



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02117447.4

[43] 公开日 2003年2月12日

[11] 公开号 CN 1396453A

[22] 申请日 2002.5.17 [21] 申请号 02117447.4
 [71] 申请人 胡美浩
 地址 100080 北京市海淀区北京大学中关园
 45 公寓 102 号
 共同申请人 谢 雍
 [72] 发明人 谢 雍 胡美浩 王显花 崔红莲

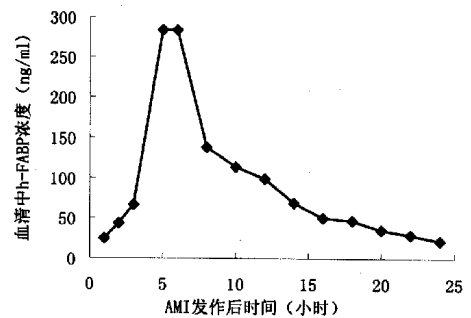
[74] 专利代理机构 北京华一君联专利事务所
 代理人 余长江

权利要求书 2 页 说明书 7 页 附图 2 页

[54] 发明名称 急性心肌梗塞早期诊断试剂盒

[57] 摘要

本发明涉及一种急性心肌梗塞早期诊断试剂盒，利用 h-FABP 作为 AMI 早期诊断的生化指标，包括标准 h-FABP 蛋白；抗 h-FABP 的单克隆抗体；抗 h-FABP 的多克隆抗体；二抗标记物；封闭液；酶底物溶液；包被缓冲液；终止液；洗涤液；酶标板；其中抗 h-FABP 多抗包被于酶标板。利用基因工程的方法得到 h-FABP，以作为抗原，取代了从心肌中提取的方法，材料易得而且操作简单。利用抗 h-FABP 的多抗作为包被抗体，减少了实验耗费并简化了实验工序，却达到了与利用两种单抗至少相同的效果；提高了 AMI 早期诊断的敏感性和特异性。可广泛应用于急性心肌梗塞的早期诊断。



- 1、一种急性心肌梗塞早期诊断试剂盒，包括标准 h-FABP 蛋白；抗 h-FABP 的单克隆抗体；抗 h-FABP 的多克隆抗体；二抗标记物；封闭液；酶底物溶液；包被缓冲液；终止液；洗涤液；酶标板；其中抗 h-FABP 多抗包被于酶标板。
- 2、如权利要求 1 所述的急性心肌梗塞早期诊断试剂盒，其特征在于所述 h-FABP 标准蛋白采用基因工程方法制成：从心脏组织中利用 RT-PCR 的方法克隆 h-FABP 基因，将其插入到载体 pET22b(+)上，经测序确证基因正确后转入到 *E.coli* BL21 (DE3) 中，IPTG 诱导表达；表达的 h-FABP 利用 Ni-Agarose 亲和层析柱分离纯化。
- 3、如权利要求 1 所述的急性心肌梗塞早期诊断试剂盒，其特征在于所述抗 h-FABP 单抗用纯化的 h-FABP 免疫 BALB/c 小鼠，得到抗原刺激的脾脏细胞，融合该脾脏细胞和小鼠的骨髓瘤细胞系 P3-X63-Ag8.653；利用 HAT 选择培养基选择杂交瘤细胞，并利用 ELISA 方法鉴定产生抗 h-FABP 抗体的细胞；保存所筛选到的产生与 h-FABP 高特异性结合的单抗的细胞株；利用细胞发酵装置培养所保存的细胞株，收集细胞培养上清，先用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉淀法从细胞培养上清中初步纯化抗 h-FABP 的单抗，再利用 Protein A-Sepharose 亲和层析柱从细胞培养上清中进一步纯化抗 h-FABP 的单抗，SDS-PAGE 及 western blotting 鉴定分离纯化的单抗。
- 4、如权利要求 1 所述的急性心肌梗塞早期诊断试剂盒，其特征在于所述抗 h-FABP 多抗用纯化的 h-FABP 免疫兔子，得到含有抗 h-FABP 抗体的兔血清；先用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉淀法从兔的血清中初步纯化免疫球蛋白 IgG，再用自制的 h-FABP-Sepharose 亲和层析柱进一步纯化抗 h-FABP 的 IgG，SDS-PAGE 及 western blotting 鉴定分离纯化的多抗。
- 5、如权利要求 1 所述的急性心肌梗塞早期诊断试剂盒，其特征在于所述封闭液为 1%白明胶溶液。
- 6、如权利要求 1 所述的急性心肌梗塞早期诊断试剂盒，其特征在于所述酶底物溶液为 60ug/ml TMB, 0.045% H_2O_2 于 0.1M pH6.0 磷酸盐缓冲液中。
- 7、如权利要求 1 所述的急性心肌梗塞早期诊断试剂盒，其特征在于所述包被缓

