

*cf*RNA (cell-free RNA) の qPCR

# cell-free RNA

血液中にRNAが存在する可能性についても報告され<sup>1,2</sup>、近年ではmiRNAに見られるように、血漿中に遊離したRNA (cell-free RNA) が存在するという報告があります<sup>3,4,5</sup>。これは細胞から分泌されるエキソソームに内包されて輸送されるRNA由来のものと考えられていますが、血漿中においてcell-free RNA を測定した例はほとんどありません。

1) Kamm RC, Smith AG. Nucleic acid concentrations in normal human plasma. *Clin Chem* 1972; 18: 519-522

2) Stroun M, Anker P, Maurice P, Gahan PB. Circulating nucleic acids in higher organisms. *Int Rev Cytol* 1977; 51: 1-48

3) Ng EK, Tsui NB, Lam NY, Chiu RW, Yu SC, Wong SC, et al. Presence of filterable and nonfilterable mRNA in the plasma of cancer patients and healthy individuals. *Clin Chem* 2002; 48: 1212-1217.

4) Tsui NB, Ng EK, Lo YMD. Stability of endogenous and added RNA in blood specimens, serum, and plasma. *Clin Chem* 2002; 48: 1647-1653.

5) Hasselmann DO, Rappl G, Tilgen W, Reinhold U. Extracellular tyrosinase mRNA within apoptotic bodies is protected from degradation in human serum. *Clin Chem* 2001; 47: 1488-1489.

# 血漿中におけるHouse Keeping Gene のqPCR

## 【方法】

- ① インタクトなmRNAを定量
- ② 100bp アンプリコンのRT-qPCR
- ③ Hypercool Primer & Probe™ によるRT-qPCR法

【試料】: 健常者 6 名の血漿から抽出したRNA (6サンプル)

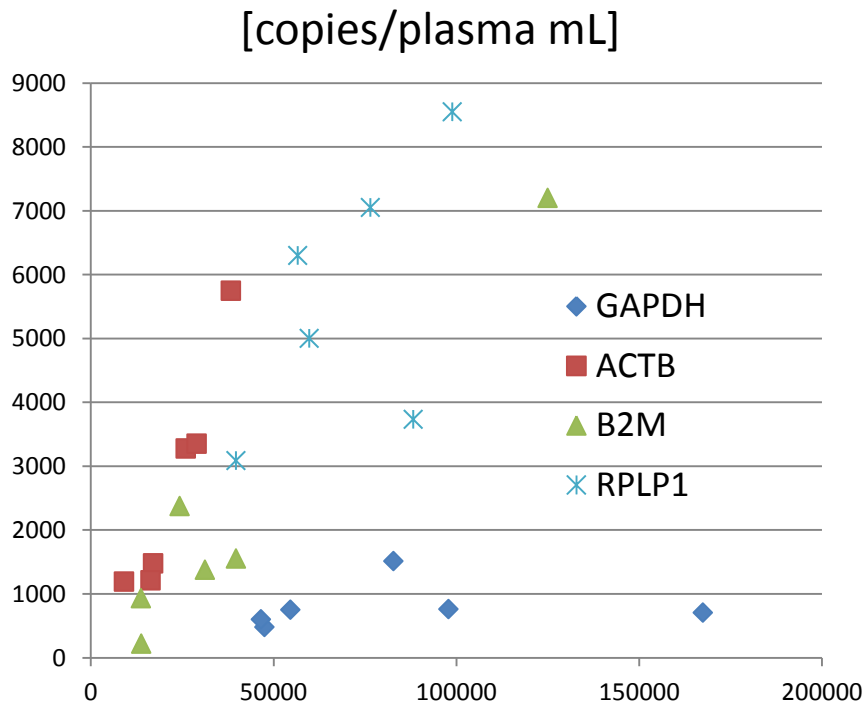
## 【方法①と②の mRNA 定量比較】

インタクトなRNA vs qPCR法(100bpアンプリコン)

● mRNA 定量値 比較

● mRNA 定量値の相関係数

インタクトなRNAの定量値



従来qPCR(100bpアンプリコン)での定量値

	相関係数 $R^2$
GAPDH	$R^2 = 0.0179$
ACTB	$R^2 = 0.9261$
b2M	$R^2 = 0.9382$
RPLP1	$R^2 = 0.3453$

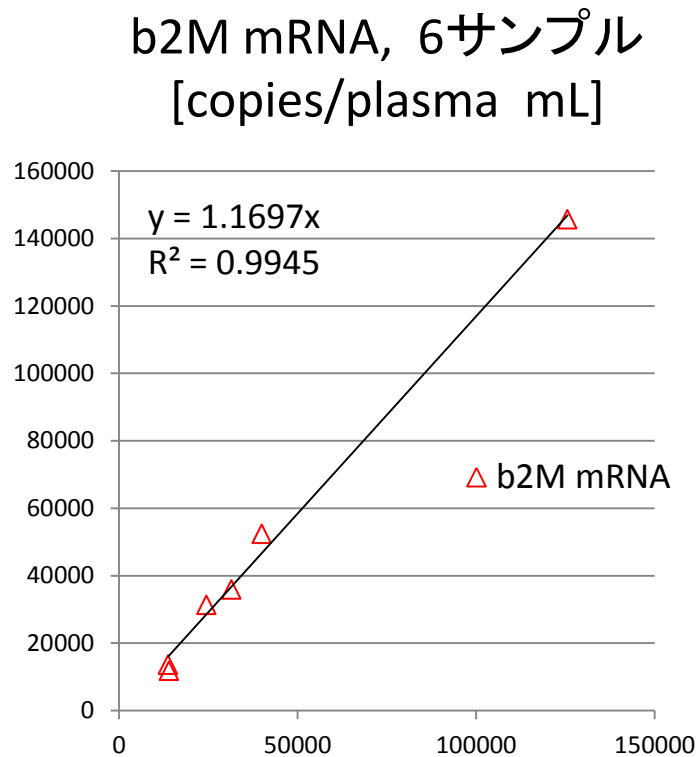
## 【手法②と③の mRNA 定量 比較の例】

従来qPCR法 (100bpアンプリコン) vs Hypercool Primer & Probe™ qPCR

● mRNA 定量値 比較

● mRNA 定量値の相関係数

Hypercool Primer & Probe™  
での定量値



従来qPCR (100bp アンプリコン)での定量値

	相関係数 $R^2$
GAPDH	$R^2 = 0.9884$
ACTB	$R^2 = 0.9083$
b2M	$R^2 = 0.9949$
RPLP1	$R^2 = 0.87$

## 【血漿中のmRNA定量結果より】

- ①より mRNA が検出され、血漿中に House Keeping Gene のインタクトな mRNA が存在していると思われます。
- ①と qPCR法 との定量値との間には、ACTB と b2M において高い相関が認められました。
- qPCR 法では①より5倍～20倍の大きい値を得ました。
- qPCR ではアンプリコンサイズが短いため、多くのmRNA分子を捉えることができました。このことより血漿中においてmRNAの分解が進んでいると推測されます。
- 従来qPCR法(100bpアンプリコン)と「Hypercool Primer & Probe™」のqPCRとの間には、高い相関が認められました。