レンチウイルスを用いた尿酸検出システムの導入

八浦妃佐子¹⁾ 池田 信人¹⁾ 市田 公美²⁾
大谷 直由³⁾ 久留 一郎¹⁾

背 景

尿酸は心血管疾患のリスクファクターとして知られており、尿酸トランスポーターを介して細胞内へ流入し、細胞障害を惹起することが示唆されている。そこでこの病態をより詳細に解析するために、細胞内の尿酸濃度の変化を簡便に検出することが望まれてきた。そして、細胞内の尿酸を検出するシステムとして、ウリカーゼと過酸化水素検出タンパクHyPerとの融合タンパク(Uox-HyPer)が開発された。ただ、応用の範囲は遺伝子導入効率の高い細胞に限られてきた。

目 的

Uox-HyPerを効率よく、かつ持続的に高発現させる遺伝子導入システムを開発する。さらにこのシステムを使い、様々な組織に由来する細胞内の尿酸濃度を測定する。

方 法

遺伝子改変技術により、Uox-HyPerを搭載したレンチウイルス(Lenti-Uox-HyPer)を作成した。作成したLenti-Uox-HyPerを用いて、アフリカミドリザル腎由来COS-7細胞、ヒト胎児腎臓由来HEK293細胞、ヒト近位尿細管由来HK-2細胞、マウス血管内皮由来F2細胞、ヒト大腸癌由来Caco-2細胞、ヒト肝芽腫由来Hep G2細胞、ヒト骨髓由来UE6E7-16細胞へ、Uox-HyPerを導入した。その後、プレートリーダーによって各尿酸濃度

で蛍光を測定した。さらに、放射性同位体 [^{14}C] 標識した尿酸を用いて、細胞内に取り込まれた尿酸を測定した。さらに、複数回継代した後にUox-HyPerの発現をフローサイトメトリー解析により評価した。

結 果

レンチウイルスにUox-HyPerを搭載することで、効率よくUox-HyPerを発現させることに成功した。特に、人工的に尿酸の取込活性を亢進させた細胞にUox-HyPerを導入することで、細胞外の尿酸濃度の上昇を検出することができた。また、生理的に尿酸を取込む近位尿細管モデル細胞をはじめとする、様々な培養細胞において、持続的にUox-HyPerを高発現させることに成功した。

結 語

Uox-HyPerを効率よく、かつ持続的に高発現させるレンチウイルスベクターの開発に成功した。さらにこのレンチウイルスベクターを用いることで、様々な組織に由来する細胞にUox-HyPerを発現させることが可能となった。

1) 鳥取大学大学院医学系研究科機能再生医科学専攻
遺伝子医療学講座再生医療学部門

2) 東京薬科大学薬学部病態生理学教室

3) 獨協医科大学医学部薬理学講座

Hisako Yaura, Nobuhito Ikeda, Ichiro Hisatome

Kimiyoshi Ichida

Naoyuki Ootani