



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103154027 A

(43) 申请公布日 2013. 06. 12

(21) 申请号 201180028646. 5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2011. 04. 08

C07K 16/18 (2006. 01)

(30) 优先权数据

C07K 16/46 (2006. 01)

61/322, 578 2010. 04. 09 US

G01N 33/53 (2006. 01)

61/345, 837 2010. 05. 18 US

C12N 5/12 (2006. 01)

G01N 33/15 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 12. 10

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2011/031801 2011. 04. 08

(87) PCT申请的公布数据

W02011/127412 EN 2011. 10. 13

(83) 生物保藏信息

PTA-10431 2009. 10. 20

PTA-10432 2009. 10. 20

(71) 申请人 重症监护诊断股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J. V. 斯奈德

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 闵丹

权利要求书3页 说明书34页

序列表6页 附图11页

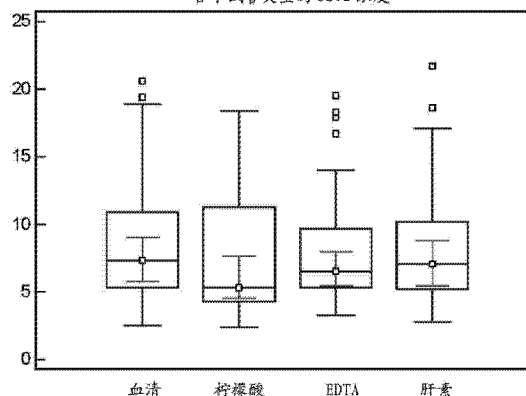
(54) 发明名称

可溶性人 ST-2 抗体和分析法

(57) 摘要

本文中提供了结合于人可溶性生长激活 - 表达基因 2 (ST2) 蛋白的抗体或抗原结合抗体片段, 含有这些抗体和抗体片段的试剂盒, 和使用这些抗体和抗体片段的方法。

各个试管类型的 sST2 浓度



1. 一种分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其片段由保藏于美国典型培养物保藏中心(ATTC)并赋予专利保藏号PTA-10431或PTA-10432的杂交瘤产生。

2. 权利要求1的抗体或片段,其中所述抗体或其片段是嵌合的。

3. 权利要求1的抗体或片段,其中所述抗体或其片段是人源化的。

4. 前述任一项权利要求的抗体或片段,其中所述片段选自下组:Fab片段,F(ab')₂片段和scFv片段。

5. 前述任一项权利要求的抗体或片段,其中所述抗体或其片段经糖基化。

6. 前述任一项权利要求的抗体或片段,其中所述抗体或其片段包含由保藏于美国典型培养物保藏中心(ATTC)并赋予专利保藏号PTA-10431或PTA-10432的杂交瘤产生的抗体的轻链或重链的一个或多个互补决定区。

7. 前述任一项权利要求的抗体或片段,其中所述抗体是由保藏于ATTC并赋予专利保藏号PTA-10431的杂交瘤产生的抗体,或是由保藏于ATTC并赋予专利保藏号PTA-10431的杂交瘤产生的抗体的抗原结合片段。

8. 权利要求1-6任一项的抗体或片段,其中所述抗体是由保藏于ATTC并赋予专利保藏号PTA-10432的杂交瘤产生的抗体,或是由保藏于ATTC并赋予专利保藏号PTA-10432的杂交瘤产生的抗体的抗原结合片段。

9. 一种杂交瘤,其选自下组:保藏于美国典型培养物保藏中心(ATCC)并赋予专利保藏号PTA-10431的杂交瘤和保藏于ATCC并赋予专利保藏号PTA-10432的杂交瘤。

10. 一种对来自受试者的样品中的人可溶性ST2的水平进行定量的方法,所述方法包括:

将样品与至少一种如权利要求1-8所述的抗体或其片段相接触;和
检测所述抗体或其片段对人可溶性ST2的结合。

11. 权利要求10的方法,其中所述方法包括使用至少两种不同的权利要求1-8的抗体或其片段。

12. 一种预测受试者一年内死亡风险的方法,所述方法包括:

从受试者获得样品;和

使用至少一种如权利要求1-8所述的抗体或其片段确定样品中的人可溶性ST2的水平;

其中与人可溶性ST2的参照水平相比,样品中人可溶性ST2的升高水平表明所述受试者在一年内具有增加的死亡风险,而与人可溶性ST2的参照水平相比,样品中人可溶性ST2的减少或相同水平表明所述受试者在一年内具有减少的死亡风险。

13. 一种确定是否让住院的受试者出院或起始或继续治疗的方法,所述方法包括:

从受试者获得样品;和

使用至少一种如权利要求1-8所述的抗体或抗体片段确定样品中的人可溶性ST2的水平;

其中与人可溶性ST2的参照水平相比,样品中人可溶性ST2的升高水平表明应起始或继续所述受试者的住院治疗,而与人可溶性ST2的参照水平相比,样品中降低或相同水平的人可溶性ST2表明应让所述受试者出院。

14. 一种用于选择参与临床研究的受试者的方法,所述方法包括:

从受试者获得样品；

使用至少一种如权利要求 1-8 所述的抗体或抗体片段确定样品中的人可溶性 ST2 的水平；和

该受试者的人可溶性 ST2 水平相对于人可溶性 ST2 的参照水平表明应选择该受试者参与临床研究时，选择所述受试者参与临床研究。

15. 权利要求 14 的方法，其中人可溶性 ST2 的升高水平的存在表明应选择该受试者参与临床研究。

16. 权利要求 10-15 任一项的方法，其中所述受试者是未经诊断的或是未呈现疾病的两种或更多种症状

17. 权利要求 10-15 的方法，其中所述受试者诊断为患有疾病。

18. 权利要求 17 的方法，其中所述疾病选自下组：心衰，冠状动脉病，心血管疾病，急性冠状动脉综合征，肾功能不全，和中风。

19. 权利要求 10-15 的方法，其中所述受试者鉴定为具有发生疾病的风险。

20. 权利要求 10-19 任一项的方法，其中所述受试者患有下述一种或多种：高甘油三酯血症，高胆固醇血症，高血压，和 ≥ 30 的体重指数。

21. 权利要求 12-20 任一项的方法，其中所述确定使用至少两种如权利要求 1-8 所述的抗体或其片段进行。

22. 权利要求 12-21 任一项的方法，其中所述人可溶性 ST2 的参照水平是人可溶性 ST2 的阈值水平。

23. 权利要求 22 的方法，其中所述人可溶性 ST2 的阈值水平是健康患者群体中人可溶性 ST2 的平均水平。

24. 权利要求 23 的方法，其中所述健康患者群体是健康男性患者群体。

25. 权利要求 23 的方法，其中所述健康患者群体是健康女性患者群体。

26. 权利要求 12-21 任一项的方法，其中所述参照水平是不呈现疾病的两种或更多种症状的受试者的样品中存在的人可溶性 ST2 的水平。

27. 权利要求 12-21 任一项的方法，其中所述参照水平是未诊断为患有疾病的受试者的样品中存在的人可溶性 ST2 的水平。

28. 权利要求 27 的方法，其中所述疾病选自下组：心衰，冠状动脉病，心血管疾病，急性冠状动脉综合征，肾功能不全，和中风。

29. 权利要求 10-28 任一项的方法，其中所述样品包含血、血清或血浆。

30. 权利要求 12 的方法，其中所述受试者具有至少一种或多种下述症状：胸痛或不适，呼吸急促，恶心，呕吐，暖气，流汗，心悸，头晕，疲劳和昏厥。

31. 试剂盒，其包含至少一种如权利要求 1-8 所述的抗体或抗原结合片段。

32. 权利要求 31 的试剂盒，其中所述试剂盒含有两种抗体或其抗原结合片段。

33. 权利要求 31 或 32 的试剂盒，其中至少一种抗体或片段具有的结合于人可溶性 ST2 的 K_D 等于或小于 $8.59 \times 10^{-10} M$ 。

34. 权利要求 31-33 任一项的试剂盒，其中所述试剂盒作为酶联免疫吸附分析来提供。

35. 权利要求 31-34 任一项的试剂盒，进一步包含从人细胞分离的重组人可溶性 ST2。

36. 权利要求 35 的试剂盒,其中所述人细胞是人胚胎肾细胞。

可溶性人 ST-2 抗体和分析法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 该申请要求 2010 年 4 月 9 日提交的美国临时申请 61/322,578 和 2010 年 5 月 18 日提交的美国临时申请 61/345,837 的优先权,这两份临时申请各自的内容通过引用全部并入本文。

技术领域

[0003] 本文描述的是能够结合人可溶性生长刺激表达基因 2(ST2) 蛋白的抗体和抗体的抗原结合片段、含有所述抗体和抗体片段的试剂盒,以及使用这些抗体和抗体片段进行的分析检验。

[0004] 背景

[0005] ST2 是有跨膜 (ST2L) 和可溶性 (sST2 或可溶性 ST2) 两种亚型的白介素-1 受体家族成员 (Iwahana et al., Eur. J. Biochem. 264:397-406, 1999)。近年发表的文章描述了目前对 ST2 与炎症性疾病关系的了解 (Arend et al., Immunol. Rev. 223:20-38, 2008; Kakkar et al., Nat. Rev. Drug Discov. 7:827-840, 2008; Hayakawa et al., J. Biol. Chem. 282:26369-26380, 2007; Trajkovic et al., Cytokine Growth Factor Rev. 15:87-95, 2004)。人可溶性 ST2 的循环浓度在患有与异常 2 型辅助 T 细胞 (Th2) 应答相关的多种疾病 (包括系统性红斑狼疮和哮喘) 的患者中以及基本独立于 Th2 应答的炎症状况 (比如感染性休克或外伤) 中出现升高 (Trajkovic et al., Cytokine Growth Factor Rev. 15:87-95, 2004; Brunner et al., Intensive Care Med. 30:1468-1473, 2004)。而且,白介素 33/ST2L 信号传导代表了机械超荷情况时的一种关键心肌保护机制 (Seki et al., Circulation Heart Fail. 2:684-691, 2009; Kakkar et al., Nat. Rev. Drug Discov. 7:827-40, 2008; Sanada et al., J. Clin. Invest. 117:1538-1549, 2007)。人可溶性 ST2 的升高还预示了心衰 (HF) 和心肌梗塞患者的更差预后 (Kakkar et al., Nat. Rev. Drug Discov. 7:827-40, 2008; Weinberg et al., Circulation 107:721-726, 2003; Shimp et al., Circulation 109:2186-2190, 2004; Januzzi et al., J. Am. Coll. Cardiol. 50:607-613, 2007; Mueller et al., Clin. Chem. 54:752-756, 2008; Rehman et al., J. Am. Coll. Cardiol. 52:1458-65, 2008; Sabatine et al., Circulation 117:1936-1944, 2008)。人可溶性 ST2 水平升高还预示了个体在一年内发生死亡 (参见例如 W007/127749)。总之,人可溶性 ST2 被认为与某些炎症性疾病和心肌保护旁分泌系统有关,并且是心衰患者预后和受试者在一年内死亡的预测指标。

[0006] 概述

[0007] 本发明至少部分基于人可溶性 ST2 蛋白特异性新抗体的开发。这些抗体及其抗原结合片段可以用于例如对生物样品 (例如临床样品) 中的人可溶性 ST2 蛋白进行定量、预测受试者一年内死亡的风险、确定是否允许受试者出院或者开始或继续治疗 (例如,住院治疗),以及选择参与临床研究的受试者。文中提供了这些抗体及其抗原结合片段、含有这些抗体和抗体片段的试剂盒,以及各种使用这些抗体和抗体片段的方法。

[0008] 本文提供了分离的抗体及其抗原结合片段,所述抗体及其抗原结合片段是由杂交瘤产生的抗体或者与所述杂交瘤产生的抗体竞争结合,所述杂交瘤保藏在 American Type Culture Collection (ATTC) 并被指定为专利保藏命名 (Patent Deposit Designation) PTA-10431 和 PTA 10432。在一些实施方案中,抗体或其片段不与 D066-3 或 D067-3 抗体 (MBL International) 之一或者两者竞争结合 (美国专利 7,087,396 中有描述),或者与人可溶性 ST2 结合的 K_D 等于或者小于 $1.51 \times 10^{-9} \text{M}$ 。在一些实施方案中,抗体或其片段与人可溶性 ST2 结合的 K_D 等于或者小于 $8.59 \times 10^{-10} \text{M}$ 。在一些实施方案中,抗体或其片段是嵌合的或者人源化的。在一些实施方案中,片段选自: Fab 片段、 $F(ab')_2$ 片段和 scFv 片段。在一些实施方案中,抗体或其片段是糖基化的。在一些实施方案中,抗体或其片段含有杂交瘤产生的抗体的轻链或重链的一或多个互补决定区,其中所述杂交瘤被保藏在 ATCC,指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-10432。在一些实施方案中,抗体是保藏在 ATCC 被指定为专利保藏命名 PTA-10431 的杂交瘤产生的抗体,或其抗原结合片段;或者是保藏在 ATCC 被指定为专利保藏命名 PTA-10432 的杂交瘤产生的抗体,或其抗原结合片段。

[0009] 还提供了与可溶性 ST2 特异结合的分离的抗体及其抗原结合片段,其中所述抗体及其抗原结合片段的产生过程包括用从人细胞 (例如人成纤维细胞、神经细胞、上皮细胞或内皮细胞、胚胎或成年细胞,特别是人胚胎肾细胞) 分离的重组人可溶性 ST2 免疫非人哺乳动物 (例如小鼠、大鼠、兔、山羊、牛、猪、猴或马)。在一些实施方案中,分离到的重组人可溶性 ST2 是完全糖基化的,即和人血清中存在的天然内源人可溶性 ST2 有基本相同糖基化状态。在本文描述的所有抗体和片段的一些实施方案中,抗体或其片段带有标记。

[0010] 还提供了保藏在 ATCC 并被指定为专利保藏命名 PTA-10431 的杂交瘤的细胞,和保藏在 ATCC 并被指定为专利保藏命名 PTA-10432 的杂交瘤的细胞。

[0011] 还提供了定量来自受试者的样品中的人可溶性 ST2 水平的方法。所述方法包括将样品与至少一种本文描述的抗体或其片段接触,和检测抗体或其片段与人可溶性 ST2 的结合情况。在一些实施方案中,方法包括使用至少两种本文描述的不同的抗体或其片段。

[0012] 还提供了预测受试者一年内死亡的风险的方法。所述方法包括获取受试者样品和利用至少一种本文描述的抗体或其片段确定样品中的人可溶性 ST2 水平,其中与人可溶性 ST2 参照水平相比,样品中人可溶性 ST2 水平升高表明受试者在一年内死亡的风险增加 (例如相对那些与相同对照相比,人可溶性 ST2 水平下降或者基本相同的受试者 (例如患有相同疾病的受试者) 一年内死亡的风险增加),下降的或者基本相同的人可溶性 ST2 水平表明受试者一年内死亡的风险减少 (例如相对那些与相同对照相比,人可溶性 ST2 水平升高或者基本相同的受试者 (例如患有相同疾病的受试者) 一年内死亡的风险下降)。

[0013] 还提供了确定是否允许住院病人出院或者给受试者开始或继续住院治疗的方法,所述方法包括获取受试者样品和利用至少一种本文描述的抗体或其片段确定样品中的人可溶性 ST2 水平,其中与人可溶性 ST2 参照水平相比,升高的人可溶性 ST2 水平表明应当开始或者继续住院治疗,下降的或者相等的人可溶性 ST2 水平表明可以考虑允许受试者出院。在一些实施方案中,受试者有以下症状中的至少一种或多种: 胸痛或者不适、呼吸急促、恶心、呕吐、暖气、出汗、心悸、头晕、疲劳和昏厥。

[0014] 还提供了选择参与临床研究的受试者的方法,所述方法包括获取受试者样品,利用至少一种本文描述的抗体或其片段确定样品中的人可溶性 ST2 水平,以及如果与人可溶

性 ST2 参照水平相比,受试者的人可溶性 ST2 水平表明他应当被选中参与临床研究则选择该受试者参与临床试验。在一些实施方案中,存在升高的人可溶性 ST2 水平表明受试者应当被选中参与临床研究。

[0015] 还提供了给受试者选择治疗方案的方法,所述方法包括利用至少一种本文描述的抗体或其片段确定来自受试者的生物样品中的人可溶性 ST2 水平,其中相对人可溶性 ST2 参照水平的受试者的人可溶性 ST2 水平被用于给受试者选择治疗方案。在一些实施方案中,存在升高的人可溶性 ST2 水平被用于给受试者选择治疗方案。

[0016] 在本文描述的任意一种方法的一些实施方案中,受试者未被诊断或者不存在疾病状态的两种或更多种(例如,至少三、四或五种)症状;受试者已被诊断患有某种疾病(例如心衰、冠状动脉疾病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、肾功能不全、中风或者本文描述的疾病中的任意一种);或者受试者患有以下的一或多种:高甘油三酯血症、高胆固醇血症、高血压并且身体质量指数 ≥ 30 。在本文描述的任意一种方法的一些实施方案中,确定利用了至少两种本文描述的抗体或其片段。

[0017] 在本文描述的任意一种方法的一些实施方案中,人可溶性 ST2 参照水平是人可溶性 ST2 的阈值水平。在一些实施方案中,阈值水平上健康患者群体(例如健康男性患者群体或者健康女性患者群体)中的平均人可溶性 ST2 水平。在本文描述的任意一种方法的一些实施方案中,参照水平是这样的受试者样品中存在的人可溶性 ST2 水平,所述受试者未呈现两种或更多种疾病症状、未被诊断患有某种疾病、或者未被鉴定为有发展出疾病的风险。

[0018] 在本文描述的任意一种方法中,受试者未被诊断为患有疾病(例如,心衰、冠状动脉疾病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、肾功能不全、中风或者本文描述的疾病中的任意一种)。在本文描述的任意一种方法中,样品含有血液、血清或血浆。本文描述的任何抗体及其片段都可以用于这里描述的任意一种方法。

[0019] 还提供了诊断受试者的疾病的方法,所述方法包括获取受试者样品,利用至少一种本文描述的抗体或其片段确定样品中的人可溶性 ST2 水平和至少一种额外标记物的水平,其中如果与人可溶性 ST2 参照水平相比,受试者的人可溶性 ST2 水平;其中与人可溶性 ST2 参照水平相比,样品中升高的人可溶性 ST2 水平,和相对所述至少一种额外标记物的参照水平发生改变的至少一种额外标记物水平表明受试者患有疾病(例如,心血管疾病、肺病、败血症、川崎病(Kawasaki disease)或 Th2 相关疾病,或者本文描述的其他疾病中的任意一种)。

[0020] 还提供了确定受试者是否有正常的人可溶性 ST2 水平(因此可能未患有严重疾病(例如心血管疾病)和例如一年内死亡或入院的风险正常)的方法,所述方法包括获取受试者样品,利用至少一种本文描述的抗体或其片段确定样品中的人可溶性 ST2 水平,其中如果人可溶性 ST2 水平落在特定的范围(例如,在大约 14.5- 大约 25.3ng/mL,或者大约 18.1- 大约 19.9ng/mL 之间),则确定受试者具有正常的人可溶性 ST2 水平。在一些实施方案中,如果男性受试者的人可溶性 ST2 水平处于表 9 列举的任何范围之间,则受试者被确定为具有正常的人可溶性 ST2 水平。在一些实施方案中,如果女性受试者的人可溶性 ST2 水平处于表 9 列举的任何范围之间,则受试者被确定为具有正常的人可溶性 ST2 水平。

[0021] 还提供了试剂盒,所述试剂盒含有本文描述的至少一种(例如两种、三种、四种或五种)抗体或其抗原结合片段。这些试剂盒的一些实施方案含有两种本文描述的抗体

或其抗原结合片段。在这些试剂盒的一些实施方案中,至少一种抗体或其片段对人可溶性 ST2(例如,重组人可溶性 ST2)的结合 K_D 等于或者小于 $8.59 \times 10^{-10} \text{M}$ 。在一些实施方案中,试剂盒提供为酶联免疫吸附检验(ELISA)的形式。在一些实施方案中,试剂盒还含有从人细胞(例如,人胚胎肾细胞)分离的重组人可溶性 ST2。在一些实施方案中,重组人可溶性 ST2 完全糖基化。

[0022] 术语“可溶性 ST2”意味着含有这样序列的可溶性蛋白,所述序列与 NCBI 登录号 NP_003847.2 (SEQ ID NO:1) 至少 90% 相同(例如,至少 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同);或者含有这样序列的核酸,所述序列与 NCBI 登录号 NM_003856.2 (SEQ ID NO:2) 至少 90% 相同(例如,至少 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同)。

[0023] 术语“升高的”或者“升高”意味着与参照水平(例如,未患疾病的受试者、没有呈现疾病的两种或更多种症状的受试者、或者未鉴定为有发展疾病的风险的受试者中的人可溶性 ST2 水平;或者人可溶性 ST2 的阈值水平)相比,确定的或者测量的水平(例如,人可溶性 ST2 蛋白水平)存在差异,例如统计学上的显著差异(例如,增加)。在一些实施方案中,参照是阈值水平,任何超过它的水平都认为是“升高的”。文中描述了人可溶性 ST2 的其他参照水平。

[0024] 术语“医疗机构”意味着受试者可以接受医护人员(例如护士、医师或医师助理)的医疗护理的地方。医疗机构的非限制性例子包括医院、诊所和辅助护理机构(例如,养老院)。

[0025] 术语“住院病人”意味着被收入医疗机构(例如,医院或辅助护理机构)的受试者。

[0026] 术语“住院治疗”意味着对收入医疗机构(例如,医院或辅助护理机构)的受试者进行的监测和/或医疗。例如,接受住院治疗的受试者可能被医护人员给予一或多种治疗剂或者进行医学程序(例如,手术(例如,器官移植、心脏搭桥术),血管成形术、成像(例如,磁共振成像、超声成像和电脑断层扫描))。在其他实施例中,可以由医护人员周期性地测量疾病或状况严重程度的一或多种标记物从而评估疾病或者受试者的状况的严重程度或进展。

[0027] 术语“参照水平”意味着对照受试者或对照患者群体中的阈值水平。参照水平取决于进行的检验,可以由本领域技术人员确定。参照水平可以是基础水平或者相同患者中更早或晚的时间点测量的水平。人可溶性 ST2 参照水平的一些非限制性例子包括这样的患者中的人可溶性 ST2 水平,所述患者:未被诊断患有疾病;没有呈现疾病的两种或更多种症状;没有高风险 CVD;没有肾衰竭;没有高甘油三酯血症、高胆固醇血症、高血压和/或身体质量指数 <30 (例如,BMI 低于 25);没有发展出疾病的风险;和/或未患与 ST2 水平增加相关的疾病(例如,心血管疾病、肺病、败血症、川崎病或 Th2 相关疾病,或本文描述的任意一种其他疾病)。本文还描述了其他对照患者群体。人可溶性 ST2 参照水平的其他例子是人可溶性 ST2 阈值水平。可以利用本领域已知方法确定人可溶性 ST2 参照水平;本文描述了一些示范性的水平。

