



特 許 証
(CERTIFICATE OF PATENT)

特許第 3 5 1 2 8 1 5 号
(PATENT NUMBER)

発明の名称(TITLE OF THE INVENTION)

アミロイドベータタンパク質 (球状アッセンブリーおよびその使用)

特許権者(PATENTEE)

アメリカ合衆国, イリノイ 60208, エバンストン, クラーク ストリート
633

国籍 アメリカ合衆国
ノースウエスタン ユニバーシテイ

アメリカ合衆国, カリフォルニア 90089, ロサンゼルス, ユニバーシテイ
パーク

国籍 アメリカ合衆国
ユニバーシテイ オブ サザン カリフォルニア

発明者(INVENTOR)

クラフト, グラント エー.

クレイン, ウィリアム エル.

クロミー, ブレット エー.

その他別紙記載

出願番号(APPLICATION NUMBER)

平成10年特許願第533262号

出願年月日(FILING DATE)

平成10年 2月 5日 (February 5, 1998)

この発明は、特許するものと確定し、特許原簿に登録されたことを証する。
(THIS IS TO CERTIFY THAT THE PATENT IS REGISTERED ON THE REGISTER OF THE JAPAN PATENT OFFICE.)

平成16年 1月16日 (January 16, 2004)

特許庁長官 (COMMISSIONER, JAPAN PATENT OFFICE)

今井康夫



特 許 証

(CERTIFICATE OF PATENT)

(続葉 1)

特許第3512815号(PATENT NUMBER)

平成10年特許願第533262号(APPLICATION NUMBER)

発明者(INVENTOR)

ランバート, メアリー ビー.

フィンチ, ケーレブ イー.

モーガン, トッド

ウォールス, パット

ロゾフスキー, イリーナ

パーロー, アン

[以下余白]

(45)発行日 平成16年3月31日(2004.3.31)

(24)登録日 平成16年1月16日(2004.1.16)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	
C 0 7 K	14/47	C 0 7 K	14/47
C 1 2 Q	1/02	C 1 2 Q	1/02
G 0 1 N	33/15	G 0 1 N	33/15
	33/50		Z
	33/68		Z

請求項の数44(全 29 頁)

(21)出願番号 特願平10-533282

(86) (22)出願日 平成10年2月5日(1998.2.5)

(65)公表番号 特表2001-501972(P2001-501972A)

(43)公表日 平成13年2月13日(2001.2.13)

(86)国際出願番号 P C T / U S 9 8 / 0 2 4 2 6

(87)国際公開番号 W O 9 8 / 0 3 3 8 1 5

(87)国際公開日 平成10年8月6日(1998.8.6)

審査請求日 平成11年8月12日(1999.8.12)

(31)優先権主張番号 0 8 / 7 9 6 , 0 8 9

(32)優先日 平成9年2月5日(1997.2.5)

(33)優先権主張国 米国 (U S)

(73)特許権者 999999999
ノースウエスタン ユニバーシティ
アメリカ合衆国, イリノイ 60208, エ
バンストン, クラーク ストリート
633

(73)特許権者 999999999
ユニバーシティ オブ サザン カリフ
ォルニア
アメリカ合衆国, カリフォルニア
90089, ロサンゼルス, ユニバーシティ
パーク

(74)代理人 999999999
弁理士 石田 敬 (外4名)

審査官 鈴木 恵理子

最終頁に続く

(64) 【発明の名称】 アミロイドベータタンパク質 (球状アッセムブリーおよびその使用)

1

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】 3-12のアミロイドβタンパク質を含んで成り、神経毒性を示す、単離された可溶性の非原線維性アミロイドβタンパク質集合体であって、このアミロイドβタンパク質がβ1-42タンパク質である前記集合体。

【請求項2】 前記集合体が三量体、四量体、五量体および六量体から成る群から選択される集合体を含んで成る請求項1に記載の集合体。

【請求項3】 非変形ゲル電気泳動により測定した場合には、前記集合体が約26kD~約28kDの分子量を有する請求項1または2に記載の集合体。

【請求項4】 15%SDS-ポリアクリルアミドゲル上での電気泳動により測定した場合には、前記集合体が約22kD~約24kD、または約18kD~約19kDの分子量を有する請求項

2

1-3のいずれか1項に記載の集合体。

【請求項5】 原子間力顕微鏡により測定した場合には、前記集合体が約4.7nm~約6.2nmの寸法の球状体を含んで成る請求項1-3のいずれか1項に記載の集合体。

【請求項6】 原子間力顕微鏡により測定した場合には、前記集合体が約4.9nm~約5.4nmの寸法の球状体を含んで成る請求項1~4のいずれか1項に記載の集合体。

【請求項7】 原子間力顕微鏡により測定した場合には、前記集合体が約5.7nm~約6.2nmの寸法の球状体を含んで成る請求項1~5のいずれか1項に記載の集合体。

【請求項8】 原子間力顕微鏡により測定した場合には、前記集合体の約40%~約75%が、約4.9nm~約5.4nm、及び約5.7nm~約6.2nmの寸法の球状体を含んで成る請求項1~5のいずれか1項に記載の集合体。

