

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-510913

(P2006-510913A)

(43) 公表日 平成18年3月30日(2006.3.30)

(51) Int. Cl.		F I		テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53	(2006.01)	GO 1 N	33/53	D
GO 1 N 27/447	(2006.01)	GO 1 N	27/26	3 1 5 Z

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 18 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2004-563298 (P2004-563298)</p> <p>(86) (22) 出願日 平成15年12月19日 (2003.12.19)</p> <p>(85) 翻訳文提出日 平成17年6月15日 (2005.6.15)</p> <p>(86) 国際出願番号 PCT/FR2003/003856</p> <p>(87) 国際公開番号 W02004/059321</p> <p>(87) 国際公開日 平成16年7月15日 (2004.7.15)</p> <p>(31) 優先権主張番号 02/16382</p> <p>(32) 優先日 平成14年12月20日 (2002.12.20)</p> <p>(33) 優先権主張国 フランス (FR)</p>	<p>(71) 出願人 505226644</p> <p>アジェンス フランセーズ ドゥ セキュ リテ サニタイル デ アリメント-アフ ザー</p> <p>AGENCE FRANCAISE DE SECURITE SANITAIRE DES ALIMENTS-AFSSA -</p> <p>フランス、メゾン-アルフォルト エフ- 94701、アベニュー ドュ ジェネラル ルクラレク 27-31</p> <p>27-31, avenue du Gen eral Leclerc, f-9470 1 Maisons-Alfort Fr ance</p> <p style="text-align: right;">最終頁に続く</p>
---	---

(54) 【発明の名称】 アミノグリコシド抗生物質を使用するPRP検出方法

(57) 【要約】

本発明は、PrP^SC 検出又は診断の際に使用するPrP^SC 沈降による濃縮方法であって、動物又はヒト生体に由来する、又はそれから得られる組織又は生物学的流体を、アミノグリコシド系抗生物質、好ましくはストレプトマイシン又はその誘導体の1種と接触させることを特徴とする方法に関する。本発明は、組織又は生物学的流体からPrP^SC を除去するためのかかる抗生物質の使用にも同様に関する。最後に本発明は、PrP^SC の存在に関連する疾患の診断キットに関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

動物又はヒト生体に由来する、又はそれから得られる組織又は生物学的流体を、好ましくはアミノグリコシド系から選択した抗生物質と接触させることを特徴とする PrP^sc、特に PrP^sc の検出方法。

【請求項 2】

a) アミノグリコシドを、動物又はヒト生体に由来する、又はそれから得られた組織又は生物学的流体の懸濁液に添加し、

b) 溶液を、適切な緩衝液中に置き、かつそれを加熱し、次に得られた溶液を遠心分離し、かつ上清から残渣を分離し、

c) 電気泳動ゲルに対する遊走、転移及び免疫検出後に PrP^sc を検出することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

a) プロテイナーゼ K を、動物又はヒト生体に由来する、又はそれから得られた組織又は生物学的流体の懸濁液に添加し、

b) アミノグリコシドを置き、

c) 懸濁液を、適切な緩衝液中に置き、かつそれを加熱し、次に得られた溶液を遠心分離し、かつ上清から残渣を分離し、

d) 電気泳動ゲルに対する遊走、転移及び免疫検出後に PrP^sc を検出することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記生物学的組織は、脳、又は他の動物若しくはヒトの組織に由来するか、又はそれから得られることを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

前記プロテイナーゼは、プロテイナーゼ K であることを特徴とする請求項 3 又は 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

前記アミノグリコシドと予め接触させた組織又は生物学的流体は、ブドウ糖溶液中で均質化されることを特徴とする請求項 1 から 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

加熱ステップは、60 ~ 150 の温度上昇に相当することを特徴とする請求項 1 から 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

前記アミノグリコシドは、II 群のアミノグリコシドであることを特徴とする請求項 1 から 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

前記アミノグリコシドは、ストレプトマイシンであることを特徴とする請求項 1 から 8 のいずれかに記載の方法。

【請求項 10】

免疫組織化学検出の際であっても、PrP^sc を沈降、検出、及び/又は診断するためのアミノグリコシドの使用。

【請求項 11】

組織又は生物学的流体から PrP^sc を除去するためのアミノグリコシドの使用。

【請求項 12】

PrP^sc の存在に関連する疾患の診断キットであって、アミノグリコシドを含むことを特徴とするキット。

【請求項 13】

前記アミノグリコシドは、II 群のアミノグリコシドであることを特徴とする請求項 12 に記載のキット。

【請求項 14】

10

20

30

40

50

前記アミノグリコシドは、ストレプトマイシンであることを特徴とする請求項 11 から 13 のいずれかに記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、硫酸ストレプトマイシンによる全 PrP^SC 沈降法、及び液体又は溶液からの PrP^SC 免疫検出又は除去のためのその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

PrP 又は細胞プリオン蛋白に関して PrP^C と示される天然又は正常プリオン蛋白は、哺乳動物のリンパ系及びニューロン細胞中で広く発現する糖タンパクである。 10

【0003】

PrP^C の構造変化は、プロテイナーゼ K に耐性を有する病原蛋白 PrP^SC の出現及び増殖に至らせる。この病原蛋白は、PrP^SC 又は PrP^{Res} と差別なく呼ぶことができる。動物器官中に PrP^SC が蓄積することは、多数の疾病、特に小型反芻動物の振戦病、大鹿及び羚羊の慢性消耗病（又は chronic wasting disease 「CWD」）、ウシ海綿状脳症（BSE）及びヒトにおけるクロイツフェルト・ヤコブ病の原因である。

【0004】

BSE に感染した家畜において、2～6年の潜伏期後に遅発出現すること、及び症状発展が遅いことにより、疫学的モデルの発展は、著しく遅れた。BSE は、摂取によってヒトに伝染可能であり、かつクロイツフェルト・ヤコブ病の新規な形状（vMCJ）の出現に至らせた。 20