[0028] 在一些实施方案中,计算了受试者中两个人可溶性 ST2 水平的比率。可以将参照比率与受试者(例如文中描述的任何对照受试者或者同一受试者)中测量到的人可溶性 ST2 水平的参数比率进行比较,例如参照比率可以是疾病(例如,心脏病(例如,心衰竭、冠状动脉疾病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征和心绞痛)、肾功能不全或中风,或者如本文

描述的与提高的人可溶性 ST2 水平相关的任何其他疾病) 症状出现前和后的人可溶性 ST2 水平的比率; 疾病(例如, 心衰竭、冠状动脉疾病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征和心绞痛)、肾功能不全或中风, 或者如本文描述的与提高的人可溶性 ST2 水平相关的任何其他疾病) 诊断前后的人可溶性 ST2 水平的比率; 疾病(例如, 心衰竭、冠状动脉疾病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征和心绞痛)、肾功能不全或中风, 或者如本文描述的与提高的人可溶性 ST2 水平相关的任何其他疾病) 治疗前后的 ST2 水平的比率; 疾病(例如, 心衰竭、冠状动脉疾病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征和心绞痛)、肾功能不全或中风, 或者如本文描述的与提高的人可溶性 ST2 水平相关的任何其他疾病) 治疗(例如住院或者门诊治疗) 过程中两个不同时间点的人可溶性 ST2 水平的比率; 或者心脏事件(例如心肌梗塞) 前后的人可溶性 ST2 水平的比率。

[0029] 在一些实施方案中, 可以将受试者中测量到的人可溶性 ST2 水平的比率与阈值参照比率进行比较。人可溶性 ST2 的参照比率可以利用本领域已知方法确定; 可以利用本文描述的数据计算人可溶性 ST2 的参照比率。例如, 人可溶性 ST2 的参照比率可以是大约 0.7 - 大约 1.1 之间, 或者大约 1。

[0030] 术语“治疗性处置”或“治疗”意味着将一或多种药剂给予受试者或者对受试者的身体实施医学程序(例如, 诸如器官移植或心脏手术的手术)。可以给予受试者的药剂的非限制性例子包括硝酸盐、钙通道阻滞剂、利尿剂、血栓溶解剂、毛地黄、肾素血管紧张素醛固酮系统(RAAS) 调理剂(例如, β -肾上腺素能阻断剂、血管收缩素转化酶抑制剂、醛固酮拮抗剂、肾素抑制剂和血管紧张素 II 受体阻断剂) 和胆固醇降低剂(例如, 染料)。术语治疗性处置还包括调节(例如, 增加或减少) 受试者使用的一或多种药剂的剂量或频率、给予受试者一或多种新的药剂, 或者从受试者的治疗方案中去掉一或多种药剂。

[0031] 用于本文, “受试者”是哺乳动物, 例如人。

[0032] 用于本文, “生物样品”包括血液、血清、血浆、尿和身体组织中的一或多种。一般来说, 生物样品是含有血清、血液或血浆的样品。

[0033] 用于本文, 术语“抗体”是指通常含有重链多肽和轻链多肽的蛋白质。抗原识别和结合发生在重链和轻链的可变区。具有一个重链和一个轻链的单结构域抗体, 和不含轻链的重链抗体也是已知的。给定抗体包含被称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 的五种不同类型重链中的一种, 其分类基于重链恒定区的氨基酸序列。这些不同类型的重链形成了五类抗体, 分别是 IgA(包括 IgA1 和 IgA2)、IgD、IgE、IgG(IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4) 和 IgM。给定的抗体还包含被称为 κ 和 λ 的两类轻链中的一种, 其分类基于轻链恒定结构域的氨基酸序列。IgG、IgD 和 IgE 抗体通常含有两个相同的重链和两个相同的轻链和两个抗原结合结构域, 每个由重链可变区(VH) 和轻链可变区(VL) 组成。通常, IgA 抗体由两个单体组成, 每个单体由两个重链和两个轻链组成(对于 IgG、IgD 和 IgE 抗体)。这样, IgA 分子有四个抗原结合结构域, 每个同样由 VH 和 VL 组成。某些 IgA 抗体是单体性质的, 因为它们由两个重链和两个轻链构成。分泌的 IgM 抗体一般由五个单体构成, 每个由两个重链和两个轻链组成(对于 IgG 和 IgE 抗体)。这样, 分泌的 IgM 分子具有十个抗原结合结构域, 每个同样由 VH 和 VL 构成。还存在细胞表面形式的 IgM, 其与 IgG、IgD 和 IgE 抗体类似, 具有两个重链/两个轻链的结构。

[0034] 用于本文, 术语“嵌合抗体”是指经过改造包含至少一个人恒定区的抗体。例如,

小鼠抗体（例如小鼠单克隆抗体）的一个或全部（例如，一个、两个或三个）轻链可变区和/或一个或全部（例如，一个、两个或三个）重链可变区可以各自与人恒定区连接，比如但不限于 IgG1 人恒定区。相对非嵌合抗体，嵌合抗体一般对人的免疫原性较低，因此在某些情况下赋予治疗上的益处。本领域技术人员了解嵌合抗体，并且了解制备它们的合适技术。参见例如美国专利 4,816,567、4,978,775、4,975,369 和美国专利 4,816,397。

[0035] 用于本文，术语“完全人抗体”是只含有来源于人的氨基酸序列的抗体或抗体的抗原结合片段。例如，完全人抗体可以由人 B 细胞或者人杂交瘤细胞产生。在其他实施方案中，可以由转基因动物产生抗体，所述转基因动物含有人重链免疫球蛋白和人轻链免疫球蛋白的基因座，或者含有编码特定人抗体的重链和轻链的核酸。

[0036] 术语“互补决定区”或“CDR”用于本文是指重链和轻链多肽可变区内的短的多肽序列，这些短的多肽序列主要负责介导特异抗原识别。Kabat, et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616, 1977; Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917, 1987; 和 MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745, 1996 中描述过 CDRs。在每个 VL 和每个 VH 中有三个 CDRs（名称为 CDR1、CDR2 和 CDR3）。

[0037] 术语“片段”或“抗体片段”用于本文是指来源于抗体多肽分子（例如，抗体重链和/或轻链多肽）的多肽，不包含全长抗体多肽，但仍含有能够结合抗原的全长抗体多肽的至少一部分。抗体片段可以包含全长抗体多肽的切割的一部分，虽然这个术语不限于这类切割片段。抗体片段可以包括，例如 Fab 片段、F(ab')₂ 片段、scFv（单链 Fv）片段、线性抗体、单特异性或多特异性抗体片段，比如双特异性、三特异性和多特异性抗体（例如，二体、三体、四体）、微型抗体、螯合（chelating）重组抗体、三体或二体、内抗体、纳米抗体、小模块免疫药物（small modular immunopharmaceuticals, SMIP）、结合结构域免疫球蛋白融合蛋白、骆驼化抗体和含有 VHH 的抗体。抗原结合抗体片段的其他例子是本领域已知的。

[0038] 术语“框架区”用于本文是指重链和轻链多肽可变区内不是 CDR 序列的氨基酸序列，主要负责维持 CDR 序列的正确定位以便发生抗原结合。虽然框架区本身一般不直接参与抗原结合，但正如本领域已知的，某些抗体的框架区内的某些残基可以直接参与抗原结合或者会影响 CDRs 着一或多个氨基酸与抗原相互作用的能力。

[0039] 术语“人源化抗体”用于本文是指经过改造在可变区内与非人（例如，小鼠、大鼠或仓鼠）重链和/或轻链互补决定区（CDRs）一起包含一或多个人框架区。在一些实施方案中，人源化抗体包含除了 CDR 区完全来自人的序列。相对非人源化抗体，人源化抗体对人的免疫原性一般更低，因此在某些情况中提供了治疗上的优势。人源化抗体是本领域已知的，制备人源化抗体的合适技术也是已知的。参见例如 Hwang et al., Methods 36:35, 2005; Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 86:10029-10033, 1989; Jones et al., Nature 321:522-25, 1986; Riechmann et al., Nature 332:323-27, 1988; Verhoeyen et al., Science 239:1534-36, 1988; Orlandi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 86:3833-3837, 1989; 美国专利 5,225,539、5,530,101、5,585,089、5,693,761、5,693,762 和 6,180,370; 以及 WO 90/07861。

[0040] 用于本文，术语“Th2 相关疾病”是指与异常 2 型辅助性 T 细胞（Th2）应答相关的疾病。

[0041] 用于本文，术语“心血管疾病”是指心脏和血管的紊乱，包括动脉、静脉、小动脉、小

静脉和毛细血管的紊乱。

[0042] 用于本文,术语“肺病”是指肺部的紊乱。

[0043] 术语“其他标记物”意味着能够诊断特定疾病的存在的蛋白、核酸、脂类或碳水化合物或者它们的组合(例如,两种或以上)。本文描述的诊断受试者是患有疾病的方法包括检测来自受试者的样品中的可溶性人 ST2 和至少一种其他标记物的水平。可以用于疾病诊断的几个其他标记物是本领域已知的(例如,proANP、NT-proANP、ANP、proBNP、NT-proBNP、BNP、肌钙蛋白、CRP、肌酐、血尿酸(BUN)、肝功能酶、白蛋白和细菌内毒素;以及美国专利申请 2007/0248981、2011/0053170、2010/0009356、2010/0055683、2009/0264779 中描述的那些标记物,这些专利申请均通过引用并入本文)。

[0044] 术语“高甘油三酯血症”意味着大于或者等于 180ng/mL 的甘油三酯水平(例如,大于或等于 200ng/mL)。

[0045] 术语“高胆固醇血症”意味着受试者中的至少一种胆固醇形式或者总胆固醇的水平增加。例如,有高胆固醇血症的受试者可能有 $\geq 40\text{mg/dL}$ (例如, $\geq 50\text{mg/dL}$ 或 $\geq 60\text{mg/dL}$) 的高密度脂蛋白(HDL)水平, $\geq 130\text{mg/dL}$ (例如, $\geq 160\text{mg/dL}$ 或 $\geq 200\text{mg/dL}$) 的低密度脂蛋白(LDL)水平,和 / 或 $\geq 200\text{mg/dL}$ (例如, 240mg/dL) 的总胆固醇水平。

[0046] 术语“高血压”意味着升高的收缩和 / 或舒张压水平。例如,患有高血压的受试者可能收缩压 $\geq 120\text{mmHg}$ (例如, $\geq 140\text{mmHg}$ 或 $\geq 160\text{mmHg}$) 和 / 或舒张压 $\geq 80\text{mmHg}$ (例如, $\geq 90\text{mmHg}$ 或 $\geq 100\text{mmHg}$)。

[0047] 术语“健康受试者”意味着受试者未患有疾病(例如,心血管疾病或肺病)。例如,健康受试者未被诊断为患有疾病,和未呈现疾病状态的一或多种(例如,两种、三种、四种或五种)症状。

[0048] “死亡风险”意味着与参照群体(例如,健康对照群体)相比,受试者由于疾病或者与疾病相关的并发症而死亡的风险。文中使用的术语“死亡风险”不包括故意或者意外死亡,例如由砸伤或压伤(比如车祸)造成的死亡。

[0049] 除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同。文中描述了本发明使用的方法和材料。也可以使用本领域已知的其他合适的方法和材料。所述材料、方法和实施例仅用于阐述,不是对发明的限制。文中提及的所有出版物、专利申请、专利、序列、数据库录入项和其他参考均通过引用全部并入本文。在冲突的情况下,本说明书包括定义优先。

[0050] 从以下详述和附图,以及权利要求可以清楚看出本发明的其他特征和优点。

[0051] 附图描述

[0052] 图 1 的图像显示了重组人可溶性 ST2 蛋白纯化的组分的 SDS-PAGE 凝胶分析结果。泳道(每个样品道 $10\mu\text{L}$)如下:1-MWM($5\mu\text{L}$);2-His 序列梯($3\mu\text{L}$);3-未转染阴性对照;4-纯化前的上清;5-柱子流过液;6-第一次结合缓冲液洗涤;7-第二次 5mM 洗涤;8-第三次 5mM 洗涤;9- 200mM 洗脱流分 2;10- 200mM 洗脱流分 3;11- 200mM 洗脱流分 4;12- 200mM 洗脱流分 5;13- 200mM 洗脱流分 6;14- 200mM 洗脱流分 7;和 15- $0.3\mu\text{g}$ 可溶性 ST2。

[0053] 图 2 显示了用于检测重组人可溶性 ST2 蛋白中的组氨酸标签的纯化流分的 Western 印迹。泳道(每个样品道 $10\mu\text{L}$)如下:1-MWM($5\mu\text{L}$);2-His 序列梯($3\mu\text{L}$);3-

纯化前的上清;4-柱子流过液;5-第一次结合缓冲液洗涤;6-第二次结合缓冲液洗涤;7-第二次5mM洗涤;8-第三次5mM洗涤;9-200mM洗脱流分2;10-200mM洗脱流分3;11-200mM洗脱流分4;12-200mM洗脱流分5;13-200mM洗脱流分6;14-200mM洗脱流分7;和15-0.3 μ g可溶性ST2。

[0054] 图3A-3C显示了纯化重组可溶性ST2的考马斯胶(图3A)和两个Western印迹,是与商品抗ST2抗体D066(MBL International)(图3B)和六组氨酸抗体(图3C)比较。泳道(每个样品道10 μ L)如下:1-MWM;2-His序列梯;3-血清ST2-His 1000ng;4-血清ST2-His 500ng;5-血清ST2-His 200ng;6-血清ST2-His 100ng;7-血清ST2-His 50ng;8-无血清ST2-His 1000ng;9-无血清ST2-His 500ng;10-无血清ST2-His 200ng;11-无血清ST2-His100ng;和12-无血清ST2-His 50ng。

[0055] 图4的曲线图显示了7E4和9F8抗体的抗原灵敏度评估结果。

[0056] 图5的曲线图显示了7E4和9F8抗体的抗原灵敏度评估结果。7E4和9F8抗体以5 μ g/mL-0的浓度包埋在96孔板的单个孔中,对单个浓度的偶联了生物素的重组可溶性ST2进行测试。

[0057] 图6的线图显示了测试它们一起用于单克隆抗体夹心酶免疫分析(EIA)格式的能力的结果,其中7E4或9F8抗体被生物素化。

[0058] 图7A-7F的六个图形显示了对抗体-抗原复合体形成的表面等离子共振(SPR)分析的结果。图7A显示了对抗体9F8(L1)的SPR分析。图7B显示了对抗体7E4(L2)的SPR分析。图7C显示了对抗体11A7(L3)的SPR分析。图7D显示了对抗体D066(L4)的SPR分析。图7E显示了对抗体D067(L5)的SPR分析。图7F显示了对无关抗体(L6)的SPR分析。

[0059] 图8A-8F的六个图形显示了抗体-抗原复合体形成的SPR分析结果。图8A显示了对抗体9F8(L1)的SPR分析。图8B显示了对抗体7E4(L2)的SPR分析。图8C显示了对抗体11A7(L3)的SPR分析。图8D显示了对抗体15D6(L4)的SPR分析。图8E显示了对抗体D066(L5)的SPR分析。图8F显示了对抗体D067(L6)的SPR分析。

[0060] 图9的箱须图显示了按照抗凝试管类型的人可溶性ST2浓度。

[0061] 图10的直方图显示了正常健康供体的人可溶性ST2浓度分布。

[0062] 图11的箱须图显示了正常健康供体中作为性别和年龄函数的人可溶性ST2浓度。

[0063] 详述

[0064] 本文描述了能够特异结合人可溶性ST2的抗体及其抗原结合片段、含有所述抗体和片段的试剂盒,以及这些抗体和片段的使用方法。

[0065] ST2

[0066] ST2基因是白介素-1受体家族的成员,其蛋白产物的存在形式有跨膜形式和可以在血清中检测到的可溶性受体形式(Kieser et al.,FEBS Lett. 372(2-3):189-193,1995;Kumar et al.,J.Biol.Chem. 270(46):27905-27913,1995;Yanagisawa et al.,FEBS Lett. 302(1):51-53,1992;Kuroiwa et al.,Hybridoma19(2):151-159,2000)。可溶性ST2据描述在心衰试验模型中被显著地上调(Weinberg et al.,Circulation 106(23):2961-2966,2002),并且数据表明人可溶性ST2浓度在那些患有慢性严重心衰(Weinberg et al.,Circulation 107(5):721-726,2003)和患有急性心肌梗塞(Shimpo et al.,Circulation 109(18):2186-2190,2004)的人中也有升高。

[0067] 在不希望被理论约束的情况下,跨膜形式的 ST2 被认为在调理辅助性 2 型 T 细胞的应答中有重要作用 (Lohning et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 95(12):6930-6935, 1998; Schmitz et al., Immunity 23(5):479-490, 2005), 可能在严重或慢性炎症状态下耐受性的发展中发挥作用 (Brint et al., Nat. Immunol. 5(4):373-379, 2004), 而可溶性形式的 ST2 在生长刺激成纤维细胞中被上调 (Yanagisawa et al., 1992, 同前)。试验数据表明 ST2 基因在心肌牵张状态下被显著上调 (Weinberg et al., 2002, 同前), 上调的方式与 BNP 基因的诱导类似 (Bruneau et al., Cardiovasc. Res. 28(10):1519-1525, 1994)。

[0068] Tominaga et al. (FEBS Lett. 258:301-304, 1989) 分离到在 BALB/c-3T3 细胞内受生长刺激特异表达的小鼠基因。Haga et al. (Eur. J. Biochem. 270:163-170, 2003) 描述了基于其被生长刺激所诱导的 ST2 基因命名。ST2 基因编码两种蛋白产物: 可溶的分泌形式 ST2 或 sST2; 和与白介素 -1 受体非常相似的跨膜受体形式 ST2L。The HUGO Nomenclature Committee 将 ST2 的人同源物 (其克隆在 Tominaga et al., Biochim. Biophys. Acta. 1171:215-218, 1992 中有描述) 命名为白介素 1 受体样 (Interleukin 1 Receptor-Like) 1 (IL1RL1)。这两个术语在本文中可交换使用。

[0069] 人 ST2 的较短可溶性亚型的 mRNA 序列可以在 GenBank 登录号 NM_003856.2 (SEQ ID NO:2) 找到, 多肽序列是 GenBank 登录号 NP_003847.2 (SEQ ID NO:1)。人 ST2 的较长形式的 mRNA 序列是 GenBank 登录号 NM_016232.4 (SEQ ID NO:4), 多肽序列是 GenBank 登录号 NP_057316.3 (SEQ ID NO:3)。其他信息在公共数据库 GeneID:9173, MIM ID#601203 和 UniGene No.Hs.66 有提供。总的来说, 本文描述的方法中测量的是人可溶性形式的 ST2 多肽。

[0070] 抗体和抗原结合抗体片段

[0071] 本文提供了与人可溶性 ST2 结合的分离的抗体及其抗原结合片段。所提供的抗体及其片段可以与杂交瘤产生的抗体竞争结合, 所述杂交瘤保藏在 ATCC 并被指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-10432 (分别对应 7E4 和 9F8 抗体)。在一些实施方案中, 抗体或片段不与 D066-3 和 D067-3 抗体 (MBL International) (在美国专利 7,087,396 中有描述) 竞争结合, 并且结合人可溶性 ST2 的 K_D 等于或者小于 $1.51 \times 10^{-9} M$ 。在一些实施方案中, 抗体或片段结合人可溶性 ST2 的 K_D 等于或者小于 $8.59 \times 10^{-10} M$ 。文中描述了确定抗体或片段结合人可溶性 ST2 的亲和力 (K_D) 的方法 (例如, 表面等离子共振), 其他方法是本领域已知的。还提供了由本文描述的方法产生的 7E4 和 9F8 单克隆抗体以及它们的抗原结合片段。

[0072] 用于本文, 短语“竞争结合”是指这样的情况, 其中一个抗体或抗体片段与给定抗原的结合降低了第二个抗体或抗体片段与相同抗原的结合。在一些实施方案中, 当两个抗体或片段基本结合的是位于给定抗原 (例如, 人可溶性人 ST2) 上的相同表位时, 抗体或片段与另一个抗体或片段竞争结合。正如以下实施例更详细描述, 的被指定为专利保藏命名 PTA-10431 和 PTA-10432 的杂交瘤所产生的每一个抗体都识别和被测试的各种其他抗体 (例如, 来自 MBL International 的 D066-3 和 D067-3 抗体) 所识别的不同的表位, 因此不会与那些测试抗体竞争结合。在一些实施方案中, 本文描述的抗体或片段所结合的人可溶性 ST2 上的表位被指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-10432 的杂交瘤产生的抗体识别。确定两个不同抗体或片段是否竞争结合的方法在文中有描述, 并且是本领域已知的 (例如, 竞争性酶联免疫吸附法)。

[0073] 在一些实施方案中,抗体或片段与表位结合或者显示出提高的结合,所述表位存在于由人细胞(例如,人成纤维细胞、上皮细胞、内皮细胞、或神经细胞、胚胎或成年细胞,或者人胚胎肾细胞,例如 HEK293)产生的重组人可溶性 ST2 蛋白中,但不存在于由非人类细胞类型产生的重组人可溶性 ST2 中。在一些实施方案中,抗体或片段与表位结合或者显示出提高的结合,所述表位存在于完全糖基化的人可溶性 ST2 蛋白(例如,从人细胞中分离的人可溶性 ST2 蛋白),而不存在于没有糖基化或者错位糖基化或糖基化不足(例如没有完全糖基化或者糖基化的模式(例如糖的数量、位点和/或类型)在人体(例如在人血清)的天然人可溶性 ST2 中不存在)的重组人可溶性 ST2 蛋白中。在一些实施方案中,相比其他商品抗体,抗体和抗体片段与天然人可溶性 ST2 结合更好(例如,亲和力更高)。

[0074] 在一些实施方案中,抗体是保藏在 ATCC 并指定为专利保藏命名 PTA-10431 的杂交瘤所产生的单克隆抗体(7E4 抗体),或者是保藏在 ATCC 并指定为专利保藏命名 PTA-10431 的杂交瘤所产生的抗体的抗原结合片段(7E4 抗体的片段)。在一些实施方案中,抗体是保藏在 ATCC 并指定为专利保藏命名 PTA-10432 的杂交瘤所产生的单克隆抗体(9F8 抗体),或者是保藏在 ATCC 并指定为专利保藏命名 PTA-10432 的杂交瘤所产生的抗体的抗原结合片段(9F8 抗体的片段)。本文描述的两种或更多种抗体或片段的组合(例如,7E4 抗体、7E4 抗体片段、9F8 抗体和 9F8 抗体片段中的两种或更多种)可以用于文中描述的任何方法。

[0075] 指定为专利保藏命名 PTA-10431 和专利保藏命名 PTA-10432 的杂交瘤产生的人可溶性 ST2 结合单克隆抗体均可通过用分离自人胚胎肾(HEK)-293 细胞的重组人可溶性 ST2 免疫非人哺乳动物来生成。人可溶性 ST2 有相当大量/数量的翻译后修饰。根据其氨基酸序列,预测人可溶性 ST2 的分子量约为 36kDa。而天然蛋白由于翻译后修饰,分子量大约是 58kDa。正如本领域已知的,这种翻译后修饰对抗体或抗体片段结合给定蛋白的能力会有影响。因此,正如以下实施例部分详细描述,由指定为专利保藏命名 PTA-10431 的杂交瘤产生的人可溶性 ST2 结合单克隆抗体比其他抗体对天然人可溶性 ST2 有更高的亲和力,因此可以作为诊断性和其他试剂。

