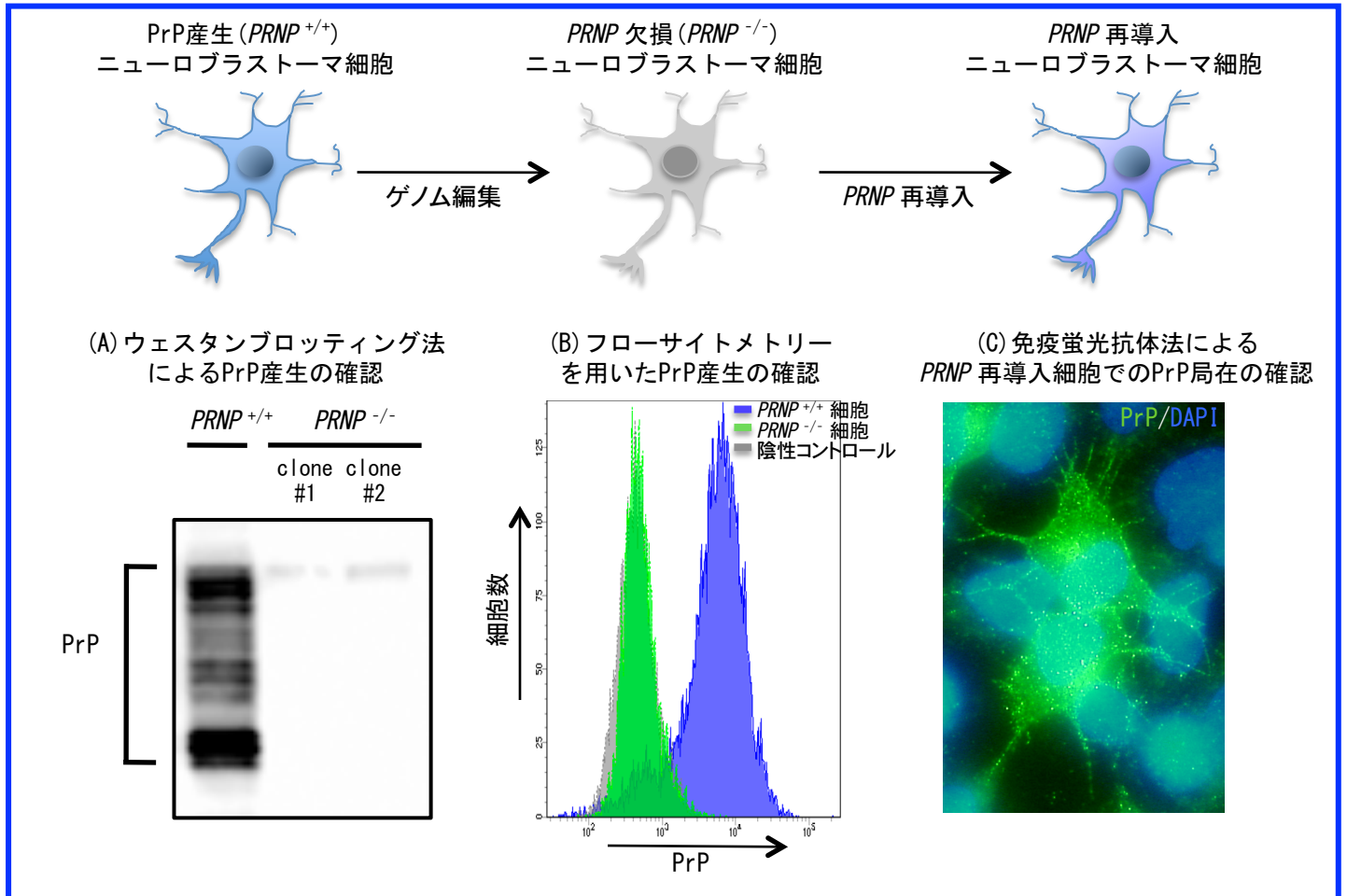


培養細胞を用いた新規のプリオン解析系確立の試み

研究分担者: 国立感染症研究所細胞化学部 桶本優子(中村優子)



解 説

1. ヒトのプリオン遺伝子($PRNP$)には複数の多型や変異が存在することが知られている。これらの多型・変異の中には129番目のアミノ酸(メチオニンあるいはバリン)や219番目のアミノ酸(グルタミン酸あるいはリシン)のように、プリオン病の発症機構に深く関与すると考えられているものもある。これらの変異・多型を有する培養細胞株を構築し、新規のプリオン解析系として用いることが可能か検討を行った。
2. ニューロblastoma細胞を用い、ゲノム編集技術により $PRNP$ コード領域の欠損を試みた。プリオン蛋白質(PrP)の産生を抗PrP抗体を用いたウェスタンブロッティング法(A)およびフローサイトメトリー法(B)にて確認したところ、PrPを産生しない細胞クローンが確認され、 $PRNP^{-/-}$ 細胞株の樹立に成功したと考えられた。
3. さらに、 $PRNP^{-/-}$ 細胞株を用いて $PRNP$ 再導入実験を行った。免疫蛍光抗体法にて細胞表面、樹状突起などにPrPが局在していることが確認された(C)。以上より、 $PRNP^{-/-}$ 細胞株を用いた $PRNP$ 再導入により、PrP産生能を有する細胞の取得が可能であることが確認された。