【0005】

病原蛋白 PrP^SC の検出は、感染した健康な動物において、疾病の発展前には困難であり、かつ特に病気の動物において血液及び尿中では困難である。現在のところ、ヒトの食料用の動物において存在する PrP^SC は、感染した組織の摂取時にヒトに伝達することが明らかである。従って公衆衛生の主要な目標は、ヒトの消費用の動物において、それらを食物連鎖から取り出すために、PrP^SC を検出して、この伝染を回避することである。 30

【0006】

従って、生体試料又は動物における PrP^SC の存在検出は、極めて重要になっており、幾つもの研究者チームが、免疫学的検出方法を発展させている（国際公開第 02/086511 号パンフレット）。その上、vMCJ 治療のためにペプチド、小分子又は阻害物質の PrP^SC での複合体生成方法が、活発な研究の対象となっている。しかしながら、先行技術の方法は、PrP^SC が、生体試料中で少量である時、PrP^SC を信頼に値するように同定するという困難な問題に絶えず遭う。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0007】

発明者らは、アミノグリコシド、及び特に II 群のアミノグリコシド、及び更に特にストレプトマイシンの新規な特性を明らかにし、かつ PrP^SC により複合体を生成し、かつそれを沈降させるこれら抗生物質の能力を証明した。 40

【0008】

このようにして、発明者らは、種々の動物起源に由来し、かつプリオンを含む生体試料中にアミノグリコシドを添加することは、結果として、プリオンの 3 つのバンドの見かけ分子量の増大をもたらすことを観察した。この観察及び続く実験によって、アミノグリコシドが、PrP^SC により複合体生成すること、かつこの複合体生成が、結果として当業者が従来使用した方法と比べ、PrP^SC の沈降、及び PrP^SC を検出する可能性の著しい増加をもたらすことを、発明者らが証明することが可能になった。 50

【0009】

従って、本発明は、プリオンによる疾病の診断の際に使用する、又は生物学的液中に存在するプリオンを除去するためのPrP^{Sc}沈降による濃縮方法であって、動物又はヒト生体に由来する、又はそれから得られた組織又は生物学的流体の懸濁液を、好ましくはアミノグリコシド系から選択された抗生物質、好ましくはストレプトマイシンと接触させることを特徴とする方法を対象とする。

【0010】

より正確には、本発明による方法は、次のステップを含む：

- a) アミノグリコシドを、動物又はヒト生体に由来する、又はそれから得られた組織又は生物学的流体の懸濁液に添加し、
- b) 溶液を、適切な緩衝液中に置き、かつそれを加熱し、次に得られた溶液を遠心分離し、かつ上清から残渣を分離し、
- c) 電気泳動ゲルに対する遊走、転移及び免疫検出後にPrP^{Sc}を検出する。

10

【0011】

本発明の方法は、プロテイナーゼ、及び特にプロテイナーゼKによって定量する試料の消化による追加のステップを含むことも同様に可能である。このようにして、本発明の方法は、次のステップを含む：

- a) プロテイナーゼ、例えばプロテイナーゼKを、動物又はヒト生体に由来する、又はそれから得られた組織又は生物学的流体の懸濁液に添加し、
- b) アミノグリコシドを置き、
- c) 懸濁液を、適切な緩衝液中に置き、かつそれを加熱し、次に得られた溶液を遠心分離し、かつ上清から残渣を分離し、
- d) 電気泳動ゲルに対する遊走、転移及び免疫検出後にPrP^{Sc}を検出する。

20

【0012】

より正確には、本発明による方法は、次のステップを含む：

- a) 5%のブドウ糖溶液での動物又はヒト生体から得られた生物学的流体又は組織の均質化による10%の懸濁液の調製、
- b) プロテイナーゼKを、得られた100µlの懸濁液に添加し、次に37℃で1時間インキュベートし、
- c) アミノグリコシドを、懸濁液に添加し、次に37℃で2時間目にインキュベートし

30

- d) 懸濁液を、適切な緩衝液中に置き、かつそれを加熱し、次に得られた溶液を遠心分離し、かつ上清から残渣を分離し、

e) Laemmli、Nature 227 (1970)、680-685によって記載されたように、Laemmliの変性緩衝液及び50% v/vの尿素8Mの溶液50µl中で残渣を懸濁する。強い渦状の攪拌後、5分間100℃で加熱し、12000gで遠心分離し、かつ上清をSDS PAGEに対して遊走させるために、上清を回収する。

f) Laemmli、Nature 227 (1970)、680-685によって記載されたように、電気泳動ゲルに対する遊走、特にドデシル硫酸ポリアクリルアミドゲル15% (SDS PAGE) に対する一次元電気泳動後、蛋白は、ニトロセルロース膜上の電気泳動によって転移し、かつアミノ酸126-160からなる特異エピトープを認識するモノクローナル抗体により、周囲温度で60分間、免疫プロットされる。二次抗体(1/5000)は、西洋ワサビペルオキシダーゼ(IgG H+L)と結合したマウス免疫グロブリンの重及び軽鎖に向けられるヤギ抗体である。プロットは次に洗浄され、かつ信号が、フィルム(Biomex light、Kodak)上にECLキット(Amersham)によるか、super Signal Ultra (Pierce)、及びFluor S. Multimaget (BioRad)上の視覚化による化学発光で検出される。

40

【0013】

本発明による方法は、超遠心分離を必要としないという利点を有する。本発明による方

50

法は、プリオン蛋白によるアミノグリコシド複合体生成、及びアミノグリコシドによるプリオン蛋白の沈降にも同様に関する。

【0014】

本発明の実施態様によれば、生物学的組織は、脳、又は他の動物若しくはヒトの組織、又は頭脊柱液若しくは血清のような生物学的流体に由来するか、又はそれから得られる。

【0015】

本発明による方法において使用されるプロテイナーゼは、プリオン蛋白の正常形状を含む、存在する蛋白を消化することが可能であること、及びこの蛋白の病理学的形状を消化することが不可能であることのために選択されたプロテイナーゼである。好適には、プロテイナーゼKのことである。

