

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 15 日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2011～2013

課題番号：21590146

研究課題名（和文）GPI アンカー欠損スプライス変異型プリオン蛋白質発現解析のプリオン病診断への応用

研究課題名（英文）Contribution of a GPI-anchorless splice variant of the prion protein to the occurrence of prion disease

研究代表者

菊池 裕（KIKUCHI YUTAKA）

国立医薬品食品衛生研究所・衛生微生物部・室長

研究者番号：10234197

研究成果の概要（和文）：ヒトプリオン蛋白質(PrP)は GPI アンカー型蛋白質で、その C 末端で細胞膜に結合している。先に、ヒト膠芽腫細胞株 T98G はヒトプリオン遺伝子(*PRNP*)のエクソン 2 内に選択的スプライス変異を生じ、GPI アンカー欠損型プリオン蛋白質(GPI⁻PrPSV)を産生することを報告した。GPI⁻PrPSV mRNA の翻訳領域は GPI アンカーシグナル配列を欠損した 230 残基の蛋白質をコードし、糖鎖が無く、非イオン性界面活性剤に易溶性で、細胞質画分に産生される。選択的スプライス変異を生じた PrPSV mRNA は、培養細胞だけではなく、低いながらヒト脳及び非神経系組織由来の total RNA でも発現している。本研究ではウシ角膜培養細胞株 BCE C/D-1b 及びヒツジ脳由来培養細胞株 OA1 から調製した total RNA を解析し、ヒトと同様に、PrP 遺伝子のエクソン 3 内に選択的スプライシングを確認した。ヒトのエクソン 2 で選択的スプライシングによって生じるイントロンは、標準的なスプライスサイト GT-AG を有している。一方、ウシ及びヒツジのエクソン 3 で生じるイントロンは、ヒトとは異なり、非標準的なスプライスサイト GC-AG を有している。ウシ及びヒツジのスプライス変異された mRNA の翻訳領域は GPI アンカーシグナル配列を欠損し、それぞれ 260 残基及び 252 残基の蛋白質をコードしている。また、リアルタイム定量 PCR の解析で、培養細胞に加えて、ウシ及びヒツジ脳由来 total RNA でも PrPSV mRNA の発現を確認した。これまでウシ及びヒツジ PrP 遺伝子のエクソン 3 では選択的スプライシングに関する報告は無かったが、本研究ではヒトと同様にスプライス変異を生じることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：The human prion protein (PrP) is a glycoprotein with a glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchor at its C-terminus. I previously reported alternative splicing within exon 2 of the PrP gene (*PRNP*) in the human glioblastoma cell line T98G. The open reading frame (ORF) of the alternatively spliced mRNA lacked the GPI anchor signal sequence and encoded a 230 amino acid polypeptide. Its product, GPI-anchorless PrP (GPI⁻PrPSV), was unglycosylated and soluble in non-ionic detergent, and was found in the cytosolic fraction. I also detected low levels of alternatively spliced mRNA in human brain and non-neuronal tissues. Here I report alternative splicing within exon 3 of the PrP gene in the bovine cornea cell line BCE C/D-1b and the ovine aries (sheep) brain cell line OA1. I reported an intronic sequence with the canonical dinucleotides for splicing (GT at the 5' end and AG at the 3' end) within *PRNP* exon 2. However, I identified the non-canonical GC-AG introns within exon 3 of bovine and ovine aries PrP genes. The ORFs of the alternatively spliced mRNA lacked the GPI anchor signal sequence, and the bovine and sheep PrPSV encoded a 260 and 252 amino acid polypeptide, respectively. Relative quantitative RT-PCR analysis, which measures PrP mRNA in total RNA, revealed that low levels of PrPSV mRNA are constitutively expressed in bovine and ovine aries brains. Variant forms arising from alternative mRNA splicing within exon 3 have not been reported in cattle and sheep. This study is the first report of an alternative splicing by intron retention within PrP gene exon 3.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合 計
2009 年度	1,500,000	0	1,500,000
2010 年度	1,400,000	0	1,400,000
2011 年度	700,000	0	700,000
年度			
年度			
総 計	3,600,000	0	3,600,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・環境系薬学

