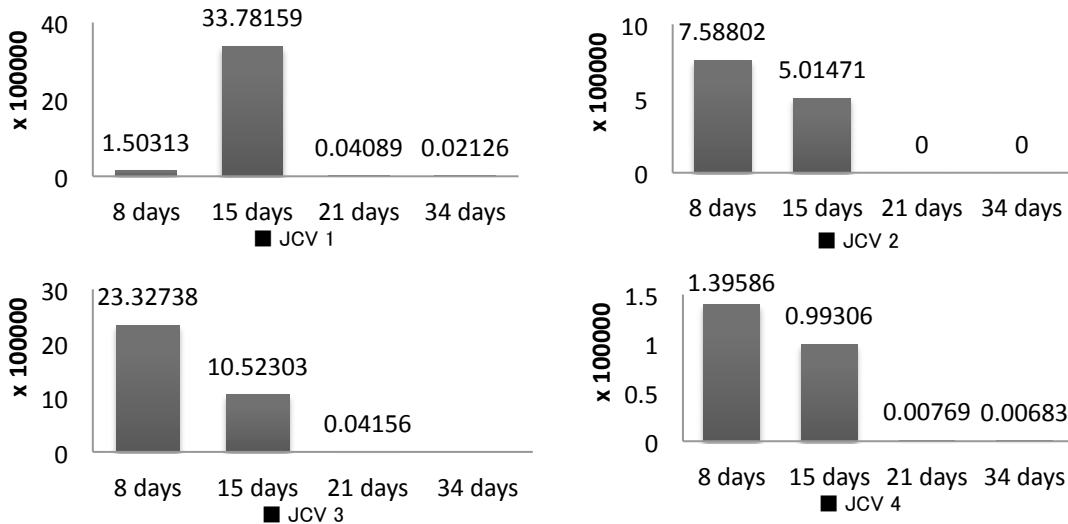


乏突起膠腫細胞株におけるJCウイルス感染許容細胞の検索 および特異的増殖因子の特定

研究開発分担者： 北海道大学大学院医学研究科 腫瘍病理学分野 長嶋和郎

a. 実験概略

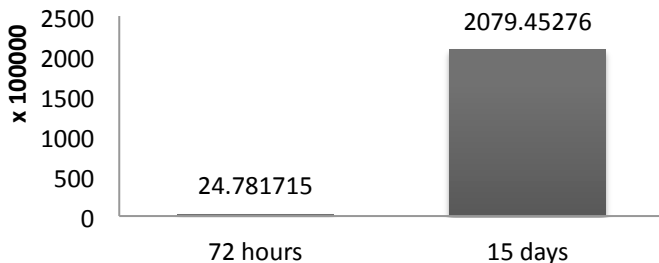
1) U87細胞を10%FBS含有DMEMで培養し、JCI細胞由来JCVをwellごとに128HA units infectionした。3日毎に1:4でblind passageし、各々の日数で細胞を回収した。以下、 β -actin 50ngに対するJCV DNA量。



2) U87細胞へinfectionし、15日後のJCV DNAを回収し、nested PCRにて調節領域の増幅を行い、sequenceを施行した。調節領域はMad-1と比較して大きく欠損していた(Nt62~273)。赤字は点変異、青字は挿入。

感染15日後の調節領域の塩基配列(大きな欠失あり)
 CTGTATATAGAAAAAAGGGAAGGGATGGCTGCCAG
 CCAAGCATGAGCTGCCAGATG

3) U87細胞へMad-1/CR-JCIをtransfectionし、72時間、15日のサンプルを回収後real time PCRにてDNA量を測定した(左表)。さらに、transfection後15日目のサンプルの調節領域をsequenceした。



transfection後15日の調節領域
 CTGTATATATAAAAAAAGGGAAGGGATGGCTGCC
 AGCCAAGCATGAGCTCATACCTAGGGAGCCAACCA
 GCTAACAGCCAGTAAACAAAGCACAAGGCTGGCTG
 CCAGCCAAGCATGAGCTCATACCTAGGGAGCCAAG
 GGAACATGTTTTGCGAGCCAGAGCTGTTTTGGCTT
 GTCACCAGCTGGCCATG

解説

1. U87細胞へInfectionしたJCI由来JCVは15日程度経過するとウイルス量が激減する。
2. infection 15日後のサンプルの調節領域にはMad-1株と比較して大きな欠損がみられた(Nt62~273)。
3. U87細胞へtransfectionしたMad-1/CR-JCIは細胞内で複製することが示唆された。このサンプルの調節領域の塩基配列には変化は見られなかった。