冲液为 0.05M pH9.6 的碳酸盐缓冲液, 即 1 升溶液中含 1.59 克 Na_2CO_3 , 2.93 克 NaHCO_3 。

8、如权利要求 1 所述的急性心肌梗塞早期诊断试剂盒, 其特征在于所述终止液为 2 mol/L H_2SO_4 溶液。

9、如权利要求 1 所述的急性心肌梗塞早期诊断试剂盒, 其特征在于所述洗涤液为 0.01 mol/L pH7.4 磷酸盐-NaCl 缓冲液, PBS 内含 0.05% Tween-20, 即 1 升溶液中含 8g NaCl, 0.2g KH_2PO_4 , 2.9g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 0.2g KCl, 0.5ml Tween-20。

急性心肌梗塞早期诊断试剂盒

技术领域：本发明涉及心脏型脂肪酸结合蛋白（h-FABP）的抗体（包括单抗和多抗）的制备、心脏型脂肪酸结合蛋白的表达及利用抗心脏型脂肪酸结合蛋白的抗体来早期诊断急性心肌梗塞（AMI）的技术领域，尤其涉及一种急性心肌梗塞早期诊断试剂盒。

背景技术：急性心肌梗塞已成为严重影响人类健康的心血管疾病，但目前对于此病的治疗效果却不够理想，其中的一个主要原因是不能在 AMI 发作早期作出正确的诊断，以至于不能采取适当的治疗方案。约有 50% 的 AMI 患者在发病的前 2 小时内死亡，所以如果能在 AMI 发作早期作出正确的诊断，将大大改善治疗效果及提高治愈率。诊断 AMI 主要靠心电图检查和生化指标测定，但心电图检查的准确率只有 50% 左右，世界上有差不多 30% 的心脏病患者就是因为心电图正常而没有得到准确的诊断，从而延误了治疗；目前用于临床诊断 AMI 的生化指标也不够理想，它们主要有肌酸激酶同工酶（CK-MB）、肌钙蛋白 I（troponin I）、肌钙蛋白 T（troponin T）和肌红蛋白（myoglobin）等，CK-MB、肌钙蛋白 I、肌钙蛋白 T 对 AMI 的早期诊断缺乏敏感性，它们在胸痛后 6-8 小时才浓度上升；而肌红蛋白则缺乏特异性，它虽然在胸痛后 2-3 小时浓度上升，但对骨骼肌和心肌损伤不能区分，所以迫切需要一种新的高特异性和高敏感性的生化指标来早期诊断 AMI。大量研究表明，心脏型脂肪酸结合蛋白（h-FABP）在 AMI 发作后 2 小时内浓度开始上升，而且专一于心肌的损伤，对于早期诊断 AMI 具有高的特异性和敏感性。

发明内容：

发明目的：本发明的目的是提供一种利用 h-FABP 及抗 h-FABP 的单抗和多抗作为 AMI 早期诊断的生化指标、简便易得的试剂盒，来测定人血清中的 h-FABP 的浓度，以用来早期诊断 AMI，提高 AMI 早期诊断的敏感性和特异性。

技术方案：

本发明的急性心肌梗塞早期诊断试剂盒，包括标准 h-FABP；抗 h-FABP 的单克隆抗体；抗 h-FABP 的多克隆抗体；二抗标记物；封闭液；酶底物溶液；

包被缓冲液；终止液；洗涤液；酶标板；其中抗 h-FABP 的多克隆抗体包被于酶标板。

所述 h-FABP 标准蛋白采用基因工程方法制成：从心脏组织中利用 RT-PCR 的方法克隆 h-FABP 基因，将其插入到载体 pET22b (+) 上，经测序确证基因正确后转入到 *E.coli* BL21 (DE3) 中，IPTG 诱导表达；表达的 h-FABP 利用 Ni-Agarose 亲和层析柱分离纯化。

