



# ТЕХНИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ



Клиника и  
исследования

Неврология



## Бета-амилоид 1–42



**Б**олезнь 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  $\beta$  (бета)-амилоида.  $\beta$ -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  $\beta$ -амилоидные пептиды (38–43 аминокислоты), которые накапливаются во внеклеточном пространстве с образованием внеклеточных бляшек. Из этих пептидов  $\beta$ -амилоид 1–42 ( $A\beta_{42}$ ) является основной формой, ассоциированной с БА.

### $\beta$ -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  $\beta$ -амилоид включен в критерии диагностических исследований болезни Альцгеймера.



### Клиническое использование

✓ Болезнь Альцгеймера

### Моноклональные антитела, специфичные к $\beta$ -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 $\beta$ -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  $\beta$ -амилоид в СЖ человека. Значения пределов обнаружения приведены в таблице 1. Специфичность иммуноанализов VAM7cc-VAM113cc и VAM7cc-VAM120cc была подтверждена с использованием различных синтетических  $\beta$ -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.

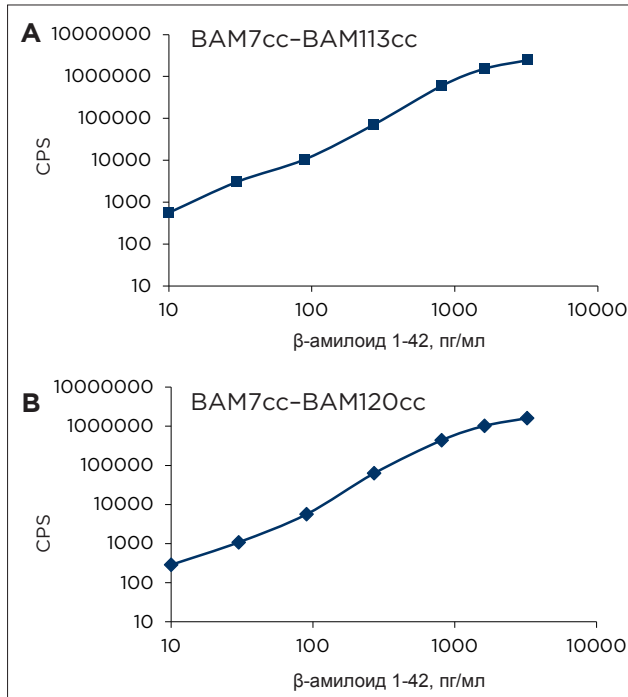
**Таблица 1. Рекомендованные пары для сэндвич-ИФА (подложка-конъюгат).** Данные основаны на результатах, которые были получены с использованием сэндвич-хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA)

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	ВAM7cc-ВAM113cc	ВAM7cc-ВAM120cc
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.

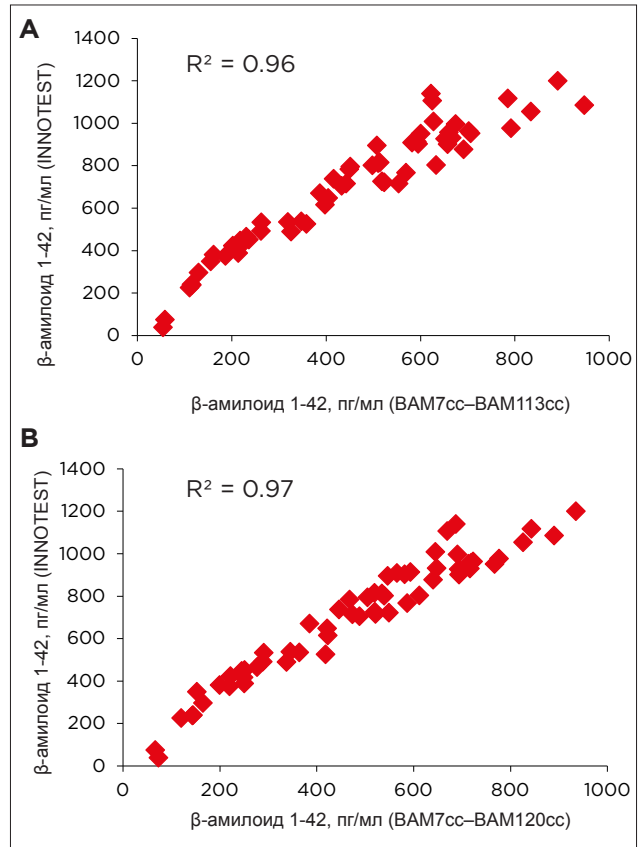


**Рисунок 1. Калибровочные кривые для пар МоАт ВAM7cc – ВAM113cc (А) и ВAM7cc-ВAM120cc (В).** Антитело подложки ВAM7cc наносили на черную пластинку Costar EIA / RIA в PBS и инкубировали при комнатной температуре в течение 40 минут. Синтетический β-амилоид 1-42 человека (AnaSpec Кат. № AS24224) и биотинилированное детекторное антитело ВAM120cc (или ВAM 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 ВAM7cc-ВAM113cc (А) и ВAM7cc-ВAM120cc (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	4ВА3	ВAM7cc	IgG1	In vitro, ИФА
		ВAM113cc	IgG1	In vitro, ИФА
		ВAM120cc	IgG1	In vitro, ИФА