



ТЕХНИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ



Клиника и
исследования

Неврология



Бета-амилоид 1–42



Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой комплексное прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, которым страдают приблизительно 14 миллионов человек в Европе и США, включая почти половину населения в возрасте от 85 лет и старше (43%).

Болезнь Альцгеймера является наиболее распространенной причиной деменции и характеризуется нейроаксональной и

синаптической дегенерацией, которая сопровождается интранейрональными нейрофибрилярными клубками и накоплением внеклеточных бляшек в определенных областях головного мозга. При болезни Альцгеймера эти особенности отражаются в спинномозговой жидкости (СЖ) снижением концентрации β (бета)-амилоида. β -амилоид продуцируется протеолитическим расщеплением белка – предшественника амилоида, который является крупным трансмембранным белком, который, по-видимому, участвует в синаптической пластичности и обучении. Расщепление этого белка генерирует различной длины β -амилоидные пептиды (38–43 аминокислоты), которые накапливаются во внеклеточном пространстве с образованием внеклеточных бляшек. Из этих пептидов β -амилоид 1–42 ($A\beta_{42}$) является основной формой, ассоциированной с БА.

β -амилоид 1–42 как биомаркер в диагностике

Было показано, что уровни $A\beta_{42}$ в спинномозговой жидкости имеют диагностическую ценность для дифференцировки случаев деменции при БА от когнитивно-нормальных состояний на самых ранних стадиях развития заболевания. Уровень $A\beta_{42}$ значительно падает за 5–10 лет до появления симптомов когнитивных нарушений. $A\beta_{42}$ может использоваться для диагностики болезни Альцгеймера как на предшествующей деменции стадии заболевания, так и при слабоумии. В настоящее время β -амилоид включен в критерии диагностических исследований болезни Альцгеймера.



Клиническое использование

✓ Болезнь Альцгеймера

Моноклональные антитела, специфичные к β -амилоиду

Мы предлагаем хорошо охарактеризованные мышинные моноклональные антитела, специфичные к бета-амилоиду человека (MoAt) для обнаружения $A\beta_{42}$ в СЖ человека. Эти антитела были разработаны к синтетическим пептидам, которые соответствуют фрагментам последовательности $A\beta_{42}$.

Количественный и высокоспецифичный сэндвич-иммуноанализ для определения β -амилоида

Мы рекомендуем две комбинации MoAt для разработки сэндвич-иммуноанализа для измерения $A\beta_{42}$ в образцах СЖ человека: VAM7cc-VAM113cc и VAM7cc-VAM120cc. Оба прототипа анализа Хайтест способны обнаруживать нативный β -амилоид в СЖ человека. Значения пределов обнаружения приведены в таблице 1. Специфичность иммуноанализов VAM7cc-VAM113cc и VAM7cc-VAM120cc была подтверждена с использованием различных синтетических β -амилоидных пептидов человека. Кросс-реактивность с $A\beta_{40}$, $A\beta_{41}$ и $A\beta_{43}$ была измерена при концентрации 50 нг/мл для каждого тестируемого пептида и оказалась очень низкой, как указано в таблице 2.

Таблица 1. Рекомендованные пары для сэндвич-ИФА (подложка-конъюгат). Данные основаны на результатах, которые были получены с использованием сэндвич-хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA)

Антитела подложки	Детекторные антитела	Предел обнаружения (пг/мл)
VAM7cc	VAM113cc	5.3
VAM7cc	VAM120cc	13.4

Таблица 2. Кросс-реактивность прототипных иммуноанализов к различным синтетическим пептидам

Синтетический пептид	BAM7cc- BAM113cc	BAM7cc- BAM120cc
β-амилоид 1-40 (Aβ40)	0.01%	0.004%
β-амилоид 1-41 (Aβ41)	0.6%	0.4%
β-амилоид 1-43 (Aβ43)	0.11%	0.07%

Калибровочные кривые для прототипа иммуноанализа представлены на рисунке 1.