所述抗 h-FABP 多抗用纯化的 h-FABP 免疫兔子，得到含有抗 h-FABP 抗体的兔血清；先用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉淀法从兔的血清中初步纯化免疫球蛋白 IgG，再用自制的 h-FABP-Sepharose 亲和层析柱进一步纯化抗 h-FABP 的 IgG，SDS-PAGE 及 western blotting 鉴定分离纯化的多抗。

所述抗 h-FABP 单抗用纯化的 h-FABP 免疫 BALB/c 小鼠，得到抗原刺激的脾脏细胞，融合该脾脏细胞和小鼠的骨髓瘤细胞系 P3-X63-Ag8.653；利用 HAT 选择培养基选择杂交瘤细胞，并利用 ELISA 方法鉴定产生抗 h-FABP 抗体的细胞；保存所筛选到的产生与 h-FABP 高特异性结合的单抗的细胞株；利用细胞发酵装置培养所保存的细胞株，收集细胞培养上清，先用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉淀法从细胞培养上清中初步纯化抗 h-FABP 的单抗，再利用 Protein A-Sepharose 亲和层析柱从细胞培养上清中进一步纯化抗 h-FABP 的单抗，SDS-PAGE 及 western blotting 鉴定分离纯化的单抗。

所述封闭液为 1%白明胶溶液；所述酶底物溶液为 TMB 应用液，即 60ug/ml TMB, 0.045% H_2O_2 于 0.1M pH6.0 磷酸盐缓冲液中；包被缓冲液为 0.05M pH9.6 的碳酸盐缓冲液，即 1 升溶液中含 1.59 克 Na_2CO_3 , 2.93 克 NaHCO_3 ；终止液为 2 mol/L H_2SO_4 溶液；洗涤液为 0.01 mol/L pH7.4 磷酸盐-NaCl 缓冲液 (PBS)，PBS 内含 0.05%Tween-20，即 1 升溶液中含 8g NaCl, 0.2g KH_2PO_4 , 2.9g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 0.2g KCl, 0.5ml Tween-20。

发明原理及积极效果分析：

本发明是以 h-FABP 作为生化指标，来早期诊断 AMI。这包括制备上述 h-FABP 的多抗和单抗的方法，以及利用 ELISA 方法测定血清中的 h-FABP 的浓度，以诊断 AMI。

本发明利用抗 h-FABP 的单抗和多抗，其中利用多抗作为第一抗体，即包被抗体，这减少了实验耗费并简化了实验工序，却达到了与利用两种单抗至少相同

的效果；同时，我们利用基因工程的方法得到 h-FABP，以作为抗原，这取代了从病人心肌中提取的方法，材料易得而且操作简单。利用 h-FABP 作为 AMI 早期诊断的生化指标，提高了 AMI 早期诊断的敏感性和特异性。

本发明的方法利用制备的抗 h-FABP 的多抗和单抗，能在胸痛后 2 小时内就可诊断出急性心肌梗塞，具有较高的特异性和敏感性，克服了目前所用于临床的其他生化指标的缺点。

本发明实验结果及分析：

1) h-FABP 的表达及纯化：将 h-FABP 基因克隆到表达载体 pET22b (+) 上并转入到 *E.coli* BL21 (DE3) 中，IPTG 诱导表达，h-FABP 在 *E.coli* BL21 (DE3) 中表达；利用 Ni-Agarose 亲和层析柱从 *E.coli* 的裂解液中分离纯化 h-FABP，经 SDS-PAGE 鉴定，在 18kD 处有一条蛋白条带（图 1）；利用抗 h-FABP 的抗体进行免疫杂交，发现只在 18kD 处有一条杂交条带（图 2），这表明所得到的蛋白为 h-FABP。心脏中 h-FABP 是 15kD 的小分子，本发明在 *E.coli* 中所表达、纯化的 h-FABP 为 18kD，这是由于其 N 端带有一段信号肽，C 端有 6xHis-tag，这两段序列是表达载体 pET22b (+) 所具有的，而血清中的 h-FABP 则不具有此序列，但由于本发明分离纯化的抗 h-FABP 的抗体所特异的抗原决定簇是序列抗原决定簇，所以这种重组的 h-FABP 和抗体的结合与血清中的 h-FABP 和抗体的结合相一致，不影响实验结果。本发明利用基因工程的方法制备 h-FABP，从而取代了从心肌中分离纯化 h-FABP 的方法，这不仅取材容易，而且简化了操作过程，节省了实验耗资。