[0076] 在一些实施方案中,本文描述的抗体或片段包含由指定为专利保藏命名 PTA-10431 和/或 PTA-10432 的杂交瘤所产生的抗体的重链和/或轻链(或其片段)。在一些实施方案中,本文描述的抗体或片段包含由指定为专利保藏命名 PTA-10431 和/或 PTA-10432 的杂交瘤所产生的抗体的重链和/或轻链可变区(或其片段)。

[0077] 正如本领域已知的,抗体对给定抗原的特异性是由重链和轻链可变区介导的。具体来说,抗体对给定抗原的特异性主要是由重链和轻链可变区内被称为互补决定区或 CDRs 的短序列决定的。在一些实施方案中,本文描述的抗体或片段含有指定为专利保藏命名 PTA-10431 和/或 PTA-10432 的杂交瘤所产生的抗体的重链和/或轻链的一或多个(例如,一个、两个、三个、四个、五个或六个)CDRs。在一些实施方案中,本文描述的抗体或片段包含被指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-10432 的杂交瘤所产生的抗体的重链的每个 CDRs。在一些实施方案中,本文描述的抗体或片段包含被指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-10432 的杂交瘤所产生的抗体的轻链的每个 CDRs。在一些实施方案中,本文描述的抗体或片段包含被指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-10432 的杂交瘤所产生的抗体的每个 CDRs(所有重链和轻链 CDRs)。

[0078] 还提供了与人可溶性 ST2 特异结合的分离的抗体和抗原结合抗体片段,产生所述

抗体和抗原结合抗体片段的过程包括用从肾细胞（例如，人肾细胞、胚胎肾细胞和人胚胎肾细胞）分离的重组人可溶性 ST2 免疫非人哺乳动物。在一些实施方案中，重组人可溶性 ST2 被完全糖基化或者含有天然可溶性 ST2 蛋白中存在的所有翻译后修饰。

[0079] 在一些实施方案中，本文描述的抗体或片段是嵌合的，因为它包含至少一个人恒定区。例如，由被指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-10432 的杂交瘤产生的抗体的恒定区可以替换为人恒定区。相对非嵌合抗体，嵌合抗体一般对人的免疫原性更低，因此在某些情况可以带来治疗上的优势。在一些实施方案中，本文描述的嵌合抗体包含 IgG1 恒定区。本领域技术人员知道各种人恒定区。制备嵌合抗体的方法是本领域已知的。

[0080] 在一些实施方案中，本文描述的抗体或片段是人源化的，因为它包含至少一个人框架区。例如，由指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-10432 的杂交瘤所产生的抗体的一或多个（例如一个、两个、三个、四个、五个或六个）框架区可以替换为一或多个（例如一个、两个、三个、四个、五个或六个）人框架区。相对非人源化抗体，人源化抗体一般对人的免疫原性更低，因此在某些情况可以带来治疗上的优势。本领域技术人员知道各种人框架区。制备人源化抗体的方法是本领域已知的。

[0081] 例如，可以利用基于 CDR 同源性的方法进行人源化（参见例如，Hwang et al., Methods 36:35, 2005）。这些方法通常涉及根据结构类似的非人和人 CDRs，而不是结构类似的非人和人框架区，将非人 CDRs 取代到人可变结构域框架中。确定非人和人 CDRs 的相似性通常是通过鉴定相同类型链的人基因中与非人（例如小鼠）结合分子有相同典型 CDR 结构组合，因此保持了 CDR 肽骨架的三维构象。其次，对于具有匹配典型结构的每个候选可变区基因，将非人和候选的人 CDRs 的逐个残基进行同源性评估。最后，为了产生人源化结合分子，将选中的人候选 CDR 中与非人 CDR 还不相同的 CDR 残基转换为非人（例如小鼠）序列。在一些实施方案中，人源化结合分子中未引入人框架的突变。

[0082] 在一些实施方案中，将非人 CDRs 取代到人可变结构域框架中是根据非人可变结构域框架的正确空间取向的保持，这是通过鉴定能够保持和 CDRs 所来源的非人可变结构域框架相同构象的人可变结构域框架。在一些实施方案中，这是通过从这样的人结合分子获取人可变结构域实现的，所述人结合分子的框架序列展示出与 CDRs 所来源的非人可变框架结构域的高度序列同一性。参见例如 Kettleborough et al., Protein Engineering 4:773, 1991; Kolbinger et al., Protein Engineering 6:971, 1993 和 WO 92/22653。

[0083] 在一些实施方案中，本文描述的抗体或片段是单特异性的，因为它只识别单个表位。单特异性抗体是本领域已知的（参见例如 WO/9639858）。在一些实施方案中，本文描述的抗体或片段是双特异性的，因为它能识别一个以上的表位（例如，两个表位）。双特异性抗体是本领域已知的（参见例如美国专利申请公开 2009/0162360）。在一些实施方案中，本文描述的单特异性或者双特异性抗体或片段能够结合的表位被这样的抗体或抗体片段识别，所述抗体或抗体片段具有被指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-10432 的杂交瘤所产生的单克隆抗体的 CDRs。在一些实施方案中，双特异性抗体或片段结合人可溶性 ST2，和不同的非 ST2 多肽。在一些实施方案中，双特异性抗体或片段结合人可溶性 ST2 的两个不同表位。在一些实施方案中，本文描述的抗体或片段是二价的（参见例如 WO/1999/064460）。对于包含被指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-10432 的杂交瘤所产生的单克隆抗体的一或多个 CDRs 的其他抗体和片段的更详细描述，参见美国专利申请公开 20070105199 和

WO/2007/059782。

[0084] 在一些实施方案中,片段(例如,抗原结合片段)来源于完整抗体分子,例如单克隆抗体。所述抗体可以是例如在它的铰链区的羧基端(用胰蛋白酶)切割产生 $F(ab')_2$ 片段,或者在它的铰链区的氨基端(用木瓜蛋白酶)切割产生Fab片段。在一些实施方案中,本文描述的抗原结合片段是Fab片段、 $F(ab')_2$ 片段、scFv片段、线性抗体、多特异性抗体片段,比如双特异性、三特异性或多特异性抗体(例如,二体、三体或四体)、微型抗体、螯合重组抗体、内抗体、纳米抗体、小模块免疫药物(SMIP)、结合结构域免疫球蛋白融合蛋白、骆驼化抗体或含有 V_H 的抗体。制备这些片段的方法是本领域已知的。

[0085] 在一些实施方案中,本文描述的人可溶性ST2结合抗体或抗原结合抗体片段与被指定为专利保藏命名PTA-10431或PTA-10432的杂交瘤所产生的抗体的重链和/或轻链相比,包含具有一或多个氨基酸取代、缺失或插入的多肽。通过诸如定点突变或PCR介导的突变的常规技术,可以给编码包含被指定为专利保藏命名PTA-10431或PTA-10432的杂交瘤所产生的抗体重链和/或轻链的多肽的核酸分子(例如或者编码所述重链或轻链的一或多个(例如一个、两个或三个)CDR区的核酸)引入取代、缺失或插入。在一些实施方案中,在一或多个位点进行了保守性氨基酸取代。“保守性氨基酸取代”是其中一个氨基酸残基被具有类似侧链的氨基酸残基代替的情况。具有类似侧链的氨基酸家族在现有技术中已有限定,包括碱性侧链(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷的极性侧链(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、 β 侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳香族侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。因此,抗人可溶性ST2抗体或人可溶性ST2结合抗体片段的多肽中的氨基酸残基可以被来自相同侧链家族的另一个氨基酸残基代替。

[0086] 在一些实施方案中,本文描述的人可溶性ST2结合抗体或人可溶性ST2结合抗体片段包含的氨基酸序列与被指定为专利保藏命名PTA-10431或PTA-10432的杂交瘤所产生的抗体的重链和/或轻链至少90%相同、至少95%、96%、97%、98%、99%或100%相同(例如,或者与被指定为专利保藏命名PTA-10431或PTA-10432的杂交瘤所产生的抗体重链和/或轻链的至少一个(例如,一个、两个或三个)CDR至少90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同)。例如,本文描述的人可溶性ST2结合抗体或人可溶性ST2结合抗体片段可能含有一或多个CDRs,所述CDRs在位于被指定为专利保藏命名PTA-10431或PTA-10432的杂交瘤所产生的抗体重链和/或轻链中可以看到的相关CDR序列中含有一或多个氨基酸取代、缺失或插入。

[0087] 在一些实施方案中,本文描述的组合物含有两个或更多个文中所述的不同人可溶性ST2结合抗体或人可溶性ST2结合抗体片段。例如,本文描述的组合物可以含有由被指定为专利保藏命名PTA-10431和PTA-10432的杂交瘤中的一个所产生的抗体。正如以下实施例部分更详细地描述的,这种抗体组合比任何一种单个抗体以及其他商品抗体都显示出对ST2抗原更高的亲和力。本文描述的这种含有抗体或抗原结合片段的组合物会在许多方法中都有用,例如诊断方法。在一些实施方案中,本文描述的组合物含有两个或更多个不同ST2结合片段(例如,Fab片段、 $F(ab)_2$ 片段或scFv片段),比如来源于被指定为专利保藏命名PTA-10431或PTA-10432的杂交瘤所产生的抗体的片段。

[0088] 在任何以上方法中,抗体或抗体片段都可以被糖基化或者标记。例如,抗体和抗体片段可以被标记上可检测的物质,包括但不限于各种酶、辅基、荧光物质、发光物质、生物发光物质和放射性物质。合适的酶的例子包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;合适的辅基复合体的例子包括链霉亲和素/生物素和亲和素/生物素;合适的荧光物质的例子包括伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、若丹明、二氯三嗪氨基荧光素、丹酰氯、量子点或藻红蛋白;发光物质的例子包括鲁米诺(luminol);生物发光物质的例子包括萤光素酶、萤光素和水母发光蛋白;合适的放射性物质的例子包括 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 或 ^3H 。

[0089] 杂交瘤

[0090] 本文还提供了能够产生结合人可溶性 ST2 的抗体的杂交瘤。正如本领域已知的,术语“杂交瘤”是指通过将产生抗体的淋巴细胞和不产生抗体的癌细胞(通常是骨髓瘤或淋巴瘤)融合产生的细胞。融合后,杂交瘤增殖并产生特定的本来由被融合的淋巴细胞产生的单克隆抗体。在一些实施方案中,提供的杂交瘤是保藏在 ATCC 并被指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-10432 的杂交瘤。在一些实施方案中,还提供了单个细胞、收获细胞和培养物,其含有来源于保藏在 ATCC 并被指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-10432 的杂交瘤的细胞。

[0091] 所提供抗体和片段的使用方法

[0092] 特别是为了预测一年内死亡的风险、确定是否允许受试者出院或者开始或继续其住院治疗、选择参与临床试验的受试者、诊断受试者患有疾病或者确认有发展出疾病的风险的受试者,一或多个本文描述的任意抗体或抗体片段可以用于定量样品(例如来自受试者的样品)中的人可溶性 ST2 水平。

[0093] 人可溶性 ST2 水平的定量方法

[0094] 本文提供了确定受试者样品中人可溶性 ST2 水平的方法,所述方法包括将样品与至少一种本文描述的抗体或抗体片段进行接触;和检测抗体或片段与人可溶性 ST2 的结合。在一些实施方案中,使用了至少两种(例如,两种、三种或四种)本文描述的抗体或抗体片段来确定受试者样品中人可溶性 ST2 水平。在一些实施方案中,受试者未被诊断或者没有呈现出疾病的一或多个(例如两个、三个或四个)症状。在一些实施方案中,受试者已被诊断为患有与 ST2 水平升高相关的疾病(例如心衰、冠状动脉疾病、心血管疾病、急性冠状动脉综合征、肾功能不全、中风或者本文描述的其他疾病中的任意一种)。在一些实施方案中,受试者患有高甘油三酯血症、高胆固醇血症、高血压、肾功能不全中的一或多种(例如两种、三种或四种),并且身体质量指数 ≥ 30 。在一些实施方案中,样品含有血液、血清或血浆。

[0095] 在一些实施方案中,样品可以由医护人员(例如,刺络医师、医师、护士、医师助理或实验室技术员)从受试者采集。样品在与至少一种本文描述的抗体或片段接触前,可以(例如,在 $\leq 4^\circ\text{C}$ 、 $\leq 0^\circ\text{C}$ 或 -80°C)保存一段时间,检测抗体或片段的结合。文中描述了将生物样品与抗体或抗体片段进行接触以及检测抗体或片段结合的方法,其他方法是本领域已知的。定量还可以包括检测至少一种本文描述的抗体或抗体片段与纯化的重组人可溶性 ST2(例如,分离自人胚胎肾细胞的重组人可溶性 ST2)的结合的对照实验。

[0096] 在一些实施方案中,对正常或健康受试者中的人可溶性 ST2 水平进行了定量。所

述正常或健康受试者是这样的受试者,其未受累于 ST2 相关状况(例如,本文描述的 ST2 相关状况)、未被诊断为患有疾病(例如,任何本文描述的疾病)并且没有出现疾病的两个或更多个(例如,两个、三个或四个)症状。正常或健康受试者可以通过本领域已知的多种技术中的任何一种来确认,包括但不限于通过生物标记物筛选或体检(例如,通过没有与 ST2 相关状况或者任何其他本文描述的疾病关联的两种或多种症状的外在表现形式)。例如,通过筛选低水平的一或多个标记物可以筛选出没有潜血 CVD 或炎症性疾病的正常或健康受试者,其中所述标记物包括,但不限于脑钠肽(BNP)、前降钙素(PCT)、C 反应蛋白(CRP)和白介素-6(IL-6)。本领域技术人员知道用于确定正常或健康受试者没有显示潜血 CVD 或炎症性疾病,或者任何本文描述的其他疾病的其他合适标记物。

[0097] 来自受试者(例如,正常或健康受试者)的样品中的人可溶性 ST2 水平的定量在许多情况中都是有用的。在一些实施方案中,可以周期性地定量受试者(例如,正常或健康受试者、发展出疾病的风险增加的受试者、被诊断患有疾病的受试者或者呈现疾病的两种或更多种症状的受试者)的人可溶性 ST2 水平,例如每天、每周、每两周、每月、每两月、每年等,或者周期性的体检。本领域技术人员一种的多种技术中的任何一种,包括文中描述的那些,都可以用于利用本文描述的抗体和抗体的抗原结合片段来对受试者中的人可溶性 ST2 进行定量。

[0098] 在一些实施方案中,对照受试者(例如正常或健康受试者)中的人可溶性 ST2 水平经过定量得到参照水平,以便用于确定受试者不存在 ST2 相关状况、有发展成疾病的风险、或者有一年内死亡的风险。例如,可以定量未患疾病的受试者中的人可溶性 ST2 水平来得到人可溶性 ST2 参照水平,所述疾病是比如,但不限于心血管疾病、心衰、冠状动脉疾病、急性冠状动脉综合征、肾功能不全、中风、肺病、败血症、川崎病或 Th2 相关疾病,或者本文描述的任何其他疾病。

[0099] 在一些实施方案中,本文公开的抗体或抗原结合片段中的至少一个可以用于定量受试者(例如正常或健康受试者)中的人可溶性 ST2 水平。例如,受试者(例如正常或健康受试者)中的人可溶性 ST2 水平可以在免疫分析法中利用至少一种本文描述的抗体或抗原结合片段(例如,与保藏在 ATCC 并指定为专利保藏命名 PTA-10431 或 PTA-104312 的杂交瘤所产生的抗体竞争结合的抗体或片段,或这两种)来定量。

[0100] 在一些实施方案中,对样品中的人可溶性 ST2 水平进行定量以便保证常规操作的再现性、参照范围、临床临界值等。例如可以定量两个或更多个样品(例如参照样品)中的人可溶性 ST2 水平,并评估两个或更多个样品之间人可溶性 ST2 水平的变异系数(“CV”)。此外或者替代地,样品(或受试者)中的人可溶性 ST2 水平可以定量两次或更多次(例如,利用不同批次的参照样品,或者从相同受试者取的不同样),并确定人可溶性 ST2 水平之间的 CV。在一些实施方案中,人可溶性 ST2 水平之间的 CV 小于 20%,例如,小于 19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1% 或更低。

[0101] 在一些实施方案中,提供了确定受试者是否具有正常的人可溶性 ST2 水平的方法。确定受试者是否具有正常的人可溶性 ST2 水平在许多情况中都是有用的。在一些实施方案中,确定受试者是否具有正常的人可溶性 ST2 水平的方法包括分析检测受试者样品(例如,任何以上描述的样品,比如但不限于含有血液、血清或血浆的样品)中的人可溶性 ST2 的水平,其中如果发现样品中的人可溶性 ST2 水平与已知的正常或中值人可溶性 ST2 水

平基本类似;或者如果样品中的人可溶性 ST2 水平落在某个范围内,例如在已知的正常或中值人可溶性 ST2 水平(例如,95% 置信区间或者四分位距,或者任何表 9 中列出的范围)附近,可以确定受试者具有正常的人可溶性 ST2 水平。例如,如果来自受试者的样品经分析检验发现样品中的人可溶性 ST2 水平位于已知正常或中值人可溶性 ST2 水平(例如正常或健康受试者中的中值水平)的 95% 置信区间,可以确定受试者具有正常的人可溶性 ST2 水平。此外或者替代地,如果来自受试者的样品经分析检验发现样品中的人可溶性 ST2 水平位于已知的正常或中值人可溶性 ST2 水平的四分位距,可以确定受试者具有正常的人可溶性 ST2 水平。

[0102] 在一些实施方案中,如果受试者样品中的人可溶性 ST2 水平是大约 18.8ng/mL,可以确定该受试者具有正常的人可溶性 ST2 水平。在一些实施方案中,如果样品中的人可溶性 ST2 水平在大约 14.5-25.3ng/mL 的范围内,可以确定该受试者具有正常的人可溶性 ST2 水平。在一些实施方案中,如果样品中的人可溶性 ST2 水平在大约 18.1-19.9ng/mL 的范围内,可以确定该受试者具有正常的人可溶性 ST2 水平。

[0103] 在一些实施方案中,如果来自受试者的样品中的人可溶性 ST2 水平是大约 16.2ng/mL,可以确定该女性受试者具有正常的人可溶性 ST2 水平。在一些实施方案中,如果样品中的人可溶性 ST2 水平位于表 9 列出的任何范围之内,可以确定该女性具有正常的人可溶性 ST2 水平。

[0104] 在一些实施方案中,如果来自受试者的样品中的人可溶性 ST2 水平是大约 23.6ng/mL,可以确定该男性受试者具有正常的人可溶性 ST2 水平。在一些实施方案中,如果样品中的人可溶性 ST2 水平位于表 9 列出的任何范围之内,可以确定该男性具有正常的人可溶性 ST2 水平。

[0105] 在一些实施方案中,如果受试者样品中的人可溶性 ST2 水平低于阈值(例如,25.3ng/mL,或者 19.9ng/mL(对于女性)或 30.6ng/mL(对于男性)),可以确定受试者(例如,男性或女性受试者)具有正常的可溶性 ST2 水平。

[0106] 提到受试者中的人可溶性 ST2 水平的数值或范围(例如正常的人可溶性 ST2 水平的范围)时使用的术语“大约”或“基本相同”是指参照数值或范围周围的间距,例如为了评估人可溶性 ST2 水平(例如,正常的人可溶性 ST2 水平或患有疾病或者呈现两种或更多种疾病症状的患者群的人可溶性 ST2 水平)的目的,本领域技术人员会认为是等同于参照数值或范围(例如,表 9 中列出的任何范围)的数值或范围。用于本文,当人可溶性 ST2 水平(例如,正常的人可溶性 ST2 水平)的数值或范围位于参照数值或范围的 $\pm 25\%$,例如在数值或范围的 $\pm 20\%$ 、 $\pm 15\%$ 、 $\pm 10\%$ 、 $\pm 9\%$ 、 $\pm 8\%$ 、 $\pm 7\%$ 、 $\pm 6\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 4\%$ 、 $\pm 3\%$ 、 $\pm 2\%$ 或 $\pm 1\%$ 内,则所述数值或范围“大约”是参照数值或范围。

[0107] 在一些实施方案中,至少一或两个本文描述的任意抗体或抗原结合片段可以用于确定受试者是否具有正常的人可溶性 ST2 水平、是否具有与疾病相关的人可溶性 ST2 水平,或者是否具有与发展成疾病的风险增加或者一年内死亡的风险增加相关的人可溶性 ST2 水平。

[0108] 预测一年内死亡风险的方法

[0109] 亦提供了在受试者中预测一年内死亡风险的方法,其包括从受试者获得样品,并使用至少一种本文中所述的抗体或抗体片段确定样品中人可溶性 ST2 的水平。与人可溶

性 ST2 的参照水平相比,样品中升高水平或基本上相同水平的人可溶性 ST2 表明所述受试者在一年内具有增加的死亡风险(例如,相对于在样品中与相同参照水平的 ST2 相比具有减少水平的人可溶性 ST2 的受试者(例如,具有或诊断患有相同疾病的受试者),在一年内具有增加的死亡风险)。与人可溶性 ST2 的参照水平相比,样品中减少水平的人可溶性 ST2 表明所述受试者在一年内具有较低的死亡风险(例如,相对于在样品中与相同参照水平的 ST2 相比具有升高水平或基本上相同水平的人可溶性 ST2 的受试者(例如,具有或诊断患有相同疾病的受试者),在一年内具有较低的死亡风险)。通过本文中所述的方法确定的在一年内的死亡风险水平会取决于疾病状态。

[0110] 在一些实施方案中,受试者未经诊断或未呈现疾病的一种或多种(例如两种、三种、四种或五种)症状。在一些实施方案中,所述受试者经诊断具有疾病(例如心衰,冠状动脉病,心血管疾病,急性冠状动脉综合征,肾功能不全,或中风,或任何本文中所述疾病)。在一些实施方案中,所述受试者具有下述一种或多种(例如一种、两种、三种或四种):高甘油三酯血症,高胆固醇血症,高血压,和 ≥ 30 的体重指数。在一些实施方案中,所述确定使用至少一种(例如两种、三种、四种或物种)本文中所述的抗体或片段进行。

[0111] 在一些实施方案中,所述人可溶性 ST2 的参照水平是人可溶性 ST2 的阈值水平(例如健康患者群体如健康男性患者全体或健康女性患者群体的人可溶性 ST2 的中位水平,或人可溶性 ST2 中位水平的百分位数(例如 75、80、85、90 或 95 百分位数,或任何表 9 中列出的范围或浓度))。在一些实施方案中,所述参照水平可以是未出现与 ST2 水平升高有关的疾病的一或多种症状的患者样品中的人可溶性 ST2 水平。在一些实施方案中,所述参照水平可以是在未诊断具有疾病(例如心衰,冠状动脉病,心血管疾病,急性冠状动脉综合征,肾功能不全,中风,或任何本文中所述疾病)的受试者或鉴定为不具有发生疾病(例如任何本文中所述疾病)风险的受试者的样品中存在的人可溶性 ST2 的水平。其它的参照水平可由本领域技术人员确定。

