

(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2005-172440**(P2005-172440A)**(43) 公開日 **平成17年6月30日(2005.6.30)**(51) Int.Cl.⁷**G01N 33/53****C12Q 1/04**

F I

G O 1 N 33/53

C 1 2 Q 1/04

テーマコード (参考)

4 B O 6 3

審査請求 未請求 請求項の数 9 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2003-408435 (P2003-408435)

(22) 出願日 平成15年12月8日 (2003.12.8)

(71) 出願人 000195524

生化学工業株式会社

東京都中央区日本橋本町2丁目1番5号

(74) 代理人 100124512

弁理士 堀口 努

(72) 発明者 京ヶ島 守

東京都東大和市上北台1-902-226

(72) 発明者 高橋 響

東京都三鷹市下連雀2-5-5

(72) 発明者 秋好 淳子

東京都多摩市連光寺4丁目15番1 フラ

ット桜ヶ丘305

Fターム(参考) 4B063 QQ02 QQ08 QS03 QS33

(54) 【発明の名称】 プルキンエ細胞の検出方法及び検出キット

(57) 【要約】

【課題】 プルキンエ細胞を特異的に、かつ簡便、迅速、安価に検出できる方法及びそのために用いることができる検出キットを提供すること。

【解決手段】 抗プリオン抗体を用いて動物組織を免疫染色するステップを少なくとも含むプルキンエ細胞の検出方法及び抗プリオン抗体を構成成分として含むプルキンエ細胞の検出キット。これらの抗プリオン抗体はI g Gであることが好ましく、I g Gとして精製されたものであることが好ましく、ニワトリ由来のプリオンに結合するものであることが好ましい。また、免疫染色する前に、免疫染色の対象となる動物組織をオートクレーブ処理するステップをさらに含むものが好ましい。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗プリオン抗体を用いて生体組織を免疫染色するステップを少なくとも含む、プルキンエ細胞の検出方法。

【請求項 2】

抗プリオン抗体が、I g Gであることを特徴とする、請求項 1 に記載の検出方法。

【請求項 3】

抗プリオン抗体が、I g Gとして精製されたものであることを特徴とする、請求項 2 に記載の検出方法。

【請求項 4】

抗プリオン抗体が、ニワトリ由来のプリオンに結合するものであることを特徴とする、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の検出方法。

【請求項 5】

免疫染色する前に、免疫染色の対象となる生体組織をオートクレーブ処理するステップをさらに含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の検出方法。

【請求項 6】

抗プリオン抗体を構成成分として含む、プルキンエ細胞の検出キット。

【請求項 7】

抗プリオン抗体が、I g Gであることを特徴とする、請求項 6 に記載の検出キット。

【請求項 8】

抗プリオン抗体が、I g Gとして精製されたものであることを特徴とする、請求項 7 に記載の検出キット。

【請求項 9】

抗プリオン抗体が、ニワトリ由来のプリオンに結合するものであることを特徴とする、請求項 6 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の検出キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、プルキンエ細胞の検出方法及び検出キットに関する。

【背景技術】

【0002】

プルキンエ細胞(Purkinje cell)は、小脳皮質に一層に並んで存在する大型のニューロンである。

【0003】

一方、非特許文献 1 には、「ニワトリ由来のプリオン」に結合する抗体が記載されている。しかし、このような抗プリオン抗体によってプルキンエ細胞を特異的に検出できることや、プリオンがプルキンエ細胞に局在している等の報告はなされていない。

【0004】

【非特許文献 1】Biochemistry, 32, p1009-1016 (1993)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明は、プルキンエ細胞を特異的に検出できる方法及びそのために用いることができる検出キットを提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明者は上記課題を解決するために鋭意検討を行った結果、抗プリオン抗体を用いてプルキンエ細胞が特異的に検出できることを見出し、この知見に基づいて、プルキンエ細胞を特異的に検出できる方法及びそのために用いることができる検出キットを提供する

10

20

30

40

50

に至った。

【 0 0 0 7 】

すなわち本発明は、抗プリオン抗体を用いて動物組織を免疫染色するステップを少なくとも含む、プルキンエ細胞の検出方法(以下、本発明方法という。)を提供する。

この抗プリオン抗体は I g G であることが好ましく、I g G として精製されたものであることが好ましく、ニワトリ由来のプリオンに結合するものであることが好ましい。また、本発明検出方法は、免疫染色する前に、免疫染色の対象となる動物組織をオートクレーブ処理するステップをさらに含むものが好ましい。

