

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2015-141149

(P2015-141149A)

(43) 公開日 平成27年8月3日(2015.8.3)

(51) Int.Cl.

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

F I

G O 1 N 33/53

D

テーマコード (参考)

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2014-15208 (P2014-15208)
(22) 出願日 平成26年1月30日 (2014.1.30)(71) 出願人 899000057
学校法人日本大学
東京都千代田区九段南四丁目8番24号
(74) 代理人 110000084
特許業務法人アルガ特許事務所
(74) 代理人 100077562
弁理士 高野 登志雄
(74) 代理人 100096736
弁理士 中嶋 俊夫
(74) 代理人 100117156
弁理士 村田 正樹
(74) 代理人 100111028
弁理士 山本 博人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アミロイドβタンパク質凝集体の測定法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 アルツハイマー病の診断が可能なマーカーの測定法を提供する。

【解決手段】 赤血球含有試料に抗アミロイド タンパク質凝集体抗体を反応させることを特徴とする赤血球中のアミロイド タンパク質凝集体の免疫学的測定法。抗アミロイド タンパク質凝集体抗体を含有する赤血球中のアミロイド タンパク質凝集体の免疫学的測定試薬。抗アミロイド タンパク質凝集体抗体が、粒子径 50 nm以上の非晶質のアミロイド タンパク質凝集体に特異的に結合する抗体である。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

赤血球含有試料に抗アミロイド タンパク質凝集体抗体を反応させることを特徴とする赤血球中のアミロイド タンパク質凝集体の免疫学的測定法。

【請求項 2】

抗アミロイド タンパク質凝集体抗体が、粒子径 50 nm以上の非晶質のアミロイド タンパク質凝集体に特異的に結合する抗体である請求項 1 記載の免疫学的測定法。

【請求項 3】

赤血球が、ヒト赤血球である請求項 1 又は 2 記載の免疫学的測定法。

【請求項 4】

アルツハイマー病診断の目的で測定するものである請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の免疫学的測定法。

【請求項 5】

抗アミロイド タンパク質凝集体抗体を含有する赤血球中のアミロイド タンパク質凝集体の免疫学的測定試薬。

【請求項 6】

抗アミロイド タンパク質凝集体抗体が、粒子径 50 nm以上の非晶質のアミロイド タンパク質凝集体に特異的に結合する抗体である請求項 5 記載の免疫学的測定試薬。

【請求項 7】

赤血球が、ヒト赤血球である請求項 5 又は 6 記載の免疫学的測定試薬。

【請求項 8】

アルツハイマー病診断薬である請求項 5 ~ 7 のいずれかに記載の免疫学的測定試薬。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、赤血球含有試料中のアミロイド タンパク質凝集体の免疫学的測定法及び免疫測定試薬に関する。

【背景技術】

【0002】

アルツハイマー病の発症機構は未だ不明であり、根本的治療法も確立されていない。アルツハイマー病は、初期には認知機能障害や神経症状以外の局所神経症状を認めることは稀である。病気がかなり進行した後にCTやMRI等の画像検査で診断が可能であるものの、アルツハイマー病の根本的治療法がないため、進行を抑制する薬剤による治療しかない。

【0003】

このため、アルツハイマー病を早期かつ簡易に発見する方法の開発が強く求められている。アルツハイマー病の主要な病理変化である老人斑の主要構成成分がアミロイド タンパク(A)であることから、当該Aは、アルツハイマー病の発症と進展に深く関与していることから注目され広く研究されている。例えば、髄液中のA₄₂の低下やタウタンパク質の増加を測定する手段が提案されている。しかし、髄液採取は負担が大きく、感染リスクを伴うため、健康診断で利用できる手段ではない。また、CT等による画像診断は簡便ではあるが、病気がある程度進行してからでないとは確認できない。

【0004】

最近、赤血球中にA_βが存在すること、及び赤血球中のA_β₁₋₄₂、A_β₁₋₄₀が測定できることが報告された(非特許文献1)。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Kiko et al, PLOSone, 7, Nov. 2012, e49620

【発明の概要】

10

20

30

40

50

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかしながら、赤血球中の A 量は 10 ng/mL 程度と報告されており、従来のサンドイッチ ELISA の検出下限値は 100 ng/mL 程度であり、簡便な免疫学的測定法では赤血球中の A は測定できない。

