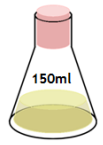


# リコンビナントPrP<sup>C</sup>を用いたヒトプリオンの*in vitro*増幅

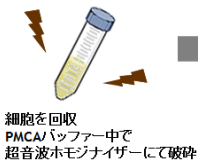
研究分担者: 東北大学大学院医学系研究科病態神経分野 竹内敦子

## 1. 材料と方法

Seed : 10% (w/v) sCJD, vCJD, dCJD脳ホモジネート  
Substrate; HuPrP<sup>C</sup> (129M または 129V)過発現20% 293F細胞ライセート



FreeStyle™  
293-F Cells (Invitrogen)  
(ヒト胎児腎臓細胞)



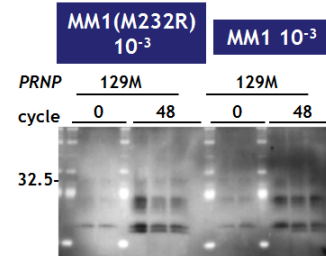
細胞を回収  
PMCA/バッファー中で  
超音波ホモジナイザーにて破碎

### PMCA・PK処理

- ・交差超音波破碎器&反応装置使用 (エレクトロン株式会社)を用い、37°Cで振とう培養
- ・全量 100  $\mu$ l で反応
- ・超音波条件:  
( 5sec. ON + 1sec. OFF ) x 5 / 1 hr を 1 サイクルとし、48hr で 1 ラウンド  
→PK処理 (50 $\mu$ g/ml, 37°C, 1hr)  
→ウェスタンブロッティング法にて検出

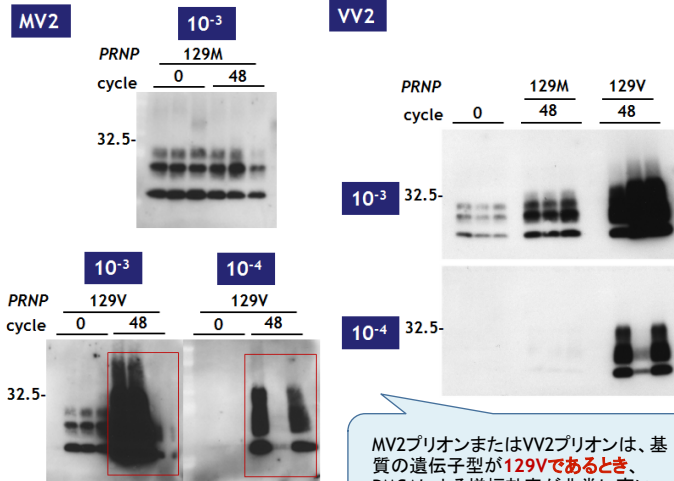
## 2. sCJD-MM1プリオンの増幅効率

### sCJD



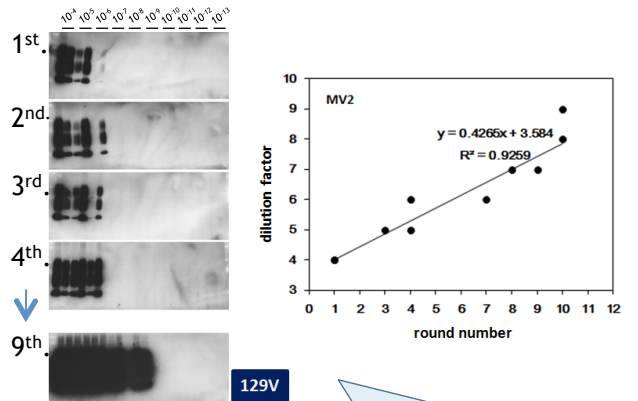
sCJD-MM1プリオンは、基質の遺伝子型が129Mまたは129Vかに関わらず、PMCAIによる増幅効率が非常に低かった

## 3. sCJD-MV2及びsCJD-VV2プリオンの増幅効率



MV2プリオンまたはVV2プリオンは、基質の遺伝子型が129Vであるとき、PMCAIによる増幅効率が非常に高い

## 4. MV2プリオンの高感度検出



MV2プリオンは129VのPrP<sup>C</sup>を基質として用いたときに、マルチラウンドPMCAIにより高効率で増幅可能であった。今回の系では、10ラウンドで約10<sup>-8</sup>希釈の脳ホモジネートからPrP<sup>res</sup>を検出可能であった

## 解説

1. sCJDの中でもMM1プリオンは基質の遺伝子型が129Mか129Vかに関わらず、PMCAIによる増幅効率が非常に低く、今後の課題となった。
2. MV2及びVV2プリオンは基質の遺伝子型が129Vの場合に非常に高効率に増幅されることが分かった。MV2プリオンに関しては、約10<sup>-8</sup>希釈した脳ホモジネートからもPrP<sup>res</sup>が検出可能であり、高感度検出系へ応用が期待された。