10

【0016】

本発明の好ましい実施態様に従えば、前記アミノグリコシドと予め接触させた組織は、ブドウ糖溶液中で均質化される。好ましくは、5%のブドウ糖溶液のことである。

【0017】

プロテイナーゼK及びアミノグリコシドと生体試料を接触させた結果生じる懸濁液に、100 μ lのLaemmliの緩衝液を加えた後の、加熱ステップは、60~150、好ましくは約100の温度上昇に相当する。

【0018】

本発明の好ましい実施態様に従えば、アミノグリコシドは、II群のアミノグリコシド、及び好ましくはストレプトマイシン又はその誘導体の1種である。

20

【0019】

本発明は、PrP^scの沈降、検出、免疫組織化学での検出でさえも、及び/又は診断のためのかかるアミノグリコシドの使用も同様に対象とする。

【0020】

本発明は、生物学的流体からのPrP^sc除去のためのかかるアミノグリコシドの使用を更に対象とする。

【0021】

最後に、本発明は、PrP^scの存在に関連する疾患の診断キットであって、かかるアミノグリコシドを含むことを特徴とするキットに同様に関する。

【0022】

本発明のその他の利点及び特徴は、生体試料がアミノグリコシドと接触する時のPrP^sc検出増大に関する以下に続く実施例を読めば現れるであろう。

30

【発明を実施するための最良の形態】

【0023】

以下の実施例2及び3が行われた生体試料は、5%のブドウ糖溶液中に置かれたウシの脳のホモジェネートから得られた。10mgの脳組織に対応する、この懸濁液の100 μ lの容量が、以下に続く実験で使用される。従って各試料は、プロテイナーゼKを添加する100 μ lからなる。37で1時間後、ストレプトマイシンを添加する又は添加しない。溶液は渦状に攪拌され、かつ更に1時間37でインキュベートされる。100 μ lのLaemmliの変性緩衝液を添加した後、5分間100で加熱し、かつ5分間12000gで遠心分離し、次に上清をSDS PAGEに対して遊走させるために、上清を回収する。残渣は、同様に回収され、かつそれらに、50%v/vの尿素8Mの溶液50 μ l及びLaemmliの緩衝液を添加する。強い渦状の攪拌後、5分間100で加熱し、かつ5分間12000gで遠心分離し、次に上清をSDS PAGEに対して遊走させるために、上清を回収する。

40

【実施例1】

【0024】

実施例1は、漸増濃度(0 μ g; 62.5 μ g; 125 μ g; 500 μ g及び2000 μ g)のストレプトマイシンが、振戦病に罹患したヒツジの脳当量920 μ gから抽出された一定量のPrP^scに添加され、次に混合物が遠心分離される、テストに関する図1

50

A及び1Bを参照する。上清が、ウェスタンブロットによる免疫検出(図1A)及びPrP^{Sc}のバンドの平均分子量測定(図1B)に関して使用される。結果は、ストレプトマイシンの増加、すなわち0;62、5、125、500、1000及び2000µgの添加により、最低のストレプトマイシン濃度で、非グリコシル化蛋白のバンドが、見かけ分子量の増大を最初に示すことを確認することが可能になることを示している。次に、複合体生成は、モノグリコシル化蛋白のバンドに関し、かつ最後にビグリコシル化蛋白は、ストレプトマイシン濃度が、より高い時に複合体生成される。

【0025】

一定濃度でのPrP^{Sc}の各バンドに関連したストレプトマイシン分子数は、各バンドの分子量を測定して、算定される。発明者らは、2000µgのストレプトマイシン存在下でのPrP^{Sc}の各バンドの見かけ分子量の増大が、PrP^{Sc}のバンド当たり10~12個のストレプトマイシン分子の引っ掛かり(accrochage)に対応すると評価した。

10

【実施例2】

【0026】

実施例2は、漸増濃度(0µl;5µl;10µl;20µl)のストレプトマイシン1g/mlが、上記に示すように調製された一定量の生体試料に添加される、テストに関する図2を参照する。ストレプトマイシンの非存在下で、PrP^{Sc}の全バンドが、上清中にあるように同定された。かつ徐々に、それらは、残渣及び上清中で同時に検出されるようになる。上清中に存在するPrP^{Sc}量は、沈降物中で量が徐々に増加する間に、徐々に減少する。20µlのストレプトマイシンの添加により、その時には沈降物中でしか検出されないPrP^{Sc}を完全に沈降させる。

20

【実施例3】

【0027】

実施例3は、図3を参照する。

【0028】

実施例2の実験を反復するが、実施例2と比べて1/25に希釈された同一の脳試料により、かつ脳懸濁液へのプロテイナーゼK及びストレプトマイシンの同時添加後の1時間に、インキュベーション期間を減少させる。結果は、PrP^{Sc}のバンドが、ストレプトマイシンの非存在下で上清中で、かついかなる濃度であろうとストレプトマイシンの存在下で残渣中でしか検出されないということである。

30

【実施例4】

【0029】

実施例4は、図4A、4B及び4Cを参照する。

【0030】

5%のブドウ糖溶液中の、BSEに感染したウシの脳の10%のホモジェネートの一連の1:2の原希釈溶液から、各々が100µlの同じ希釈溶液を含む3セットの管を調製する。

【0031】

(純粋から1/64の)第1の希釈溶液セットの各管に、10µlの容量における1µgのプロテイナーゼKを添加する。

40

【0032】

(1/2から1/256の)第2のセットの各管に、10µlの容量における5µlのストレプトマイシン及び1µgのプロテイナーゼKを同時に添加する。

【0033】

(1/2から1/256の)第3のセットの各管に、10µlの容量における10µlのストレプトマイシン及び1µgのプロテイナーゼKを同時に添加する。

【0034】

全ての管は、1時間37°Cでインキュベートされ、次に100µlのLaemmliの変性緩衝液を添加する。5分間100°Cで加熱し、5分間12000gで遠心分離し、か