従って、より簡便な手段によりアルツハイマー病の診断が可能なマーカーの測定法の開発が望まれていた。

【課題を解決するための手段】

【0007】

そこで本発明者は、A ではなく、A 凝集体に特異的な抗体を用いて体液試料中の量を測定してきたところ、赤血球中に高濃度の A 凝集体が存在することを初めて見出した。さらに検討を続けたところ、赤血球中の A 凝集体濃度はアルツハイマー病と関連することから、これを測定すれば簡易かつ早期にアルツハイマー病の診断が可能となることを見出し、本発明を完成した。

10

【0008】

すなわち、本発明は次の〔1〕～〔8〕を提供するものである。

【0009】

〔1〕赤血球含有試料に抗 A 凝集体抗体を反応させることを特徴とする赤血球中の A 凝集体の免疫学的測定法。

〔2〕抗 A 凝集体抗体が、粒子径 50 nm 以上の非晶質の A 凝集体に特異的に結合する抗体である〔1〕記載の免疫学的測定法。

20

〔3〕赤血球が、ヒト赤血球である〔1〕又は〔2〕記載の免疫学的測定法。

〔4〕アルツハイマー病診断の目的で測定するものである〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の免疫学的測定法。

〔5〕抗 A 凝集体抗体を含有する赤血球中の A 凝集体の免疫学的測定試薬。

〔6〕抗 A 凝集体抗体が、粒子径 50 nm 以上の非晶質の A 凝集体に特異的に結合する抗体である〔5〕記載の免疫学的測定試薬。

〔7〕赤血球が、ヒト赤血球である〔5〕又は〔6〕記載の免疫学的測定試薬。

〔8〕アルツハイマー病診断薬である〔5〕～〔7〕のいずれかに記載の免疫学的測定試薬。

30

【発明の効果】

【0010】

本発明の免疫学的測定法によれば、簡便な手段により、赤血球含有試料中の A が測定でき、早期にアルツハイマー病の診断が可能になる。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】凝集体およびモノマーの AFM 画像を示す図である。(A) ナノ凝集体；直径 50 nm 程度の楕円形のナノ凝集体に混ざって直径 200 nm 以上の大きな凝集体が見られる。

(B) マイクロ凝集体 (LOA) (C) 繊維状 A₁₋₄₂ (D) モノマー

40

【図2】各凝集体に対する各モノクローナル抗体の反応性を示す図である。

【図3】サイズ分画したナノ凝集体画分に対する各モノクローナル抗体の反応性を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0012】

本発明の赤血球中の A 凝集体の免疫学的測定法は、赤血球含有試料に抗 A 凝集体抗体を反応させることを特徴とする。

【0013】

被測定検体は、赤血球含有試料であり、特にヒト赤血球含有試料が好ましい。赤血球含有試料としては、全血液、血液中の赤血球画分のいずれでもよいが、測定精度の点から赤血球画分がより好ましい。

50

【0014】

測定に用いる抗A凝集体抗体としては、Aモノマーや繊維状Aと反応せず、A凝集体に特異的に結合する抗体が好ましく、さらに粒子径50nm以上の非晶質のA凝集体に特異的に結合する抗体がより好ましい。このようなA凝集体特異的な抗A凝集体抗体としては、本発明者らが先に報告した抗体(J. Biosci. Bioeng. 115, 216-220(2013)、Adv. Biosci. Biotechnol., 4, 63-66(2013)、特開2013-159596(粒子径220nm以上のA凝集体に対する抗体)、及び粒子径50nm以上220nm未満の非晶質のA凝集体(ナノ凝集体ともいう)に対する反応性が高く、粒子径220nm以上のA凝集体に対する反応性が相対的に低い抗体等が挙げられる。ここで、反応性が相対的に低いとは、ELISAによる吸光度で1/2以下、好ましくは1/3以下であることをいう。

10

【0015】

本発明に用いる抗A凝集体抗体は、前記の特性を有している限り、モノクローナル抗体でもポリクローナル抗体でもよいが、特異性の高いものが得られやすい点でモノクローナル抗体が好ましい。