キーワード：食品衛生学、プリオン、スプライシング、GPI アンカー

1. 研究開始当初の背景

正常プリオン蛋白質(PrP^C)は2本の糖鎖を有する分子量 30,000-35,000 の糖蛋白質で、glycosylphosphatidylinositol (GPI)でC末端が細胞膜に結合している GPI アンカー型蛋白質である。一般に GPI アンカー型蛋白質は細胞膜上での高い流動性を有し、他の情報伝達に関与する分子との会合により機能を発現する例や、抗体刺激によるカベオラへの集積等が報告されている。PrP^Cは様々な臓器で発現しており、特に中枢神経系での発現量が高いことが知られ、ニューロンでの発現が最も高く、次いでグリア細胞に多く見られる。

プリオン病は中枢神経系に異常プリオン蛋白質(PrP^{Sc})が蓄積する致死性の神経変性疾患で、PrP^{Sc}の脳内接種により伝播が可能ことから、伝達性海綿状脳症と称されている。PrP^{Sc}はPrP^Cと同じアミノ酸配列を有するが、その高次構造は異なり、蛋白質分解酵素(proteinase K、PK)処理に耐性を示す。

人のプリオン病には硬膜移植等によって発症した感染性クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)、プリオン蛋白質遺伝子(PRNP)にコードされた253残基のアミノ酸に変異がある遺伝型 CJD 及び PRNP に変異のない散発型 CJD が知られ、約 85-90%を散発型 CJD が占めている。一方、1996年に英国で確認された変異型 CJD は、従来の散発型 CJD とは異なり、若年性の患者で発症した。PrP^{Sc}の生化学的研究及び英国で多発していた牛海綿状脳症(BSE)に関する疫学研究から、食肉を介してウシ PrP^{Sc}が人へ伝達され、変異型 CJD が発症したと考えられている。また、輸血によって変異型 CJD を発症したと推定される症例も報告されており、血液を介した CJD の伝達が注目を集めている。

プリオン蛋白質の ORF にはスプライス変異が無く、単一のエクソンにコードされると考えられていた。先に、ヒト膠芽腫細胞株 T98G は PRNP のエクソン 2 内に選択的スプ

ライス変異を生じ、GPI アンカー欠損型プリオン蛋白質(GPI⁻PrPSV)を産生することを報告した[Kikuchi, Y. *et al.*, Hypoxia induces expression of a GPI-anchorless splice variant of the prion protein, *FEBS J.* **275**, 2965-2976 (2008)]。PrPSV mRNA のスプライスサイト(GT-AG)は PRNP のエクソン 2 内に位置し、その翻訳領域は PrP の N 端側と新たな C 末端からなる 230 アミノ酸残基をコードし、PrP と 94%の相同性を示している。PrP とアミノ酸配列が異なる C 末端を特異的に認識するモノクローナル抗体を用いた研究で、T98G 細胞が産生する GPI⁻PrPSV には糖鎖が無く、非イオン性界面活性剤に易溶性で、細胞質画分に確認された。

また、リアルタイム PCR による解析で、ヒト PrPSV mRNA は培養細胞だけでは無く、低いながらヒト脳及び非神経系組織由来の total RNA でも発現を確認している。

2. 研究の目的

ヒト組織由来の total RNA を用いた研究で、PrP には選択的スプライス変異によって GPI アンカー欠損型の PrPSV mRNA を発現し、その蛋白質産生をヒト培養細胞で確認した。

一方、ウシ、マウス及び羊では PrP 遺伝子の非翻訳領域で選択的スプライス変異が確認されているが、アミノ酸配列の変化を伴う翻訳領域での選択的スプライス変異は報告されていない。