2) 抗 h-FABP 的抗体的制备及纯化：

i) 抗 h-FABP 的单抗的制备及纯化 本发明制备了高特异性和亲和力的单抗 IgG，并且利用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉淀法和 Protein A-Sepharose 亲和层析柱从杂交瘤细胞的培养上清中分离纯化得到纯的抗 h-FABP 的抗体，SDS-PAGE 鉴定，在 55kD 及 24kD 处有两条蛋白条带，即为 IgG 的重链和轻链；同时，经 Western Blotting 鉴定，该 IgG 能够与 h-FABP 杂交，这说明分离纯化所得到的 IgG 是特异于 h-FABP 的抗体。

ii) 抗 h-FABP 的多抗的制备及纯化 本发明制备了高效价的多抗，并且利用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉淀法和 h-FABP-Sepharose 亲和层析柱从兔的血清中分离纯化出了高特异性和亲和力的抗 h-FABP 的抗体，SDS-PAGE 鉴定，在 55kD 及

24kD 处有两条蛋白条带，即为 IgG 的重链和轻链；同时，经 Western Blotting 鉴定，该 IgG 能够与 h-FABP 杂交，这说明分离纯化所得到的 IgG 是特异于 h-FABP 的抗体。

3) ELISA 检测不同血样中 h-FABP 的浓度，以诊断 AMI：利用所制备的抗 h-FABP 的多抗和单抗，采用三明治式 ELISA 方法，测定不同血清中的 h-FABP 的浓度。共检测了 126 名正常人、41 名冠心病患者及 33 名 AMI 患者的血清中 h-FABP 的浓度，并且 AMI 患者的血样是从发病后 1 小时到 24 小时，平均每 2 小时取一次血。由测量结果可见，1) AMI 患者血清中 h-FABP 在 2 小时内开始上升，5-6 小时内达到最高值，12-24 小时内恢复到正常水平（见图 3）；2) 正常人和冠心病患者血清中的 h-FABP 浓度相近，并且明显低于 AMI 患者的 h-FABP 浓度（见表 1）；3) 根据正常人血清中的 h-FABP 浓度，利用平均值+2 倍方差的算法，求得以 h-FABP 作为 AMI 诊断生化指标的截断值(cut off value)是 7.543ng/ml。另外，本发明以多抗作为第一抗体，以单抗作为第二抗体，这取得了与国外所报道的利用两种单抗的方法相同甚至更好的效果，但本发明的方法却简单、易行，耗资少。

表 1 正常人、冠心病患者和 AMI 患者血清中 h-FABP 的平均浓度值

	平均值 (ng/ml)	方差
正常人	2.791	2.376
冠心病患者	4.268	2.045
AMI 患者	84.453	85.805

注：每份样品都测三次.取平均值

附图说明：

图 1 SDS-PAGE(12%)鉴定 h-FABP 的表达、纯化状况示意图

1. 蛋白质分子量 marker，从大到小分子量分别是：97 000Da，66 000Da，43 000 Da，31 000Da，20 100Da，14 400Da。

2. 经 Ni-Agarose 亲和层析柱分离纯化后的 h-FABP 样品

图 2 Western-Blotting 进一步鉴定 h-FABP 的表达、纯化状况示意图

1. 蛋白质分子量 marker，从大到小分子量分别是：97 000Da，66 000Da，43 000 Da，31 000Da，20 100Da，14 400Da。

2. 经 Ni-Agarose 亲和层析柱分离纯化后的 h-FABP 样品

图3 AMI患者在发病后不同时间血清中h-FABP的浓度变化

注:图中的数值是33名AMI患者的h-FABP浓度值的平均值

实施方案:

1. 克隆、表达、纯化及鉴定h-FABP:

从Gene Bank搜索人的h-FABP基因,根据所搜索到的基因序列设计引物为:5'-AGCTGGATCCATGGTGGACGCTTTCCTGGGC-3'

5'-CTAGGAATTCTGCCTCTTTCATAAGTGCG-3'

然后从心脏组织中利用RT-PCR的方法克隆h-FABP基因,通过常规的酶切、连接等分子生物学操作将所得到的h-FABP基因插入到载体pET22b(+)上,经测序确证基因正确后,得到重组的原核表达载体pET22b(+)-hFABP,利用CaCl₂转化的方法将此重组载体转入到*E.coli* BL21(DE3)感受态细胞中,利用IPTG诱导表达,表达的h-FABP利用Ni-Agarose亲和层析柱分离纯化,SDS-PAGE及western blotting鉴定分离纯化的h-FABP。