また本発明は、抗プリオン抗体を構成成分として含む、プルキンエ細胞の検出キット(以下、本発明キットという。)を提供する。この抗プリオン抗体も I g G であることが好ましく、I g G として精製されたものであることが好ましく、ニワトリ由来のプリオンに結合するものであることが好ましい。

10

【発明の効果】

【 0 0 0 8 】

本発明方法及び本発明キットは、プルキンエ細胞が特異的に、かつ簡便、迅速、安価に検出することができることから、極めて有用である。

【発明を実施するための最良の形態】

【 0 0 0 9 】

< 1 > 本発明方法

本発明方法は、抗プリオン抗体を用いて動物組織を免疫染色するステップを少なくとも含む、プルキンエ細胞の検出方法である。

20

【 0 0 1 0 】

ここで用いる「抗プリオン抗体」は、プリオンに結合する抗体である限りにおいて特に限定されず、ポリクローナル、モノクローナルのいずれであっても良い。なお、この「抗プリオン抗体」は、プリオンに特異的に結合するものであることが好ましい。

【 0 0 1 1 】

「抗プリオン抗体」の免疫グロブリンクラスも特に限定されないが、I g G であるものが好ましい。

【 0 0 1 2 】

また「抗プリオン抗体」は、I g G として精製されたものであっても、未精製のもの(例えば、ハイブリドーマの培養上清、腹水、抗血清そのものなど)であっても良いが、I g G として精製されているものが好ましい。本明細書において「精製」という用語は、いわゆる部分精製(実質的に純粋とまではいえないが、画分中に占める精製目的物質の割合が多数となる程度にまで精製すること)も、完全精製(実質的に純粋となるまで精製すること)も含む概念として用いる。例えば、ドデシル硫酸ナトリウム - ポリアクリルアミドゲル電気泳動(S D S - P A G E)で解析した場合に、I g G 以外の物質が検出されないか、又は検出されてもごく僅かである場合には、I g G として「精製」されているということができる。

30

【 0 0 1 3 】

抗体の精製法としては、硫酸ナトリウム、硫酸アンモニウム等による塩析、低温アルコール沈殿およびポリエチレングリコールまたは等電点による選択的沈殿分別法、電気泳動法、D E A E (ジエチルアミノエチル) - 誘導体、C M (カルボキシメチル) - 誘導体等のイオン交換体を用いたイオン交換クロマトグラフィー、プロテイン A またはプロテイン G を用いたアフィニティークロマトグラフィー、ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィー、抗原を固定化した免疫吸着クロマトグラフィー、ゲル濾過法および超遠心法等を挙げることができる。I g G として精製するという観点では、プロテイン A またはプロテイン G を用いたアフィニティークロマトグラフィーを用いることが好ましい。

40

【 0 0 1 4 】

「抗プリオン抗体」が結合するプリオンの由来も特に限定されない。例えば、ニワトリ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ネコ、トラ、ピューマ、チータ、オオシカ、ミンク、マウス、ラ

50

ット、モルモット、ブタ、ヒト等の脊椎動物由来のプリオン等が例示される。なかでもヒトを除く脊椎動物由来のプリオンが好ましく、ニワトリ由来のプリオンであることがより好ましい。

【0015】

また「抗プリオン抗体」の由来も特に限定されず、ウサギ、マウス、ラット、モルモット、ヤギ、ヒツジ、ウマ、ブタ、イヌ、ネコ等が例示される。なかでも、ウサギの抗体であることが好ましい。

【0016】

このような「抗プリオン抗体」は、抗原としてプリオン又はその部分ペプチド（融合ペプチドであってもよい）を用いて公知の方法で製造することもでき、市販のものを利用することもできる。なかでも、Biochemistry, 32, p1009-1016 (1993)に記載の方法でプリオンに対する抗血清（抗プリオン抗体を含有している）を調製し、この抗血清からIgGとして精製したものが好ましい。この場合において、抗血清を調製する際の抗原としては、「ニワトリ由来のプリオンのN末端から第35番目～第96番目のアミノ酸配列で示される部分ペプチドのN末端に、T7ファージのgene 10タンパク質のN末端から第1番目～第260番目のアミノ酸配列で示される部分ペプチドを融合させたペプチド」を用いることが好ましい。このようなペプチドは、これら公知のタンパク質の公知のアミノ酸配列に基づいて、遺伝子工学的手法や化学的手法等によって製造することができる。また、被免疫動物としてウサギを用いることが好ましい。