プリオン病の伝達実験にはマウスが用いられることが多く、GPI アンカーシグナル配列欠損プリオン蛋白質モデルも構築されている。PrP の GPI アンカー結合部位にストップコドン挿入したトランスジェニック(Tg)マウス(Tg Δ GPI)の解析では、細胞内に cytosolic PrP が発現すると脳内に PrPres が蓄積することが報告されている[Norstrom EM *et al.*, Cytosolic prion protein toxicity is independent of cellular prion protein

expression and prion propagation, *J Virol.* **81**, 2831-2837 (2007)]. また、PrP と同時に Δ GPI を高発現している Tg マウス(PrP, Δ GPI)は神経機能不全を自然発症し、脳内には低分子量の PK 耐性 PrP の産生が確認されている [Stöhr, J. *et al.*, Spontaneous generation of anchorless prions in transgenic mice, *PNAS* **108**, 21223-21228 (2011)]. これらの知見から、ヒトで選択的スプライス変異を確認した PrPSV は、プリオン病の発症機構との関連が示唆される。

本研究はプリオン病診断法に資する研究として、プリオン病の発症と PrPSV の関連を解明することを目的とし、ウシ及びヒツジで PrPSV mRNA の発現を解析し、ヒトと動物種間での比較を行った。

3. 研究の方法

(1) **細胞培養** ウシ角膜細胞株 BCE C/D-1b (JCRB9129)及びヒツジ胎児脳由来細胞株 OA1 (ATCC Number: CRL-6538)は T75 組織培養用フラスコで培養し、1 週間に 1 度の継代を行った。長期間の培養は 9-cm 組織培養用シャーレで行い、4 日ごとに培地を交換した。

(2) **RT-PCR** 培養細胞から DNase I 消化した total RNA を調製し、スーパースクリプト III RNase H-逆転写酵素(インビトロジェン)を用いて fs-cDNA を合成し、RT-PCR に用いた。同時にゲノム DNA を調製し、陽性対象として PCR に用いた。同様に市販の DNase I 消化されたウシ及びヒツジ脳 total RNA (Zyagen)から fs-cDNA を調製し、RT-PCR に用いた。PCR はウシ及びヒツジ PrP 遺伝子のエクソン 3 にコードされている翻訳領域の mRNA を検出する各種プライマーと、Ex taq polymerase (タカラバイオ)を用いて行った。

(3) **リアルタイム定量 RT-PCR** リアルタイム定量 PCR には PrP mRNA、PrPSV mRNA 及びハウスキーピング遺伝子として β -actin を検出するプライマーを用い、絶対検量線による相対定量法を行った。FastStart TaqMan Probe Master (ロッシュ・ダイアグノスティックス)による Probe 法、FastStart Universal SYBR Green Master(ロッシュ・ダイアグノスティックス)による SYBR Green 法を行い、各種 total-RNA から調製した fs-cDNA を Chromo 4 リアルタイム PCR 解析システム(日本バイオ・ラッド・ラボラトリーズ)で測定した。

4. 研究成果

(1) **スプライス変異型プリオン蛋白質 mRNA の解析** ウシ PrP mRNA の発現様式を調べるため、長期間培養したウシ角膜細胞株 BCE C/D-1b から調製した total RNA を鋳型として、RT-PCR を行った。13 回の継代後

