

研究情報

BSE プリオンの超高感度検出法の開発

MURAYAMA Yuichi

プリオン病研究センター 上席研究員 村山 裕一

牛海綿状脳症 (BSE) や羊スクレイピー、ヒトのクロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) などのプリオン病は、長期間の潜伏期を経て脳神経細胞が障害され、脳がスポンジ状に変性する感染性・致死性の変性疾患です。プリオン病の病原体は、何らかの理由で正常なプリオン蛋白質の高次構造が変化し、感染性を示すようになった異常プリオン蛋白質 (≡プリオン) であると考えられています。変異型 CJD (vCJD) は、BSE がヒトに感染した例であると考えられており、家畜衛生上のみならず、食品衛生上からも BSE プリオンの高感度検出法の開発が必要とされてきました。

異常プリオン蛋白質は、Protein misfolding cyclic amplification (PMCA) という生化学的な方法で試験管内で増幅することが可能です。スクレイピー感染動物では、この方法を用いて、血液や尿からも異常プリオン蛋白質が検出されており、早期診断や生前診断に応用できることが示されています。しかしながら、従前は BSE 感染牛由来の異常プリオン蛋白質の増幅効率は低く、牛には応用できませんでした。今回、デキストラン硫酸化合物を用いた BSE 異常プリオン蛋白質の新しい増幅法を開発し、増幅効率を劇的に上昇させることに成功しました。

BSE 感染牛から 10% 脳乳剤を調整し、本増幅法の検出限界を調べたところ、脳乳剤を 100 万倍に希釈したサンプルからもウェスタンブロット (WB) 法により異

常プリオン蛋白質が検出されました (図 1)。増幅を 2 回行くと検出感度はさらに上昇し、10 億倍ないし 100 億倍に希釈したサンプルからも異常プリオン蛋白質が検出されました。2 回の増幅による BSE プリオンの検出感度は、WB 法など免疫学的方法に比べて 1 億倍以上であり、感度がよいとされるバイオアッセイに比べても 10 万倍以上優れています (図 2)。

BSE 実験感染牛を用いて異常プリオン蛋白質の体内分布を調べたところ、異常プリオン蛋白質は感染牛の唾液腺にも分布しており、発症牛に加えて未発症牛の唾液からも異常プリオン蛋白質が検出されました。今後未発症の牛における極微量異常プリオン蛋白質の体内分布・動態を詳細に調べ、本超高感度検出技術を用いた早期診断や生前診断の可能性を検討します。また本法は、牛肉や牛を原材料とする食品、医薬品のほか、肉骨粉など畜産副産物の安全性評価にも役立つものと期待されます。

掲載誌 Murayama Y. et al., PLoS ONE, 5(10), 2011, e13152.

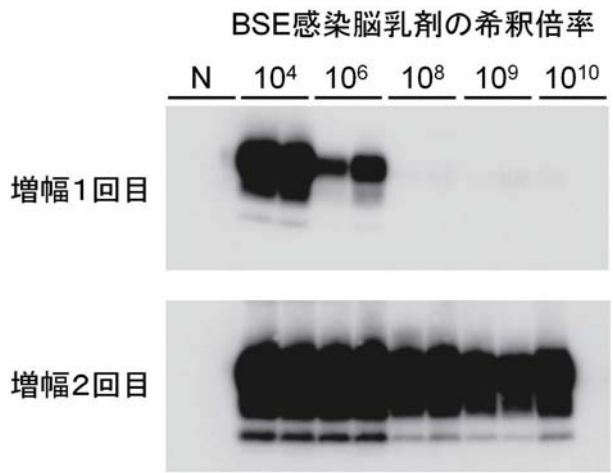


図 1. 増幅産物の WB 解析 (N: 陰性対照)

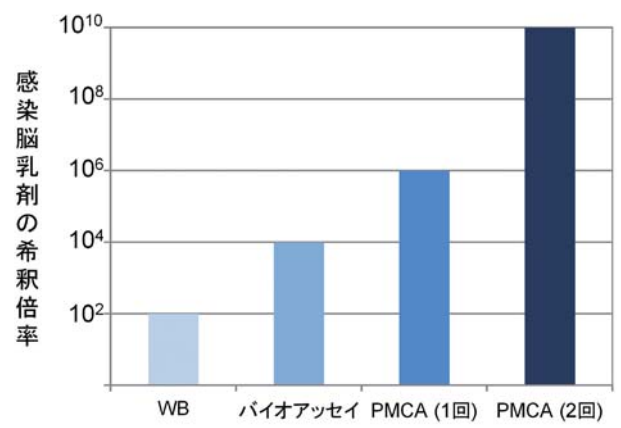


図 2. 検出感度の比較