

Бета-амилоид 1-42

Болезнь Альцгеймера (БА) - сложное прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, которым страдают около 14 миллионов человек в Европе и США, включая почти половину (43%) населения в возрасте 85 лет и старше.

Болезнь Альцгеймера является наиболее распространенной причиной деменции и характеризуется нейроаксональной и синаптической дегенерацией, которая сопровождается внутринейрональными нейрофибрилярными клубками и накоплением внеклеточных бляшек в определенных областях мозга. Эти особенности приводят к снижению концентрации β (бета)-амилоида 1-42 в спинномозговой жидкости (СМЖ). β -амилоид образуется в результате протеолитического расщепления белка-предшественника амилоида - большого трансмембранного белка, который, по-видимому, участвует в синаптической пластичности и обучении. В результате расщепления этого белка образуются пептиды β -амилоида различной длины (38-43 аминокислоты), которые накапливаются во внеклеточном пространстве и образуют внеклеточные бляшки. Из этих пептидов β -амилоид 1-42 ($A\beta_{42}$) является основной формой, которая ассоциируется с БА.

β -амилоид 1-42 как маркер в диагностике

Было установлено, что уровень $A\beta_{42}$ в СМЖ имеет диагностическую ценность для отличия больных деменцией при БА от когнитивно нормальных людей на самых ранних стадиях прогрессирования заболевания. Уровень $A\beta_{42}$ значительно снижается за 5-10 лет до

появления симптомов когнитивных нарушений. $A\beta_{42}$ может быть использован для диагностики БА как на продромальной, так и на дементной стадии заболевания, и в настоящее время он включен в критерии диагностических исследований БА.

Моноклональные антитела, специфичные к β -амилоиду 1-42

Мы предлагаем хорошо охарактеризованные мышинные моноклональные антитела (МоАт), специфичные к бета-амилоиду человека, для выявления $A\beta_{42}$ в ЦСЖ человека. Эти антитела были разработаны к синтетическим пептидам, соответствующим фрагментам последовательности $A\beta_{42}$.

Количественный и высокоспецифичный сэндвич-иммуноанализ на β -амилоид 1-42

Мы рекомендуем две пары МоАт для разработки сэндвич-иммуноанализа для измерения уровня $A\beta_{42}$ в образцах человеческой СМЖ: ВАМ7сс-ВАМ113сс и ВАМ7сс-ВАМ120сс. Оба прототипа анализа, разработанные на базе этих пар, способны обнаруживать нативный β -амилоид в СМЖ человека. Значения пределов обнаружения представлены в таблице 1.

Специфичность анализов на базе пар ВАМ7сс-ВАМ113сс и ВАМ7сс-ВАМ120сс была подтверждена с использованием различных синтетических человеческих β -амилоидных пептидов. Перекрестная реактивность к $A\beta_{40}$, $A\beta_{41}$ и $A\beta_{43}$ была измерена при концентрации 50 нг/мл каждого тестируемого пептида и оказалась очень низкой, как показано в таблице 2.

Таблица 1.

Рекомендуемые пары МоАт «захват - обнаружение».
Рекомендуемые пары МоАт «захват - обнаружение». Данные основаны на результатах, которые полученных с помощью сэндвичного хемилюминесцентного иммуноанализа (ИХЛА).

| Захватывающие МоАт | Детектирующие МоАт | LoD (предел обнаружения, пг/мл) |
|--------------------|--------------------|---------------------------------|
| ВАМ7сс | ВАМ113сс | 5.3 |
| ВАМ7сс | ВАМ120сс | 13.4 |

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера

Калибровочные кривые для прототипов анализов представлены на рисунке 1.

Таблица 2.

Перекрестная реактивность прототипов анализов к различным синтетическим β-амилоидным пептидам человека.

| Синтетический пептид | ВАМ7сс-ВАМ113 | ВАМ7сс-ВАМ120сс |
|-----------------------|---------------|-----------------|
| 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% |