【0016】

本発明に用いる抗A凝集体ポリクローナル抗体は、粒子径50nm以上のA凝集体を抗原として哺乳動物を免疫し、その抗血清を採取し、特異性を確認すればよい。

【0017】

本発明に用いる抗A凝集体モノクローナル抗体は、通常細胞融合により得られるハイブリドーマを培養して作製することができる。ここでハイブリドーマは、粒子径50nm以上の非晶質のA凝集体で免疫した哺乳動物の免疫細胞と、ミエローマ細胞とを融合させ、得られた融合細胞から、50nm以上の非晶質のA凝集体と結合し、単量体A及び繊維状A凝集体と結合しないモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを選択することにより得られる。

20

【0018】

ハイブリドーマを作製するための抗原としては、アミロイドタンパクの凝集体の一つで水に溶解しやすい非晶質のA凝集体、すなわち、粒子径50nm以上の非晶質のA凝集体を用いる。

【0019】

ハイブリドーマの作製に使用する動物としては、マウス、ウサギ等が挙げられるが、ハイブリドーマの作製のために最も広く使用されているマウスを用いるのが好ましい。マウスの免疫感作は、前記の50nm以上の非晶質のA凝集体を、必要に応じて Freundのアジュバントと共にマウスに注射することにより行う。次に免疫されたマウスから脾細胞を採取し、マウスミエローマセルライン例えば、P3U1との細胞融合を常法に従って行う。

30

【0020】

HAT培地に増殖したハイブリドーマの培養上清を常用のサンドイッチ法により50nm以上の非晶質のA凝集体と結合するモノクローナル抗体の存在について試験する。この検定においては、抗原として用いた50nm以上の非晶質のA凝集体、A₁₋₄₂、A₁₋₄₀、A₁₆₋₂₀、A繊維状凝集体をサンドイッチ法の抗原として使用して、特異性を確認できる。

40

【0021】

この中に、50nm以上220nm未満の非晶質のA凝集体と結合し、単量体A及び繊維状A凝集体と結合せず、マイクロ凝集体との反応性が相互的に低い、モノクローナル抗体を産生する9個のクローンが見出された。このうち、1クローンをAnti-LFI79-3と命名し、NITE P-1489として独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物受託センターに寄託した。

【0022】

本発明に用いるモノクローナル抗体を製造するには、例えば上記のハイブリドーマのいずれかを常用の培地中で培養し、培養上清から目的とするモノクローナル抗体を採取すれ

50

ばよい。あるいは、前記ハイブリドーマのいずれかをマウスの腹腔内に接種し、該マウスから腹水を採取し、そして該腹水から目的とするモノクローナル抗体を採取すればよい。培養上清又は腹水からのモノクローナル抗体の採取、すなわち単離・精製は、常法に従って行うことができる。例えば、硫酸アンモニウムにより塩析、50 nm以上のA凝集体を固定した支持体を用いるアフィニティークロマトグラフィー等を組合せて用いることができる。

【0023】

本発明に用いる抗体は、その目的に応じてキメラ抗体、ヒト化抗体とすることができる。さらに、蛍光、発光、放射性同位元素、金属コロイド等の標識体とすることもできる。

【0024】

赤血球含有試料中のA凝集体の測定は、抗A凝集体抗体を用いる免疫学的測定手段によって行なわれる。より具体的には、ELISA、EIA、免疫比濁法、免疫沈降法、EMIT法、イムノクロマト法等が挙げられる。このうち、ELISAについて説明すると、抗A凝集体抗体を、マイクロタイタープレート、ビーズ、ニトロセルロース膜、ナイロン膜等の担体に結合させ、これを検体と接触させることにより、検体中のA凝集体を担体上の抗A凝集体に結合させる。結合していない分画を洗浄した後、放射性同位元素、酵素、蛍光物質、ビオチン等で標識した抗A凝集体抗体と接触させた後、標識を測定することにより、A凝集体を測定することができる。

【0025】

抗A凝集体抗体を用いた免疫学的測定法によれば、正常ヒト赤血球50%液中のA凝集体濃度は5.0 μg/mLであり、十分に検出可能濃度であることが判明した。

【0026】

また、アルツハイマーモデルマウス(tg2576)の血液中のA凝集体濃度は、正常動物の血液中のA凝集体濃度よりも有意に低いことが判明し、血液中のA凝集体濃度を測定すれば、早期にアルツハイマー病の診断が可能である。すなわち、被検赤血球含有試料中の赤血球含有試料中のA凝集体濃度が、健常者由来の赤血球含有試料中のA凝集体濃度に比べて低い場合には、その被検試料は、アルツハイマー病由来であると判定できる。