[0112] 在一些实施方案中,所述人可溶性 ST2 参照水平是约 30ng/mL 至约 35ng/mL。在一些实施方案中,当受试者患有心衰时,人可溶性 ST2 参照水平为约 30ng/mL 至约 35ng/mL。在一些实施方案中,所述人可溶性 ST2 参照水平为约 35ng/mL 或约 60ng/mL。

[0113] 在一些实施方案中,样品含有血、血清或血浆。可获得所述样品,且使用至少一种本文中所述的抗体或片段确定人可溶性 ST2 的水平可如本文中所述进行。

[0114] 确定是否让住院的受试者出院或起始或继续治疗的方法

[0115] 亦提供了确定是否让住院的受试者出院或起始或继续治疗的方法,其包括从受试者获得样品,并使用本文中所述的至少一种(例如两种)抗体或抗体片段确定样品中的人可溶性 ST2 的水平,其中与人可溶性 ST2 的参照水平相比,样品中人可溶性 ST2 的升高水平表明应起始或继续所述受试者的住院治疗(例如医院收容(hospitalization)或收容入辅助护理机构(admittance into an assisted-care facility),而与人可溶性 ST2 的参照水平相比,样品中降低或相同水平的人可溶性 ST2 表明让所述受试者出院。为了确定是否应继续住院治疗,该方法可对于相同受试者进行数次(例如每周进行一次,每周进行两次,每周进行三次,每月进行一次,每月进行两次,每月进行三次,和每月进行四次)。

[0116] 在一些实施方案中,所述受试者未经诊断,未呈现疾病状态的两种或更多种症状,或未鉴定为具有发生疾病(例如任何本文中所述疾病)的风险。在一些实施方案中,所述

受试者经诊断为患有疾病（例如心衰，冠状动脉病，心血管疾病，急性冠状动脉综合征，肾功能不全，中风，或任何本文中所述疾病），呈现疾病（例如任何本文中所述疾病）的一种或多种症状，或经鉴定为具有发生疾病（例如任何本文中所述疾病）的风险。在一些实施方案中，所述受试者具有下述一种或多种（例如一种、两种、三种或四种）：高甘油三酯血症，高胆固醇血症，高血压，和 ≥ 30 的体重指数。在一些实施方案中，所述受试者并未诊断为患有心衰，冠状动脉病，心血管疾病，急性冠状动脉综合征，肾功能不全，或中风，或任何本文中所述疾病。在一些实施方案中，人可溶性 ST2 的水平确定使用至少两种本文中所述的抗体或抗体片段进行。

[0117] 在一些实施方案中，人可溶性 ST2 的参照水平可为任何本文中所述的参照水平。其它人可溶性 ST2 参照水平可由本领域技术人员确定。在一些实施方案中，所述样品含有血、血清或血浆。可获得所述样品，且使用至少一种本文中所述的抗体或片段确定人可溶性 ST2 的水平可如本文中所述进行。

[0118] 选择参与临床研究的受试者的方法

[0119] 亦提供了用于选择参与临床研究的受试者的方法。这些方法包括从受试者获得样品，使用本文中所述的至少一种抗体或抗体片段确定样品中的人可溶性 ST2 的水平，并且如果该受试者的人可溶性 ST2 水平相对于人可溶性 ST2 的参照水平表明应选择该受试者参与临床研究，选择所述受试者参与临床研究。在一些实施方案中，人可溶性 ST2 的升高水平的存在表明应选择该受试者参与临床研究。在一些实施方案中，人可溶性 ST2 的升高水平的存在表明应排除该受试者参与临床研究。

[0120] 在一些实施方案中，所述受试者未经诊断，未呈现疾病（例如任何本文中所述疾病）状态的两种或更多种症状，或未鉴定为具有发生疾病（例如任何本文中所述疾病）的风险。在一些实施方案中，所述受试者经诊断为患有疾病（例如心衰，冠状动脉病，心血管疾病，急性冠状动脉综合征，肾功能不全，中风，或任何本文中所述疾病），呈现疾病（例如任何本文中所述疾病）的一种或多种症状，或经鉴定为具有发生疾病（例如任何本文中所述疾病）的风险。在一些实施方案中，所述受试者具有下述一种或多种（例如一种、两种、三种或四种）：高甘油三酯血症，高胆固醇血症，高血压，和 ≥ 30 的体重指数。所述确定使用至少两种本文中所述的抗体或抗体片段进行。

[0121] 在一些实施方案中，人可溶性 ST2 的参照水平可为任何本文中所述的参照水平。其它人可溶性 ST2 参照水平可由本领域技术人员确定。在一些实施方案中，所述样品含有血、血清或血浆。可获得所述样品，且使用至少一种本文中所述的抗体或片段确定人可溶性 ST2 的水平可如本文中所述进行。

[0122] 选择治疗的方法

[0123] 亦提供了对于受试者选择治疗的方法，其包括从受试者获得样品，并使用本文中所述的至少一种抗体或抗体片段确定样品中的人可溶性 ST2 的水平，其中与人可溶性 ST2 的参照水平相比，样品中人可溶性 ST2 的升高水平表明应对受试者提供特定治疗。举例而言，所述特定治疗可选自下组：亚硝酸盐、钙通道阻断剂、利尿剂、血栓溶解剂、洋地黄、肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS) 调节剂（例如 β -肾上腺素能阻滞剂（例如阿普洛尔 (alprenolol)、布新洛尔 (bucindolol)、卡替洛尔 (carteolol)、卡维地洛 (carvedilol)、拉贝洛尔 (labetalol)、纳多洛尔 (nadolol)、喷布洛尔 (penbutolol)、咧

哌洛尔 (pindolol)、普萘洛尔 (propanolol) (inderal)、索他洛尔 (sotalol)、噻吗洛尔 (timolol)、醋丁洛尔 (acebutolol)、阿替洛尔 (atenolol)、倍他洛尔 (betaxolol)、比索洛尔 (bisoprolol)、塞利洛尔 (celiprolol)、艾司洛尔 (esmolol)、美托洛尔 (metoprolol) 和 萘必洛尔 (nebivolol)、血管紧张素转化酶抑制剂 (例如贝那普利 (benazepril)、卡托普利 (captopril)、依那普利 (enalopril)、福辛普利 (fosinopril)、赖诺普利 (lisinopril)、莫昔普利 (moexipril)、培哌普利 (perindopril)、喹那普利 (quiapril)、雷米普利 (ramipril) 和 群多普利 (trandolapril)), 醛甾酮拮抗剂 (例如螺内酯 (spironolactone)、依普利酮 (eplerenone)、坎利酮 (canrenone) (canrenoatepotassium)、prorenone (prorenoate potassium) 和 mexrenone (mexrenoatepotassium))、肾素抑制剂 (例如阿利吉仑 (aliskiren)、瑞米吉仑 (remikiren) 和 依那吉仑 (enalkiren))、和血管紧张素 II 受体阻滞剂 (例如缬沙坦 (valsartan)、替米沙坦 (telmisartan)、氯沙坦 (losartan)、厄贝沙坦 (irbesartan) 和 奥美沙坦 (olmesartan))、和降胆固醇剂 (例如抑制素)。其它用于治疗的方法在本领域中也是已知的,例如 Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine, Single Volume, 9th Edition。具体治疗亦可为向受试者施用至少一种或多种治疗剂,改变 (例如增加或减少) 向受试者施用的一种或多种治疗剂的频率、剂量或长度,或从患者的治疗方案中去除至少一种或多种治疗剂。所述治疗亦可为受试者的住院护理 (例如将受试者收容或重新收容至医院 (例如重症监护或危症监护单元) 或辅助护理机构)。在一些实施方案中,所述治疗是手术 (例如器官或组织移植或血管成形术)。

[0124] 在一些实施方案中,所述人可溶性 ST2 的参照水平可为任何本文中所述的参照水平。其它人可溶性 ST2 参照水平可由本领域技术人员确定。在一些实施方案中,所述样品含有血、血清或血浆。可获得所述样品,且使用至少一种本文中所述的抗体或片段确定人可溶性 ST2 的水平可如上所述进行。

[0125] 诊断受试者的方法

[0126] 本文中所述的方法可用于广泛种类的临床背景。举例而言,此类方法可用于一般性群体筛选 (general population screening),包括由医师筛查,例如在医院和门诊诊所中,以及急诊室中。

[0127] 在一些实施方案中,本文中所述的方法可用于确定受试者中疾病存在的可能性。增加水平的人可溶性 ST2 通常与某些疾病的存在相关,所述疾病如但不限于:心血管疾病,肺病,败血病,川崎病,和 Th2 相关疾病,以及任何本文中所述的其它疾病。

[0128] Th2 相关疾病是与异常 2 型 T 辅助细胞 (Th2) 应答相关的疾病。Th2 相关疾病由数个因素表征,包括但不限于 TNF- α 、IL-4、-5、-6、-10 和 -13,但非 IFN- γ 的存在 (Robinson, J. Allergy Clin. Immunol. 92:313, 1993)。CD4+T 细胞根据其分泌的细胞因子分类。Th2 细胞分泌大量白介素 -4 (IL-4), IL-5 和 IL-13,其促进 B 细胞的抗体产生和成纤维细胞的胶原合成,而 Th1 细胞分泌大量干扰素 - γ 和相关的促炎症细胞因子。Th1 型和 Th2 型的细胞因子可交叉调节彼此的应答。认为 Th1/Th2 的失衡导致数种感染、变态反应和自身免疫性疾病的发病。某些示例性 Th2 相关疾病包括但不限于,系统性红斑狼疮和哮喘,以及主要独立于 Th2 应答的炎性病状 (inflammatory conditions),如感染性休克或外伤 (Trajkovic 等, Cytokine Growth Factor Rev. 15:87-95, 2004; Brunner 等, Intensive

Care Med. 30:1468-1473, 2004)。其它示例性 Th2 相关疾病包括先兆子痫和多发性硬化。在一些实施方案中, Th2 相关疾病是自身免疫性疾病。自身免疫性疾病通常在当受试者的免疫系统针对一种或多种受试者的组分(细胞、组织或不含细胞/组织的分子)活化,并攻击该受试者自身的正常器官、组织或细胞时发生。示例性自身免疫性疾病包括但不限于肾上腺素能药抗性(adrenergic drug resistance),斑秃(alopecia areata),强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis),抗磷脂综合征(antiphospholipidsyndrome),自身免疫性阿狄森病(autoimmune Addison's disease),肾上腺的自身免疫性疾病(autoimmune diseases of the adrenal gland),变应性脑脊髓炎(allergic encephalomyelitis),自身免疫性溶血性贫血(autoimmune hemolytic anemia),自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis),自身免疫性炎性眼病(autoimmune inflammatory eye disease),自身免疫性新生儿血小板减少症(autoimmune neonatal thrombocytopenia),自身免疫性嗜中性白血球减少症(autoimmune neutropenia),自身免疫性卵巢炎和睾丸炎(autoimmune oophoritis and orchitis),自身免疫性血小板减少(autoimmune thrombocytopenia),自身免疫性甲状腺炎(autoimmune thyroiditis),贝切特病(Behcet's disease),大疱性类天疱疮(bullous pemphigoid),心肌病(cardiomyopathy),心内血回收综合征(cardiotomy syndrome),口炎性腹泻-皮炎(celiac sprue-dermatitis),慢性活动性肝炎(chronic active hepatitis),慢性疲劳免疫功能障碍综合征(chronic fatigue immune dysfunction syndrome (CFIDS)),急性炎性脱髓鞘性多神经病(chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy),丘-施二氏综合征(Churg-Strauss syndrome),疤痕性类天疱疮(cicatricial pemphigoid),CREST 综合征(CREST syndrome),冷凝集素病(cold agglutinin disease),克罗恩病(Crohn's disease),致密沉积物病(dense deposit disease),与来自器官移植作用相关的疾病(diseases associated with effects from organ transplantation),盘状狼疮(discoid lupus),特发性混合型冷沉淀球蛋白血症(essential mixed cryoglobulinemia),纤维肌痛-纤维肌炎(fibromyalgia-fibromyositis),肾小球肾炎(glomerulonephritis 例如 IgA 肾病(IgA nephropathy)),麸胶敏感性肠病(gluten-sensitive enteropathy),古德帕斯丘综合征(Goodpasture's syndrome),移植物抗宿主病(graft vs. host disease (GVHD)),格雷夫斯病(Graves' disease, 包括例如格雷夫斯甲状腺炎(Graves thyroiditis)和格雷夫斯眼病(Graves ophthalmopathy)),格-巴二氏多神经炎(Guillain-Barre),甲状腺功能亢进症(hyperthyroidism, 即桥本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)),特发性肺纤维变性(idiopathic pulmonary fibrosis),特发性阿狄森病(idiopathic Addison's disease),特发性血小板减少性紫癜(idiopathic thrombocytopenia purpura (ITP)), IgA 神经病(IgA neuropathy),胰岛素耐受综合征(Insulin Resistance Syndrome),幼年型关节炎(juvenile arthritis),扁平苔藓(lichen planus),红斑性狼疮(lupus erythematosus),梅尼尔病(Meniere's disease),代谢综合征(Metabolic Syndrome),混合性结缔组织病(mixed connective tissue disease),多发性硬化(multiple sclerosis),重症肌无力(Myasthenia Gravis),心肌炎(myocarditis),糖尿病(diabetes, 例如 I 型糖尿病(Type I diabetes)或 II 型糖尿病(diabetes)),神经炎(neuritis),其它内分泌腺衰竭(other endocrine gland failure),寻常型天疱疮(pemphigus vulgaris),恶性贫血(pernicious

anemia), 结节性多动脉炎 (polyarteritis nodosa), 多软骨炎 (polychondritis), 多内分泌腺病 (Polyendocrinopathies), 多腺性综合征 (polyglandular syndromes), 风湿性多肌痛 (polymyalgia rheumatica), 多肌炎和皮肌炎 (polymyositis and dermatomyositis), 心肌梗塞后心包炎 (post-myocardial infarction), 原发性无丙种球蛋白血症 (primary agammaglobulinemia), 原发性胆汁性肝硬变 (primary biliary cirrhosis), 银屑病 (psoriasis), 银屑病关节炎 (psoriatic arthritis), 雷诺现象 (Raynaud's phenomenon), 复发性多软骨炎 (relapsing polychondritis), 莱特尔综合征 (Reiter's syndrome), 风湿性心脏病 (rheumatic heart disease), 风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis), 结节病 (sarcoidosis), 硬皮病 (scleroderma), 口腔干燥 - 风湿性关节炎综合征 (Sjogren's syndrome), 僵体综合征 (stiff-man syndrome), 系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus), 大动脉炎 (Takayasu arteritis), 颞动脉炎 / 巨细胞动脉炎 (temporal arteritis / giant cell arteritis), 溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis), 荨麻疹 (urticaria), 葡萄膜炎 (uveitis), 眼葡萄膜炎 (uveitis ophthalmia), 血管炎 (vasculitides) 如疱疹样皮炎血管炎 (dermatitis herpetiformis vasculitis), 白癜风 (vitiligo), 和韦格纳肉芽肿病 (Wegener's granulomatosis)。

[0129] 心血管疾病是心脏和血管的病症, 并包括动脉、静脉、微动脉和毛细血管的病症。由本文中所述方法诊断的心血管疾病可包括但不限于充血性心衰 (congestive heart failure, HF), 急性冠状动脉病 (acute coronary artery disease, CAD), 心律失常 (arrhythmia), 不对称性室中隔肥大 (asymmetric septal hypertrophy) (例如左心室肥大伴随舒张期功能障碍 (left ventricular hypertrophy with resultant diastolic dysfunction)), 心肌病 (cardiomyopathy), 瓣膜功能障碍 (valvular dysfunction), 心包炎 (pericarditis), 动脉粥样硬化 (atherosclerosis), 和急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, MI)。

[0130] 肺病是肺的病症。由本文中所述的方法诊断的肺病可包括但不限于), 慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease (COPD)), 哮喘 (asthma), (pneumonia), 气胸 (pneumothorax), 肺栓塞 (pulmonary embolism), 晚期呼吸窘迫综合征 (advanced respiratory distress syndrome (ARDS)), 胸腔积液 (pleural effusion), 转移性疾病 (metastatic disease), 肺水肿 (pulmonary edema), 胃食管返流疾病伴吸引术 (gastroesophageal reflux disease with aspiration), 间质性纤维化 (interstitial fibrosis), 肺尘埃沉着病 (pneumoconiosis), 肉芽肿病 (granulomatous disease), 胶原血管病 (collagen vascular disease), 和限制性肺疾病 (restrictive lung disease)。

[0131] 若受试者具有人可溶性 ST2 的升高水平, 例如与参照水平相比升高, 则可作出积极治疗受试者的决定, 且所述受试者可由医院收容以供住院治疗, 例如在医院 (例如急症监护或危症监护单元) 或辅助护理机构中。确定受试者是否患有疾病如心血管疾病或肺病, 败血病, 川崎病, 或 Th2 相关疾病, 或任何本文中所述疾病, 在多种情况下是需要的。举例而言, 便携式测试试剂盒可允许急救医疗人员在当场衡量受试者, 以确定是否应将其运送至急诊科。而且, 伤员检别分类决定 (triage decision), 如在急诊科或其它临床情形中的伤员检别分类决定, 亦可基于由本文中所述方法提供的信息作出。呈现增加的人可溶性 ST2 水平的那些患者应相对于具有较低水平的那些患者优先处置。

[0132] 在一些实施方案中,人可溶性 ST2 的水平确定一次,例如,当怀疑受试者患有疾病时(例如,当交付予医学从业人员或健康护理设施时)。在一些实施方案中,人可溶性 ST2 的水平在怀疑受试者患有疾病(例如,当交付予医学从业人员或健康护理设施时)之后 2、4、6、8、12、18 和 / 或 24 小时,和 / 或 1-7 日或更久中的一个或多个时点确定。

[0133] 在一些实施方案中,人可溶性 ST2 的水平的确定多于一次。在一些实施方案中,当人可溶性 ST2 的水平的确定多于一次时,可使用最高水平,或可确定并使用水平之间的变化。人可溶性 ST2 的水平亦可确定多次以衡量受试者对治疗的响应。举例而言,可将在施用治疗(例如一剂或多剂或一轮或多轮治疗)之后获取的人可溶性 ST2 水平与在起始治疗之前的人可溶性 ST2 的水平(例如基线水平)相比较。人可溶性 ST2 水平之间的变化会表明治疗是否有效,例如,人可溶性 ST2 水平的减少会表明治疗是有效的。

[0134] 在一些实施方案中,测定受试者中人可溶性 ST2 的水平并与人可溶性 ST2 参照水平相比较。任何本领域技术人员已知的多种技术可用于测定受试者中的人可溶性 ST2 水平。示例性测定方法包括但不限于,本领域已知方法如定量 PCR 或 Northern 印迹分析。在一些实施方案中,受试者中人可溶性 ST2 的水平使用免疫分析法如酶联免疫吸附分析(ELISA)测定。举例而言,在一些实施方案中,将抗体或其抗原结合片段与来自受试者的样品相接触。样品可包含或来源于任何受试者的多种细胞或组织。举例而言,样品可含有血、血清或血浆中的一种或多种。然后,检测并任选地定量抗体或抗体片段的结合,并基于抗体或抗体片段结合的水平确定蛋白质水平。在一些实施方案中,样品基本上不含 ST2 蛋白质的 ST2L 形式,使得根据本文中公开的方法检测出的样品中的 ST2 的大多数是人可溶性 ST2。在一些实施方案中,样品不含可检测的 ST2L,使得样品中仅有的可检测的 ST2 是人可溶性 ST2。在一些实施方案中,基本上不含 ST2L,或不含可检测的 ST2L 的样品,是血清或血样品。在一些实施方案中,使用至少一种本文中所述的抗体或抗原结合片段在免疫分析法中测定受试者中的人可溶性 ST2 水平。

[0135] 如下文实施例部分更加详细地叙述,包含由在 ATCC 保藏并赋予专利保藏号 PTA-10431 的杂交瘤产生的抗体的抗体组合物相对于其它商业上可获得的抗体,对人可溶性 ST2 抗原呈现增加的亲和力。此类抗体可依照本文中所述方法使用。

[0136] 本文中所述方法可用于确定受试者不患有 ST2 相关病状。ST2 相关病状是与升高水平的 ST2 相关的病状。某些示例性的 ST2 相关病状包括但不限于心血管疾病,肺病,败血病,川崎病,和 Th2 相关疾病。ST2 相关病状通常是严重的,且通常要求积极治疗。呈现某些非特异性症状的受试者可能患有或未患有 ST2 相关病状(例如心血管疾病,肺病,败血病,川崎病,或 Th2 相关疾病)。非特异性症状包括但不限于胸痛或不适,呼吸急促,恶心,呕吐,暖气(eructation),流汗,心悸,头晕,疲劳和昏厥。每个症状可具有不同的病因。

[0137] 在一些实施方案中,本文中所述的方法可用于风险分层(riskstratification),例如,确定受试者具有低严重性或低风险形式的 ST2 相关病状。举例而言,某些患有心血管疾病(例如心肌梗死或心衰)的受试者具有不利后果(如死亡或复发心脏事件)的风险低,并呈现较低浓度的人可溶性 ST2,是与患有心血管疾病、且不利后果的风险高的受试者中观察到的相比。此类受试者可视为具有“低严重性”或“低风险”形式的 ST2 相关心血管病状。然而,无论在高风险还是在低风险群体中,均观察到与在未患有 ST-2 相关病状的受试者中观察到的相比较高浓度的人可溶性 ST2。患有低严重性形式的 ST2 相关病状的受

试者通常具有高于人可溶性 ST2 参照水平（例如健康或正常个体的人可溶性 ST2 中位浓度）的人可溶性 ST2 浓度，而患有高严重性形式的 ST2 相关病状的受试者通常具有高于人可溶性 ST2 参照水平（例如健康或正常个体中观察到的人可溶性 ST2 浓度）的 80% 的人可溶性 ST2 浓度。确定呈现某些非特异性症状的受试者并不患有，或患有低严重性形式的 ST2 相关病状，可导致改善的诊断和 / 或更加有效的治疗决策，例如此种受试者可能不需要积极治疗。举例而言，在急性心肌梗死之后人可溶性 ST2 浓度升高的患者与人可溶性 ST2 浓度低的患者相比呈现更多的心重塑 (cardiac remodeling) (增加的纤维化)，而且在呈现人可溶性 ST2 高浓度的受试者中，依普利酮差异化地减弱心重塑 (Weir 等, J. Am. Coll. Cardiol. 55:243-250, 2010)。因此，可使用人可溶性 ST2 浓度鉴定哪个患者应接受不同的，可能是非标准的住院治疗，或更加积极的治疗。

[0138] 胸痛

[0139] 胸痛在约 1% 至 2% 的门诊病人中是主要的抱怨，且尽管原因通常不是心源性的，心脏疾病仍为在美国死亡的最主要原因。因此，区分胸痛的严重和良性原因是至关重要的。本文中所述的方法可用于作出这种决定。