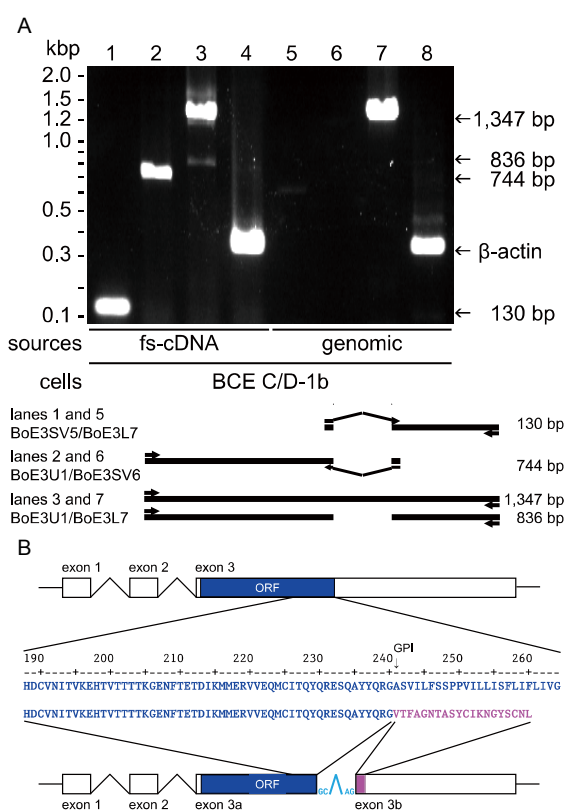


Fig. 1. Expression of the splice variant of bovine PrP mRNA. (A) Detection of splice variant of bovine PrP mRNA using exon-exon junction primers. BCE C/D-1b cells for 40 days after 13 passages (P13D40) were cultured. First strand-cDNA from total RNA (5 μ g) and genomic DNA (25 ng) were prepared, followed by PCR using bovine *prp* exon-exon junction primers (BoE3SV5/BoE3L7, lanes 1 and 5; BoE3U1/BoE3SV6, lanes 2 and 6), bovine *prp* primers (BoE3U1/BoE3L7, lanes 3 and 7) and β -actin primers with Ex taq polymerase. PCR products were separated on a 2% agarose gel and visualized with ethidium bromide. **(B) Schematic representation of alternative splicing model of bovine prp gene.** I confirmed the sequences of ordinary (upper panel) and alternatively spliced bovine *prp* gene (lower panel). Cryptic donor and acceptor sites are designated as exon 3a and 3b, respectively. The untranslated regions (white bars), ORFs (blue bars), retained intron (turquoise line), additional ORF (magenta bar), and deduced amino acid sequences of ordinary and alternatively spliced *prp* (magenta) are indicated. The arrow indicates a GPI anchoring site.

に 40 日間培養した BCE C/E-1b 細胞 (P13D40)の total RNA から合成した fs-cDNA を鋳型とした RT-PCR では、1,347 bp のバンドのほかに、産生量は少ないが 836 bp のバンドを検出した(Fig. 1A, lane 1)。それぞれのバンドをゲルから切り出して塩基配列を解析したところ、1,347 bp の塩基配列は ORF を含むウシ PrP エクソン 3 をコード

し、836 bp の塩基配列では BoPrP の C 末端に位置する GPI アンカースIGNAL配列を含む 511 bp が欠落していた(Fig. 1B)。同時に調製した BCE C/E-1b 細胞(P13D40)のゲノム DNA を鋳型とした PCR では 1,347 bp のバンドが検出され、その塩基配列は total RNA 由来の 1,347 bp のバンドと一致したが、836 bp のバンドは検出されなかった(Fig. 1A, lane 7)。以上の結果から、BCE C/D-1b 細胞はウシ PrP エクソン 3 のスプライス変異型 mRNA を発現することが示唆された。

明らかとなったウシ *prp* エクソン 3a と 3b の結合部位の塩基配列に結合するプライマー(exon-exon junction primer)を設計し、スプライス変異型 PrP の mRNA を特異的に検出する RT-PCR を構築した。スプライシングで欠落する部位(511 bp)を挟み、その両端の配列を結合させたプライマーを用いた PCR は、fs-cDNA に 130 及び 744 bp のバンドを示したが(Fig. 1A, lanes 1-2)、genomic DNA ではバンドが検出されなかった(Fig. 1A, lanes 5-6)。また、切り出した 130 及び 744 bp のバンドの塩基配列は、エクソン 3 のそれぞれ 641 及び 1,255bp に相当する部位から 511 bp の配列が欠失したものと一致した。以上の結果から、設計した exon-exon junction primer はエクソン結合部位と結合し、構築した RT-PCR でスプライス変異型 PrP の mRNA を特異的に検出可能なことが示唆された。市販のウシ脳から調製した total RNA (Zyagen Laboratories)から合成した fs-cDNA を鋳型とした RT-PCR を行い、BCE C/D-1b 細胞由来の total RNA と同様な結果を得た。