【0027】

本発明の免疫学的測定法を実施するには、抗A凝集体抗体を含有する赤血球中のA免疫学的測定試薬として用いるのが好ましい。当該免疫学的測定試薬には、抗A凝集体抗体、抗A凝集体抗体標識体、緩衝液、標準試薬、プロトコール(使用説明書)等が含まれる。

【実施例】

【0028】

次に実施例を挙げて、本発明を詳細に説明する。

【0029】

参考例1

[モノクローナル抗体の作成方法]

(1)抗原の作製

【0030】

(ナノ凝集体)

A₁₋₄₂(AnyGen Co.Ltd, Korea)を0.22 mMとなるように1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ-2-プロパノールに溶解し、4で16時間静置、37で3時間静置したのち、減圧乾燥させた。この溶解と減圧乾燥の操作を2回繰り返し、水に溶解しやすい非晶質のナノ凝集体を作製した。この画分には様々な大きさの凝集体が含まれているため、0.22 μm、300 kDa(約50 nm)および、100 kDaのフィルターでろ過することによりサイズ分画を行った。

【0031】

(マイクロ凝集体)

10

20

30

40

50

リン酸緩衝生理食塩水 (Dulbecco's P B S) 中に 0.22 mM A₁₋₄₂ (AnyGen Co. Ltd, Korea) と繊維状凝集体の形成を抑制する 2.2 mM A₁₆₋₂₀ (K L V F F) を加え 37 °C、3 rpm で 16 時間攪拌した。この溶液を 0.22 μm のフィルターでろ過した残渣をマイクロ凝集体 (L O A) とした。

【0032】

(繊維状 A 凝集体)

マイクロ凝集体の作成において A₁₆₋₂₀ を加えずに調整した後 37 °C、16 時間静置して繊維状 A 凝集体を作製した。

【0033】

(モノマー)

A₁₋₄₂ を 50 μM になるように 1, 1, 1, 3, 3, 3 - ヘキサフルオロ - 2 - プロパノールに加え、超音波処理で懸濁後、30 °C で 16 時間放置し完全に溶解させた。減圧乾燥により溶媒を除いたものをモノマーとして用いた。

【0034】

上記により作製したナノ凝集体、マイクロ凝集体 (L O A)、繊維状 A 凝集体及び、モノマーの形状を原子間力顕微鏡 (A F M、JSPM-5200, JEOL) を用いて観察した。A₁₋₄₂ の各凝集体もしくはモノマーを 1 μg/mL に調整し、10 μl を雲母片上に滴下し減圧乾燥させた。測定は A C モードで、共振周波数 190 kHz で行った。図 1 に、A F M の画像を示す。

【0035】

(2) 抗体の作製

上記により作製したナノ凝集体 (0.1 mg) を完全もしくは非完全フロイントアジュバントと混合し、マウス (B A L B / C、8 週目、雌) に免疫した。免疫は、2 週おきに 3 回行った。免疫したマウスの脾臓を摘出し、その細胞数の 2 割のマウスミエローマ細胞 (P 3 U 1) を混合後、この混合細胞に P E G (ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社) 1 mL を 1 分間かけて攪拌しながらゆっくり加えた。1 分間攪拌後、無血清培地 F C S 3 mL を 3 分間かけて攪拌しながらゆっくり加えた。続けて無血清培地 10 mL を 3 分間かけて攪拌しながらゆっくりと加えた。その後、5 分間インキュベート (37 °C、5 % C O₂) を行い、遠心分離 (1000 rpm、5 min) により上清を捨てた。H A T 培地で希釈することで細胞を解して培養した。

【0036】

この培養上清を用いて E L I S A 法によりナノ凝集体に反応する抗体を生産する細胞のスクリーニングを行った。陽性が得られた細胞を限界希釈しハイブリドーマの単一化を行った。