[0140] 出现在急诊科的具有胸痛的受试者可患有食道痛，溃疡，急性肺障碍 (lungproblem) 如肺栓塞 (PE) (潜在致命的)，破裂的或剖开的动脉瘤 (高度致命的)，胆囊发作 (gall bladder attack)，心包炎 (围绕心脏的包囊的验证)，心绞痛 (无损伤的心脏疼痛)，或心肌梗死 (潜在致命的)。精确的诊断可能无法立即作出，但是否收容受试者或积极治疗受试者的决策通常应立即作出。若本文中所述的方法表明该受试者具有升高的可溶性 ST2 水平，例如，罹患 ST2 相关病状，可作出积极处理受试者的决定，例如，以避免因缺乏治疗导致的潜在不利后果。其它关于胸痛的治疗和诊断的信息可见于，例如 Cayley (Am. Fam. Phys. 72(10):2012-2028, 2005)。

[0141] 呼吸困难

[0142] 呼吸困难，或呼吸急促 (亦定义为异常或不适的呼吸)，是出现在急诊科的受试者的常见症状。对于呼吸困难的鉴别诊断包括四大类：(1) 心源性，(2) 肺源性，(3) 混合的心源性和肺源性，和 (4) 既非心源性亦非肺源性。

[0143] 心源性呼吸困难的原因包括右、左或双心室充血性心衰伴以其导致的收缩期功能障碍，冠状动脉病，近期或远期心肌梗死，心肌病，瓣膜功能障碍，左心室肥大伴以其导致的收缩期功能障碍，不对称性室中隔肥大，心包炎，和心律失常。

[0144] 肺源性原因包括阻塞性 (例如慢性阻塞性肺病 (COPD) 和哮喘) 和限制性过程 (例如肺外原因如肥胖，脊柱或胸壁急性，和内在性肺病理学 (intrinsic pulmonary pathology)，如间质性纤维化，肺尘埃沉着病，肉芽肿病，或胶原血管病)。混合的心源性和肺源性病状包括 COPD 伴以肺动脉高压和肺源性心脏病，去条件化 (deconditioning)，肺栓塞，ARDS，和外伤。既非心源性亦非肺源性病症包括代谢病状如贫血、糖尿病酮症酸中毒和其它较不常见的原因，包括代谢性酸中毒，胸壁或身体其它位置的疼痛，和神经肌肉障碍如多发性硬化和肌营养不良。阻塞性鼻喉问题 (Obstructive rhinolaryngeal problem) 包括由于息肉或鼻中隔偏曲导致的鼻阻塞，扩大的扁桃体，和声门上或声门下气道狭窄 (supraglottic or subglottic airway stricture)。

[0145] 呼吸困难亦可作为精神疾病的肉体表现而呈现，例如焦虑症，其导致通气

过度。关于呼吸困难的衡量和治疗的信息可见于,例如 Morgan 和 Hodge, Am. Fam. Phys. 57(4):711-718, 1998。

[0146] 任何本文中公开的抗体或抗原结合片段可用于确定患者不患有 ST2 相关病状。在一些实施方案中,测定受试者中的人可溶性 ST2 的水平(例如通过上述任一种方法)并与人可溶性 ST2 参照水平比较。若受试者中人可溶性 ST2 的水平类似于人可溶性 ST2 参照水平,可确定受试者具有非常低的患有 ST2 相关病状的可能性。当受试者中人可溶性 ST2 的水平与人可溶性 ST2 参照水平在范围上充分接近时,这两者是“类似的”,该受试者不太可能患有 ST2 相关病状。通常,当受试者中人可溶性 ST2 的水平与人可溶性 ST2 参照水平彼此相差约 25% 以内,例如约 25%, 20%, 15%, 10%, 5% 或更低以内时,这两者是“类似的”。本领域技术人员对于所讨论的 ST2 相关病状能够确定合适的人可溶性 ST2 参照水平。本领域技术人员亦会知道此类人可溶性 ST2 水平的正常差异,且当阅读本公开时,能够确定人可溶性 ST2 水平是否类似于人可溶性 ST2 参照水平。

[0147] 在一些实施方案中,人可溶性 ST2 水平确定一次,例如,当怀疑受试者患有 ST2 相关病状时进行确定。在一些实施方案中,人可溶性 ST2 水平在怀疑受试者患有 ST2 相关病状之后 2、4、6、8、12、18 和 / 或 24 小时,和 / 或 1-7 日或更久中的一个或多个时点确定。在一些实施方案中,人可溶性 ST2 的水平确定进行多于一次,例如以确认或检查在第一次测定中确定的人可溶性 ST2 的水平。

[0148] 在一些实施方案中,本文中所述的人可溶性 ST2- 结合抗体及其抗原结合片段可用于一种或多种描述于美国专利申请公开号 US 2007/0248981, US2009/0264779, US 2009/0305265, 和 US 2010/0009356, 以及 PCT 申请公开号 W02007/131031 的方法。

[0149] 在一些实施方案中,在受试者中诊断疾病的方法包括从受试者获得样品,使用至少一种本文中所述的抗体或片段确定样品中人可溶性 ST2 的水平,并确定至少一种(例如两种,三种,四种或五种)其它标志物的水平,其中与人可溶性 ST2 的参照水平相比,样品中人可溶性 ST2 的升高水平,以及相对于参照水平的所述至少一种(例如两种,三种,四种或五种)其它标志物,改变(例如增加或减少)水平的所述至少一种(例如两种,三种,四种或五种)其它标志物,表明该受试者患有疾病(例如心血管疾病,肺病,败血病,川崎病,或 Th2 相关疾病,或任何其它本文中所述疾病)。至少一种其它标志物的参照水平可为未诊断为患有所述疾病的受试者中所述标志物的水平,未呈现具有所述疾病的两种或更多种症状的受试者、不具有发生所述疾病的风险的受试者中所述标志物的水平,或较早时点相同受试者中的水平。其它的标志物在本领域中是已知的,且用于确定其它标志物的参照水平的方法可由本领域技术人员确定。

[0150] 在一些实施方案中,人可溶性 ST2 的参照水平可为任何本文中所述的参照书评。其它人可溶性参照水平可由本领域技术人员确定。在一些实施方案中,所述样品含有血、血清或血浆。可获得所述样品,且使用至少一种本文中所述的抗体或片段确定人可溶性 ST2 的水平可如上所述进行。

[0151] 治疗方法

[0152] 在一些实施方案中,将 ST2- 结合抗体或其抗原结合片段施用于受试者以治疗任意的多种疾病或病状(例如任何本文中所述的疾病)。举例而言,人可溶性 ST2 水平在患有疾病的受试者中升高,所述疾病如但不限于心血管疾病,肺病,败血病,川崎病,和 / 或 Th2

相关疾病。任何人可溶性 ST2- 结合抗体或其抗原结合片段,以及基于此类抗体或片段的修饰的抗体或抗原结合片段(例如人、嵌合或人源化抗体或片段),可用于治疗此类疾病或病状。

[0153] 在一些实施方案中,向受试者施用抗体或其抗原结合片段,所述抗体或片段竞争性结合于由在 ATCC 保藏并授予保藏号 PTA-10431 或 PTA-104312 或两者皆是杂交瘤产生的抗体。在一些实施方案中,向受试者施用本文中所述的抗体或抗原结合片段,所述抗体或片段是人、嵌合或人源化的。如本领域中已知,此类人、嵌合或人源化抗体和片段与非人、非嵌合或非人源化抗体相比通常免疫原性较低。因此,此类人、嵌合或人源化抗体提供了治疗上的益处,如但不限于,减少的副作用发生率,对增加剂量的耐受性,以及改善的药代动力学和/或药效学性质。在一些实施方案中,待施用于受试者的人、嵌合或人源化抗体或片段来源于由在 ATCC 保藏并授予保藏号 PTA-10431 或 PTA-104312 或两者皆是杂交瘤产生的抗体。举例而言,可将此类抗体的重链和/或轻链可变区连接于人恒定区或其片段以构建嵌合抗体或片段。或者,可将此类抗体的一个或多个 CDR(例如每个 CDR)插入一个或多个框架区以构建人源化抗体或片段。

[0154] 在一些实施方案中,将抗人可溶性 ST2 抗体或人可溶性 ST2 结合抗体片段直接施用于受试者。可将抗人可溶性 ST2 抗体或片段以有效量,以实现所需结果必需的剂量和期限来施用。举例而言,抗体或片段的治疗上有活性的量可根据如受试者的疾病状态、年龄、性别和重量,以及抗体或片段在受试者中引发所需响应的能力等因素而变动。可调整剂量方案以提供最佳治疗响应。举例而言,可每日施用数个分开的剂量,或所述剂量可如治疗情况的紧迫性所示而成比例减少。本领域技术人员会知道适于向受试者施用抗人可溶性 ST2 抗体或片段的剂量和给药方案。参见,例如 Physicians' Desk Reference, 63rd edition, Thomson Reuters, November 30, 2008。

[0155] 本文中所述的抗人可溶性 ST2 抗体或人可溶性 ST2- 结合抗体片段可配制成供以任何可能的路径递送,所述路径包括但不限于肠胃外(例如静脉内)、皮内、皮下、经口、经鼻、经支气管、经眼、透皮(局部)、透粘膜、直肠和阴道路径。抗体或片段可包含递送剂(例如阳离子聚合物,肽分子转运蛋白,表面活性剂等)与药学上可接受的载体的组合。如用于本文中术语“药学上可接受的载体”包括与药物施用相容的溶剂、分散介质、包被、抗细菌和抗真菌剂、等张和吸收延迟剂等等。亦可将补充性活性化合物掺入含有本文中所述的抗体或其抗原结合片段的药物制剂。

[0156] 试剂盒

[0157] 本文中亦提供试剂盒,其含有试剂,所述试剂包含至少一种(例如至少两种、三种、四种或五种)本文中所述的抗人可溶性 ST2 抗体或抗原结合片段。试剂盒通常包含下述主要成分:包装,含上述结合组合物的试剂,任选地还有对照,以及说明书。包装可以是盒样结构,以容纳含有所述结合组合物的小瓶(或多个小瓶),含有对照的小瓶(或多个小瓶),和使用本文所述方法的说明书。本领域技术人员可容易地修饰包装以适应各种需求。

[0158] 在一些实施方案中,本文中提供的试剂盒可含有至少一种(例如至少两种、三种、四种或五种)本文中所述的任何抗体或抗原结合片段。举例而言,试剂盒可含有至少一种(例如至少两种、三种、四种或物种)抗体或其抗原结合片段,所述抗体或片段与由在 ATCC 保藏并授予保藏号 PTA-10431 或 PTA-104312 或两者的杂交瘤产生的抗体竞争性结合。

[0159] 在一些实施方案中,本文提供的试剂盒含有至少一种(例如至少两种、三种、四种或五种)本文所述的抗人可溶性 ST2 抗体或抗原结合片段,以及检测抗体或抗原结合片段与人可溶性 ST2 结合的一种或多种试剂。举例而言,所述试剂盒可设计用于化学发光微颗粒免疫分析(CMIA),如 Abbot Diagnostics(Abbott Park, IL) 的 ARCHITECT 试验,并因此可含有包被抗 BNP 抗体的顺磁性微颗粒,和包被抗人可溶性 ST2 抗体的顺磁性微颗粒。将这些微颗粒与样品相接触,样品中存在的人可溶性 ST2 可结合于包被的微颗粒。任选地,可将样品分为至少两个等分试样,且可将每种类型的微颗粒与不同的等分试样相接触。在洗涤之后,可添加抗人可溶性 ST2 吡啶标记的偶联物以在第二步中生成反应混合物。在另一轮洗涤后,将预触发液和触发液添加至反应混合物。测量所得的化学发光反应,例如使用 ARCHITECT i System optics(AbbotDiagnostics, Abbott Park, Illinois) 来测。样品中人可溶性 ST2 的量和检测到的化学发光之间存在直接关联。

[0160] 在一些实施方案中,本文中提供的试剂盒含有至少一种(例如至少两种、三种、四种或五种)本文中所述的抗人可溶性 ST2 抗体或抗原结合片段,和一种或多种用于通过固相分析检测人可溶性 ST2 的固相免疫测定组分。固相免疫测定使用固体支持物,其上结合配体-受体对的一个成员,例如抗体或其抗原结合片段。固体支持物的非限定性实例包括平板,试管,聚苯乙烯珠,和多种多孔材料如例如尼龙、硝酸纤维素、醋酸纤维素、和玻璃纤维。参见,例如美国专利号 4,703,017 ;4,743,560 ;和 5,073,484。在一些实施方案中,试剂盒包含供固相免疫测定的组分,其中将固相结合抗体或其抗原结合片段(例如抗人可溶性 ST2 抗体或其抗原结合片段)与含有感兴趣的分析物(例如人可溶性 ST2)的样品相接触,其后洗涤固相以去除未结合的材料。

[0161] 在一些实施方案中,试剂盒含有用于流过物固相免疫测定的组分。流过物固相免疫测定消除了对其它类型固相免疫测定涉及的温育和洗涤步骤的需要。多种流过物固相免疫测定在本领域中是已知的。举例而言,美国专利号 4,632,901 公开了流过物免疫测定,其中将抗体(对靶抗原分析物具特异性)结合于多孔膜或滤纸,并对其添加液体样品。当液体流动过膜时,靶分析物结合于抗体。添加样品之后,添加标记的抗体。标记的抗体的肉眼检测提供对样品中是否存在靶抗原分析物的指示。而且美国专利号 5,229,073 描述了半定量的竞争性免疫测定侧流方法,其采用多个含有固定化的抗体的捕捉区或线以供测量血浆脂蛋白水平。其它用于检测分析物的侧流测试的实例公开于美国专利号 4,168,146 ;4,366,241 ;4,703,017 ;4,855,240 ;4,861,711 ;和 5,120,643 ;欧洲专利号 0296724 ;WO 97/06439 ;和 WO 98/36278。本领域技术人员会知道其它合适的固相免疫测定方法或装置,并能够在此类方法和装置中使用一种或多种本文中所述的抗人可溶性 ST2 抗体和抗原结合片段。

[0162] 在一些实施方案中,可使用其它检测方法,例如,比色法测定,放射免疫分析,或化学发光测定。亦可使用夹心测定,例如,使用两种单克隆抗体,其一用碘 125 标记,而将另一个吸附于珠,例如,如 CISBIO International(France) 的 IRMA-BNP2 试剂盒,和 ShionoRIA BNP 或 ANP 试剂盒(SHIONOGIUSA Inc.) 中用的那样。

[0163] 本文中提供的试剂盒可依照任何如上所述的方法(例如诊断方法)使用。举例而言,含有至少一种(例如,至少两种、三种、四种或五种)本文中所述的抗人可溶性 ST2 抗体或其抗原结合片段的试剂盒可用于确定样品中人可溶性 ST2 的水平。而且,含有至少一种

(例如,至少两种、三种、四种或五种)抗人可溶性 ST2 抗体或其抗原结合片段的试剂盒可用于确定人可溶性 ST2 参照水平。本领域技术人员会知道对于其它本文中提供的试剂盒合适的用途,并能够将所述试剂盒用于该用途。

[0164] 在所述试剂盒的一些实施方案中,至少一种(例如,至少一种、二种、三种或四种)抗体或片段对于结合至人可溶性 ST2 具有等于或小于 $8.59 \times 10^{-10} \text{M}$ 的 K_D 。在所述试剂盒的一些实施方案中,所述试剂盒作为酶联免疫吸附分析提供。所述试剂盒的一些实施方案进一步含有从人细胞(例如人胚胎肾细胞)分离的重组人可溶性 ST2。所述试剂盒的一些实施方案进一步含有完全糖基化的人可溶性 ST2(例如存在于细胞提取物中或作为分离的蛋白质提供)。

实施例

[0165] 本发明进一步描述于下述实施例中,其不构成对权利要求中所述的发明范围的限制。

[0166] 实施例 1:抗 ST2 单克隆抗体的产生和表征

[0167] 针对人可溶性 ST2(sST2)蛋白质的单克隆抗体由小鼠产生,所述小鼠接种了从人 sST2 cDNA 序列产生的重组蛋白。

[0168] 抗原的产生和确认:人 sST2 cDNA 克隆, GeneBank 登录号 NM_003856.2, 购自 Rockville, MD 的 Origene Technologies, Inc.。使用标准的 PCR 技术,用该克隆作源序列以构建表达载体,其包含整个人可溶性 ST2 序列,有六组氨酸的纯化标记物掺入该蛋白质的氨基端区。表达克隆的完整性通过 DNA 测序确认。重组蛋白通过在人胚胎肾细胞(HEK293)中的瞬时转染和表达产生。重组人可溶性 ST2 蛋白通过将细胞裂解物穿过金属螯合物柱(其特异性结合掺入表达蛋白的所述组氨酸纯化标记物)纯化。重组人可溶性 ST2 的纯化通过考马斯染色的聚丙烯酰胺凝胶和通过使用商业上可获得的抗 ST2 抗体(从 MBL International 获得的单克隆抗体 D067)和抗 His 标记抗体的 Western 印记分析来确认。参见,图 1, 2 和 3A-3C。所述蛋白质自身基于氨基酸序列具有 36kD 的分子量, Kuroiwa 等 (Biochem. Biophys. Res. Comm. 284:1104 - 1108, 2001) 显示人血清中的该天然蛋白具有 ~58kD 的分子量。从该表达系统产生的纯化的重组蛋白具有完全糖基化蛋白质相应的分子量 ~58kD, 并可被商业上可获得的抗 ST2 抗体进行相应地识别。定量是通过 Bradford 总蛋白测定来进行。

[0169] 杂交瘤和单克隆抗体的产生:单克隆抗体通过用如上所述产生的重组蛋白质免疫接种小鼠来产生。将三只 Balb/c 小鼠如下所述进行免疫接种:

[0170] T1 20 μ g/ 动物, 配以 CFA(弗氏完全佐剂)

[0171] T1+3 日 20 μ g/ 动物, 配以 IFA(弗氏不完全佐剂)

[0172] T1+6 日 20 μ g/ 动物, 盐水中

[0173] T1+9 日 20 μ g/ 动物, 盐水中

[0174] 在最终免疫接种之后,通过从每只动物尾部取血来确定抗体效价。用具有最高抗体效价的动物进行脾融合并建立杂交瘤。在将杂交瘤建成 96 孔板中的稳定细胞培养物之后,筛选其与重组人可溶性 ST2 蛋白的结合以及与含有六 his 纯化标记物的通用蛋白(generic protein)的结合,以消除对该标记物特异的杂交瘤。选择两个杂交瘤进行进一

步的表征和产品开发 :7E4 和 9F8。测试这两种单克隆抗体对重组人可溶性 ST2 抗原的敏感度,即用一致量的各抗体 9F8 和 7E4 包被 96 孔微滴定板的各个孔,然后针对生物素偶联的重组人可溶性 ST2 的 3 倍系列稀释(浓度范围为 300 至 0.41ng/mL)进行测试(参见图 4)。

[0175] 两种抗体表现出类似的分析物敏感度,其中在测试的最低分析物浓度 0.41ng/mL 处观察到非常强的吸收值 ~ 1.0 。此外,将两种抗体均以 5 μ g/mL 至 0 范围的浓度包被于 96 孔板的各个孔,并针对单个浓度的生物素偶联重组人可溶性 ST2 进行测试(参见图 5)。两种抗体均在 $\geq 1.25 \mu$ g/mL 的浓度呈现显著的敏感度,其中抗体 9F8 显示略微更高的敏感度。

[0176] 还测试了 9F8 和 7E4 抗体一同用于单克隆抗体夹心酶免疫分析(EIA)的能力。将每个单克隆抗体以恒定浓度包被于 96 孔微滴定板的单个孔中,并针对人可溶性 sST2 的 3 倍系列稀释(其浓度为 10ng/mL 至 0.01ng/mL)进行测定,使用与生物素偶联的另一种单克隆抗体检测复合物。如图 6 中所示,两种抗体组合均获得类似的敏感度,并容易地检测低至 0.01ng/mL 的人可溶性 ST2。

[0177] 其它使用表面等离子共振(SPR)的分析确认抗体 9F8 和 7E4 各自识别独特的表位,以及与商业上可获得的抗体 D066 和 D067(MBL International Corporation (MBL) 在其 ELISA 中使用的单克隆抗体)识别的表位不同的表位。表 7 图示了抗体 9F8, 7E4, 第三种新颖的抗人可溶性 ST2 抗体(11A7)(将其包括在内以供参照),两种商业上可从 MBL 获得的单克隆抗体(D066 和 D067),加上无关抗体(以供基线确定)的 SPR 分析的结果。对于每种单克隆抗体制备单个具有包被的 SPR 芯片。使重组人可溶性 ST2 流过所述芯片,并允许发生结合。然后使测试单克隆抗体流过第一抗体-人可溶性 ST2 复合物,以评估该第二抗体是否亦可经由人可溶性 ST2 蛋白而结合该复合物。仅那些与一抗相比识别不同表位的二抗会与复合物结合。

[0178] SPR 分析的结果示于图 7A-F。

[0179] 图 A1(图 7A):当使用 9F8(A1)作为捕捉性一抗时,每个测试抗体呈现至少最低可测得的信号。测试抗体 7E4(L2)具有最高的信号,无关抗体(L6)具有最低的信号。根据该图的结论是抗体 9F8 与所有测试抗体相比识别不同的表位,且 9F8-7E4 配对提供最强的总体结合。

[0180] 图 A2(图 7B):当使用 7E4(A2)作为捕捉性一抗时,测试抗体 9F8(L1)显示非常良好的结合,无关抗体不显示可测得的信号,而剩余测试抗体显示较低但可测得的信号。根据该图的结论是抗体 7E4 与所有测试抗体相比识别不同的表位,且 9F8-7E4 配对提供最强的总体结合。

[0181] 图 A3(图 7C):当使用新颖抗体 11A7(A3)作为捕捉性一抗时,测试抗体 9F8(L1)显示非常良好的结合,无关抗体不显示可测得的信号,而剩余测试抗体显示较低但可测得的信号。这些结果与使用 7E4 作为捕捉抗体生成的结果几乎完全相同。

[0182] 图 A4(图 7D):当使用 MBL 抗体 D066(A4)作为捕捉性一抗时,测试抗体 9F8(L1)显示非常良好的结合,结合强度略次之的是抗体 7E4(L2)。无关抗体不显示可测得的信号,而剩余测试抗体显示较低但可测得的信号。根据该图的结论是抗体 D066 与所有测试抗体相比识别不同的表位,且其与第二 MBL 抗体 D067 形成结合配对,但该配对的结合亲和力远低于 9F8-7E4 配对。

[0183] 图 A5 (图 7E): 当使用 MBL 抗体 D067 (A5) 作为捕捉性一抗时, 测试抗体 9F8 (L1) 显示非常良好的结合, 结合强度略次之的是抗体 7E4 (L2) 和 D066 (L4)。无关抗体不显示可测得的信号, 而抗体 11A7 显示非常低的信号。根据该图的结论是抗体 D067 与所有测试抗体相比识别不同的表位, 且其与第二 MBL 抗体 D066 形成结合配对, 但该配对的结合亲和力远低于 9F8-7E4 配对。

[0184] 图 A6 (图 7F): 当使用无关抗体作为捕捉性一抗时, 从任何测试抗体未生成任何可测得的信号, 确证了所测试的抗体对人可溶性 ST2 的亲和力方面的特异性。

