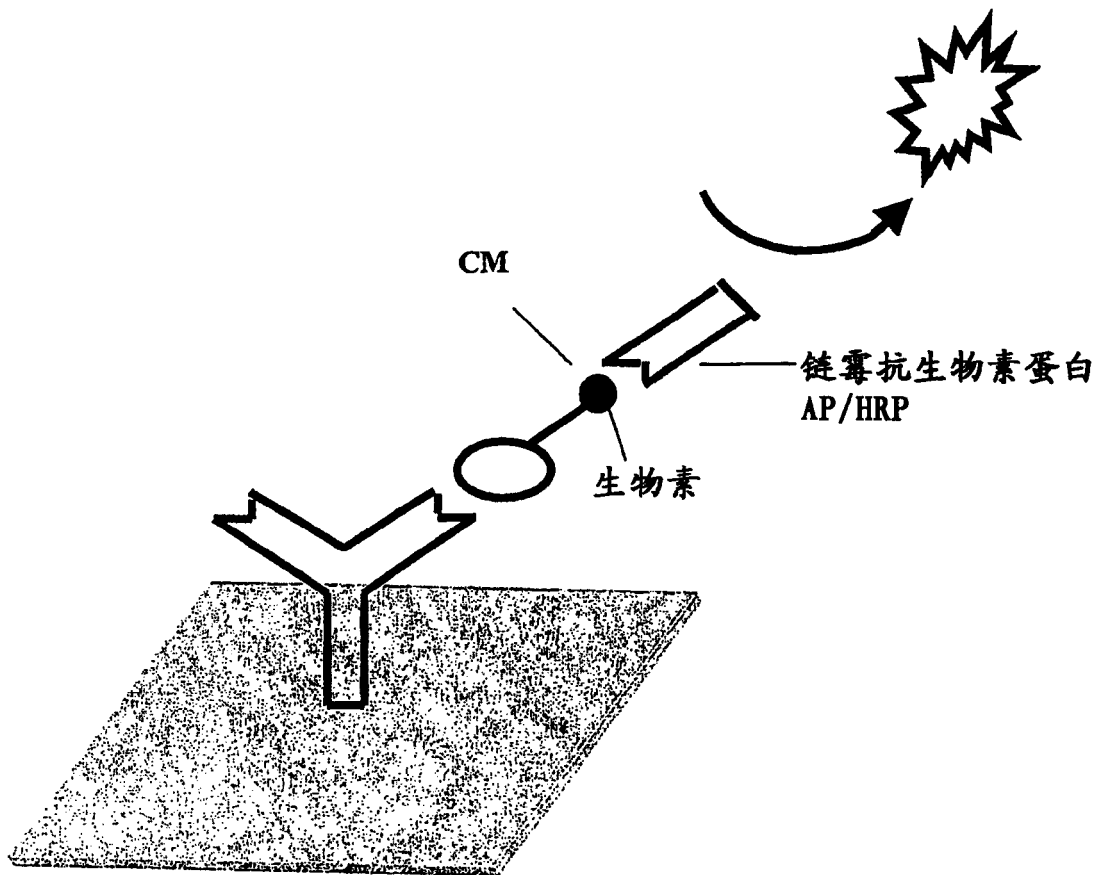


图1b

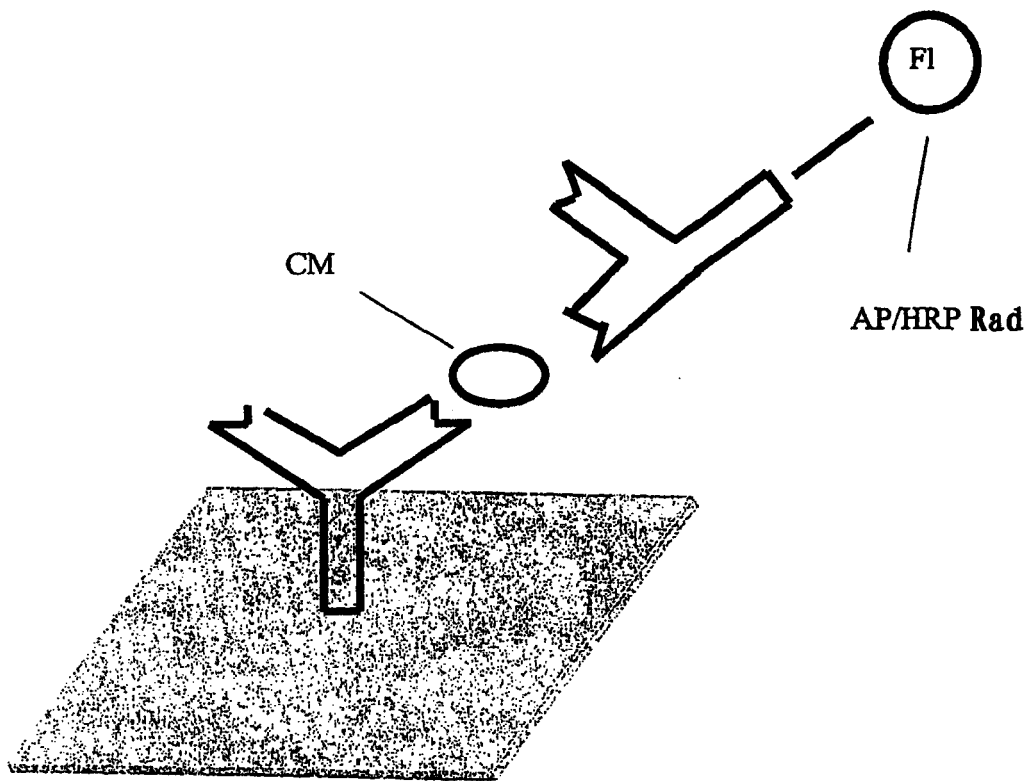


图 1c

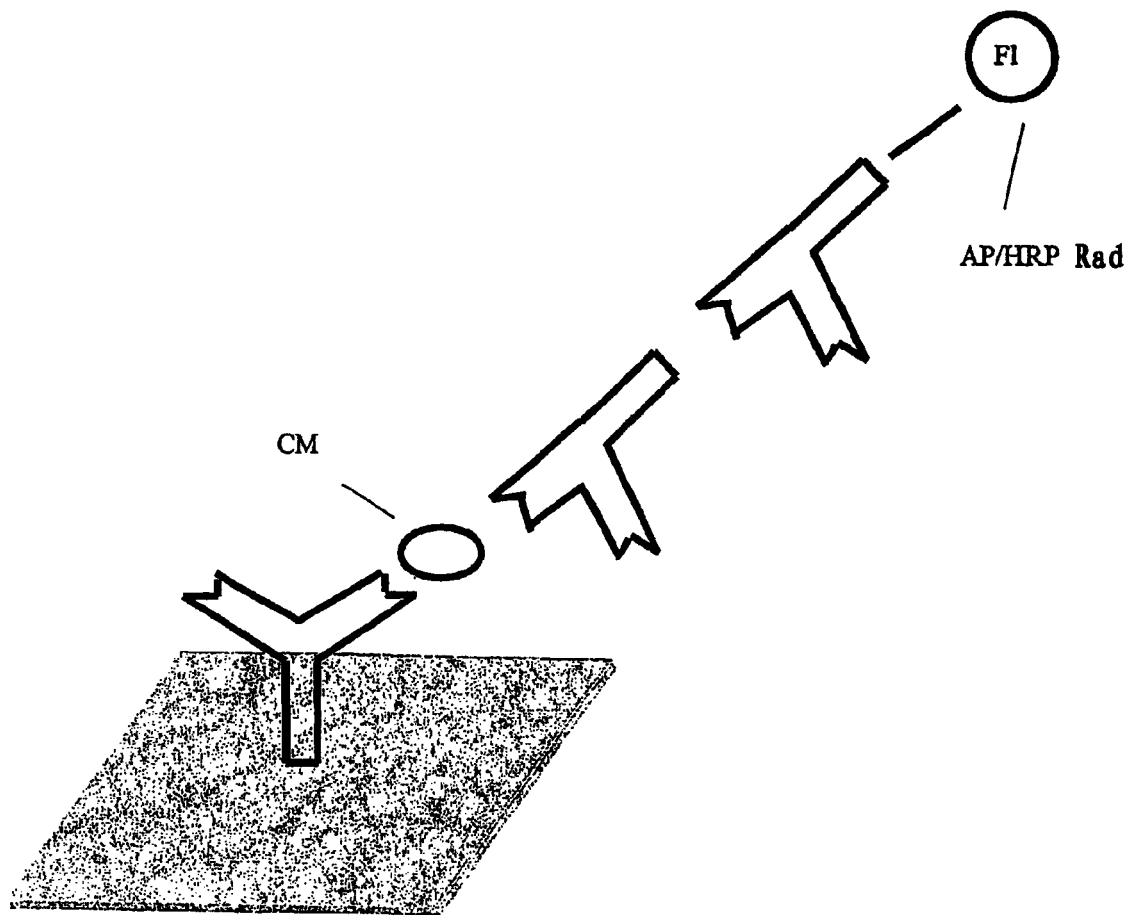


图1d

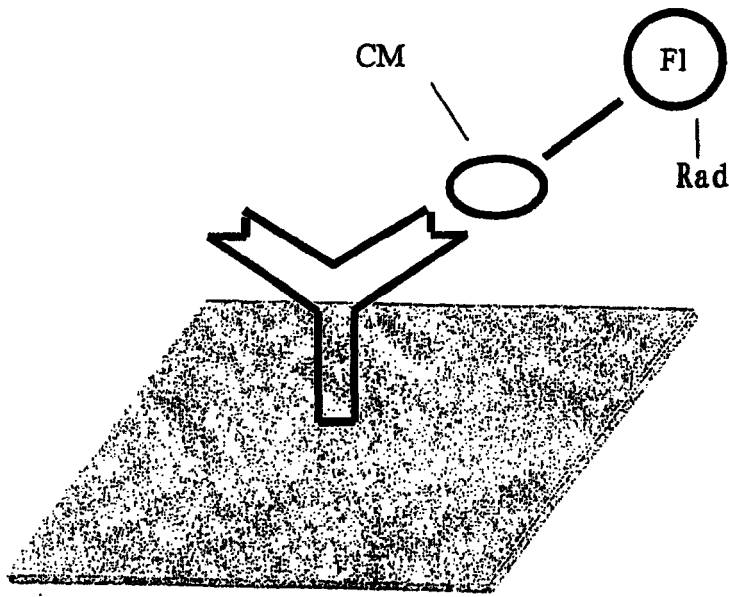


图 1e

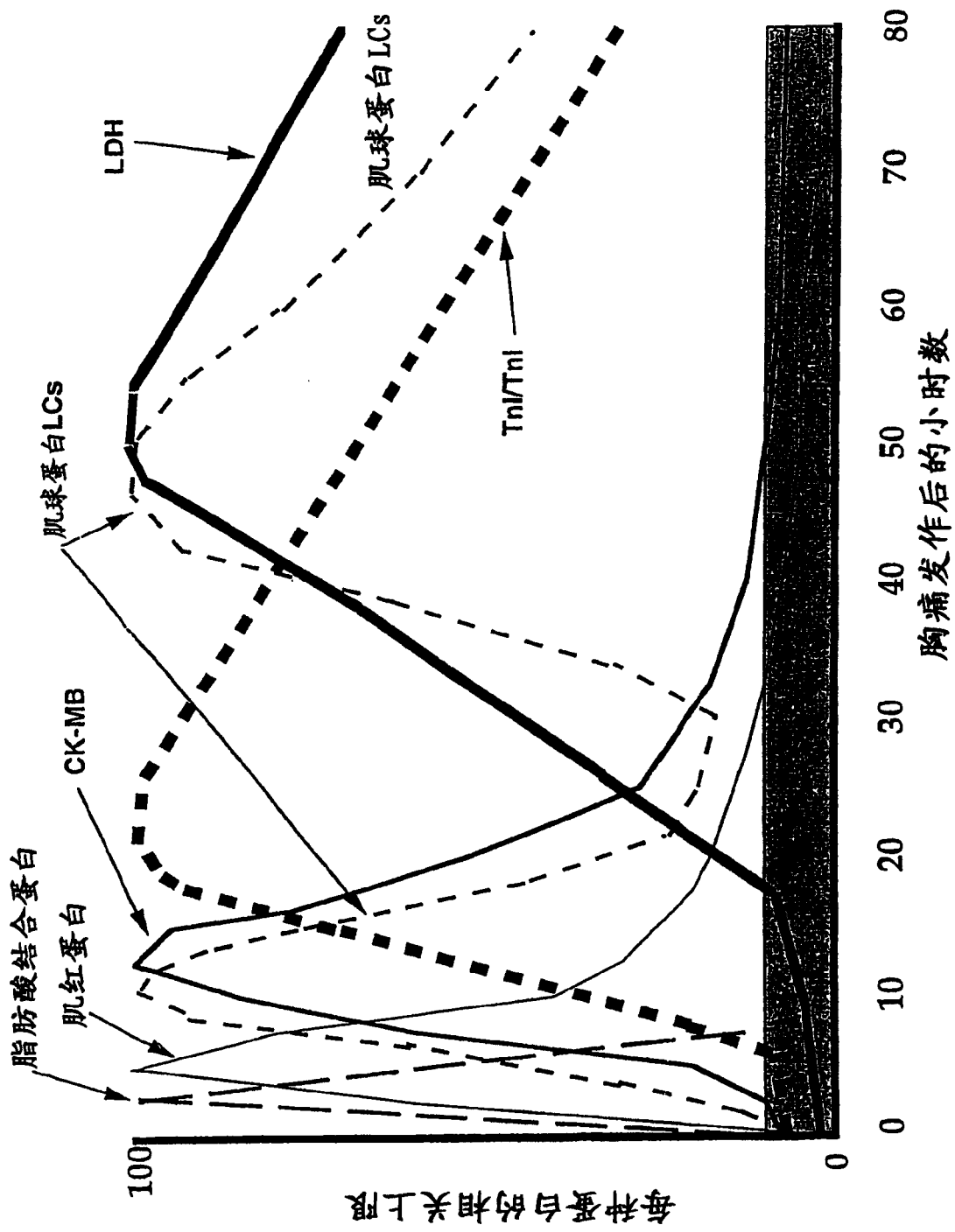


图2

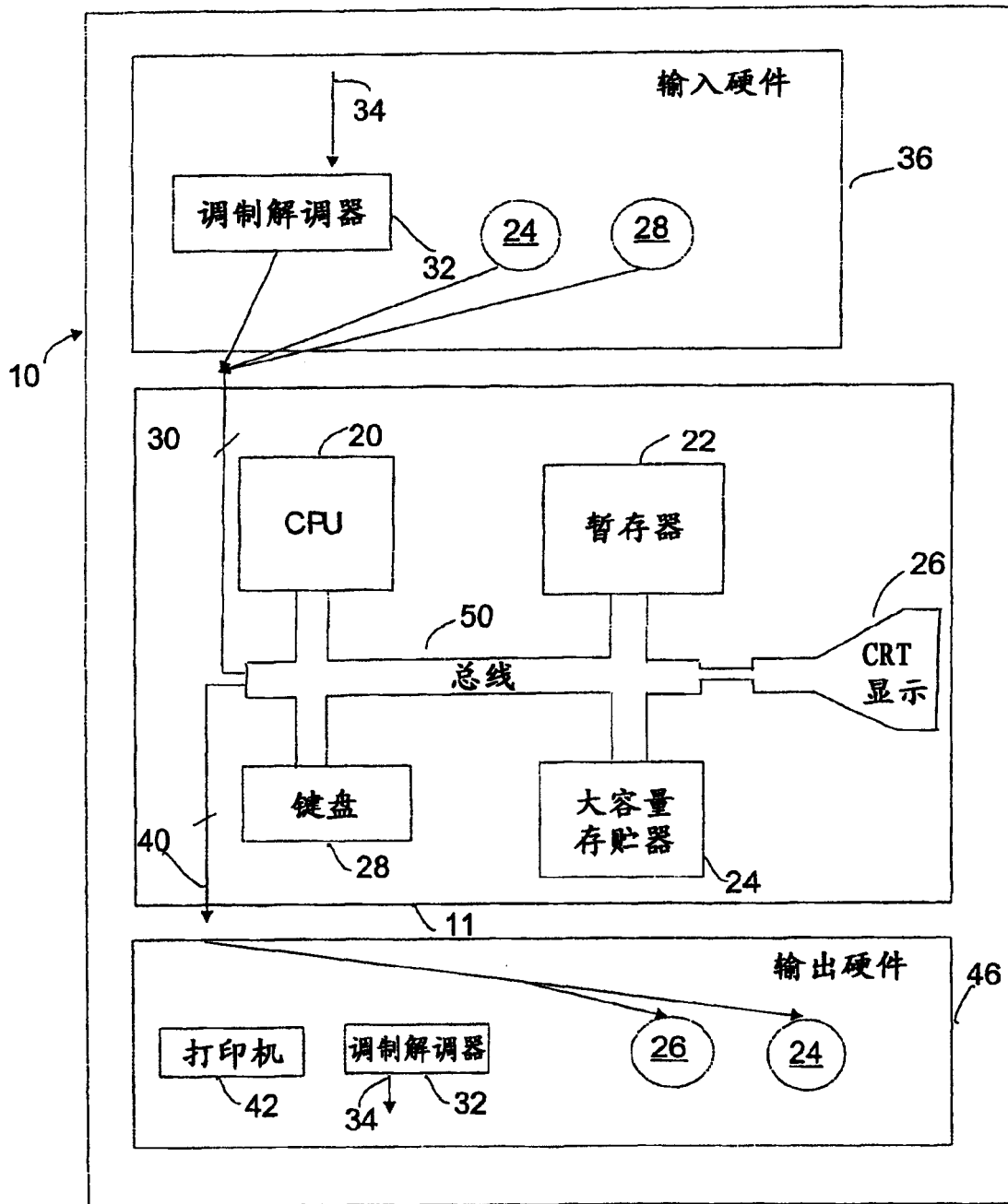