2. 制备、纯化及鉴定抗h-FABP的抗体:

i) 制备、纯化及鉴定抗h-FABP的单抗 用纯化的h-FABP利用腹腔注射方法免疫BALB/c小鼠,每隔三周免疫一次,共免疫四次;然后取出免疫小鼠的脾脏细胞,利用PEG-4000融合该脾脏细胞和小鼠的骨髓瘤细胞系P3-X63-Ag8.653;利用HAT选择培养基在96孔细胞培养板上选择杂交瘤细胞,并利用ELISA方法鉴定产生抗h-FABP抗体的细胞;保存所筛选到的产生与h-FABP高特异性结合的单抗的细胞株;利用细胞发酵装置培养所保存的细胞株,收集细胞培养上清,先用(NH₄)₂SO₄沉淀法从细胞培养上清中初步纯化抗h-FABP的单抗,再利用Protein A-Sepharose亲和层析柱从细胞培养上清中进一步纯化抗h-FABP的单抗,SDS-PAGE及western blotting鉴定分离纯化的单抗。

ii) 制备、纯化及鉴定抗h-FABP的多抗 用纯化的h-FABP免疫兔子,免疫两次,间隔一个月;取兔的全血。先用(NH₄)₂SO₄沉淀法从兔的血清中初步纯化免疫球蛋白IgG,再用自制的h-FABP-Sepharose亲和层析柱进一步纯化抗h-FABP的IgG,SDS-PAGE及western blotting鉴定分离纯化的多抗。

3. ELISA测定血清中的h-FABP浓度,以诊断AMI:

1) 各种缓冲液及试剂的配制方法:

i) 包被缓冲液: 0.05M pH9.6的Na₂CO₃-NaHCO₃

- Na_2CO_3 (MW 105.99) 1.59 克
 NaHCO_3 (MW 84.01) 2.93 克
 蒸馏水溶至 1000ml
- ii) 洗涤液: pH 7.4 的 PBS-Tween 20
- | | |
|------------------------------------------------------------------|-------|
| NaCl (MW 58.44) | 8.0 克 |
| KH_2PO_4 (MW 136.09) | 0.2 克 |
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (MW 358.14) | 2.9 克 |
| (或者 NaHPO_4 1.14 克) | |
| KCl (MW 74.56) | 0.2 克 |
| Tween 20 | 0.5ml |
- 蒸馏水溶至 1000ml
- iii) 封闭液: 1%白明胶溶液
- 白明胶 1 克
- 洗涤液溶至 100ml
- iv) 酶底物溶液: TMB (3,3',5,5'四甲替联苯胺) 应用液
- a. 0.1M pH6.0 磷酸盐缓冲液
- | | |
|----------------------------------------------------|--------|
| $\text{NaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 1.09 克 |
| $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 6.05 克 |
- 蒸馏水溶至 500ml
- b. TMB 贮液
- | | |
|-----|-------|
| TMB | 60 毫克 |
|-----|-------|
- DMSO 溶至 10ml
- 4°C 贮存
- c. TMB 应用液
- | | |
|----------------------------|-------|
| 磷酸盐缓冲液 | 10ml |
| TMB 贮液 | 100ul |
| 30% H_2O_2 | 15ul |
- (临用前现配)
- v) 终止液: 2M H_2SO_4
- 浓硫酸 (95%-98%) 22.2ml

蒸馏水 177.3ml

(配时将浓硫酸缓慢滴入蒸馏水中, 边加边混匀)

2) 操作步骤

i) 制定标准曲线

将纯化的抗 h-FABP 多抗溶液用包被液稀释到 1ug/ml, 加入到 96 孔酶标板中, 每孔 100ul, 37℃包被 2 小时或 4℃过夜; 洗涤液洗板 3 次, 甩干, 加入 1%白明胶封闭, 每孔 200ul, 室温保温 2 小时; 洗涤液洗板 3 次, 甩干, 加入不同浓度的 h-FABP(0-20ng/ml) 标准抗原, 每孔 100ul, 室温保温 2 小时; 洗涤液洗板 3 次, 甩干, 加入抗 h-FABP 单抗溶液(用洗涤液稀释到 1ug/ml), 每孔 100ul, 室温保温 2 小时; 洗涤液洗板 3 次, 甩干, 加入二抗溶液(用洗涤液 1: 1000 稀释), 每孔 100ul, 室温保温 2 小时; 洗涤液洗板 3 次, 甩干, 加入酶底物溶液, 每孔 100ul, 暗处显色 5 分钟, 加入终止液, 每孔 50ul, 利用酶标仪在 450nm 测定光吸收值 (A_{450nm}); 以浓度 (ng/ml) 为横坐标, A_{450nm} 为纵坐标, 绘制标准曲线。

ii) 测定血清中的 h-FABP 浓度:

