

培養細胞を用いた 新規のプリオン解析系および抗プリオン薬評価系確立の試み

研究開発分担者： 国立感染症研究所細胞化学部 桶本優子(中村優子)

[A] ヒトプリオン病の研究に適した培養細胞・解析系の樹立

Step1 培養細胞株の選択



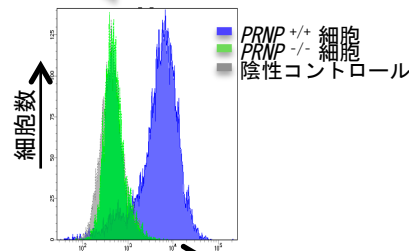
Step2 PrP欠損細胞株の樹立



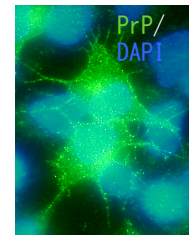
Step3 PRNP再導入



- ・入手が容易
 - ・培養・維持が簡便
 - ・トランスフェクション等の実験操作に関し効率が良い
 - ・内在性のプリオン蛋白質(PrP)の産生が確認され、プリオン感受性であることが期待される
- 上記特徴を有するヒトニューロblastoma細胞の選別



フローサイトメーターによる
PrP遺伝子(PRNP)欠損細胞の解析



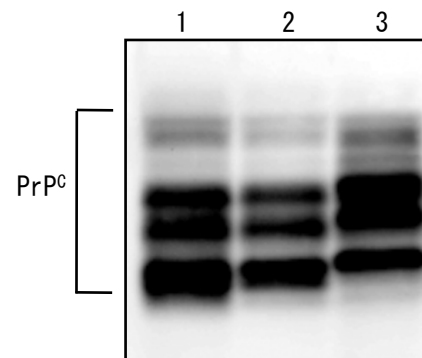
免疫蛍光抗体法による
PRNPの再導入の確認実験

[B] プリオン感染評価系への応用

コドン129	Met			Val		
PrP ^C 産生量	-	++	+++	-	++	+++
PrP ^{Pres}						
PrP ^{Pres} 変換	-	+	+++	-	-	+++

- ・PrPの多型等を反映させ、目的にあわせた系での解析が可能
- ・PrP^C (正常型PrP)からPrP^{Pres} (異常型PrP)への変換を検出
- ・容易な解析法による短期間での評価

[C] PrPの多型・変異解析系への応用



- ・多型を有するPrP(レーン2)や変異を有するPrP(レーン3)について、詳細な性状解析を可能にする
- ・遺伝性プリオン病の病態モデルや病態解明への応用が期待される

解 説

1. ヒトニューロblastoma細胞を用い、多様なヒトプリオン遺伝子(PRNP)の多型や変異に対応可能な細胞株を樹立した[A]。
2. [A]を用い、解析目的にあわせた個別の解析系を簡便に作製し、かつ、プロテアーゼ抵抗性プリオン蛋白質(PrP^{Pres})への変換能を短期間に評価することが可能な系を確立した[B]。
3. さらに、多型や変異を有するPrPの性状解析にも適しており、遺伝性プリオン病等への病態解明に有用であることも期待される[C]。