[0185] 该分析确认了新颖抗人可溶性 ST2 单克隆抗体 9F8 和 7E4 与 MBL 单克隆抗体 D066 和 D067 任一相比识别不同的表位。此外, 该分析还确证了 9F8-7E4 配对与 D066-D067 配对相比具有更高的结合亲和力。

[0186] 该对于 9F8-7E4 配对观察到的增加的结合亲和力在两对单克隆抗体对测试人血浆样品的直接比较中得到确证。在表 1 总结的实验中, 将包含抗体对 D066-D067 的 MBL ELISA 与新抗体对 9F8-7E4 相比较。将四 (4) 个血浆样品在 2 倍稀释系列中进行测试, 使用来自人可溶性 ST2 低浓度的供体的 EDTA 血浆和肝素血浆匹配对, 以及来自人可溶性 ST2 浓度升高的供体的 EDTA 血浆和肝素血浆样品。

[0187] 表 1: D066-D067 和 9F8-7E4 对人血浆样品的敏感度的比较

[0188]

稀释倍数	LS EDTA		LS 肝素		HS EDTA		LS 肝素	
	D066-D067	9F8-7E4	D066-D067	9F8-7E4	D066-D067	9F8-7E4	D066-D067	9F8-7E4
2	0.27	EUL	ND	EUL	0.86	EUL	0.29	EUL
4	0.45	19.7	ND	22.7	1.20	EUL	0.53	EUL
8	ND	20.4	ND	22.3	1.65	EUL	1.14	EUL
16	ND	21.6	ND	23.6	2.40	EUL	1.95	EUL
32	ND	23.5	ND	26.6	3.89	158.1	ND	134.0
64	ND	23.5	ND	26.6	ND	154.9	ND	136.3
128	ND	24.3	ND	27.3	ND	172.1	ND	152.4
256	ND	23.9	ND	30.4	ND	189.3	ND	160.8
均值	0.36	22.4		25.6	2.00	168.6	0.98	145.9
CV	37%	8.1%		11.4%	60%	9.3%	76%	8.8%

[0189] LS= 低 sST2 浓度样品, HS= 高 sST2 浓度样品,

[0190] ND= 未检测出, EUL= 超过了最高检出限 (upper limit of detection)

[0191] 表 1 的结果用针对其单个表现优化过的每个实验来生成, 结果表示为 ng/mL, 是基于为每对抗体对优化过的校正物 (calibrator)。这里报道的质量并不匹配, 因为这些校正蛋白并未彼此归一化, 而是彼此独立定量的。如表 1 所示, 对于 D066-D067 配对的检出限是 LS EDTA 样品的 1:4 稀释度, 精准性不良, 而 9F8-7E4 能够准确地测量低至 1:256 稀释度, 精准性良好, <10%。该敏感度差异与测试 HS EDTA 血浆样品时的情形是一致的。而且值得注意的是, D066-D067 配对无法检测甚至最少稀释的 LS 肝素血浆样品, 而对于 HS 样品, 用 D066-D067 配对时肝素血浆样品与 EDTA 血浆样品相比具有低得多的信号, 表明该抗体配对对肝素敏感或受肝素抑制。9F8-7E4 在低浓度和高浓度人可溶性 ST2 的测试血浆样品中并未呈现这种肝素敏感性, 维持着良好的精准性, 低 CV。

[0192] 实施例 2: 9F8-7E4 单克隆抗体配对的 EIA 表征

[0193] 9F8-7E4 单克隆抗体配对的特征在酶免疫分析 (EIA) 中进行分析。

[0194] 功能性敏感度（定量的极限）：功能性敏感度极限通过一式 20 份测定多种浓度的经稀释的校正物来确定。除了缓冲液空白之外，所测试的校正物的浓度包括 0.0625、0.125 和 0.25ng/mL。功能性敏感度定义为导致 $CV \leq 20\%$ 的最低浓度。如下表 2 所示，所有测试的浓度都符合该标准，其中测试的最低浓度为 0.0625ng/mL。

[0195] 表 2：功能性敏感度分析总结

[0196]

ST2 (ng/mL)	平均 A_{450}	标准偏差	CV%
0.0	0.137	0.020	14. %
0.065	0.222	0.038	17. %
0.125	0.297	0.011	3. 7%
0.25	0.471	0.026	5. 5%

[0197] 亦使用 SPR 确定四种通过本文中所述的方法产生的抗体 (9F8、7E4、11A7 和 15D06)，以及两种由 MBL International 产生的抗体 (D066-3 和 D067-3) 的亲合力。每个实验通过检测下述浓度的用于制备本文所述 9F8 和 7E4 抗体的重组人可溶性 ST2 蛋白的结合来进行：50nM、25nM、12.5nM、6.25nM、3.25nM 和 0nM。这些实验的数据示于图 8A-8F。每种抗体与从人胚胎肾细胞分离的重组人可溶性 ST2 结合的 K_D 计算值示于表 3。

[0198] 表 3：每种抗体结合人可溶性 ST2 的 K_D

[0199]

mAb	K_D (M)
9F8	8.59E-10
7E4	1.51E-09
11A7	2.72E-09
15D6	1.32E-09
D066	4.58E-09
D067	1.24E-09

[0200] 精准度：所述测试的精准度评价根据 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 指南的 Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline-Second Edition. (In Vitro Diagnostics) EP5-A2 进行。三份汇集的患者血浆样品在每个浓度水平等分至二十个 1.5-mL 塑料管，并在 -80℃ 冻存。这些样品每日一次一式两份地进行分析，在 2 个月的采血期内分析 20 天。单轮内的和总的分析不精准度 (CV_A) 用 CLSI 单轮分析的精准度评价试验进行计算。该试验在 11ng/mL 的平均浓度具有 2.4% 的单轮内 CV_A 和 4.0% 的总 CV_A (汇集物

1, 低), 在 87ng/mL 的平均浓度具有 2.0% 的单轮内 CV_A 和 3.9% 的总 CV_A (汇集物 2, 中等), 在 140ng/mL 的平均浓度具有 2.2% 的单轮内 CV_A 和 3.9% 的总 CV_A (汇集物 3, 高)。参见表 4。

[0201] 表 4: 精准度分析总结

[0202]

汇集物	平均值 (ng/ml)	单轮内 CV	总 CV
低	10.56	2.42%	3.96%
中等	87.00	2.31%	3.87%
高	140.05	2.24%	3.86%

[0203] 该试验在测试的浓度范围内未呈现任何精准度偏离 (precision bias)。

[0204] 干扰物质 (对抗凝血剂的敏感度) 评价: 在三十个表观健康的志愿者中, 以最通常的试管形式取血浆样品: 血清, EDTA 血浆, 柠檬酸血浆, 和肝素血浆。分析在通常的离心和样品处理之后立即在单个的人可溶性 ST2 分析试剂盒中进行。这些志愿者由 9 位男性和 21 位女性组成, 年龄为 22 至 66 岁。该分析的结果总结于表 5。如表 5 中所示, 柠檬酸试管的中位值略微低于其它试管类型, 这是意料不到的, 因为柠檬酸试管在试管中具有少量液态抗凝血剂, 导致其与其它不影响样品体积的试管类型相比, 对收集的样品有少许稀释。为了测试这些测量的一致性, 将每个血浆试管类型与血清试管相比较。每次比较都获得高度显著的 R^2 值, 范围为 0.849 至 0.964。因此, 除了柠檬酸试管中可能影响正常浓度测量的少许稀释之外, 试管类型并未导致可测得的偏离。

[0205] 表 5: 抗凝血剂测试结果的总结

[0206]

患者 ID	年龄	性别	sST2 (ng/ml)			
			血清	柠檬酸 血浆	EDTA 血浆	肝素 血浆
1	24	F	7.4	13.7	6.3	3.9
2	26	F	5.7	7.3	7.2	8.8
3	62	M	7.9	6.6	8.0	4.3
4	45	F	6.8	5.2	6.3	6.7
5	41	F	5.3	4.3	5.5	5.3
6	53	M	6.3	5.3	7.3	7.9
7	56	F	2.5	2.4	3.3	3.2
8	50	F	6.4	4.8	5.8	6.5
9	44	F	7.7	5.1	5.6	N/A
10	63	F	4.9	3.7	5.1	4.9
11	66	M	7.4	5.1	6.8	7.4
12	57	F	9.1	6.9	7.9	8.8
13	59	F	5.0	4.3	4.2	4.2
14	52	F	6.0	4.5	5.8	6.4
15	58	M	20.6	17.7	19.5	17.1
16	22	F	6.0	2.8	5.3	6.6
17	49	F	13.7	12.4	12.7	11.9
18	29	F	5.2	4.8	5.2	7.9
19	35	F	3.9	3.2	3.5	3.4
20	24	F	8.2	6.5	7.3	7.1
21	50	F	13.1	11.2	11.6	11.7
22	54	F	10.9	7.5	9.7	9.7
23	49	M	18.9	14.0	17.9	18.6
24	53	M	15.4	12.5	16.7	13.0
25	64	M	7.3	N/A	5.1	6.0
26	51	M	15.1	11.4	14.0	14.5
27	27	M	19.4	18.4	18.3	21.7
28	22	F	9.0	7.6	7.4	8.2
29	56	F	2.7	2.5	3.3	2.8
30	52	F	4.8	3.8	5.5	5.5
各试管类型的 sST2 (ng/ml): 中值			7.3	5.3	6.5	7.1
与血清值的关联: Rsq				0.849	0.964	0.891

[0207] 正常浓度参照的间隔的确定: 招募了 490 个供体分组进行该分析, 他们自述健康, 不具有已知的严重疾病, 目前也未就任何严重疾病接受治疗, 在性别和 18 至 84 岁年龄代表方面平均分布。

[0208] 表 6 总结了该健康参照范围分组中每个年龄组的个体数量和性别分布, 图 10 是人可溶性 ST2 浓度分布的直方图。在图 10 中, 条代表真实数据, 而条中的垂直线代表理论的正态分布。这些健康个体中的浓度分布是非正态的。表 7 将人可溶性 ST2 浓度作为性别的函数进行比较。在该正常、健康的群体中, 男性的中位浓度显著高于女性的中位浓度 (Kruskal-Wallis 检验 ; $p < 0.0001$)。

[0209] 表 6 : 健康参照范围分组

[0210]

	每跨十岁组的个体数量						
	<30	30-39	40-49	50-59	60-69	>70	总共
女性	61	35	53	39	38	19	245
男性	65	47	40	41	31	21	245
总数	126	82	93	80	69	40	490

[0211] 表 7 :各参照组不同性别的中位值的比较

[0212]

	中位值 (ng/mL)	95%CI	IQR
男性	23.6	21.3-25.1	17.6-30.6
女性	16.2	15.3-17.4	12.4-19.9

[0213] 将人可溶性 ST2 浓度按年龄分层揭示,在这些组之间不存在显著的差异。图 11(Kruskal-Wallis 检验 ;男性 $p=0.501$, 女性 $p=0.056$)。因此,性别特异性参照值以及整个组的值使用非参数百分位数方法 (90% 单侧) 进行计算。这些结果总结于表 8。

[0214] 表 8 :CCD 健康参照组总结

[0215]

参数 / 组	整个组	男性	女性
N	490	245	245
平均 sST2(ng/mL)	20.9	24.9	16.9
中位 sST2(ng/mL)	18.8	23.6	16.2
中位值的 95% 置信区间	18.1 - 19.9	21.3-25.1	15.3-17.4
四分范围 (Interquartile range)	14.5 - 25.3	17.6-30.6	12.4-19.9
上限 :90%(95%CI)	34.4 (32.4-35.8)	37.4 (35.5-41.1)	23.7 (22.2-25.9)

[0216] 表 9 列出了在几个特定阈值的人可溶性 ST2 浓度。

[0217] 表 9 :在美国自我报道健康组中特定阈值的 sST2 浓度

[0218]

	整个组		男性		女性	
百分位数	ST2(ng/mL)	95% CI	ST2(ng/mL)	95% CI	ST2(ng/mL)	95% CI
2.5	8.0	7.1-8.6	8.6	7.7-11.8	7.3	5.5-8.4
5	9.3	8.4-10.2	11.8	8.6-12.7	8.5	7.3-9.4
10	11.5	10.3-11.9	13.7	12.2-14.8	10.2	9.0-11.2
25	14.5	13.7-15.2	17.6	16.8-18.7	12.4	11.9-13.5
中位值	18.8	18.2-19.9	23.6	21.3-25.1	16.2	15.4-17.4
75	25.3	23.8-26.9	30.6	28.7-33.3	19.9	18.8-20.8
90	34.3	32.4-35.6	37.2	35.5-40.9	23.7	22.2-25.8
95	37.9	35.9-41.3	45.4	39.4-48.6	29.0	24.6-33.2
97.5	45.6	40.1-48.7	48.5	45.8-58.5	33.1	29.6-39.9

[0219] 空腹对非空腹的人可溶性 ST2 浓度：二十五个具有不同疾病状态（其中 8 位有 2 型糖尿病）的患者（19 位男性和 6 位女性）在空腹过夜后在早 7:00 取血浆样品。在此之后患者摄取标准化的早餐（无糖尿病的患者为 730kcal，有糖尿病的患者为 522kcal）。在早 11:00 进行第二次取血以测定人可溶性 ST2。在此之后，所有患者摄取标准化的午餐（无糖尿病的患者为 800kcal，有糖尿病的患者为 716kcal）。第三次也是最后的取血在下午 2:00 进行。计算 25 个个体在所有三个时点的平均人可溶性 ST2 浓度。使用配对 t 检验确定，非空腹人可溶性 ST2 血浆浓度（即在早 11:00 和下午 2:00 取的血液）与相应空腹值（即在早 7:00 取的血液）相比是否存在差异。将人可溶性 ST2 浓度随时间的相对变化与 RCV 相比较，以确定食物对所述分析物浓度的影响。

[0220] 平均空腹的人可溶性 ST2 浓度在早 7:00 为 18U/mL（中位值：17U/mL；范围 9-26U/mL），早餐之后早 11:00 的平均人可溶性 ST2 浓度为 19U/mL（中位值，18U/mL；范围，11-28U/mL；与空腹 ST2 相比 $p=0.025$ ），午餐之后下午 2:00 的平均人可溶性 ST2 浓度为 18U/mL（中位值，18U/mL；范围，10-28U/mL；与空腹人可溶性 ST2 相比 $p=0.014$ ）。因此，早 11:00 和下午 2:00 的平均人可溶性 ST2 浓度比早 7:00 的平均空腹值高 <5%。

[0221] 正常人可溶性 ST2 浓度和疾病状态浓度的比较：心衰患者的人可溶性 ST2 浓度比正常健康个体的明显更高。在下述分析中，将从 490 个健康供体确定的正常浓度与多个不同群体相比较：528 个通过生物标志物筛选确认不存在隐蔽的心血管疾病（CVD）或炎症性疾病（通过 BNP, PCT, CRP, 和 IL-6 筛选）的健康志愿者，709 个诊断患有急性心衰的患者，1159 个诊断患有慢性、稳定心衰的患者，190 个诊断患有肺动脉高压（PAH）的患者，48 个诊断患有哮喘的患者，223 个诊断患有哮喘或 COPD 的患者，58 个诊断患有肺栓塞（PE）的患者，119 个诊断患有肺炎（PNA）的患者，109 个诊断患有晚期呼吸系统疾病综合征的（ARDS）的患者，50 个诊断患有川崎病（KD）的青少年，和 15 个诊断患有败血病的患者。表 10 列出了对于每个组中人可溶性 ST2 浓度的中位值，95% 置信区间，和四分范围（IQR）。

[0222] 表 10：各疾病状态的 sST2 浓度

[0223]

疾病状态	N	中 位 sST2 (ng/mL)	95% CI	IQR
正常	490	18.8	18.1 - 19.9	14.5 - 25.3
生物标志物确认健康	528	11.1	10.4 - 11.7	7.5 - 16.6
慢性心衰	1159	27.4	26.3 - 29.0	19.3 - 43.0
急性心衰	709	59.8	55.5 - 63.4	36.1 - 97.2
肺动脉高压(PAH)	190	31.7		22.1 - 51.7
川崎病	50	34.2	25.2 - 51.6	19.7 - 72.5
ARDS	109	662.0	481.5 - 1031.7	290.8 - 1846
哮喘	48	46.4	33.1 - 81.5	29.4 - 97.8
肺栓塞	58	43.5	34.9 - 70.2	27.2 - 94.3
COPD/哮喘	223	62.8	55.5 - 73.1	40.2 - 126.2
肺炎	119	69.4	57.2 - 79.6	39.9 - 118.9
败血病	15	745	283 - 3178	325 - 2772

[0224] 人可溶性 ST2 浓度和 1 年时的死亡风险的比较。亦测量了 PRIDE 组 (Junuzzi 等, J. Am. Coll. Cardiol. 50:607-613, 2007) 的血液样品中人可溶性 ST2 的浓度。在起始 PRIDE 组的 599 个受试者中, 586 个能提供血样以供用上述方法测量人可溶性 ST2。所用样品为在 -80℃ 冻存的 EDTA 血浆等分试样。分析了接受者操作特征图 (ROC), 以一年时的死亡作为参照标准作图, 曲线下面积 (AUC) 根据 Hanley 等 (Radiology 148:839-843, 1983) 的方法进行比较, 以确定该试验预测 PRIDE 组中 1 年时所有原因死亡率的能力。

[0225] 在这些实验中, 整个组的中位浓度对于该分析为 27ng/mL (范围, <2-393ng/mL)。在该组中, 非参数性相关分析揭示了两种方法的相关系数 (r_s) 为 0.955 (95%CI, 0.947-0.962; $p < 0.001$)。在 586 个患者中, 92 个 (16%) 个体在一年时已死亡, 而 494 个 (84%) 生存。ROC 曲线分析证实该试验预测 1 年时的死亡的 AUC 值 0.803 (95%CI, 0.768-0.834)。

[0226] 其它实施方案

[0227] 应理解的是, 尽管本发明就其具体叙述进行描述, 前述描述旨在说明而非限制本发明的范围, 本发明由所附权利要求的范围限定。其它方面、优点和修饰属于所附权利要求的范围。

[0001]

序列表

<110> 重症监护诊断股份有限公司 (Critical Care Diagnostics, Inc.)

<120> 可溶性人 ST-2 抗体和分析法

<130> 20060-0008W01

<150> US 61/345,837

<151> 2010-05-18

<150> US 61/322,578

<151> 2010-04-09

<160> 4

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 328

<212> PRT

<213> 人 (Homo sapiens)

<400> 1

```
Met Gly Phe Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Met Tyr Ser Thr
 1             5             10             15
Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu
      20             25             30
Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp
      35             40             45
Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg
      50             55             60
Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala
      65             70             75             80
Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg
      85             90             95
Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn
      100            105            110
Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn
      115            120            125
Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro
      130            135            140
Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg
```

[0002]

```

145          150          155          160
Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala
          165          170          175
Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr
          180          185          190
Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe
          195          200          205
Ser Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu
          210          215          220
Val Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly
225          230          235          240
Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr
          245          250          255
Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln
          260          265          270
Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg
          275          280          285
Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu
          290          295          300
Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg
305          310          315          320
Lys Asn Pro Ser Lys Glu Cys Phe
          325

```

<210> 2

<211> 2542

<212> DNA

<213> 人 (Homo sapiens)

<400> 2

```

gaggagggac ctacaaagac tggaaactat tcttagctcc gtcactgact ccaagttcat 60
ccccctctgtc ttccagtttg gttgagatat aggtactctt tcccaactca gtcttgaaga 120
glatcaccaa ctgcctcatg tgggtgacc ttcactgtcg tatgccagtg actcatctgg 180
agtaatctca acaacgagtt accaatactt gctcttgatt gataaacaga atggggtttt 240
ggatcttagc aattctcaca attcicatgt attccacagc agcaaagttt agtaaacaat 300
catggggcct ggaaaatgag gctttaaattg taagatgtcc tagacaagga aaacctagtt 360
acaccgtgga ttggtattac tcacaaacaa acaaaagtat tcccaactcag gaaagaaatc 420
gtgtgtttgc ctcaggccaa cttctgaagt ttctaccagc tgcagttgct gattctggta 480
tttataacctg tattgtcaga agtccacat tcaataggac tggatatgcg aatgtcacca 540
tatataaaaa acaatcagat tgcaatgttc cagattatit gatgtattca acagtatctg 600
gatcagaaaa aaattccaaa atttatgttc ctaccattga cctctacaac tggacagcac 660
ctcttgagtg gtttaagaat tgtcaggctc ttcaaggatc aaggtaacagg ggcacacaagt 720
catttttggg cattgataat gtgaigactg aggacgcagg tgattacacc tgtaaatitc 780

```

[0003]

```

tacacaatga aaatggagcc aattatagtg tgacggcgac caggtccttc acgggtcaagg 840
atgagcaagg cttttctctg ttccagtaa tggagcccc tgcacaaaat gaaataaagg 900
aagtggaat tggaaaaaac gcaaacctaa ctgctctgc ttgttttga aaaggcactc 960
agtcttggc tgcctcctg tggcagctta atggaacaaa aattacagac ttgggtgaac 1020
caagaattca acaagaggaa gggcaaaaac aaagtctcag caatgggctg gcttgtctag 1080
acatggtttt aagaatagct gacgtgaagg aagaggattt atgctgcag tacgactgtc 1140
tggccctgaa ttgcatggc ttgagaaggc acaccgtaag actaagtagg aaaaatccaa 1200
gtaaggagtg ttctgagac ttgatacacc tgaactttct ctagcaagtg taagcagaat 1260
ggagtggtg tccaagagat ccatcaagac aatgggaatg gcctgigcca taaaatgtgc 1320
ttctctctt cgggatgtg ttgctgtct gatctttgt gactgttct gtttctggg 1380
agcttctctg ctgcttaaat tgttcgtcct cccctactcc ctcctatct tggtttgtct 1440
agaacactca gctgttctt tggtcactct tgttttctaa ctttatgaac tccctctgtg 1500
tcactgtatg tgaaggaaa tgcaccaaca accgtaaact gaacgtgtc ttigtgtctc 1560
ttttataact tgcattacat gttgtaagca tggtcgttc tataccttt tctggtcata 1620
atgaacactc attttgttag cgagggtggt aaagtgaaca aaaaggggaa gtatcaaac 1680
actgccattt cagtgagaaa atctaggtg ctactttata ataagacatt tgttaggcca 1740
ttcttgcat gatataaaga aatactgag actgggtgat ttatatgaaa agaggtttaa 1800
ttggtcaca gttctgcagg ctgtatggga agcatggcg catctgttc tggggacacc 1860
tcaggagctt tactcatggc agaaggcaaa gcaaaggcag gcacttcaca cagtaaaagc 1920
aggagcgaga gagaggtgcc acactgaac agccagatct catgagaagt cactcactat 1980
tgcaaggaca gcatcaaaga gatggtgcta aaccattcat gatgaactca ccccatgat 2040
ccaatcact cccaccaggc tccacctga atactgggga ttaccattca gcatgagatt 2100
tgggcaggaa cacagacca aaccatacca cacacattat cattgttaaa ctttgtaaag 2160
tatttaaggt acatggaaca cacgggaagt ctggtagctc agccatttc ttattgcat 2220
ctgttattca ccatgtaatt caggtaacc gtttccagg gagccttct tggccctcag 2280
tttgagtat acacacttc caagtactct tgtagcatcc tgtttgtatc atagcactgg 2340
tcacattgcc ttacctaaat ctgtttgaca gtctgtcaa cagcactgca agctccatga 2400
gggcagggac atcatctctt ccatctttgg gtcttagtg caatacctgg cagctagcca 2460
gtgtcagct aaatatgtg tgaactgaata aatgaatgca caaccaaaaa aaaaaaaaaa 2520
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 2542