将纯化的抗 h-FABP 多抗溶液用包被液稀释到 1ug/ml, 加入到 96 孔酶标板中, 每孔 100ul, 37℃包被 2 小时或 4℃过夜; 洗涤液洗板 3 次, 甩干, 加入 1%白明胶封闭, 每孔 200ul, 室温保温 2 小时; 洗涤液洗板 3 次, 甩干, 加入适当倍数稀释的血清, 每孔 100ul, 室温保温 2 小时; 洗涤液洗板 3 次, 甩干, 加入抗 h-FABP 单抗溶液(用洗涤液稀释到 1ug/ml), 每孔 100ul, 室温保温 2 小时; 洗涤液洗板 3 次, 甩干, 加入二抗溶液(用洗涤液 1: 1000 稀释), 每孔 100ul, 室温保温 2 小时; 洗涤液洗板 3 次, 甩干, 加入酶底物溶液, 每孔 100ul, 暗处显色 5 分钟, 加入终止液, 每孔 50ul, 利用酶标仪在 450nm 测定光吸收值 (A_{450nm}); 根据标准曲线, 由所测得的 A_{450nm} 求得血清中 h-FABP 的浓度值。

iii) 结果判定

根据 h-FABP 作为急性心肌梗塞诊断指标的截断值 (cut off value) 7.543ng/ml, 浓度高于该值的可判定为急性心肌梗塞, 低于该值的则不是急性心肌梗塞。



图 1



图 2

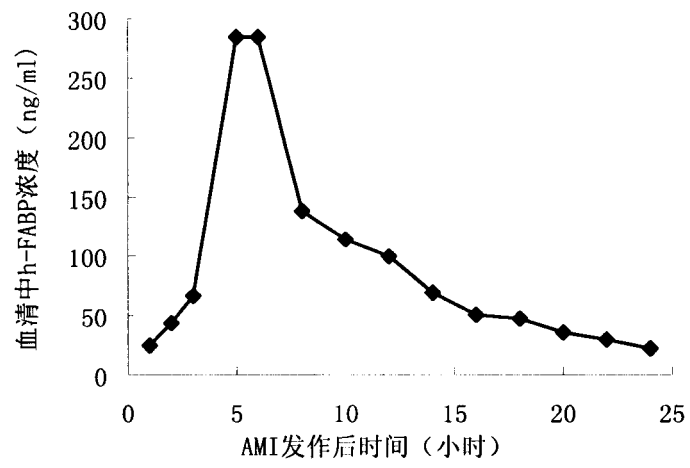


图 3

专利名称(译)	急性心肌梗塞早期诊断试剂盒		
公开(公告)号	CN1396453A	公开(公告)日	2003-02-12
申请号	CN02117447.4	申请日	2002-05-17
[标]申请(专利权)人(译)	胡美浩 谢雍		
申请(专利权)人(译)	胡美浩 谢雍		
当前申请(专利权)人(译)	胡美浩 谢雍		
[标]发明人	谢雍 胡美浩 王显花 崔红莲		
发明人	谢雍 胡美浩 王显花 崔红莲		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/531 G01N33/68 G01N33/96		
代理人(译)	余长江		
其他公开文献	CN1219215C		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种急性心肌梗塞早期诊断试剂盒，利用h - FABP作为AMI早期诊断的生化指标，包括标准h - FABP蛋白；抗h - FABP的单克隆抗体；抗h - FABP的多克隆抗体；二抗标记物；封闭液；酶底物溶液；包被缓冲液；终止液；洗涤液；酶标板；其中抗h - FABP多抗包被于酶标板。利用基因工程的方法得到h - FABP，以作为抗原，取代了从心肌中提取的方法，材料易得而且操作简单。利用抗h - FABP的多抗作为包被抗体，减少了实验耗费并简化了实验工序，却达到了与利用两种单抗至少相同的效果；提高了AMI早期诊断的敏感性和特异性。可广泛应用于急性心肌梗塞的早期诊断。