10

【0017】

なお「抗プリオン抗体」は、免疫グロブリンの分子構造を完全に保持しているものは勿論、抗原結合部位（Fab）を分解しないプロテアーゼ（例えばプラスミン、ペプシン、パパイン等）で処理してFabを含むフラグメントとしたものであっても良い。抗体のFabを含むフラグメントとしては、Fab以外に、Fabc、(Fab')₂等が例示される。

20

【0018】

また「抗プリオン抗体」をコードする遺伝子の塩基配列や「抗プリオン抗体」のアミノ酸配列が決定されれば、遺伝子工学的に「抗プリオン抗体」のFabを含むフラグメントやキメラ抗体（例えば「抗プリオン抗体」のFab部分を含むキメラ抗体等）を作製することもできる。以上のような、「抗プリオン抗体」のFabを含むフラグメントやキメラ抗体も、プリオンに結合する限り、本明細書における「抗プリオン抗体」の概念に包含される。製造された抗体がプリオンに結合するか否か、あるいは特異的に結合するか否か等は、プリオン又はその部分ペプチド（融合ペプチドであってもよい）を用い、通常の方法によって当業者が容易に決定することができる。

30

【0019】

免疫染色の対象とする「動物組織」は、プルキンエ細胞を含む動物組織である限りにおいて特に限定されず、脳、なかでも小脳、特に小脳の皮質であることが好ましい。

【0020】

また、「動物組織」の採取の対象となる動物は、脊椎動物であることが好ましい。脊椎動物としてはニワトリ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ネコ、トラ、ピューマ、チータ、オオシカ、ミンク、マウス、ラット、モルモット、ブタ、ヒト等が例示されるが、ヒトを除く脊椎動物であることが好ましく、なかでもニワトリが好ましい。

40

【0021】

「抗プリオン抗体を用いて動物組織を免疫染色する」方法としては、公知の免疫組織学的手法を用いることができる。なお、本明細書における「染色」という用語は、色素を用いることは勿論、最終的に何らかの特殊なシグナルとして検出する物質（例えば放射性同位元素等）を用いることも含む概念として用いる。

このような物質としては、例えば酵素（ペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β-ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アセチルコリンエステラーゼ、グルコースオキシダーゼなど）、放射性同位元素（¹²⁵I、¹³¹I、³Hなど）、蛍光色素（フルオレセイン

50

イソチオシアネート (FITC)、7-アミノ-4-メチルクマリン-3-酢酸 (AMCA)、ジクロロトリアジニルアミノフルオレセイン (DTAF)、テトラメチルローダミンイソチオシアネート (TRITC)、リスアミンローダミン B (Lissamine Rhodamine B)、テキサスレッド (Texas Red)、フィコエリスリン (Phycoerythrin; PE)、ウンベリフェロン、ユーロピウム、フィコシアニン、トリカラー、シアニンなど)、化学発光物質 (ルミノールなど)、ハプテン (ジニトロフルオロベンゼン、アデノシン-リン酸 (AMP)、2, 4 - ジニトロアニリンなど)、金属粒子 (フェリチン粒子、金コロイド粒子など)、特異的結合対 (ビオチンとアビジン類 (ストレプトアビジンなど)、レクチンと糖鎖、アゴニストとアゴニストの受容体、ヘパリンとアンチトロンビン III (ATIII)、多糖類とその結合タンパク質 (ヒアルロン酸とヒアルロン酸結合性タンパク質 (HABP) など) のいずれか一方の物質等が例示される。

10

【0022】

免疫染色する際の動物組織の形態も特に限定されないが、当該動物組織が切片標本の状態となっていることが好ましい。切片標本の作製方法も特に限定されず、通常の方法を用いることができる。例えば、採取した動物組織を固定し、次いでパラフィン等で包埋して、これを薄切することによって作製することができる。