50

つ SDS PAGE に対し沈殿させるために、第 1 管セットから上清を回収する。第 2 及び第 3 管セットの管の上清は、除去され、かつ各管に 50 μ l の 50 % v / v の尿素 8 M 及び Laemmli の変性緩衝液を添加する。強い渦状の攪拌後、5 分間 100 で加熱し、12000 g で遠心分離し、かつ第 2 及び第 3 管セットに関して上清を回収する。

【0035】

図 4 A は、ストレプトマイシン非存在下で検出された PrP^{Sc} の検出限界が、1 / 16 であることを示す。

【0036】

図 4 B は、5 μ l のストレプトマイシン存在下で沈降した PrP^{Sc} 量を示す。PrP^{Sc} は、1 / 128 の希釈まで検出可能であり、このことは、検出閾値が著しく増加したことを示す。 10

【0037】

図 4 C は、10 μ l のストレプトマイシン存在下で沈降した PrP^{Sc} 量を示す。図 4 C は、最も希釈した (1 / 256) 試料に対しても、検出が可能であり、かつ代表的であることを示す。

【実施例 5】

【0038】

比較例

基準技術は、1.2 ml の脳ホモジェネートからの PrP^{Sc} 抽出に基づく (Macedal., Microbial Pathogenesis, 28 (2000) 353 - 362)。ホモジェネートは、100 mg の脳組織当たり 10 μ g のプロテイナーゼ K により 37 で 1 時間処理される前に、直径 0.4 mm の針を通して押し込められる。サルコシル (10 %) 及び 10 mM のトリス緩衝液 (pH 7.4) を添加した後、試料は、周囲温度で 15 分間インキュベートされ、次に 10 % のショ糖クッションに対し 4 時間 20 で 245000 g で遠心分離される (Beckman TL 100 ultracentrifuge use)。最終的に残渣は、50 μ l の Laemmli の変性緩衝液中で溶液懸濁状態に戻し、5 分間 100 で加熱し、かつ更に 5 分間 12000 g で遠心分離する。SDS PAGE に対する遊走のために、上清を回収する。 20

【0039】

本発明の技術によれば、基準技術に記載された脳の破碎後に得られた 100 μ l の脳懸濁液を使用する。1 μ g のプロテイナーゼ K を添加し、かつ 1 時間、最初にインキュベートする。次に 20 μ l のストレプトマイシンを添加し、かつ 1 時間、2 回目にインキュベートする。次に 100 μ l の Laemmli の変性緩衝液を添加する。5 分間 100 での加熱後、2 分間 12000 g で遠心分離する。上清を除去し、次に 50 μ l の 50 % v / v の尿素 8 M、及び Laemmli の変性緩衝液を添加する。強い渦状の攪拌後、5 分間 100 で加熱され、かつ更に 2 分間 12000 g で遠心分離する。SDS PAGE に対する遊走のために、上清を回収する。 30

【0040】

表 1 にある結果：結論として、硫酸ストレプトマイシンの使用は、僅かに陽性の場合のより良い検出を可能にし、かつその上、時間が掛かり、かつ高価な超遠心分離を回避することを可能にする。 40

【実施例 6】

【0041】

recPrP (組み換えプリオン蛋白) の試料は、recPrP 溶液 (42 μ M) を当量の水又はストレプトマイシン溶液 (1 g / ml) で希釈して調製する。ストレプトマイシンのみに関する基準は、0.5 g / ml の溶液を使用して調製する。

【0042】

試料は、新たに分割された雲母に対する 10 μ l のこれらの溶液の沈殿及び 24 時間 37 での乾燥によって調製される。

【0043】

非接触モードで、三脚スキャナ100 μ mを備えた、1Hzの走査周波数のシリコンプローブを有する、高い共振周波数($F_0 = 320\text{kHz}$)のピラミッド型カンチレバを使用するThermomicroscope Explorer AFMを用いた映像技術による解析を行う。映像処理は、ソフトウェアSPMLab 5.1によって行い、かつフィルタをかけずに示す。

【0044】

図6から、recPrPの映像のみが、特徴を示す円形凝集体の構造を示しているということになる。ストレプトマイシンフィルムのみが、擬似結晶質表面組織を示している。混合物を含むフィルムは、非晶質表面を示す。いかなる結晶質又は球形組織も確認されない。従ってストレプトマイシン及びPrPの間の相互作用は、混合物の2つの成分の表面組織の特性を阻害する。

10

【実施例7】

【0045】

好ましくは非溶血、かつ細胞片のない頭脊髄液(LCR)の死後採取試料を、MJCに罹患していない患者、及びMCJに罹患した患者において採取する。MJCに罹患していない患者のLCR試料、及びMCJに罹患した患者のLCR試料は、0.05g/mL~0.2g/mL(0.05-0.1~0.2g/mL)の広範囲な濃度により、ストレプトマイシン溶液と接触させる。渦での均質化後、試料を、1時間37 $^{\circ}$ Cでインキュベートし、次に5分間12000gで遠心分離する。

【0046】

得られた残渣は、蛋白抽出緩衝液に取る。10分間100 $^{\circ}$ Cでの加熱後、試料は、再び5分間12000gで遠心分離する。15 μ Lの各上清が、12%のビス-トリスアクリルアミドSDS PAGEゲルに対して沈殿する。並行して、変性緩衝液中で1/100に希釈した5 μ Lの脳PrP^{Sc}抽出物が、陽性対照で沈殿した。この抽出物は、クロイツフェルト・ヤコブ病の診断に使用する基準手順により調製した。電気泳動遊走は、一旦濃縮した遊走緩衝液中で40分間定電圧(200V)で行われる。次に蛋白を、1時間定電力(1W)で2つの黒鉛電極間の半乾燥系によって活性化したPVDF膜に転移する。次に直接的免疫学的表示は、西洋ワサビペルオキシダーゼと結合した0.5 μ g/mLの(ヒトPrPのアミノ酸145-154によって定義される領域、及び動物PrPの相同的領域を認識する)抗プリオン抗体AC23によって確実にされる。