图 3

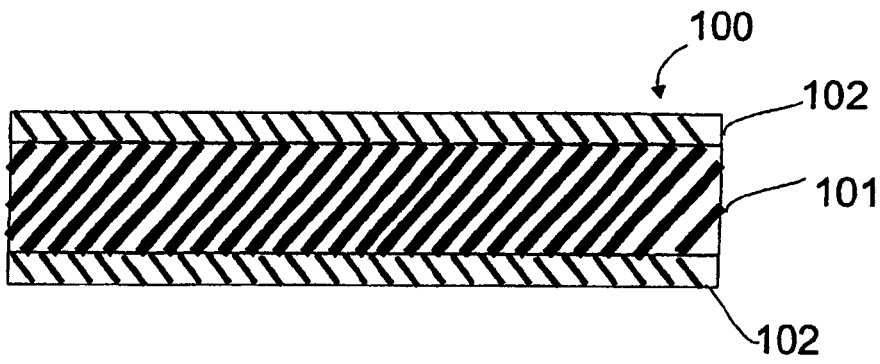


图 4

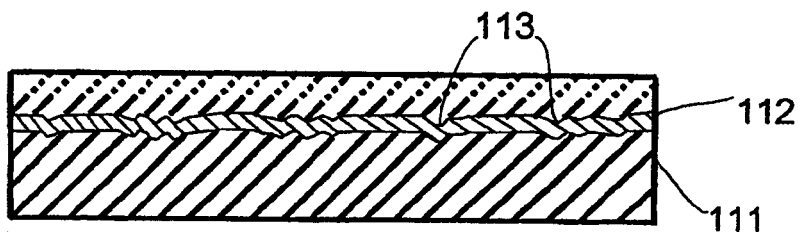


图 5

专利名称(译)	诊断分析		
公开(公告)号	<a href="#">CN1559005A</a>	公开(公告)日	2004-12-29
申请号	CN01823732.0	申请日	2001-09-12
[标]申请(专利权)人(译)	澳大利亚悉尼大学		
申请(专利权)人(译)	澳大利亚悉尼大学		
当前申请(专利权)人(译)	澳大利亚悉尼大学		
[标]发明人	RI克里斯托弗尔森 CG多斯勒密迪奥斯 DS赛勒玛伊尔		
发明人	R·I·克里斯托弗尔森 C·G·多斯勒密迪奥斯 D·S·赛勒玛伊尔		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 G01N33/569 G01N33/68 G01N37/00 G06F19/00		
CPC分类号	G01N2800/324 G01N33/6893 Y02A90/24		
优先权	2000PR0056 2000-09-12 AU		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种诊断设备，包括用于预后性症状分析的参数，这些参数可以指示与全身性血管系统相关的病症或事件。更特别的是，本发明提供一种分析方法检测与血管疾病相关的参数，这些疾病包括：心血管的、中风、肺部的、肾血管的、脑血管的、血栓性、或者全身性动脉或静脉的病症或事件，还包括急性冠状综合症，例如但不局限于急性心肌梗塞、心力衰竭、动脉粥样化和血栓症。对这些参数甚或它们一种参数模式的确认，有助于诊断与全身性血管系统病症或事件有关的病症或事件，或者确定发生与全身性血管系统病症或事件有关的病症或事件的可能性。更特别的是，本发明提供的诊断设备包括了一套组分，其中的一个或多个所述组分具有特定或者非特定的与生物样品(该生物样品取自动物，包括人)的结合配偶体，与结合配偶体连接组分的模式指示或预测全身性血管系统的病症或事件，或者发生与全身性血管系统病症或事件有关的病症或事件的可能性。特定或者非特定结合配偶体检测的缺失也具有指示或者预测价值。当患者自己不能与医生交流病情时，例如手术过程中或者患者处于昏迷状态时，这些就变得非常重要。并且这些在确定患血管疾病的风险性时也很有价值，血管疾病包括心血管的、中风、肺部的、肾血管的、脑血管的、血栓性、或者全身性动脉或静脉的病症或事件，还包括健康受试者的状况或者即将面临手术、化学治疗等危险的患者状况。本发明还可用于全身性血管系统的病症或事件的生化标记的定性定量，包括心脏病、心率不齐、心脏感染、中风、血栓症，以及确定患这些病征的可能性，当然也包括不患病或者不具有患病的可能性。对这些因素的评估可应用于临床，作为治疗类选法的一部分，作为例行体检方案的一部分或者作为实验过程的一部分。

$$I_s = \frac{\int_0^1 f(t) dt \times B_w \times K_w}{E_d \times K_r}$$