【0023】

本発明方法は、以上のような「抗プリオン抗体を用いて動物組織を免疫染色するステップ」を少なくとも含む限りにおいて、他のステップを含んでもよい。例えば、免疫染色する前に動物組織に対して何らかの前処理を施すステップ、免疫染色後に動物組織を洗浄するステップ等をさらに含んでもよい。なかでも、免疫染色する前に、免疫染色の対象となる動物組織をオートクレーブ処理するステップをさらに含むものが好ましい。オートクレーブの条件も特に限定されないが、121 で20分間高圧蒸気滅菌処理することが好ましい。

20

【0024】

「プルキンエ細胞の検出」は、免疫染色の際に用いた色素その他の物質の種類に応じて、公知の方法で行うことができる。動物組織を切片標本として用いた場合には、例えば顕微鏡を用いて検出することができ、色素を肉眼で観察したり、金属粒子の密度、放射能のカウント、蛍光強度、蛍光偏光、発光強度等を観察・測定する方法などが例示される。用いる顕微鏡の種類は、免疫染色の際に用いた色素その他の物質の種類に応じて適宜選択することができ、光学顕微鏡、電子顕微鏡、レーザー顕微鏡その他の顕微鏡を用いることができる。

30

【0025】

また、本明細書における「プルキンエ細胞の検出」の用語は、当該細胞の全体を検出することのみならず、当該細胞の一部を検出することをも含む概念である。例えば、プルキンエ細胞の樹状突起部分のみを検出することも、本明細書における「プルキンエ細胞の検出」に包含される概念である。

【0026】

このような方法によってプルキンエ細胞を検出することができるが、その検出は定性的なもの (例えば、細胞や樹状突起自体の形態の検出、細胞や樹状突起の分布の検出等) であってもよく、定量的なもの (例えば、細胞や樹状突起のサイズ、細胞や樹状突起の密度、細胞や樹状突起の分布面積等) であってもよい。

40

< 2 > 本発明キット

本発明キットは、抗プリオン抗体を構成成分として含む、プルキンエ細胞の検出キットである。この抗プリオン抗体も IgG であることが好ましく、IgG として精製されたものであることが好ましく、ニワトリ由来のプリオンに結合するものであることが好ましい。

【0027】

本発明キットの構成成分である「抗プリオン抗体」や本発明キットの使用目的である「プルキンエ細胞の検出」等の説明及びこれらに関する用語の意義等は、全て前記< 1 >と同様である。

50

。

【 0 0 2 8 】

本発明キットは、「抗プリオン抗体」を構成成分として少なくとも含む限りにおいて特に限定されず、さらに標識物質の検知試薬等を構成成分として加えることができる。

【 0 0 2 9 】

また、これらの構成成分の他に、洗浄液、酵素反応停止液等が含まれていてもよい。さらに本発明キットには、測定パッチ同士の実施レベルを一定水準に保つための陽性コントロール（QCコントロール）を含有させることもできる。

【 0 0 3 0 】

これらの構成成分は、それぞれ別体の容器に収容し保存しておくことができる。

10

【 0 0 3 1 】

本発明キットを用いたブルキンエ細胞の検出は、前記< 1 >に記載した本発明方法に従って行うことができる

【 実施例 1 】

【 0 0 3 2 】

< 1 > 抗プリオン抗体の調製

プリオンに対する抗血清の調製と精製

プリオン（ニワトリ由来）に対する抗血清の調製と精製は、前記のBiochemistry, 32, p1009-1016 (1993)に記載の方法に従って行った。抗原としては「ニワトリ由来のプリオンのN末端から第35番目～第96番目のアミノ酸配列で示される部分ペプチドのN末端に、T7ファージのgene 10 タンパク質のN末端から第1番目～第260番目のアミノ酸配列で示される部分ペプチドを融合させたペプチド」を用い、被免疫動物としては家兎を用いた。

20

（ 2 ）精製 I g G 画分の調製

上記（ 1 ）で調製された抗プリオン抗体を含む家兎血清（以下、血清 P という。）と免疫していない家兎の血清（以下、血清 N という。）を用いて、以下の通り I g G 画分を調製した。なお調製は 4 ～ 8 の条件下で行った。