次に、ヒツジ PrP mRNA の発現様式を調べるため、市販のヒツジ脳から調製した total RNA (Zyagen Laboratories)から合成した fs-cDNA を鋳型とした RT-PCR を行った。cDNA を測定した RT-PCR 法では、PrP に相当する 1,323 bp と 886 bp のバンドの他に、発現量は少ないが 375 bp のバンドを検出した(Fig. 2A, lanes 1 and 2)。それぞれのバンドをゲルから切り出して塩基配列を解析したところ、1,323 bp の塩基配列は ORF を含むヒツジ *prp* 遺伝子エクソン 3 をコードし、886 bp の塩基配列では PrP の C 末端に位置する GPI アンカースIGNAL配列を含む 511 bp が欠落していた(Fig. 2C)。一方、ヒツジ骨格筋から調製したゲノム DNA を測定した PCR 法では全長 1,323 bp の PrP に相当するバンドを示し(Fig. 2A, lane 4)、その塩基配列は total RNA 由来の 1,323 bp のバンドと一致したが、886 bp のバンドは検出されなかった(Fig. 2A, lane 5)。以上の結果から、ヒツジ脳では PRNP 遺伝子エクソン 3 のスプライス変異型 mRNA を発現することが示唆された。

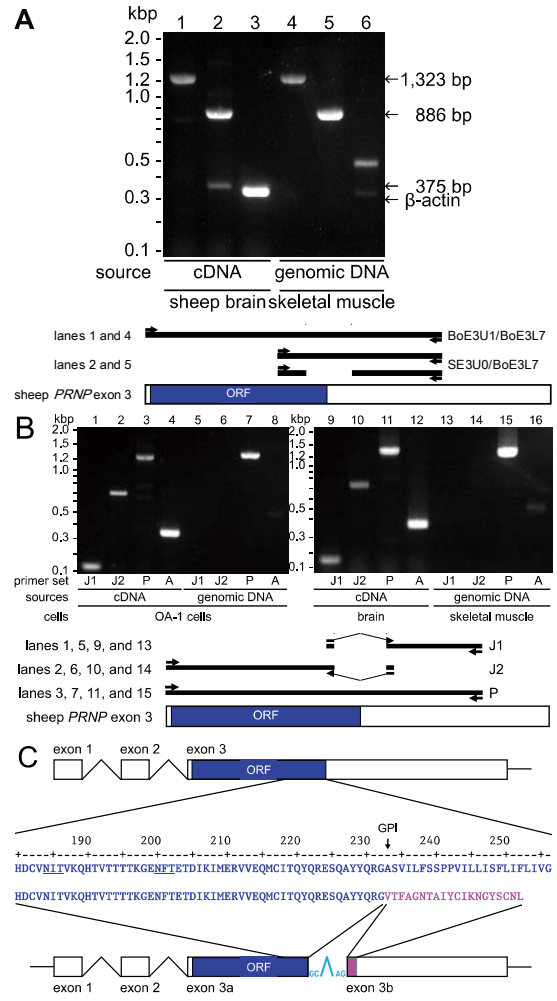


Fig. 2. Expression of the splice variant of PrP mRNA. (A) First-strand cDNA from total RNA from sheep brain (5 µg) and genomic DNA from sheep skeletal muscle were used for PCR using sheep *prp* exon 3 primers (BoE3U1/BoE3L7, lanes 1 and 2; SE3U0/BoE3L7, lanes 2 and 4) and β-actin primers (lanes 3 and 6) with Ex taq polymerase. PCR products were separated on a 2% agarose gel and visualized with ethidium bromide. (B) OA1 cells were cultured for 40 days after 5 passages (P5D40). First-strand cDNA and genomic DNA from OA1 cells (left panel) were prepared. First-strand cDNA from sheep brain and genomic DNA from sheep skeletal muscle (right panel) were prepared. First-strand cDNA from total RNA (5 µg) and genomic DNA (2.5 ng) were used for PCR using PrP primer set (P), exon-exon junction primer sets (J1 and J2) and β-actin primers (A) with Ex Taq DNA polymerase. PCR products were separated on a 2% agarose gel and visualized with ethidium bromide. (C) I confirmed the sequences of ordinary (upper panel) and alternatively spliced sheep *prp* (lower panel). Cryptic donor and acceptor sites are designated as exon 3a and 3b, respectively. The untranslated regions (white bars), ORFs (blue bars), retained intron (turquoise line), additional ORF (magenta bar), and deduced amino acid sequences of ordinary and alternatively spliced *prp*