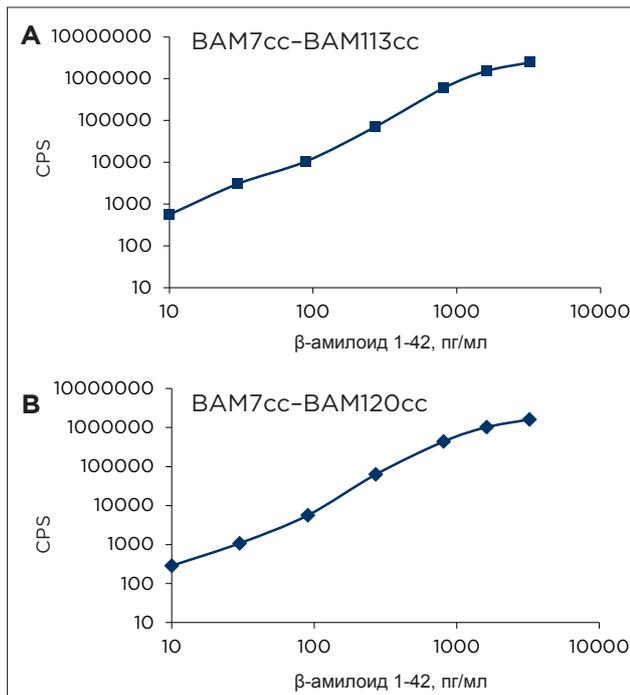


Рисунок 1. Калибровочные кривые для пар МоАт BAM7cc – BAM113cc (А) и BAM7cc-BAM120cc (В). Антитело подложки BAM7cc наносили на черную пластинку Costar EIA / RIA в PBS и инкубировали при комнатной температуре в течение 40 минут. Синтетический β-амилоид 1-42 человека (AnaSpec Кат. № AS24224) и биотинилированное детекторное антитело BAM120cc (или BAM 113cc) разбавляли в буфере PBST, содержащем 7,5% BSA и 0,1% Tween20, и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. После промывки планшеты инкубировали со стрептавидин поли-HRP в течение 5 минут и снова промывали. Добавляли субстрат максимальной чувствительности SuperSignal ELISA Femto и измеряли люминесценцию с помощью счетчика Victor Multi Label Counter.

Измерение образцов СЖ пациентов

Мы получили образцы СЖ от 30 пациентов разного возраста (от 45 до 90 лет), чтобы провести исследования корреляции между прототипами иммуноанализов Хайтест и доступным коммерческим тестом INNOTEST® β-AMYLOID (1-42).

На рисунке 2 показаны исследования корреляции между иммуноанализом прототипа Хайтест и INNOTEST β-AMYLOID (1-42).

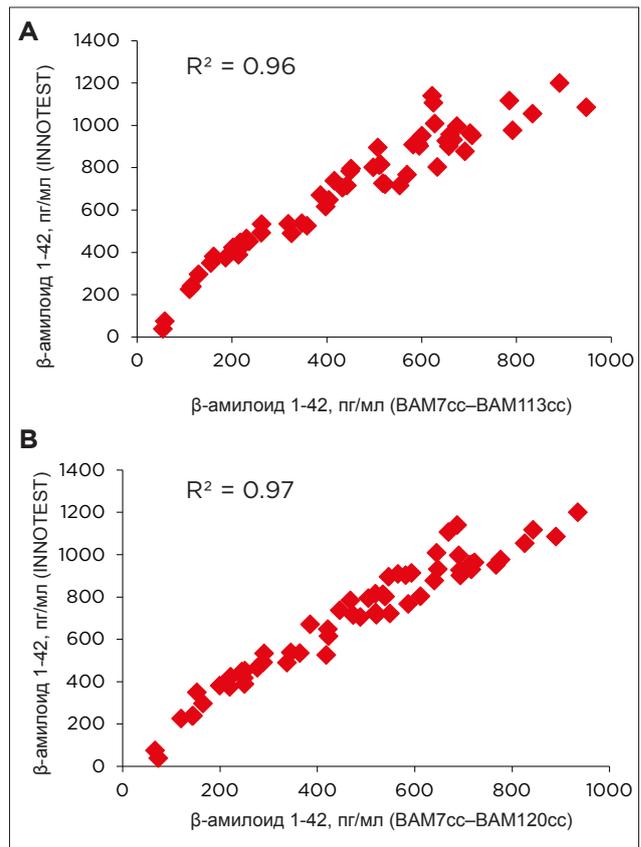


Рисунок 2. Исследования корреляции между иммуноанализом BAM7cc-BAM113cc (А) и BAM7cc-BAM120cc (В) и набором INNOTEST β-AMYLOID (1-42). Коэффициенты корреляции (Пирсона) между прототипами и анализом INNOTEST представлены на рисунке.

Информация для заказа.

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

Название продукта	Кат. №	Клон	Подкласс	Примечания
Бета-амилоид человека	4BA3	BAM7cc	IgG1	In vitro, ИФА
		BAM113cc	IgG1	In vitro, ИФА
		BAM120cc	IgG1	In vitro, ИФА