【 0 0 3 3 】

ミニカラム（7.5mm X 3cm）を 2 ml のリン酸緩衝生理食塩水（PBS）で洗浄した後、バッファー（0.02% アジ化ナトリウムを含有する0.05M リン酸緩衝液、pH7.0）に懸濁させた 1 ml のプロテイン A セルロファインゲル（商品名；チッソ株式会社製）をミニカラムに充填した。その後、このゲルを 3 ml の PBS で洗浄し、次いで 5 ml の結合バッファー（PSII バッファー；Bio-Rad 製）で洗浄した。次いで 0.3 ml の血清 N と 0.3 ml の結合バッファーとの混合溶液をカラムにアプライした。その後、3 ml の結合バッファーを流し、その溶出液を約 1 ml ずつ採取することによって 4 つの画分を得た（これらの画分をそれぞれ A 1、A 2、A 3 及び A 4 とした。）。

30

【 0 0 3 4 】

その後、さらに 3 ml の結合バッファーを流してその溶出液を回収した。次いで、5 ml の溶出バッファー（PSII バッファー（商品名）；Bio-Rad 製）で溶出し、その溶出液を約 1 ml ずつ採取することによって 5 つの画分を得た（これらの画分をそれぞれ C 1、C 2、C 3、C 4 及び C 5 とした。）。C 1～C 5 の画分に、それぞれ 100 μ l の 2 M トリスバッファー、pH9.0 を添加することによって各画分の溶液を中和した。これらそれぞれの画分について、還元条件下及び非還元条件下で、それぞれドデシル硫酸ナトリウム - ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS - PAGE）で分析した。SDS - PAGE は PhastSystem（商品名；アマシャム社製）を用いて行い、ゲルは PhastGel Gradient 10-15（商品名；アマシャム社製）を用いた。

40

【 0 0 3 5 】

その結果、C 2 の画分について、還元及び非還元のいずれの条件下における SDS - PAGE 像においても I g G の軽鎖と重鎖に相当するバンドが検出されたことから、C 2 の画分を精製 I g G 画分（コントロール抗体）とした。

50

【 0 0 3 6 】

血清 P についても同様の操作を行って精製 I g G 画分（精製抗プリオン抗体）を調製した。このようにして得られたコントロール抗体及び精製抗プリオン抗体は、分子量 3 0 0 0 カットの透析カップを用いて P B S（-）に対して透析した。

< 2 > 抗プリオン抗体を用いた免疫組織染色

常法に従ってニワトリの各種組織（橋、小脳、肝臓、脾臓）を 4 % パラホルムアルデヒドで固定し、パラフィン切片を作製した。パラフィンは、キシレンに浸した後、アルコールで流し落とした。

【 0 0 3 7 】

このように作製した各種組織の切片標本を、標本中の組織切片の質・量ともに偏りのないようにして二群に分け、その一群はそのまま（以下、この群を「無処理群」という。）
、もう一群は 1 2 1、2 0 分間でオートクレーブ処理を行った（以下、この群を「処理群」という。）。以下、両群とも同様に処理をした。

【 0 0 3 8 】

切片を室温で、0 . 3 % 過酸化水素を含むメタノールに 3 0 分間浸し、組織切片中の内因性ペルオキシダーゼ活性を不活化した。その後、P B S に 5 分間浸すことによって洗浄した。この洗浄操作は 3 回繰り返した。

【 0 0 3 9 】

次に、ヒストファイン（キットの商品名；株式会社ニチレイ製）を用いて、組織切片中の内因性アビジンをブロッキングし、この切片をアビジン溶液に室温で 1 0 分間浸した。その後、P B S に 5 分間浸すことによって洗浄した。この洗浄操作は 3 回繰り返した。

【 0 0 4 0 】

その後この切片を d-ビオチン溶液に室温で 1 0 分間浸し、次いで P B S に 5 分間浸すことによって洗浄した。この洗浄操作は 3 回繰り返した。

【 0 0 4 1 】

次いで、VECTASTAIN Elite ABC (peroxidase) キット（ベクスタイン社製）を用いて、以下の通り免疫組織染色を行った。

【 0 0 4 2 】

まず正常ヤギ血清によるブロッキングを行った後、一次抗体を用いた処理を行った。一次抗体としては、前記< 1 >の（2）で調製した精製抗プリオン抗体を 5 0 0 倍希釈したものを、組織切片を一次抗体中、4 で一晩インキュベートした。陰性コントロールとしては、前記< 1 >の（2）で調製したコントロール抗体を 5 0 0 倍希釈したものを、組織切片を用いた。