20

30

【0047】

図7Aは、ストレプトマイシンが、プロテイナーゼKによる消化の非存在下でプリオン蛋白に良好に結合されることを示す。実際、0.1g/mL及び0.2g/mLのストレプトマイシンによる処理後、唯一のバンドが観察され、かつその見かけ分子量は、ストレプトマイシン濃度に比例して変化する。このバンドの見かけの大きさは、0.1g/mLのストレプトマイシンに関して約50kDaであり、かつ0.2g/mLのストレプトマイシンに関しておおよそ80kDaである。その上、バンドのプロフィール(湾曲した外観、尾引き(trainage))は、分子凝集であることを示唆している。

【実施例8】

【0048】

MJCに罹患していない患者のLCR、及びMCJに罹患した患者のLCRは、0.5 μ g/mL又は1 μ g/mLで使用するプロテイナーゼKによって消化される。並行して、各試料のアリコートは、プロテイナーゼKによる消化を受けない。消化は、緩やかに攪拌して、37 $^{\circ}$ Cで1時間行われる。消化後、試料は、最終濃度50mg/mLのストレプトマイシンの存在下で、1時間37 $^{\circ}$ Cでインキュベートし、次に5分間12000gで遠心分離を行う。

40

【0049】

次に蛋白が抽出され、かつ蛋白変性緩衝液の存在下で、加熱によって変性され、次にそれらは、実施例7の手順に従い、ウェスタンブロットで解析される。直接的免疫学的表示は、西洋ワサビペルオキシダーゼと結合した(0.5 μ g/mLで使用する)抗体AC2

50

3 を用いて行われる。

【0050】

図8Aは、試料が、ストレプトマイシンによって処理される時、低い強度の唯一のバンドが、観察されることを示す。約35kDaの見かけ分子量のこのバンドは、専らプロテイナーゼKによる消化の非存在下で(LCR(-)ゲルのトラック5)、陰性試料として見られ、他方で、使用するプロテイナーゼK濃度がどのようなものであると(LCR(+))ゲルのトラック5、6及び7)、陽性試料として見られ、プリオン蛋白の耐性形状の特徴を示す。

【0051】

LCR中でのプリオン蛋白検出は、ストレプトマイシンの使用によって可能になる。実際、プロテイナーゼKによる消化の非存在下で、(細胞及び病理学的)全PrP^{Sc}検出は、ストレプトマイシンの存在下で増大し、かつ予期せぬことに、PrP^{Sc}が、好ましくは検出される。プロテイナーゼKによる消化後、この技術により、クロイツフェルト・ヤコブ病に罹患していない患者由来のLCR、及びこの同じ疾病に罹患した患者由来のLCRの間で著しく異なる信号を明らかにすることが可能になる。従って、ストレプトマイシンは、生物学的流体中のPrP^{Sc}検出に関して、有用性を示す。

10

【0052】

その上、ストレプトマイシンのようなアミノグリコシドは、アミノグリコシドとの接触後にPrP^{Sc}が沈降するために、PrP^{Sc}の除去に使用され得る。

【図面の簡単な説明】

20

【0053】

【図1A】振戦病に罹患し、かつ次第に多くなる量のストレプトマイシンと接触した、ヒツジの脳の試料におけるPrP^{Sc}の、15%のポリアクリルアミドゲルに対する電気泳動、転移及び免疫検出後の検出の比較例である。

【図1B】漸増量のストレプトマイシンとの混合前及び後の、図1BのPrP^{Sc}の各バンドの測定された平均分子量の比較グラフである。

【図2】可変量のストレプトマイシンの非存在下及び存在下での、PrP^{Sc}蛋白が非常に豊富な懸濁液の2時間目のインキュベーションの結果得られた、それぞれ上清及び沈降物におけるPrP^{Sc}の、15%のポリアクリルアミドゲルに対する電気泳動、転移及び免疫検出後の検出の比較例である。

30

【図3】少量のPrP^{Sc}を含む懸濁液への、プロテイナーゼK及びストレプトマイシンの同時添加が、結果として上清からのPrP^{Sc}消失及び沈降物中のその出現をもたらすことを示す。

【図4A】15%のポリアクリルアミドゲルに対する電気泳動、転移及び免疫抑制後の、漸増量のストレプトマイシン添加の際のPrP^{Sc}の検出閾値の増加を示す。

【図4B】15%のポリアクリルアミドゲルに対する電気泳動、転移及び免疫抑制後の、漸増量のストレプトマイシン添加の際のPrP^{Sc}の検出閾値の増加を示す。

【図4C】15%のポリアクリルアミドゲルに対する電気泳動、転移及び免疫抑制後の、漸増量のストレプトマイシン添加の際のPrP^{Sc}の検出閾値の増加を示す。

【図5】表は、実施例5を参照し、かつ本発明による技術によって得られた97例の動物の脳に対するPrP^{Sc}診断結果の、基準技術によって得られたそれとの比較を示す。

40

【図6】組み換えプリオン蛋白(recPrP)のみ(A)、ストレプトマイシン存在下のrecPrP(B)及びストレプトマイシンのみ(C)の乾燥フィルムに関する非接触モードでの走査型プローブ顕微鏡(SPM)の映像を示す。

【図7A】広範囲のストレプトマイシンによって治療した、クロイツフェルト・ヤコブ病に罹患した患者(MCJ+)及びMCJに罹患していない患者(MJC-)の頭脊柱液(LCR)の試料におけるプリオン蛋白の、12%のビス-トリスアクリルアミドゲルに対する電気泳動、転移及び免疫検出後の検出の比較例である。