【0037】

E L I S A 法は N u n c イムノプレートマキシソープ (Thermo scientific Inc.) を用いて 4 °C、16 時間インキュベートして各抗原を非共有結合で固定した。Dulbecco's P B S に 0.05 % Tween 20 を加えた溶液 (P B S - T) により洗浄を行った後、ブロッキングバッファー (イムノブロック、D S ファーマバイオメディカル株式会社) 添加し、37 °C、2 時間インキュベートした。P B S - T で洗浄後、2 次抗体として H R P を標識した抗マウス I g G ヤギ由来 (Sigma-Aldrich) を加え、37 °C、2 時間インキュベートした。P B S - T で洗浄後、S I G M A F A S T O P D (Sigma-Aldrich) の説明に従って発色させ、492 nm で測定した。

【0038】

各濃度のナノ凝集体、繊維状 A₁₋₄₂、モノマー A₁₋₄₂ 及び、マイクロ凝集体を抗原として本発明抗体を用いて E L I S A を行った。

図 2 及び図 3 に、E L I S A の結果を示す。

【0039】

図 2 に示す様に本発明のモノクローナル抗体はナノ凝集体画分に高い反応性を示した。弱いながら L O A にも反応性が見られ、繊維状及びモノマー A₁₋₄₂ とはほとんど反応せ

10

20

30

40

50

ずナノ凝集体にのみ高い反応性を示した。一方、L O A に対する抗体 3 1 - 2 (特許文献 3) はナノ凝集体画分及び L O A に同等の反応性が見られた。

得られたハイブリドーマ 9 個のうち、相対的にナノ凝集体画分に反応性が高く、繊維状およびモノマーに対する反応性が低い 1 個を A n t i - L F I 7 9 - 3 と命名した。

【 0 0 4 0 】

図 3 に示す様に本発明のモノクローナル抗体はナノ凝集体画分の中で、220 nm のフィルターを通過するが 300 k D a のフィルターを通過しない凝集体と最も良く反応する。この凝集体よりも大きな 220 nm のフィルターを通過しない凝集体とは若干反応するが、300 k D a 以下の凝集体とはほとんど反応しない。

【 0 0 4 1 】

実施例 1

A . 実験方法

(1) A₁₋₄₂凝集体の作成

市販の A₁₋₄₂ (A n y G e n , 純度 : 9 5 . 6 % (H P L C , M A S S)) 1 0 0 μ g を 1 . 5 mL チューブに加え 1 , 1 , 1 , 3 , 3 , 3 - ヘキサフルオロ - 2 - プロパノール 2 0 0 μ l により溶解し、0 . 5 mg / mL の A₁₋₄₂凝集体溶液を作製した。この溶液を 4 、 1 6 時間インキュベートし、さらに 3 7 、 3 時間インキュベートした。その後、凍結乾燥を行い上記の操作を繰り返した。この溶液を超純水により 1 mg / mL に調整し、可溶性の A₁₋₄₂凝集体とした (Shimizu T. et al., J. Biosci. Bioeng., 115, 216-220(2013)) 。抗原濃度は 2 8 0 nm の波長で吸光度を測定し、吸光度 1 を 1 mg / mL として計算した。

【 0 0 4 2 】

(2) サンドイッチ E L I S A による A₁₋₄₂凝集体の検量線作成

繊維状 A₁₋₄₂ 及び A₁₋₄₂モノマーと反応せず A₁₋₄₂凝集体のみを認識する 9 種類のモノクローナル抗体 (Shimizu T. et al., J. Biosci. Bioeng., 115, 216-220(2013)) 及び、 Shimizu T. et al., Adv. Biosci. Biotechnol., 4, 63-66 (2013)) の中から異なる 2 つの抗体を捕獲抗体および H R P 標識検出抗体として使用してサンドイッチ E L I S A により A₁₋₄₂凝集体の検出を行い、検出感度が最も高くなる組み合わせを選択した。抗 A₁₋₄₂凝集体モノクローナル抗体 2 μ g / mL を 9 6 ウェルプレート (N u n c イムノプレート マキシソープ、Thermo Fisher Scientific Inc) の各ウェルに一次抗体として 1 0 0 μ l 加え、3 7 で 1 時間放置した。その後、溶液を除去しダルベッコ P B S (和光純薬) に T w e e n 2 0 を 0 . 0 5 v / v % 加えた P B S - T で洗浄後、B l o c k i n g b u f f e r としてイムノブロックを 2 0 0 μ l 添加し、3 7 で 1 時間放置した。溶液除去後 P B S - T で洗浄し、抗原として A₁₋₄₂凝集体を 1 0 0 μ l 加え、3 7 で 1 時間放置後、溶液を除去し P B S - T により洗浄した。検出抗体として H R P を標識した抗体を 1 0 0 μ l 加え、3 7 で 1 時間放置し、溶液除去後 P B S - T で洗浄した。発色は o - フェニレンジアミンジヒドロクロリド (S I G M A) で行い、マイクロプレートリーダーを用いて波長 4 9 2 nm の吸光度を測定した。