(magenta) are indicated. The arrow indicates a GPI anchoring site.

明らかとなったヒツジ *prp* エクソン 3a と 3b の結合部位の塩基配列に結合するプライマー(exon-exon junction primer)を設計し、スプライス変異型 PrP の mRNA を特異的に検出する RT-PCR を構築した。スプライシングで欠落する部位(511 bp)を挟み、その両端の配列を結合させたプライマーを用いた PCR は、fs-cDNA に 130 及び 716 bp のバンドを示したが(Fig. 2B, lanes 9-10)、genomic DNA ではバンドが検出されなかった(Fig. 2B, lanes 13-14)。また、切り出した 130 及び 716 bp のバンドの塩基配列は、エクソン 3 のそれぞれ 641 及び 1,227 bp に相当する部位から 511 bp の配列が欠失したものと一致した。

次に、ヒツジ胎児脳由来細胞株 OA1 から total RNA 及びゲノム DNA を調製し、同様の実験を行った。5 回の継代後に 40 日間培養した OA1 細胞(P5D40)の total RNA から合成した fs-cDNA を鋳型とした RT-PCR では、130 及び 716 bp のバンドを示したが(Fig. 3B, lanes 1-2)、ゲノム DNA ではバンドが検出されなかった(Fig. 2B, lane 5-6)。

以上の結果から、設計した exon-exon junction primer はウシ及びヒツジ *prp* のエクソン結合部位と結合し、構築した RT-PCR でスプライス変異型 PrP の mRNA を特異的に検出可能なことが示唆された。

(2) リアルタイム定量 RT-PCR によるスプライス変異型プリオン蛋白質 mRNA の定量
PrP mRNA 及び PrPSV mRNA の定量法を確立するため、リアルタイム定量 RT-PCR を行った。ウシ PrP、ウシ PrPSV、ウシ β -アクチン、ヒツジ PrP 及びヒツジ β -アクチンは Probe 法で、ヒツジ PrPSV は SYBR Green 法でそれぞれ測定した。クローニングした PrP、PrPSV 及び β -アクチン遺伝子を挿入したプラスミドを測定用標準品として、 10^8 から 10^1 コピーまで有効な検量線が得られ、絶対検量線による相対定量法で試料中のコピー数を算出した。

ウシ角膜細胞株 BCE C/D-1b 及びヒツジ胎児脳由来細胞株 OA1 から調製した total RNA を試料とし、リアルタイム定量 PCR で測定した結果を Table 1 に示した。ウシ及びヒツジの PrPSV mRNA は PrP mRNA の約 2.5-3.0%の発現量で、ヒト膠芽腫細胞株 T98G (0.003%)に比較して高い値を示した。

Table 1. Expression of the splice variant of PrP mRNA in cells.
I analyzed total RNA from bovine and sheep cell lines by quantitative RT-PCR with PrP primer and exon-exon junction primer sets.

cells	mRNA ^a		
	PrP ^b	PrPSV ^b	PrPSV/PrP (%)
BCE-C/D-1b	$1.99 \times 10^{-2} \pm 1.05 \times 10^{-3}$	$4.93 \times 10^{-4} \pm 1.21 \times 10^{-4}$	2.48
OA1	$1.14 \times 10^{-3} \pm 2.16 \times 10^{-4}$	$3.37 \times 10^{-5} \pm 6.64 \times 10^{-6}$	2.96

^a Relative expression values of PrP and PrPSV and their ratios were normalized to β -actin.
^b Values are the mean $\pm$ standard error of three independent cell samples.