```

<210> 3

<211> 556

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 3

```

Met Gly Phe Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Met Tyr Ser Thr
  1             5             10             15
Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu
      20             25             30
Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp
      35             40             45
Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg

```

[0004]

50	55	60
Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala		
65	70	75
Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg		
85	90	95
Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn		
100	105	110
Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn		
115	120	125
Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro		
130	135	140
Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg		
145	150	155
Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala		
165	170	175
Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr		
180	185	190
Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe		
195	200	205
Ser Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu		
210	215	220
Val Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly		
225	230	235
Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr		
245	250	255
Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln		
260	265	270
Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg		
275	280	285
Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu		
290	295	300
Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg		
305	310	315
Lys Asn Pro Ile Asp His His Ser Ile Tyr Cys Ile Ile Ala Val Cys		
325	330	335
Ser Val Phe Leu Met Leu Ile Asn Val Leu Val Ile Ile Leu Lys Met		
340	345	350
Phe Trp Ile Glu Ala Thr Leu Leu Trp Arg Asp Ile Ala Lys Pro Tyr		
355	360	365
Lys Thr Arg Asn Asp Gly Lys Leu Tyr Asp Ala Tyr Val Val Tyr Pro		
370	375	380
Arg Asn Tyr Lys Ser Ser Thr Asp Gly Ala Ser Arg Val Glu His Phe		
385	390	395
Val His Gln Ile Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Cys Gly Tyr Thr		

[0005]

```

          405          410          415
Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Met Leu Pro Gly Glu Asp Val Val Thr
          420          425          430
Ala Val Glu Thr Asn Ile Arg Lys Ser Arg Arg His Ile Phe Ile Leu
          435          440          445
Thr Pro Gln Ile Thr His Asn Lys Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val
          450          455          460
Ala Leu His Cys Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ala Lys Val Ile Leu Ile
465          470          475          480
Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu
          485          490          495
Gln Asp Ser Leu Gln His Leu Met Lys Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp
          500          505          510
Arg Glu Asp His Ile Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp
          515          520          525
Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Ile Pro Arg Lys
          530          535          540
Ala Ser Ser Leu Thr Pro Leu Ala Ala Gln Lys Gln
545          550          555

```

<210> 4

<211> 2058

<212> DNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 4

```

aaagagagggc tggctgttgt atttagtaaa gctataaagc tgtaagagaa attggctttc 60
tgagttgtga aactgtgggc agaaagttga ggaagaaaga actcaagtac aaccaatga 120
ggttgagata taggctactc ttcccaactc agtcttgaag agtatcacca actgcctcat 180
gigtgggtgac cttcactgtc gtatgccagt gactcatctg gagtaatctc aacaacgagt 240
taccaatact tgctcttgat tgataaacag aatgggggtt tggatcttag caattctcac 300
aattctcatg tattccacag cagcaaagtt tagtaaaca tcatggggcc tggaaaatga 360
ggctttaaatt gtaagatgic ctagacaagg aaaacctagt tacaccgigg attggtaita 420
ctcacaaca aacaaaagta ttccactca ggaagaaat cgtgtgtttg cctcaggcca 480
acttctgaag ttctaccag ctgcagttgc tgattctggt atttatacct gtattgtcag 540
aagtcacaca ttcaatagga ctggatatgc gaatgtcacc atatataaaa aacaatcaga 600
ttgcaatggt ccagattatt tgaigtatc aacagtatct ggatcagaaa aaaattccaa 660
aatttattgt cctaccattg acctctacaa ctggacagca cctcttgagt ggtttaagaa 720
ttgtcaggct ctcaaggat caaggtacag ggcgcacaag tcatttttgg tcattgaiaa 780
tgtgatgact gaggacgcag gtgattacac ctgtaaattt atacacaatg aaaatggagc 840
caattatagt gtgacggcga ccaggctcct caccgtcaag gatgagcaag gcttttctct 900
gtttccagta atcggagccc ctgcacaaaa tgaataaag gaagtggaaa ttggaaaaaa 960
cgcaaaccta acttgctctg ctgttttgg aaaaggcact cagttcttgg ctgccgtcct 1020

```

[0006]

```

gtggcagctt aatggaacaa aaattacaga ctttggigaa ccaagaattc aacaagagga 1080
agggcaaaat caaagtttca gcaatgggct ggcttgtcta gacatggttt taagaatagc 1140
tgacgtgaag gaagaggatt tattgctgca gtacgactgt ctggccctga atttgcattg 1200
cttgagaagg cacaccgtaa gactaagiag gaaaaatcca attgacatc atagcatcta 1260
ctgcataatt gcagtatgta gigtattttt aatgctaate aatgtcctgg ttatcatcct 1320
aaaaatgttc tggattgagg ccactctgct ctggagagac atagctaaac cttacaagac 1380
taggaatgat ggaaagctct atgatgctta tgttgtctac ccacggaact acaaattccag 1440
tacagatggg gccagtcgtg tagagcactt tgttcaccag attctgcctg atgttcttga 1500
aaataaatgt ggctatacct tatgcattta tgggagagat atgctacctg gagaagaigt 1560
agtcactgca gtggaaacca acatacgaag gagcaggcgg cacattttca tctgacccc 1620
tcagatcact cacaataagg agtttgccta cgagcaggag gtgcccctgc actgtgccct 1680
catccagaac gacgccaagg tgatacttat tgagatggag gctctgagcg agctggacat 1740
gctgcaggct gaggcgcttc aggactccct ccagcatctt atgaaagtac aggggacat 1800
caagtggagg gaggaccaca ttgccaataa aaggccctg aattctaaat tctggaagca 1860
cgtgaggtag caaatgctg tgccaagcaa aattcccaga aaggccctta gtttgactcc 1920
cttggctgcc cagaagcaat agtgcctgct gtgatgtgca aaggcatctg agtttgaagc 1980
tttccctgact tctcctagct ggcttatgcc cctgcactga agtgtgagga gcaggaatat 2040
taaagggatt caggcctc                                     2058