【 0 0 4 3 】

(3) 赤血球中 A₁₋₄₂凝集体の検出

ヒト赤血球 (Lee BioSolutions, Inc) に等量の蒸留水を添加し振盪混和して溶血させた。この試料中のタンパク質濃度を B C A タンパク質測定キット (Pierce) により測定し、A₁₋₄₂凝集体濃度をサンドイッチ E L I S A により測定した。

アルツハイマー病モデルマウスとして T g 2 5 7 6 と呼ばれる遺伝子改変マウスが広く用いられている。T g 2 5 7 6 は A₁₋₄₂の前駆体タンパク質遺伝子に変異を導入し A₁₋₄₂を大量に生産するようにした組換えモデルマウスで、1 2 ヶ月の飼育でその脳に老人斑が形成される。T g 2 5 7 6 及び野生型の 1 7 月齢オスマウスそれぞれ 3 匹ずつの尾から採血し、等量の蒸留水を加え振盪混和した試料に含まれる A₁₋₄₂凝集体濃度を測定した。

【 0 0 4 4 】

10

20

30

40

50

B . 結果

抗原である A₁₋₄₂凝集体1 μ g/mLを測定した時、最も高い吸光度となった抗体の組み合わせは77-3および37-11をそれぞれ捕獲抗体および検出抗体とした時であった。以降はこの抗体の組み合わせによりサンドイッチELISAを行った。この時、抗原を添加しない陰性対照の吸光度の標準偏差の3.3倍を検出下限値とした時、検出下限値は0.01 μ m/mLであった。

ヒト赤血球を等量の蒸留水で処理した試料中の A₁₋₄₂凝集体濃度は1.7 μ g/mLであり、検出下限値を考慮すると測定可能な値であった。この試料中のタンパク質濃度は23mg/mLであり、赤血球中にはタンパク質1mgあたり226ng(50pmol)の A₁₋₄₂凝集体が含まれることが分かった。

Tg2576及び野生型マウスの血液に含まれるタンパク質1mgあたりの A₁₋₄₂凝集体量は表1の様になった。それぞれ8匹ずつのマウス血液試料を調べたところ、Tg2576マウスの A₁₋₄₂量の平均は8.1ngである一方、野生型マウスのものは10.1ngであり、モデルマウスが低い値となった。この結果はアルツハイマー病患者の髄液中の A₁₋₄₂濃度が健常人のものと比較して5割程度低いという結果と矛盾しない(東海林幹夫、Cognition and Dementia, 8, 2790-275 (2009))。本方法による赤血球中の A₁₋₄₂凝集体濃度の測定はより簡便に測定できる方法である。

【0045】

【表1】

野生型およびTg2576の血液に含まれるA β ₁₋₄₂凝集体濃度

Tg2576マウス		野生型マウス	
	タンパク質 1mgあたりのA β 量 (ng/mg)		タンパク質 1mgあたりのA β 量 (ng/mg)
Tg1	6.9	wt1	7.6
Tg2	6.5	wt2	12.4
Tg3	7.3	wt3	7.7
Tg4	8.5	wt4	9.9
Tg5	12.5	wt5	9.1
Tg6	10.1	wt6	9.3
Tg7	9.0	wt7	16.9
Tg8	7.5	wt8	10.2
平均	8.5	平均	10.4