【図7B】図7Aのトラックにおいて行われた沈殿を要約する。

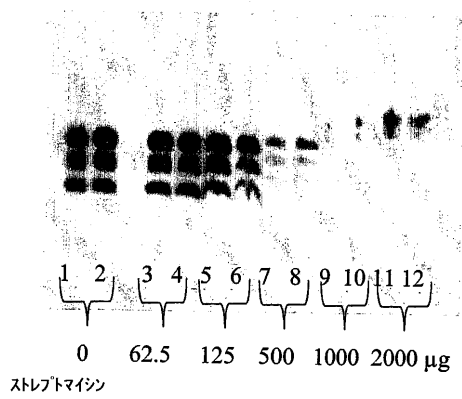
【図8A】広範囲の濃度に応じたプロテイナーゼKによって消化された又は消化されない

50

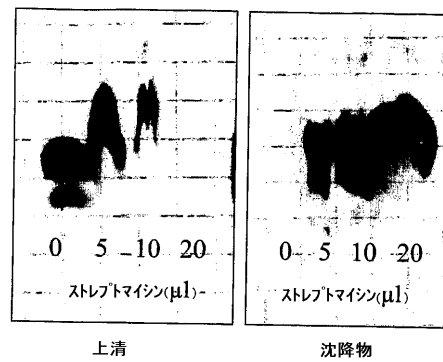
、かつストレプトマイシンによって治療された又は治療されないMJCでのLCR(+)及びLCR(-)の試料の、ウェスタンブロットの結果を示す。免疫学的表示は、抗プリオン抗体によって確実に行われる。

【図8B】図8Aのトラックにおいて行われた沈殿を要約する。

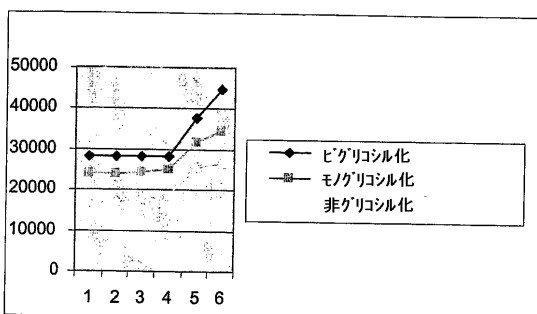
【図1A】



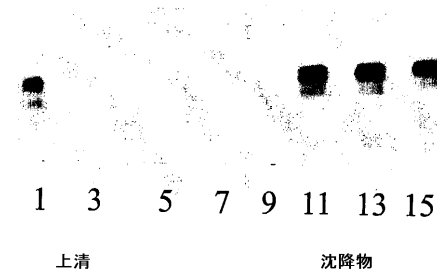
【図2】



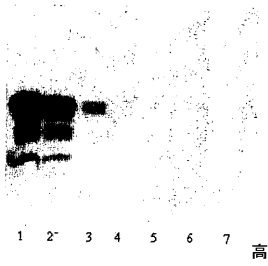
【図1B】



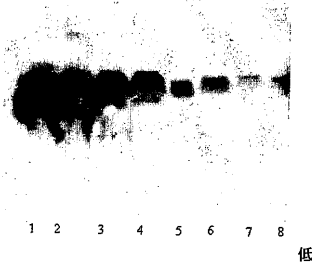
【図3】



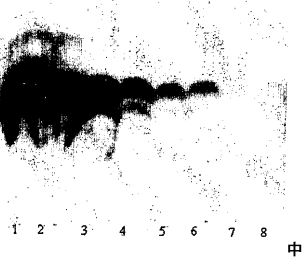
【図 4 A】



【図 4 C】



【図 4 B】

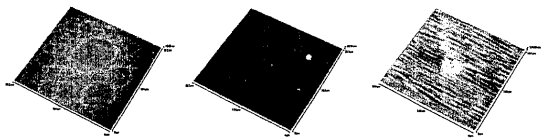


【図 5】

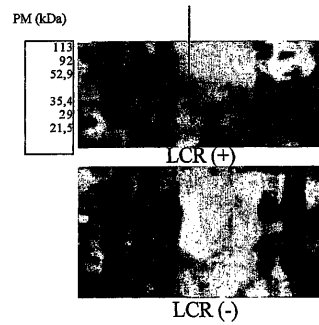
動物	結果	ストレプトマイシン	標準的方法	ELISA又はIHCによる確認	完全に確認
ウシ	陽性	42	40	2 IHC*	42 例陽性
ウシ	陰性	14	14	0	14 例陰性
ウシ					56
ヒツジ	陽性	38	32	6 ELISA	38 例陽性
ヒツジ	陰性	3	3	0	3 例陰性
ヒツジ					41

IHC*: 免疫組織化学技術

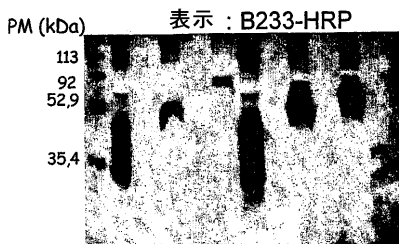
【図 6】



【図 8 A】



【図 7 A】



【図 8 B】

トラック	沈殿	ストレプトマイシン
1	PM	
2	LCR ND	無
3	0.5 µg/mg で LCR D/pK	有
4	1µg/mg で LCR D/pK	
5	LCR ND	
6	0.5 µg/mg で LCR D/pK	有
7	1µg/mg で LCR D/pK	
8	残渣 WB ND	
9	残渣 WB D/pK 0,5 µg/mg	

【図 7 B】

トラック	沈殿
1	分子量
2	LCR (-) + S (50 mg/mL)
4	LCR (-) + S (100 mg/mL)
6	LCR (-) + S (200 mg/mL)
7	LCR (+) + S (50 mg/mL)
9	LCR (+) + S (100 mg/mL)
11	LCR (+) + S (200 mg/mL)
12	陽性脳対照