例数は少ないが、市販のウシ及びヒツジ脳由来 total RNA も同様に、ヒト脳由来 total RNA の測定値(PrPSV mRNA/PrP mRNA, 0.0002%)より高い値を示し(Table 2)、ウシ及びヒツジでは PrPSV mRNA 発現量がヒトより高いことが示唆された。

Table 2. Expression of the splice variant of PrP mRNA in brains
I analyzed total RNA from bovine and sheep brains (cerebral cortex, frontal) by quantitative RT-PCR with PrP primer and exon-exon junction primer sets.

brains	mRNA ^a		
	PrP ^b	PrPSV ^b	PrPSV/PrP (%)
bovine	$2.95 \times 10^{-1} \pm 1.70 \times 10^{-2}$	$1.90 \times 10^{-4} \pm 2.00 \times 10^{-5}$	0.065
sheep	$4.08 \times 10^{-1} \pm 1.31 \times 10^{-2}$	$3.59 \times 10^{-4} \pm 1.60 \times 10^{-5}$	0.088

^a Relative expression values of PrP and PrPSV and their ratios were normalized to β -actin.
^b Values are the mean $\pm$ standard deviation of brain (n=1).

(3) 考察 先に、ヒトでは選択的スプライス変異により GPI アンカーが欠損したプリオン蛋白質の PrPSV mRNA が発現し、培養細胞でその蛋白質が産生されることを報告した。自然界でプリオン病を発症する他の動物種での発現を確認するため、ウシ及びヒツジの total RNA を解析した。ヒトと同様の手法で探索を行い、ウシ及びヒツジで PrPSV mRNA を発現を確認した。ヒト PrPSV のスプライスサイトは標準的な GT-AG で、*PRNP* エクソン 2 内の翻訳領域にある。一方、ウシ及びヒツジのスプライスサイトは非標準的な GC-AG で、エクソン 3 内の翻訳領域にある。一般に約 98%のスプライスサイトは GT-AG で、GC-AG は 1%以下とされている。また、ウシ及びヒツジ total RNA での PrPSV mRNA 発現量はヒトより高く、スプライスサイトの位置の違いを含めて、PrPSV 発現機構の解明が望まれる。

本研究では PrPSV mRNA の発現を明らかにしたが、蛋白質の産生は確認出来なかった。PrP と PrPSV の一次構造は 90%以上の相同性があり、C 末端部位のみが異なっている。PrPSV を特異的に認識する抗体の取得を試み、PrP と配列が異なる C 末端部位のペプチド抗原でマウスやニトリを免疫したが、血清中の抗体価は上昇しなかった。PrPSV の C 末端部位は疎水性が極めて高く、その抗原性が低いと予測される。今後はファージディスプレイ法などの手法を駆使し、特異抗体の取得を行う予定である。

PrPSV スプライスサイト近傍の塩基配列は動物種間で相同性が高いが、プリオン病の感染実験に用いられるマウスでは PrPSV mRNA 発現を確認出来なかった。最近、ゼブラフィッシュの胚を用いた研究で、受精 5.3 時間後(5.3 hpf)に PrP-2 のスプライス変異型 mRNA が発現し、その構造はヒトと同様に GPI アンカードメインを欠落していることが報告された[Aanes H. *et al.*, Zebrafish mRNA sequencing deciphers novelties in transcriptome dynamics during maternal to zygotic transition, *Genome Res.* 21,

1328-1338 (2011); Syed M. *et al.*, Prion protein function and the disturbance of early embryonic development in zebrafish, *Prion* **5**, 88-92 (2011)]. 本研究で明らかにしたヒト、ウシ、ヒツジ以外にも、様々な動物種で PrPSV 発現の確認が期待される。