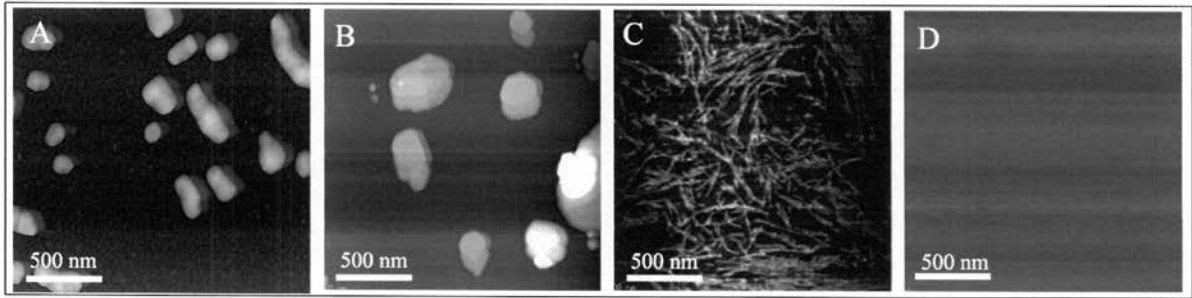
10

20

30

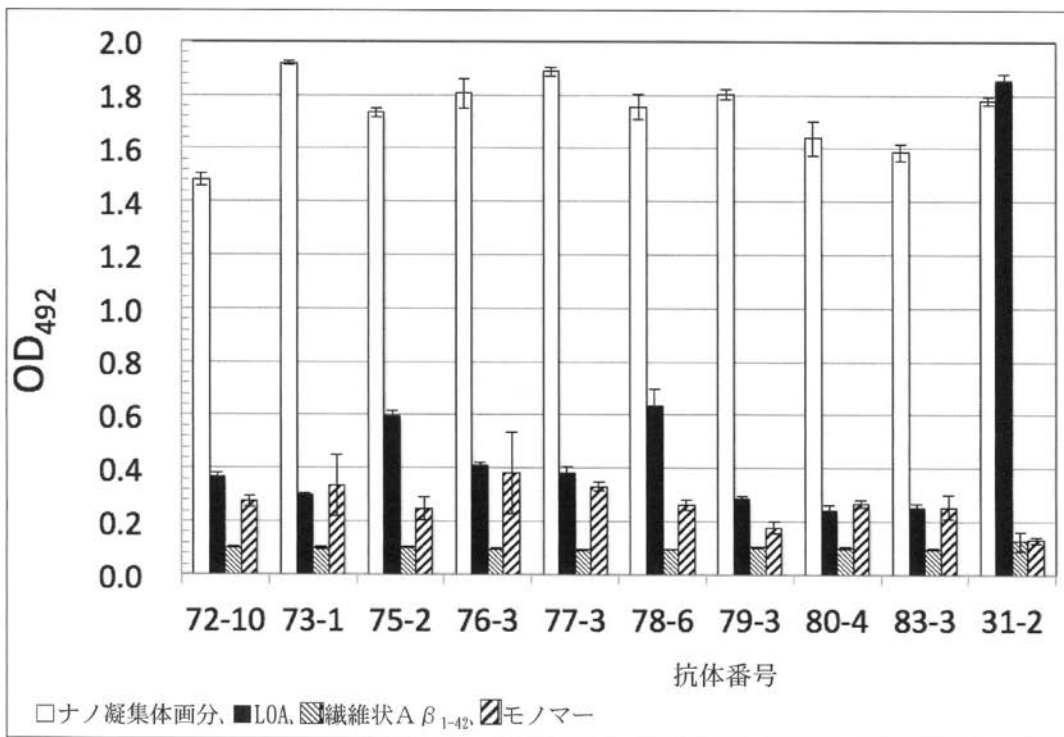
【図1】

A F M画像



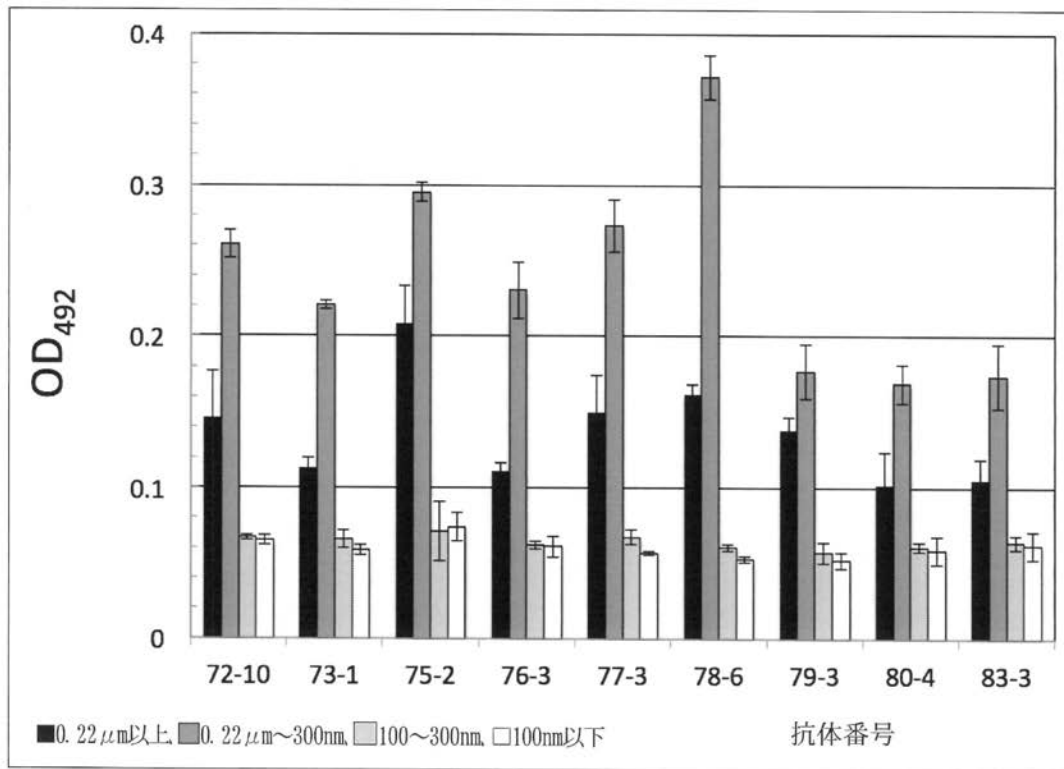
【図2】

各凝集体に対するモノクローナル抗体の反応性



【 図 3 】

サイズ分画したナノ凝集体画分に対するモノクローナル抗体の反応性



フロントページの続き

- (72)発明者 吉宗 一晃
東京都千代田区九段南4丁目8番24号 学校法人日本大学内
- (72)発明者 神野 英毅
東京都千代田区九段南4丁目8番24号 学校法人日本大学内
- (72)発明者 小森谷 友絵
東京都千代田区九段南4丁目8番24号 学校法人日本大学内

专利名称(译)	测量淀粉样β蛋白聚集体的方法		
公开(公告)号	JP2015141149A	公开(公告)日	2015-08-03
申请号	JP2014015208	申请日	2014-01-30
[标]申请(专利权)人(译)	学校法人日本大学		
申请(专利权)人(译)	学校法人日本大学		