【 0 0 4 3 】

その後、P B S に 1 0 分間浸すことによって洗浄した。この洗浄操作は 3 回繰り返した。

【 0 0 4 4 】

次いで、二次抗体を用いた処理を行った。二次抗体としては、ビオチン標識したヤギ抗ウサギ I g G 抗体を用い、組織切片を二次抗体中、室温で 6 0 分間インキュベートした。

【 0 0 4 5 】

その後、P B S に 5 分間浸すことによって洗浄した。この洗浄操作は 3 回繰り返した。

【 0 0 4 6 】

次に、組織切片を、ペルオキシダーゼ標識したストレプトアビジン中、室温で 3 0 分間インキュベートした。その後、P B S に 5 分間浸すことによって洗浄した。この洗浄操作は 3 回繰り返した。

【 0 0 4 7 】

次いで組織切片を 3 , 3 ' - ジアミノベンジジン（D A B ; 同仁化学研究所製）（P B S で 10mg/100ml となるように D A B を溶解し、これに過酸化水素水を 20 μ l 添加したもの）中で 3 分間インキュベートして発色させた。その後、各々の切片を水浸することによっ

10

20

30

40

50

て洗浄した。次にメチルグリーン又はヘマトキシリンでカウンター染色し、常法によって脱水、透徹、封入した。この標本を、光学顕微鏡を用いて倍率10～1500倍で観察した。

【0048】

その結果、橋、肝臓、脾臓については、精製抗プリオン抗体、コントロール抗体を問わず、またオートクレーブ処理の有無を問わず、陽性像は得られなかった。一方、小脳については、オートクレーブ処理がなされ、精製抗プリオン抗体で処理された標本において、プルキンエ細胞（特に、プルキンエ細胞の樹状突起）が特異的に染色されている像が観察された。

【実施例2】

10

【0049】

以下の構成成分からなる本発明キットを作製した。

- | | |
|-------------------------|----------|
| 1．実施例1で製造した精製抗プリオン抗体 | 1本（一次抗体） |
| 2．ビオチン標識したヤギ抗ウサギIgG抗体 | 1本（二次抗体） |
| 3．ペルオキシダーゼ標識したストレプトアビジン | 1本 |
| 4．3,3'-ジアミノベンジジン（DAB） | 1本 |
| 5．過酸化水素水 | 1本 |
| 6．洗浄液（PBS） | 1本 |

【産業上の利用可能性】

【0050】

20

本発明検出方法及び本発明キットは、プルキンエ細胞やその樹状突起の形態等に基づいて疾患を検知・同定する場合において、あるいは実験用キット等として利用することができる。

专利名称(译)	检测浦肯野细胞的方法和检测试剂盒		
公开(公告)号	JP2005172440A	公开(公告)日	2005-06-30
申请号	JP2003408435	申请日	2003-12-08
[标]申请(专利权)人(译)	生化学工业株式会社		
申请(专利权)人(译)	生化学工业株式会社		
[标]发明人	京ヶ島守 高橋響 秋好淳子		
发明人	京ヶ島 守 高橋 響 秋好 淳子		
IPC分类号	G01N33/53 C12Q1/04		
FI分类号	G01N33/53.Y C12Q1/04		
F-TERM分类号	4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QS03 4B063/QS33		
代理人(译)	堀口勉		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种简单，快速和廉价地专门检测浦肯野细胞的方法，以及使用它的检测试剂盒。解决方案：该浦肯野细胞的检测方法至少包括使用抗朊病毒抗体对动物组织进行免疫染色的步骤，并且浦肯野细胞的检测试剂盒包括抗朊病毒抗体作为成分。抗朊病毒抗体优选为IgG，优选为IgG的一种，优选一种与来自鸡的朊病毒结合的抗体。此外，优选进一步包括在免疫染色前在高压釜中处理成为免疫染色对象的动物组织的步骤。Ž