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		PCT/FR 03/03856		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G01N33/68				
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 G01N				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
A	US 6 221 614 B1 (SAFAR JIRI G ET AL) 24 April 2001 (2001-04-24) abstract	1,10-12		
A	WO 02/086511 A (OESCH BRUNO ;PRIONICS AG (CH); BIFFIGER KARIN (CH); MOSER MARKUS () 31 October 2002 (2002-10-31) cited in the application abstract	1,10-12		
A	WO 02/33420 A (GABIZON RUTH ;SHAKED GIDEON M (IL); HADASIT MEDICAL RES SERVICES A) 25 April 2002 (2002-04-25) claims; examples	1,10-12		
	-/--			
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.				
* Special categories of cited documents : <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="vertical-align: top;"> *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td style="vertical-align: top;"> *T* later document published after the international filing date or priority date and not to conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *Z* document member of the same patent family </td> </tr> </table>			*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	*T* later document published after the international filing date or priority date and not to conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *Z* document member of the same patent family
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	*T* later document published after the international filing date or priority date and not to conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *Z* document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report		
12 May 2004		25/05/2004		
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax. (+31-70) 340-3016		Authorized officer Moreno, C		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/FR 03/03856

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01/23425 A (FISCHER MICHAEL BORIS ;AGUZZI ADRIANO (CH); UNIV ZUERICH (CH)) 5 April 2001 (2001-04-05) abstract	1,10-12
A	--- TAGLIAVINI F. ET AL: "Tetracycline affects abnormal properties of synthetic PrP peptides and PrPsc in vitro" JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY, vol. 300, no. 5, 28 July 2000 (2000-07-28), pages 1309-1322, XP002257687 the whole document -----	1,10-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

PCT/FR 03/03856

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
US 6221614	BI	24-04-2001	US 5891641 A	06-04-1999
			AU 768032 B2	27-11-2003
			AU 2589800 A	07-08-2000
			BR 9916932 A	30-10-2001
			CA 2363846 A1	27-07-2000
			CN 1357109 T	03-07-2002
			EP 1145013 A2	17-10-2001
			JP 2002539081 T	19-11-2002
			US 2003004312 A1	02-01-2003
			WO 0043782 A2	27-07-2000
			US 2003180706 A1	25-09-2003
			US 2004053335 A1	18-03-2004
			US 2004052833 A1	18-03-2004
			US 6620629 B1	16-09-2003
			US 2001005578 A1	28-06-2001
			US 2002041859 A1	11-04-2002
			AT 244889 T	15-07-2003
			AU 753331 B2	17-10-2002
			AU 2660299 A	06-09-1999
			BR 9908059 A	08-01-2002
			CA 2318477 A1	26-08-1999
			DE 69909442 D1	14-08-2003
			DE 69909442 T2	22-04-2004
			DE 1057022 T1	25-10-2001
			EP 1057022 A1	06-12-2000
			ES 2203073 T3	01-04-2004
			JP 2003519357 T	17-06-2003
			WO 9942829 A1	26-08-1999
			US 2002001817 A1	03-01-2002
			US 2001001061 A1	10-05-2001
			AU 725844 B2	19-10-2000
			AU 6168898 A	09-09-1998
			BR 9807600 A	22-02-2000
CA 2278577 A1	27-08-1998			
DE 970372 T1	25-10-2001			
EP 1416281 A2	06-05-2004			
EP 0970372 A1	12-01-2000			
JP 2001516448 T	25-09-2001			
WO 9837411 A1	27-08-1998			
WO 02086511	A	31-10-2002	DE 10119713 A1	24-10-2002
			CA 2437880 A1	31-10-2002
			WO 02086511 A2	31-10-2002
			EP 1381868 A2	21-01-2004
WO 0233420	A	25-04-2002	AU 1264702 A	29-04-2002
			BR 0115131 A	13-01-2004
			CA 2426126 A1	25-04-2002
			EP 1328813 A2	23-07-2003
			WO 0233420 A2	25-04-2002
WO 0123425	A	05-04-2001	AU 5241100 A	30-04-2001
			CA 2385743 A1	05-04-2001
			EP 1216258 A1	26-06-2002
			WO 0123425 A1	05-04-2001
			JP 2003514773 T	22-04-2003
			US 2002004586 A1	10-01-2002
			US 2001053533 A1	20-12-2001

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

PCT/FR 03/03856

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 7 G01N33/68		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7 G01N		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US 6 221 614 B1 (SAFAR JIRI G ET AL) 24 avril 2001 (2001-04-24) abrégé	1,10-12
A	WO 02/086511 A (OESCH BRUNO ;PRIONICS AG (CH); BIFFIGER KARIN (CH); MOSER MARKUS () 31 octobre 2002 (2002-10-31) cité dans la demande abrégé	1,10-12
A	WO 02/33420 A (GABIZON RUTH ;SHAKED GIDEON M (IL); HADASIT MEDICAL RES SERVICES A) 25 avril 2002 (2002-04-25) revendications; exemples	1,10-12
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
A document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent	** document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention	
E document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date	*X* document particulièrement pertinent l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément	
L document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)	*Y* document particulièrement pertinent, l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier	
O document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens	*Z* document qui fait partie de la même famille de brevets	
P document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
12 mai 2004	25/05/2004	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé	
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Moreno, C	

Formulaire PCT/ISA/210 (deuxième feuille) (Janvier 2004)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

PCT/FR 03/03856

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 01/23425 A (FISCHER MICHAEL BORIS ;AGUZZI ADRIANO (CH); UNIV ZUERICH (CH)) 5 avril 2001 (2001-04-05) abrégé	1,10-12
A	----- TAGLIAVINI F. ET AL: "Tetracycline affects abnormal properties of synthetic PrP peptides and PrPsc in vitro" JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY, vol. 300, no. 5, 28 juillet 2000 (2000-07-28), pages 1309-1322, XP002257687 le document en entier -----	1,10-12

Formulaire PCT/SA/210 (suite de la deuxième feuille) (Janvier 2004)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