[标]发明人	吉宗一晃 神野英毅 小森谷友絵		
发明人	吉宗一晃 神野英毅 小森谷友絵		
IPC分类号	G01N33/53		
FI分类号	G01N33/53.D		
代理人(译)	村田正树		
外部链接	Espacenet		

摘要(译) 要解决的问题：提供一种测量能够诊断阿尔茨海默氏病的标志物的方法。一种针对红细胞中淀粉样β蛋白聚集体的免疫学测定，包括使抗淀粉样β蛋白聚集体抗体与含有红细胞的样品反应。一种含有抗淀粉样β蛋白聚集体抗体的红细胞中淀粉样β蛋白聚集的免疫测定试剂。抗淀粉样β蛋白聚集体抗体是特异性结合粒径为50nm以上的无定形淀粉样β蛋白聚集体的抗体。[选择图]无	(21) 出願番号	特願2014-15208 (P2014-15208)	(71) 出願人 89900057 学校法人日本大学 東京都千代田区九段南四丁目8番2-4号
	(22) 出願日	平成26年1月30日 (2014.1.30)	
			(74) 代理人 100077562 弁理士 高野 登志雄
			(74) 代理人 100096736 弁理士 中嶋 俊夫
			(74) 代理人 100117156 弁理士 村田 正樹
			(74) 代理人 100111028 弁理士 山本 博人