今後は PrP 遺伝子のノックアウトマウス (*prp-/-*) 脳由来培養細胞株 HpL 3-4 を研究対象として、PrPSV 遺伝子を組み込んだレトロウイルスベクターを感染させ、持続的に PrPSV を産生する細胞株を樹立する。これらの細胞株に PrP を共発現させ、PrP 又は PrPSV 単独で発現する細胞株の性状を比較し、PrPSV の生理機能の解明を行う。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- ① 蜂須賀暁子, 児矢野聡、菊池裕, 中島治, 青笹正義, 松田治男, 澤田純一, 手島玲子, 抗マウスプリオンペプチドフェージ本鎖抗体の反応性、国立衛研報、査読有、127、2009、26-30

〔学会発表〕(計 10 件)

- ① 菊池裕, 中島治、豊田淑江、手島玲子、小西良子、山口照英：低酸素条件下で誘導される GPI アンカー欠損型プリオン蛋白質の発現解析、第 82 回日本生化学会大会、平成 21 年 10 月 21-24 日、神戸市
- ② 菊池裕, 豊田淑江、遊佐精一、中島治、手島玲子、小西良子、山口照英：低酸素条件下で誘導される GPI アンカー欠損型プリオン蛋白質の発現に関する因子の解析、第 83 回日本生化学会大会、平成 22 年 12 月 7-10 日、神戸市
- ③ 東原知宏、菊池裕, 中島治、手島玲子、辻勉、小西良子、山口照英：ヒツジスプライス変異型プリオンタンパク質 mRNA の発現解析、第 83 回日本生化学会大会、平成 22 年 12 月 7-10 日、神戸市
- ④ Y. Kikuchi, T. Kanayasu-Toyoda, O. Nakajima, S. Yusa, T. Higashihara, T. Tsuji, R. Teshima, Y. Sugita-Konishi, T. Yamaguchi: Identification of a splice variant of prion protein mRNA lacking the GPI anchor signal sequence in bovine and sheep brain, Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Neurodegenerative Diseases: The Molecular and Cellular Basis for Neurodegeneration, Feb. 21-26, 2011, Taos, New Mexico, USA
- ⑤ Y. Kikuchi, Identification of a splice variant of prion protein mRNA lacking the GPI anchor signal sequence in bovine and sheep brain, The Fortnightly

Virology Research Conference (International Invited Presentation, 招待講演), Louisiana State University Health Sciences Center, Shreveport, LA, USA, March 1, 2011

- ⑥ 東原知宏、菊池裕, 中島治、手島玲子、辻勉、小西良子、山口照英：ヒツジスプライス変異型プリオンタンパク質 mRNA の解析、日本薬学会第 131 年会、平成 23 年 3 月、静岡市
- ⑦ 遊佐精一、菊池裕, 小西良子、山口照英：Molecular characterization of mouse, human, bovine, and sheep PrPC in cell lines., Asian Pacific Prion Symposium 2011、平成 23 年 7 月 10-11 日、軽井沢町
- ⑧ 東原知宏、菊池裕, 中島治、遊佐精一、手島玲子、辻勉、小西良子、山口照英：ヒツジ OA1 細胞が発現するスプライス変異型プリオン蛋白質遺伝子の解析、第 84 回日本生化学会大会、平成 23 年 9 月 20-24 日、京都市
- ⑨ 菊池裕, スプライス変異型プリオン蛋白質遺伝子の解析、第 35 回星薬科大学大学院研究科助手会・大学院自治会合同公開セミナー(招待講演)、星薬科大学大学院、東京、平成 23 年 10 月 15 日
- ⑩ Y. Kikuchi, S. Yusa, T. Kanayasu-Toyoda, O. Nakajima, R. Teshima, Y. Sugita-Konishi, T. Yamaguchi: Expression of a splice variant of prion protein during hypoxia in human glioblastoma cell line T98G, Keystone Symposia, Advances in Hypoxic Signaling: From Bench to Bedside, Feb. 12 - 17, 2012, Banff, Alberta, Canada

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊池 裕 (KIKUCHI YUTAKA)
国立医薬品食品衛生研究所・衛生微生物部・室長
研究者番号：10234197

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし