

Simoa Human Neurology 4-Plex B assay (N4PB) 用于检测脑脊液 (CSF) 和血液中4种重要的神经学生物标志物。这四个生物标志物分别是神经丝轻链蛋白 (NF-L)、总Tau蛋白、胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 和泛素羧基末端水解酶L1 (UCH-L1)。这四种生物标志物都被研究作为创伤性脑损伤 (TBI) 严重程度的指标。Simoa 人类神经学4重A分析 (N4PA) 也被设计用于测量相同的4种分析物。在来自严重TBI患者的样本中，N4PA检测中GFAP信号常出现饱和。而N4PB可以检测到10倍低的GFAP信号，同时在大多数健康个体样本中保留检测 GFAP 的能力。这一修改导致高GFAP水平的样本集产生更好的数据。NF-light (Neurofilament light) 是神经元中表达的一种68 kDa的细胞骨架中间丝蛋白。在轴突损伤或神经元变性后，神经丝可以大量释放。NF-L已被证明与创伤性脑损伤、多发性硬化症、额颞部痴呆等神经退行性疾病有关。Simoa NF-Light检测可用于定量测定人、小鼠、牛等动物血清、血浆和脑脊液中的NF-L。胶质纤维酸性蛋白 (Glial Fibrillary acid Protein, GFAP) 是一种III类中间丝，主要在中枢神经系统的星形胶质细胞中表达。GFAP参与中枢神经系统的许多重要过程，有细胞通讯和血脑屏障的功能。GFAP作为一种潜在的生物标志物，已被证实与创伤性脑损伤、中风、脑肿瘤等多种疾病相关。泛素羧基末端水解酶L1 (UCH-L1) 主要在神经元中表达，是最丰富的脑蛋白之一，占总可溶性脑蛋白的1~2%。UCH-L1已被证明在机体内参与泛素库、凋亡、学习和记忆的调节。近来，UCH-L1被认为是脑损伤的候选生物标志物，它可以从损伤的神经元中释放出来，流入脑脊液和或随血液循环。Tau蛋白是一种微管相关蛋白，主要定位于中枢神经系统的神经元，在星形胶质细胞和少突胶质细胞中表达相对较低。其在神经元损伤时会释放至细胞外，可能可以作为检测脑损伤的特异性生物标志物。脑脊液中Tau蛋白升高可能会穿过血脑屏障，这表明可以通过检测血液中Tau蛋白的含量来了解大脑/脑脊液的状态。Simoa 人类神经学4重总Tau检测可以通过分子中的一个表位识别所有Tau亚型。

Simoa Neurology 4-Plex B Advantage Kit 103345

试剂盒描述	
可检测因子	NF-light、GFAP、UCH-L1、Tau
实验方法	2 step digital immunoassay
算法	4-parameter logistic curve fit, 1/y ² weighted
总反应数/套	96
兼容物种	人类
兼容样本类型	EDTA血浆 (E)、脑脊液 (C) [*]

^{*}样本类型注释：E=EDTA血浆，C=脑脊液

试剂盒包含内容			
名称	数量	保存温度	备注
Bead	1瓶	2-8℃	包被捕获抗体的磁珠
Detector	1瓶	2-8℃	生物素化的检测抗体
SBB	1瓶	2-8℃	链霉亲和素酶
Sample Diluent	2瓶	2-8℃	样本稀释液
RGP	3瓶	2-8℃	反应底物
Calibrator	8梯度, 2组	-80℃	标准品
Control	2梯度, 2组	-80℃	质控内参

关键检测参数 (pg/mL)			
LLOQ (定量下限)	NF-light	0.5	
	GFAP	9.38	
	UCH-L1	9.38	
	Tau	0.125	
LOD (检测限)	NF-light	0.0962	
	GFAP	1.18	
	UCH-L1	2.43	
	Tau	0.0371	
动态检测范围	血浆	NF-light	0-2000
		GFAP	0-40000
		UCH-L1	0-40000
		Tau	0-400
	脑脊液	NF-light	0-20000
		GFAP	0-400000
		UCH-L1	0-400000
		Tau	0-4000

其他相关资料
Comparisons between N4PA and N4PB
Neurology 4-Plex B Data Sheet HD-1 / HD-X
Neurology 4-Plex B Validation Report

其他参考信息

一般性检测计划		
名称	单重复检测 [*]	双重复检测 [*]
标曲数	8梯度×2重复	
内参数	2内参×2重复	
样本数	76例	38例
所需体积	E=200μL; C=100μL [*]	E=300μL; C=100μL [*]
合计反应数	96	96

^{*}检测重复数注释：单重复=每样本进行1个反应检测，双重复=每样本进行2个反应检测

^{*}样本类型注释：E=EDTA血浆，C=脑脊液

该标志物其他相关试剂盒		
名称	货号	检测因子
Simoa GFAP Discovery Kit	102336	GFAP
Simoa NF-light Advantage Kit	103186	NF-light
Simoa Tau Advantage Kit	101552	Tau
Simoa UCH-L1 Advantage Kit	102343	UCH-L1
Simoa Neurology 2-Plex B Advantage Kit	103520	NF-light、GFAP
Simoa Neurology 3-Plex A Advantage Kit	101995	Αβ40、Αβ42、Total Tau
Simoa Neurology 4-Plex A Advantage Kit	102153	GFAP、NF-light、Tau、UCH-L1
Simoa Neurology 4-Plex E Advantage Kit	103670	Αβ40、Αβ42、GFAP、NF-light

Simoa检测流程简述

Step 1: 取25μL Beads（磁珠）、100μL的标准品或使用 Sample Diluent 稀释后的100μL样本及20μL Detector（检测抗体）共同加入到反应槽（Cuvette, Quanterix）中进行混合并在30℃下孵育反应47 cadences（45 seconds/cadence），约35:15min；期间抗体结合样本中的标志蛋白并形成双抗夹心免疫复合物，反应结束后使用 system wash buffer1进行清洗去除未结合的物质；

Step 2: 加入100μL SBB混合并在30℃孵育反应7 cadences（45 seconds/cadence），约5:15min，反应结束后使用 system wash buffer2进行清洗去除未结合的物质，随后，磁珠-免疫复合物将由50μL的荧光底物（RGP）充分重悬后加入到检测光盘（Disc, Quanterix）中的微孔阵列中，带免疫复合物信号的磁珠将落入到检测光盘中的微孔中，之后导入密封矿物油（Sealing Oil, Quanterix）封闭微孔并推走未落入微孔中的磁珠，随后开始荧光成像拍照检测磁珠表面的信号强度；检测实验完成后仪器将自动分析计算待测样本中的标志蛋白含量；