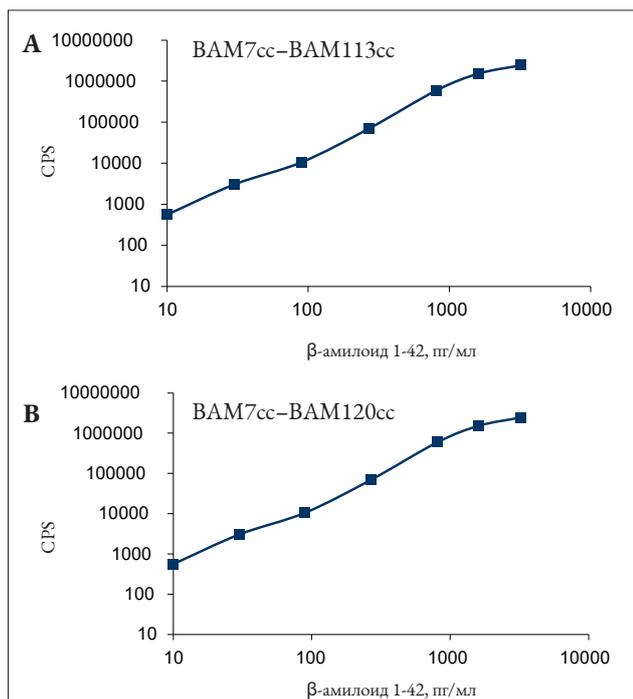


Рисунок 1.

Калибровочные кривые для пар МоАб ВАМ7сс-ВАМ113сс (А) и ВАМ7сс-ВАМ120сс (В).

Захватывающее антитело ВАМ7сс наносилось на черный планшет Costar ELA/RIA в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) и инкубировалось при комнатной температуре в течение 40 минут. Синтетический человеческий β-амилоид 1-42 (AnaSpec Cat.# AS-24224) и биотинилированное детектирующее МоАб ВАМ120сс (или ВАМ113сс) разводили в буфере ФСБ, содержащем 7,5% BSA и 0,1% Tween20, и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. После промывки планшеты инкубировали со стрептавидин-пероксидазой хрена в течение 5 минут и снова промывали. Добавляли субстрат SuperSignal ELISA Fento Maximum Sensitivity Substrate и измеряли люминесценцию с помощью счетчика Victor Multi Label Counter.

Измерение образцов СМЖ пациентов

Для проведения корреляционных исследований между прототипами анализов Hytest и анализом INNOTEST® β-AMYLOID(1-42) мы получили образцы ЦСЖ от 30 пациентов разного возраста (от 45 до 90 лет).

На рисунке 2 показаны результаты корреляционных исследований между прототипами иммуноанализа и INNOTEST β-AMYLOID(1-42).

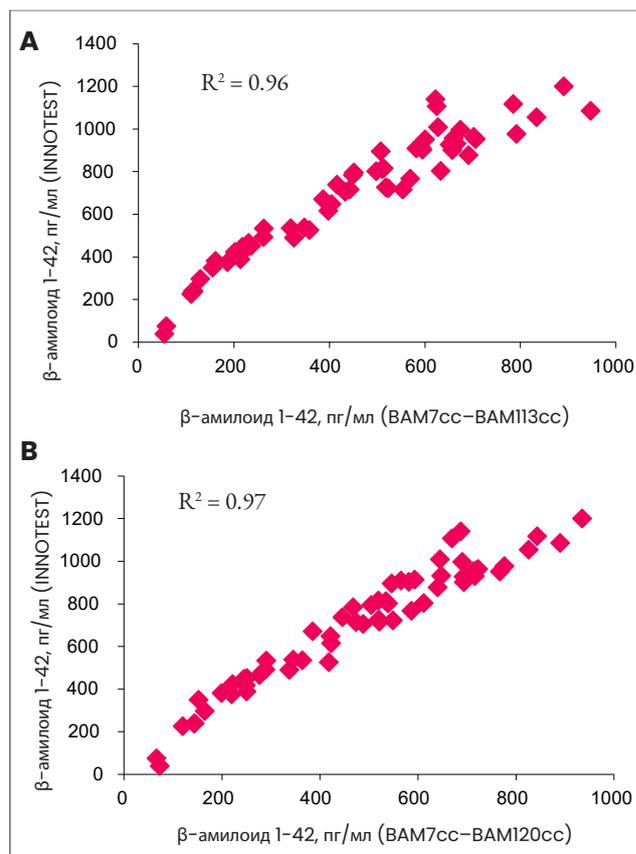


Рисунок 2.

Корреляционные исследования между иммуноанализами на базе пар МоАб ВАМ7сс-ВАМ113сс (А) и ВАМ7сс-ВАМ120сс (В) и анализом INNOTEST β-амилоид(1-42).

Коэффициенты корреляции (Пирсона) между анализами и анализом INNOTEST представлены на рисунке.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

| Название продукта | Кат. № | Клон | Подкласс | Примечание |
|-----------------------|--------|----------|----------|-----------------------|
| Бета-амилоид человека | 4ВА3 | ВАМ7сс | IgG1 | <i>In vitro</i> , ИФА |
| | | ВАМ113сс | IgG1 | <i>In vitro</i> , ИФА |
| | | ВАМ120сс | IgG1 | <i>In vitro</i> , ИФА |