```

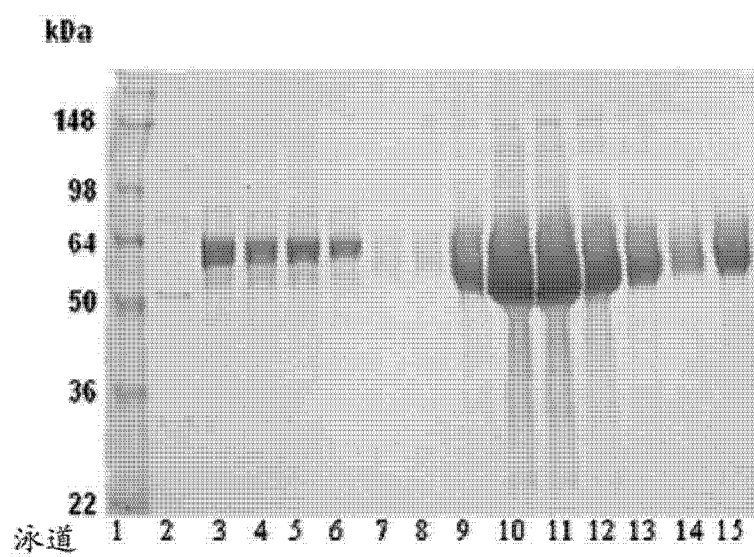


图 1

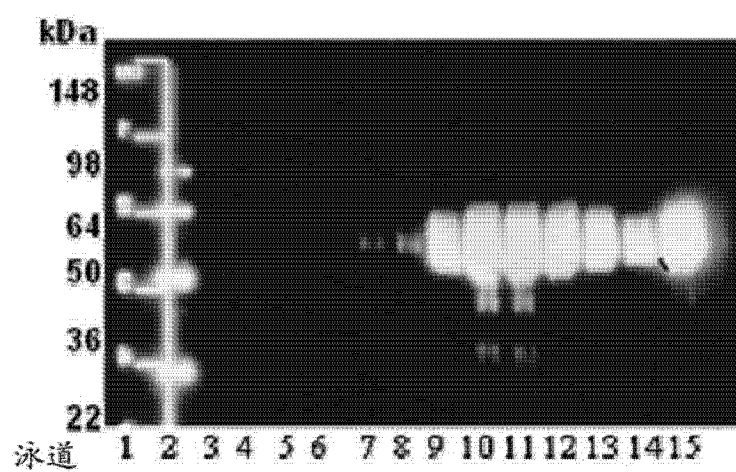


图 2

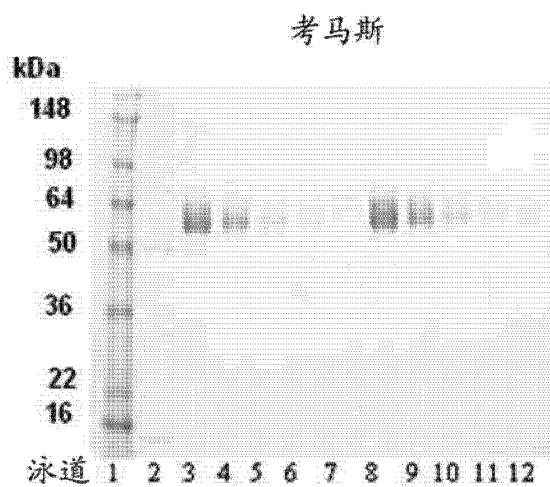


图 3A

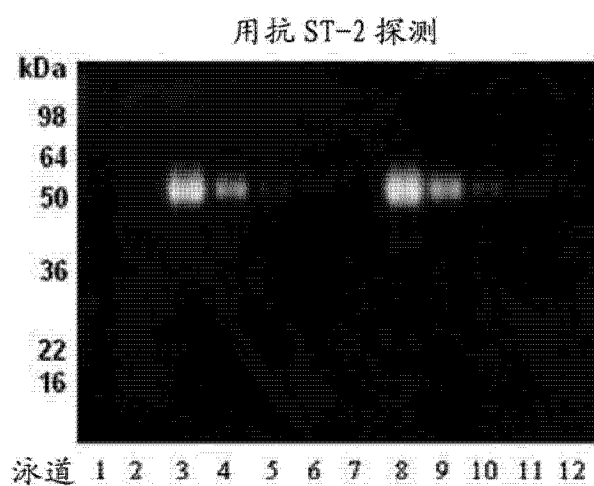


图 3B

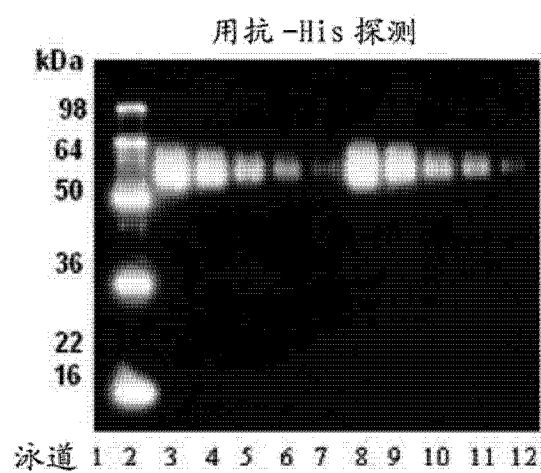


图 3C

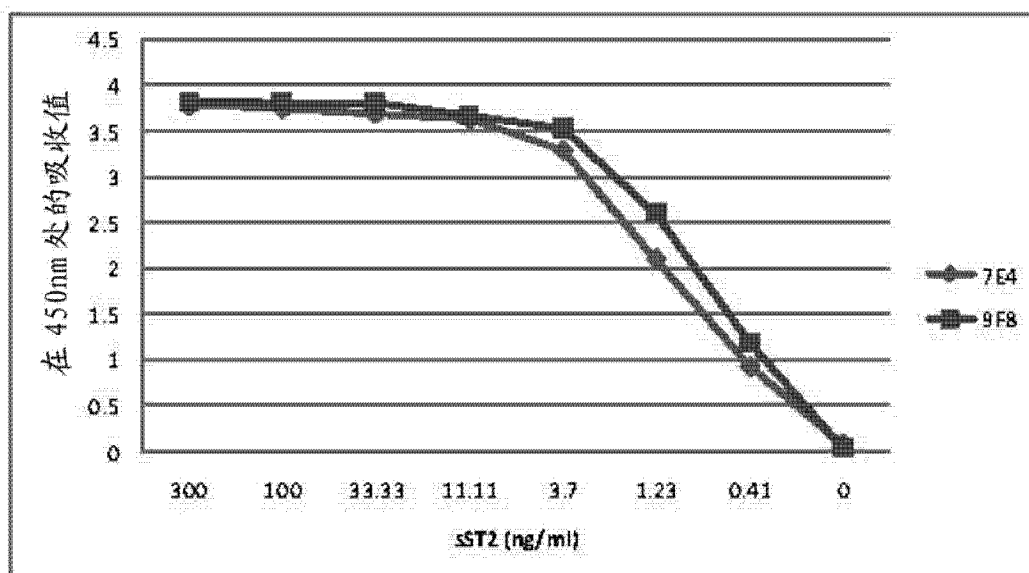


图 4

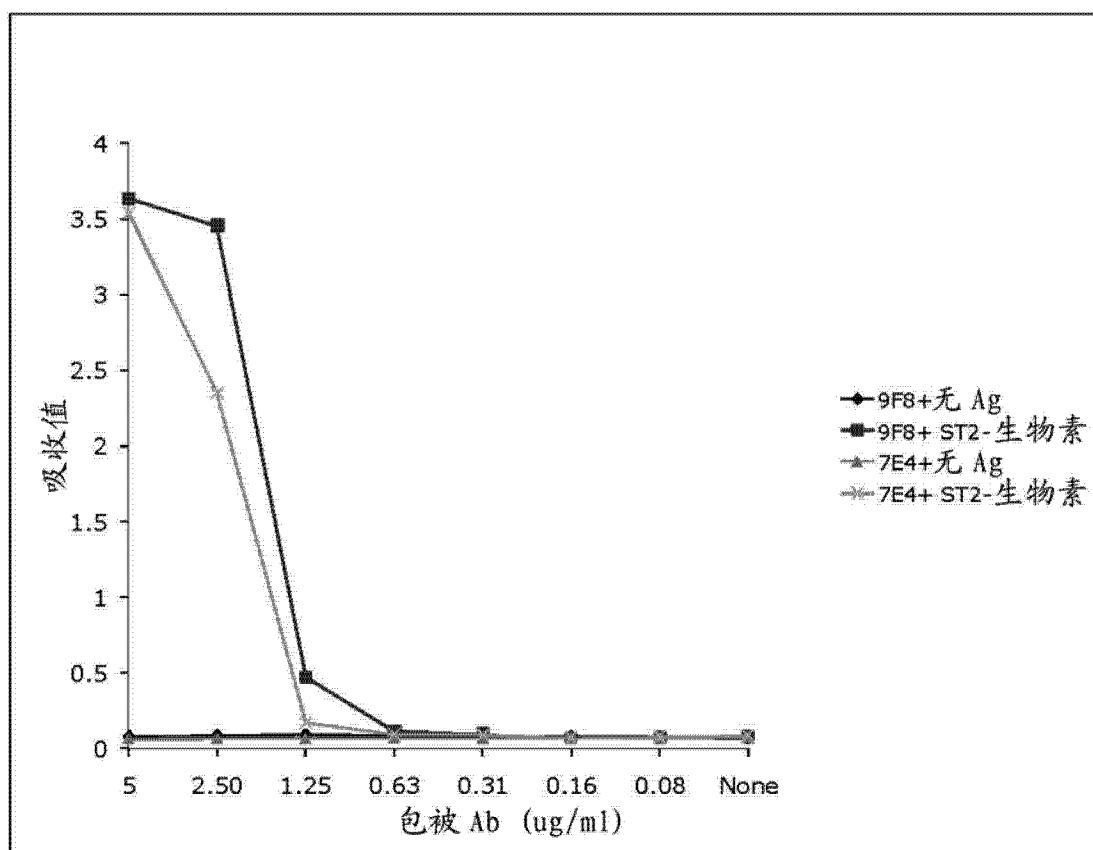


图 5

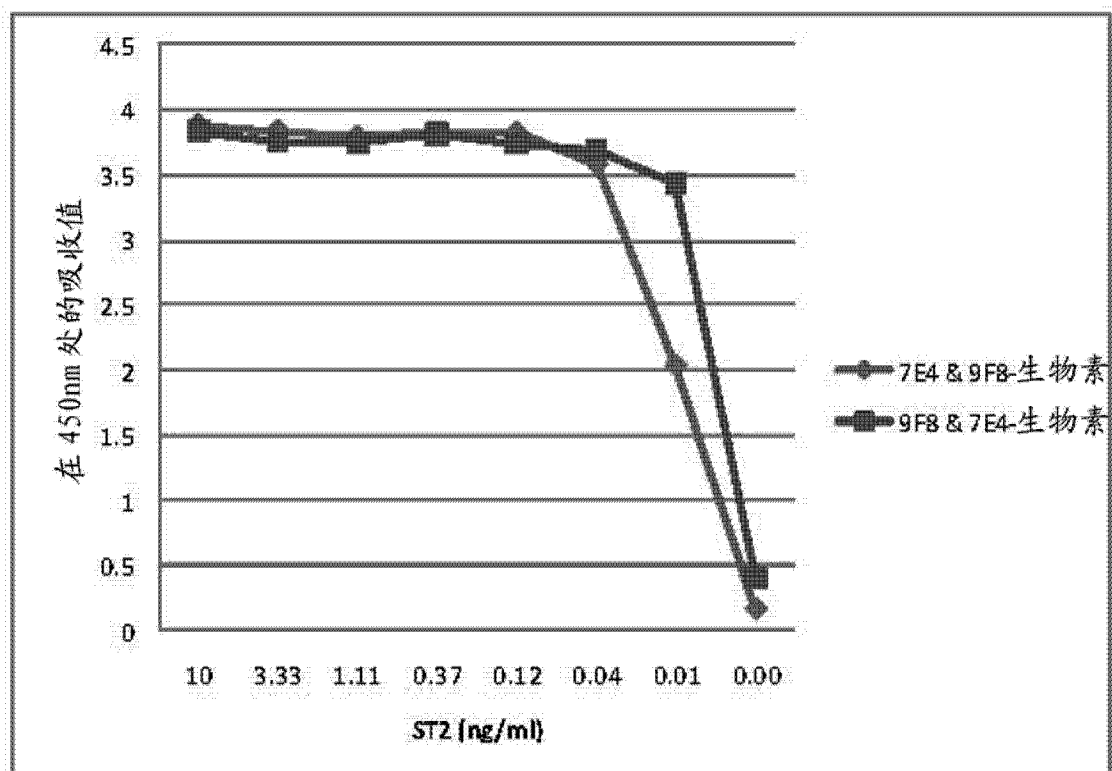


图 6

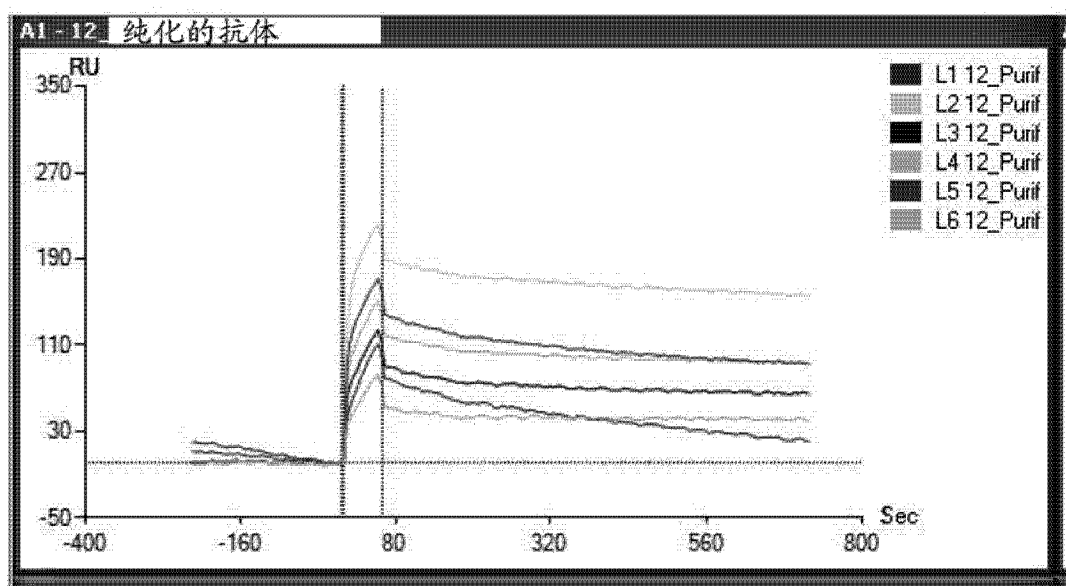


图 7A

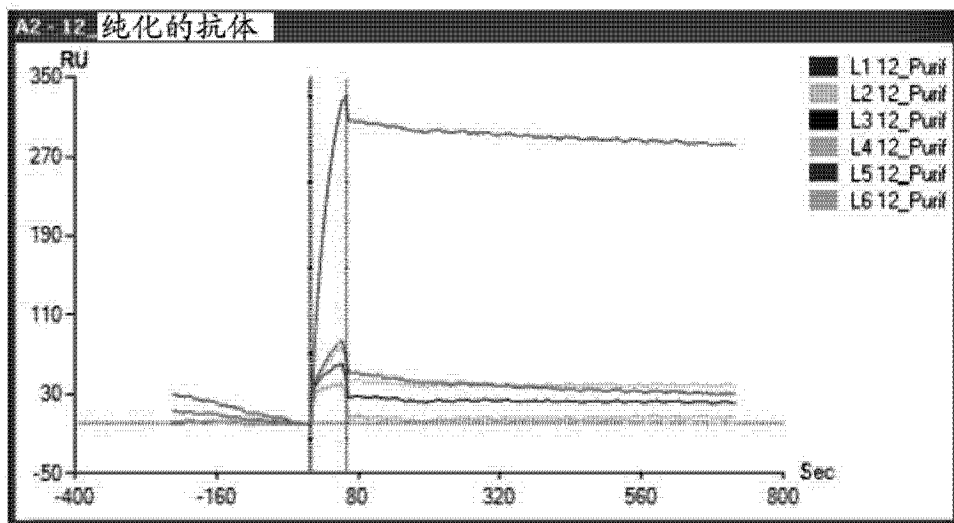


图 7B

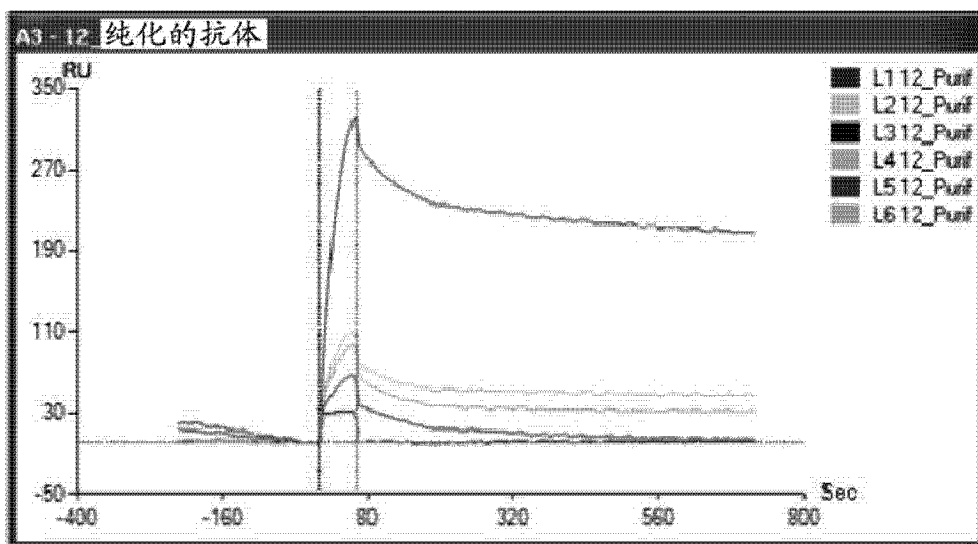


图 7C

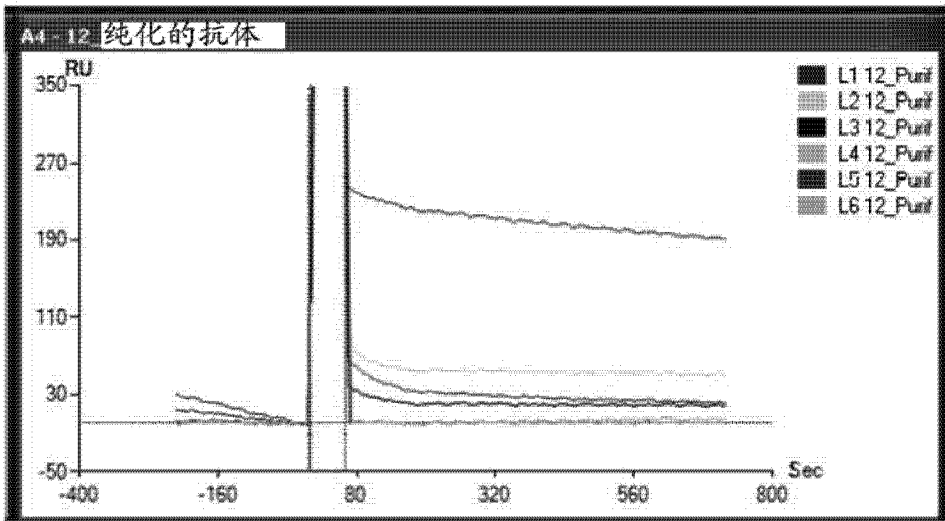


图 7D

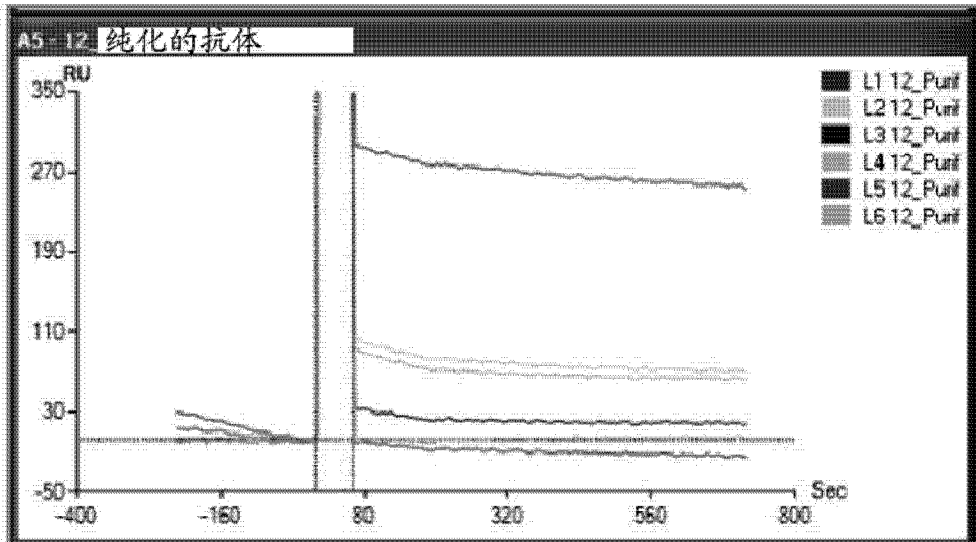


图 7E

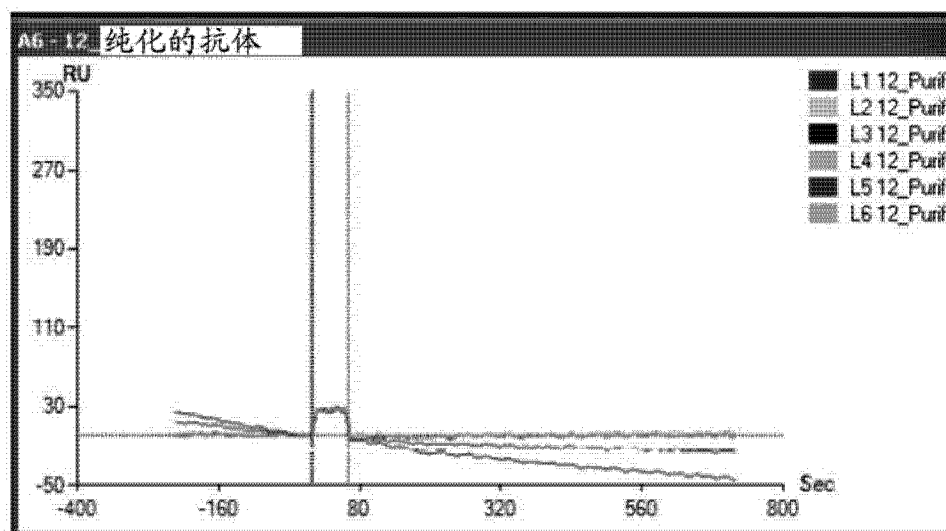


图 7F

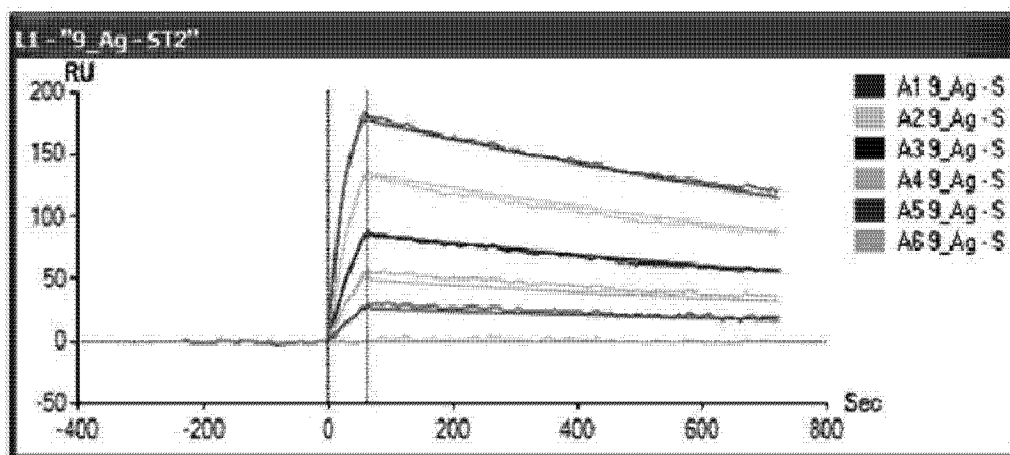


图 8A

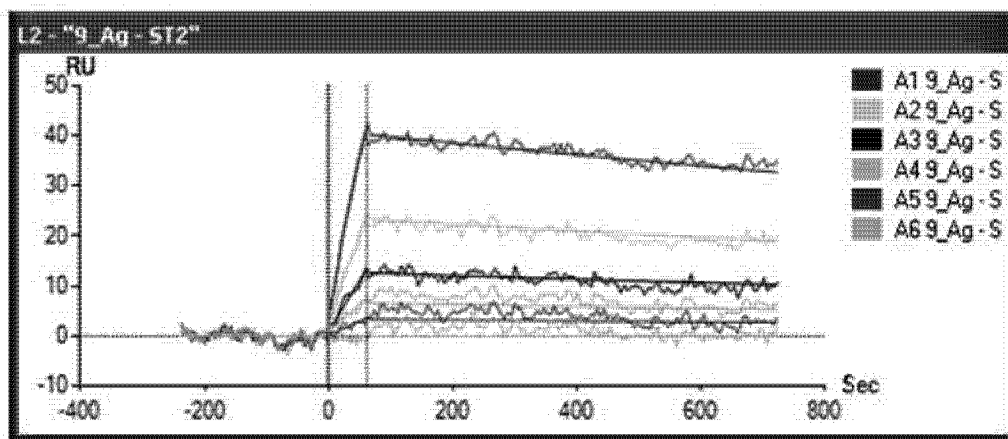


图 8B

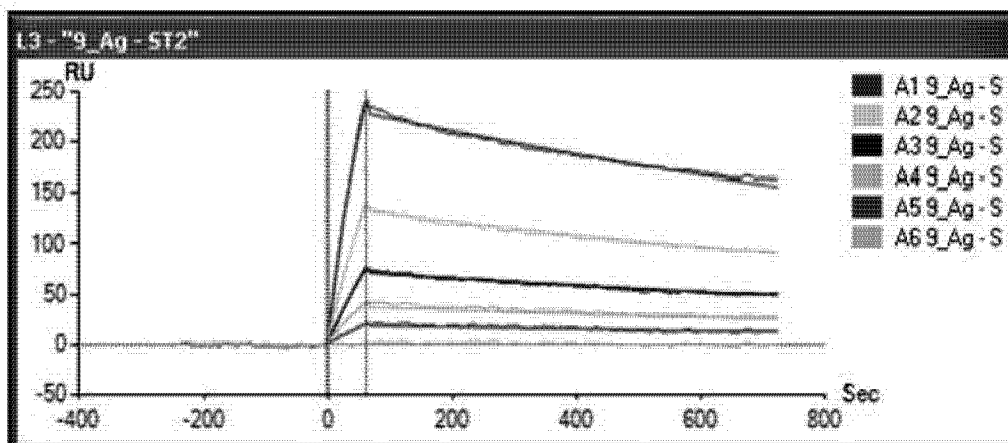


图 8C

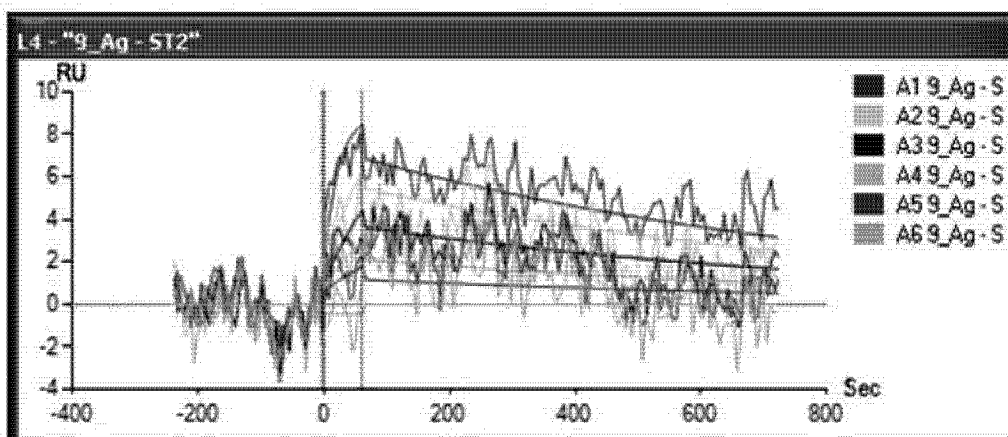


图 8D

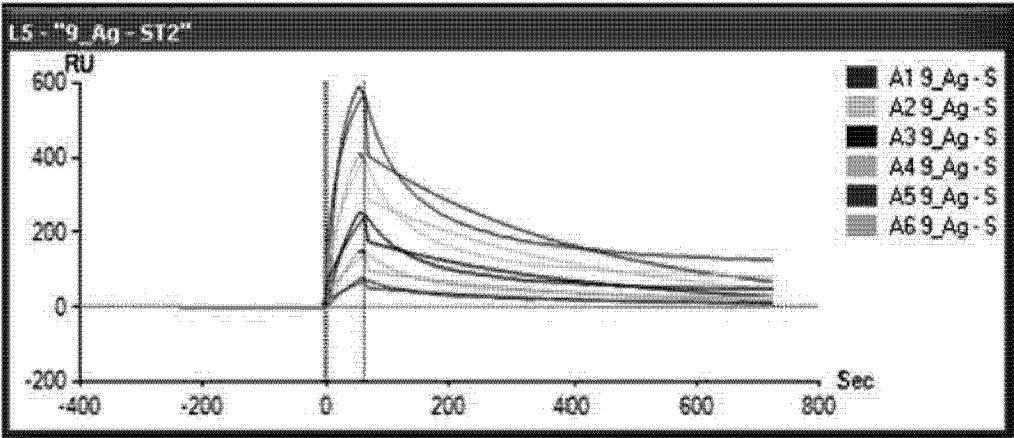


图 8E

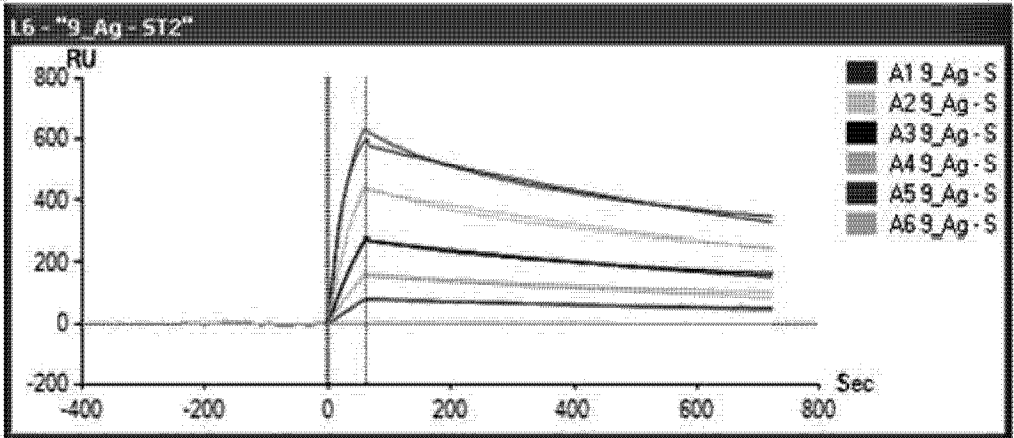


图 8F

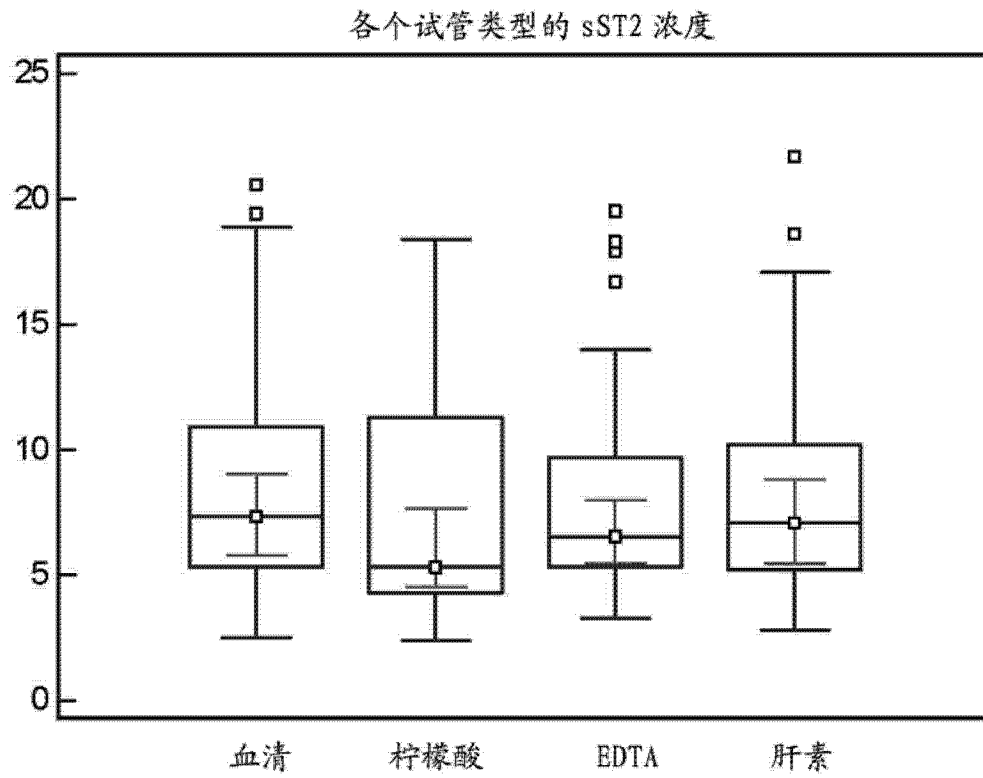


图 9

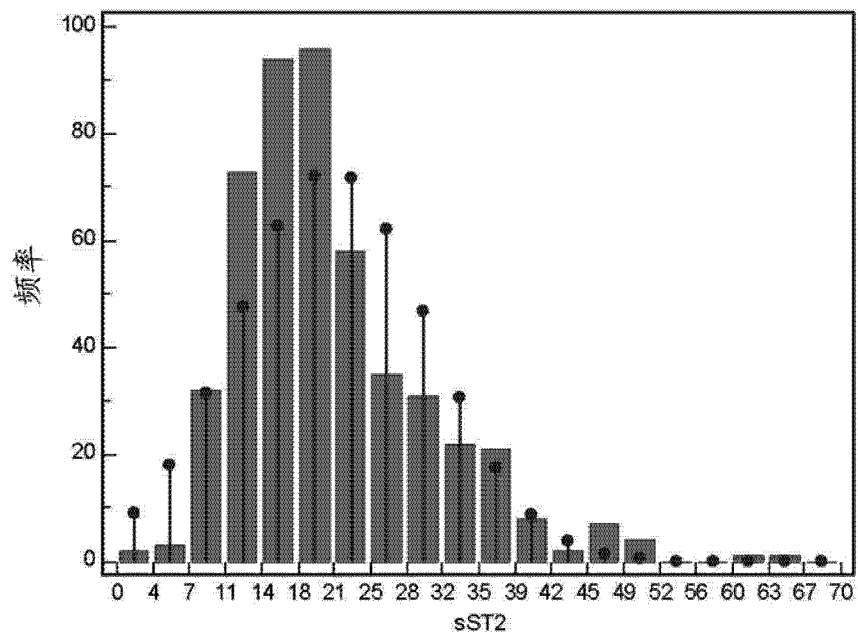


图 10

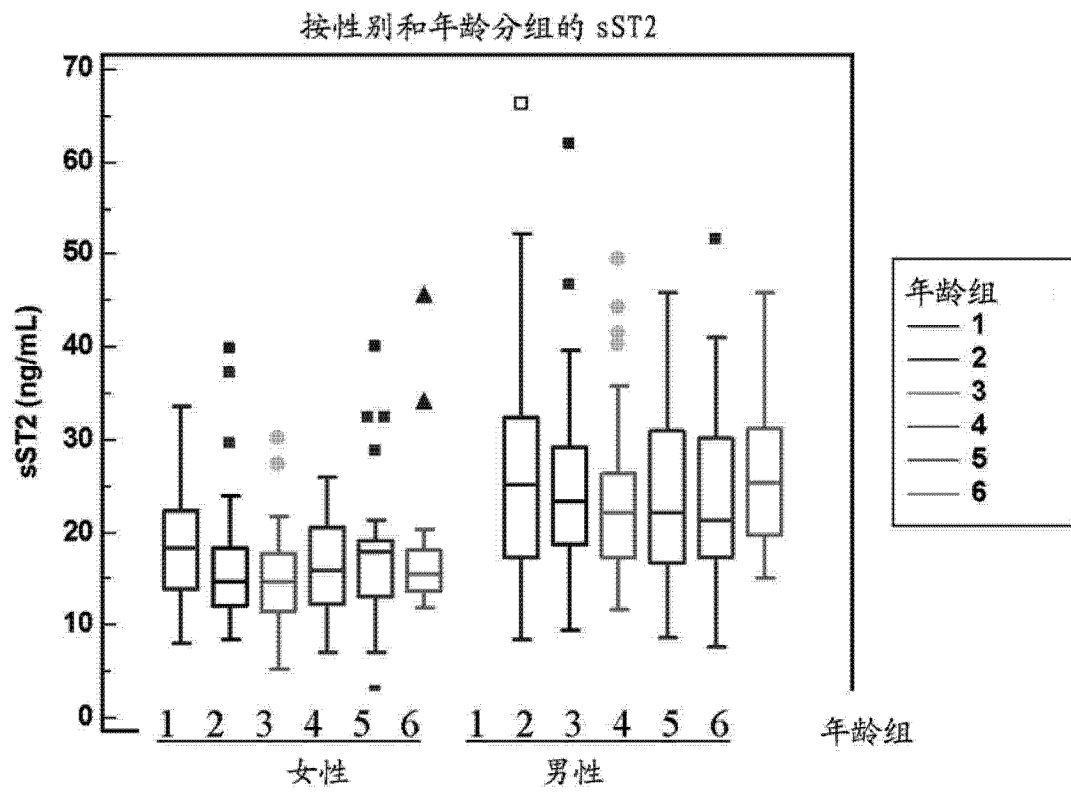


图 11

专利名称(译)	可溶性人ST-2抗体和分析法		
公开(公告)号	CN103154027A	公开(公告)日	2013-06-12
申请号	CN201180028646.5	申请日	2011-04-08
[标]申请(专利权)人(译)	重症监护诊断股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	重症监护诊断股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	重症监护诊断股份有限公司		
[标]发明人	J V 斯奈德		
发明人	J.V.斯奈德		
IPC分类号	C07K16/18 C07K16/46 G01N33/53 C12N5/12 G01N33/15		
CPC分类号	A61K39/39533 A61P1/08 A61P13/12 C07K16/2866 C07K2317/92 G01N33/6869 G01N2333/545 G01N2800/52 G01N2800/56 C07K2317/14 C07K2317/24		
代理人(译)	闵丹		
优先权	61/322578 2010-04-09 US 61/345837 2010-05-18 US		
其他公开文献	CN103154027B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本文中提供了结合于人可溶性生长激活-表达基因2(ST2)蛋白的抗体或抗原结合抗体片段, 含有这些抗体和抗体片段的试剂盒, 和使用这些抗体和抗体片段的方法。

各个试管类型的 sST2 浓度

