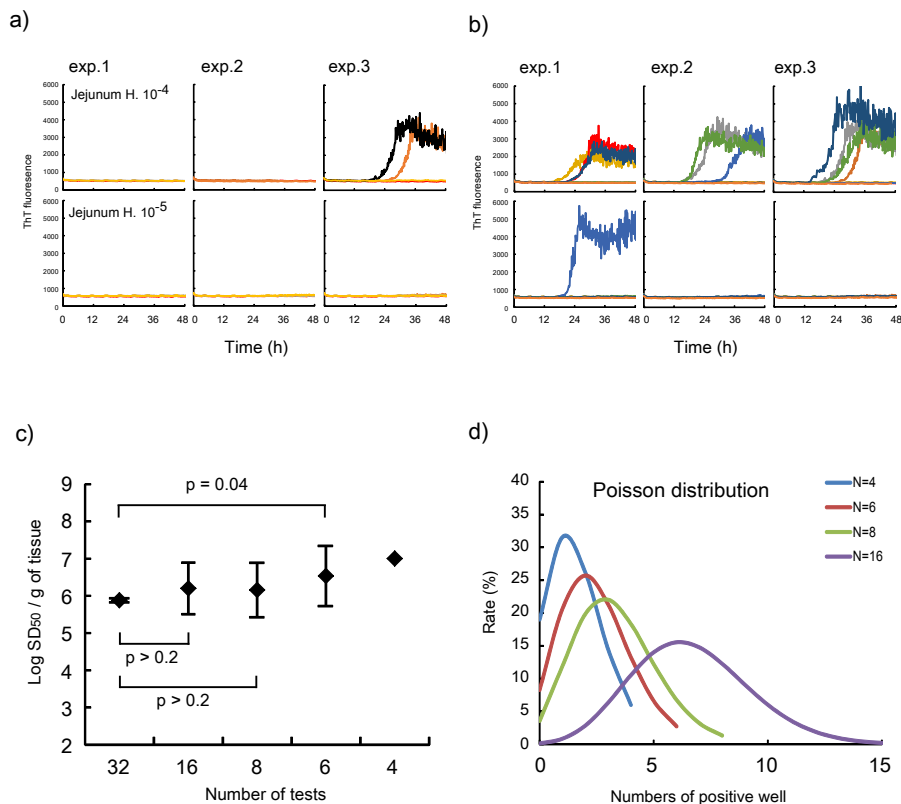


prion seeding activity定量法の妥当性検討

研究分担者：長崎大学大学院医歯薬総合研究科感染分子解析学 西田教行



•Statistical reliability of numbers of the test. Diluted jejunum homogenates (upper 10^{-4} , lower 10^{-5}) from sCJD patient 2 were analyzed seeding activities in three experiments with a) 4, or b) 8 replications by RT-QuIC, which were monitored ThT fluorescence during 48 hours. c) The positive reaction in numbers of 32, 16, 8, 6 and 4 replications were calculated Log SD50/g of tissue. Data shows mean \pm SD of three independent experiments and indicates p-value of the significance t-test. d) The reliability of statistical significance based on poisson distribution was calculated from the number of positive wells in N=32. The confidence level (CL) of 95% was achieved with more than 8 replications.

解説

- (方法) 各種臓器を冷凍保存後、ビーズショッカーを用いて10%乳剤を作成し、粗遠心後の上清の10倍希釈系列を作成した。限界希釈のサンプルを96-well plateに分注した。RT-QUICはヒトリコンビナントPrP 23-230 129Mを基質として用い、TECAN Infinite 2000にて行い、種々の条件で陽性率を求めポワソン分布モデルとの比較検討を行った。
- (結果) sCJD患者の小腸組織乳剤の 10^{-4} および 10^{-5} 希釈サンプルを用いてRT-QUICを行った。陽性well数を母数32、16、8、6、4のそれぞれでカウントし、SD50を求めた。各臓器のSD50を求めるにはN=8以上にてconfidential level95%であることがわかった。
- (考察) 孤発性プリオン病患者の場合、過去の動物実験の結果から感染性異常プリオン蛋白は中枢神経系に限局すると考えられてきたが、脳の100分の1~1000分の1程度の微量のプリオン活性が各種末梢臓器にも認められる。微量な活性を正確に定量的に評価するには、希釈サンプルを最低N=8用いて陽性率を求める必要があることがわかった。