【請求項9】 請求項1~8のいずれか1項に記載の集合

体の効果の検定方法において、

- (a) ヒトを除く動物の海馬に前記集合体を投与し；
- (b) 電気的刺激を適用し；そして
- (c) 細胞体スパイク振幅を経時的に測定することにより、長期増強反応を測定する；

工程を含んで成る方法。

【請求項10】前記動物の長期増強反応が、電気的刺激の適用に先立って集合体の代りに食塩水を投与する点を除き同様にして処置された別の動物の長期増強反応と比較される、請求項9に記載の方法。

【請求項11】請求項1～8のいずれか1項に記載の集合体の被験物質中での検出方法において、

- (a) 前記被験物質を β -アミロイド特異的抗体と接触させ；そして
 - (b) 前記抗体の前記集合体との結合を検出する；
- 工程を含んで成る方法。

【請求項12】請求項1～8のいずれか1項に記載の集合体の被験物質中での検出方法において、

- (a) 前記被験物質を血清飢餓化神経芽細胞腫細胞と接触させ；そして
 - (b) 前記被験物質と接触されなかった神経芽細胞腫細胞に対する前記細胞の形態学的知見を比較することにより、前記接触された細胞における形態学的変化を測定する；
- 工程を含んで成る方法。

【請求項13】請求項1～8のいずれか1項に記載の集合体の被験物質中での検出方法において、

- (a) 前記被験物質を脳薄片培養物と接触させ；そして
- (b) 前記被験物質と接触されなかった脳薄片培養物に対して比較した場合の脳細胞死を測定する；

工程を含んで成る方法。

【請求項14】請求項1～8のいずれか1項に記載の集合体の被験物質中での検出方法において、

- (a) 前記被験物質を神経芽細胞腫細胞と接触させ；そして
- (b) 前記被験物質と接触されなかった神経芽細胞腫細胞におけるFynキナーゼ活性に対して前記接触された細胞中のFynキナーゼ活性を比較することにより、Fynキナーゼ活性の増大を測定する；

工程を含んで成る方法。

【請求項15】請求項1～8のいずれか1項に記載の集合体の被験物質中での検出方法において、

- (a) 前記被験物質を一次星状膠細胞の培養物と接触させ；そして
- (b) 前記被験物質と接触されなかった一次星状膠細胞の培養と比較した場合の前記接触された星状膠細胞の活性化を測定する；

工程を含んで成る方法。

【請求項16】請求項1～8のいずれか1項に記載の集合体の被験物質中での検出方法において、

- (a) 前記被験物質を一次星状膠細胞と接触させ；そして

(b) 前記被験物質と接触されなかった一次星状膠細胞の培養中の対応するmRNAレベルに対して前記接触された星状膠細胞中の前記mRNAレベルを比較することにより、インターロイキン-1、誘導性酸化一酸化窒素シンターゼ、ApoE、ApoJおよび α 1-アンチキモトリプシンから成る群から選択されるタンパク質に対するmRNAの増大を前記星状膠細胞で測定する；

10 工程を含んで成る方法。

【請求項17】請求項1～8のいずれか1項に記載の集合体の作用を調節する化合物の同定方法において、

- (a) ヒトを除く動物の海馬に食塩水または被験化合物を投与し；

(b) 電気的刺激を適用し；

(c) 細胞体スパイク振幅を経時的に測定することにより長期増強反応を測定し；そして

(d) 食塩水を投与された動物の長期増強反応を、被験化合物を投与された動物の長期増強反応と比較する；

20 工程を含んで成る方法。

【請求項18】前記食塩水または被験化合物の投与の前に、同時に、またはその後、前記海馬に集合体を投与することをさらに含んで成る請求項17記載の方法。

【請求項19】請求項1～8のいずれか1項に記載の集合体の神経毒性を阻止する化合物の同定方法であって、

- (a) 前記被験化合物との接触の存在下または非存在下で、ニューロン細胞の別々の培養物を前記集合体と接触させ；

(b) 各培養物中の生存細胞の割合を測定し；そして

30 (c) 各培養物中の生存細胞の割合を比較する；

工程を含んで成り、被験化合物の非存在下で集合体と接触させた培養物中の生存細胞と比較して、被験化合物の存在下で集合体と接触させた前記培養物中の生存細胞の割合が増大した場合に、その被験化合物を集合体の神経毒性を阻止する化合物として同定することを特徴とする方法。

【請求項20】請求項1～8のいずれか1項に記載の集合体の細胞表面タンパク質への結合を阻止する化合物の同定方法において、

- 40 (a) 前記被験物質との接触の存在下または非存在下で、ニューロン細胞の別々の培養物を前記集合体と接触させ；

(b) 前記集合体と結合する蛍光性の試薬を添加し；

(c) 蛍光標示式細胞分類法により前記各々の細胞培養物を分析し；そして

(d) 培養物の蛍光を比較する；

工程を含んで成り、被験化合物の非存在下で集合体と接触させた培養物の蛍光と比較して、被験化合物の存在下

50 で集合体と接触させた培養物の蛍光が低減する場合に、その被験化合物を集合体細胞表面タンパク質への結合を