PCT/FR 03/03856

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication	
US 6221614	B1	24-04-2001	US 5891641 A	06-04-1999
			AU 768032 B2	27-11-2003
			AU 2589800 A	07-08-2000
			BR 9916932 A	30-10-2001
			CA 2363846 A1	27-07-2000
			CN 1357109 T	03-07-2002
			EP 1145013 A2	17-10-2001
			JP 2002539081 T	19-11-2002
			US 2003004312 A1	02-01-2003
			WO 0043782 A2	27-07-2000
			US 2003180706 A1	25-09-2003
			US 2004053335 A1	18-03-2004
			US 2004052833 A1	18-03-2004
			US 6620629 B1	16-09-2003
			US 2001005578 A1	28-06-2001
			US 2002041859 A1	11-04-2002
			AT 244889 T	15-07-2003
			AU 753331 B2	17-10-2002
			AU 2660299 A	06-09-1999
			BR 9908059 A	08-01-2002
			CA 2318477 A1	26-08-1999
			DE 69909442 D1	14-08-2003
			DE 69909442 T2	22-04-2004
			DE 1057022 T1	25-10-2001
			EP 1057022 A1	06-12-2000
			ES 2203073 T3	01-04-2004
			JP 2003519357 T	17-06-2003
			WO 9942829 A1	26-08-1999
			US 2002001817 A1	03-01-2002
			US 2001001061 A1	10-05-2001
			AU 725844 B2	19-10-2000
			AU 6168898 A	09-09-1998
			BR 9807600 A	22-02-2000
			CA 2278577 A1	27-08-1998
			DE 970372 T1	25-10-2001
			EP 1416281 A2	06-05-2004
			EP 0970372 A1	12-01-2000
			JP 2001516448 T	25-09-2001
			WO 9837411 A1	27-08-1998
			WO 02086511	A
CA 2437880 A1	31-10-2002			
WO 02086511 A2	31-10-2002			
EP 1381868 A2	21-01-2004			
WO 0233420	A	25-04-2002	AU 1264702 A	29-04-2002
			BR 0115131 A	13-01-2004
			CA 2426126 A1	25-04-2002
			EP 1328813 A2	23-07-2003
			WO 0233420 A2	25-04-2002
WO 0123425	A	05-04-2001	AU 5241100 A	30-04-2001
			CA 2385743 A1	05-04-2001
			EP 1216258 A1	26-06-2002
			WO 0123425 A1	05-04-2001
			JP 2003514773 T	22-04-2003
			US 2002004586 A1	10-01-2002
			US 2001053533 A1	20-12-2001

フロントページの続き

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(71) 出願人 500525531

センター ナショナル デ ラ レシェルルシェ サイエントフィック - シーエヌアールエス
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
- CNRS
フランス国、パリ セダー 16 エフ - 75794、ルー ミッシェル アンジュ 3
3, rue Michel Ange F - 75794 Paris Cedex 16 France

(71) 出願人 505226655

ユニベルシテ クロウドゥ ベルナルド リヨン
UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON
フランス、セダー ヴィルボン エフ - 69622、ブールバード ドゥ 11 ノーヴェンブル
1918、43
43, boulevard du 11 Novembre 1918, F - 69622 Villeurbanne Cedex France

(71) 出願人 505226666

バイオメリユウ
BIOMERIEUX
フランス、マルシィ - レトワール エフ - 69280、シェマン ドゥ ローム
Chemin de l'Orme, F - 69280 Marcy-l'Etoile France

(74) 代理人 100092897

弁理士 大西 正悟

(74) 代理人 100115200

弁理士 山口 修之

(72) 発明者 ムーザ アリイ

フランス、ウーリン エフ - 69600、シェミン ドゥ グラン ルボイユ、52

(72) 発明者 コルマン アンソニィ ウィリアム

フランス、カリユイル - エ - キュイル エフ - 69300、リュ ドゥ マルニョル、55

(72) 発明者 ベンクシック - レイニエール アンナ

フランス、チャーリー エフ - 69390、ラ プラトール

(72) 発明者 シャガールディオン パトリック

フランス、リヨン エフ - 69003、リュ アンドレ フィリップ、223

(72) 発明者 ペロン エルベ

フランス、セント - ジェニィ - レ - オリーール エフ - 69290、アレ ドゥ ラ ギゴニール、4

(72) 発明者 マーティン アンブロワズ

フランス、チャーリー エフ - 69390、ルート ドゥ バ プリバ、605シー

专利名称(译)	PRP检测方法采用氨基糖苷类抗生素		
公开(公告)号	JP2006510913A	公开(公告)日	2006-03-30
申请号	JP2004563298	申请日	2003-12-19
[标]申请(专利权)人(译)	法国国家科学研究中心 生物Meryuu 生物梅里埃公司		
申请(专利权)人(译)	Ajensu法国文化安全Sanitairu去Arimento - Afuza - 中心国家德拉Resherurushe科学 - CNR居 Yuniberushite Kuroudu贝尔纳里昂 生物Meryuu		
[标]发明人	ムーザアライ コルマンアンソニイウィリアム ベンクシクレイニエールアンナ シャガールディオンパトリック ペロンエルベ マーティンアンブロワズ		
发明人	ムーザ アライ コルマン アンソニイ ウィリアム ベンクシク-レイニエール アンナ シャガールディオン パトリック ペロン エルベ マーティン アンブロワズ		
IPC分类号	G01N33/53 G01N27/447 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/6896 G01N2800/2828 Y10T436/104998		
FI分类号	G01N33/53.D G01N27/26.315.Z		
代理人(译)	大西省吾 山口 修之		
优先权	2002016382 2002-12-20 FR		
其他公开文献	JP4471844B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

检测或诊断病理性朊病毒蛋白 (PrPsc) 包括用抗生素 (I) , 优选氨基糖苷 (Ia) 处理源自或获自人或动物的组织或流体样品, 是新的。还包括以下独立权利要求 : (1) 使用 (Ia) 从组织或液体中消除PrPsc; (2) 用于诊断含有 (Ia) 的PrPsc相关疾病的试剂盒。

【 図 1 B 】

