

●リアルタイム PCR によるラット血漿中 microRNA の 発現解析

TN401

Expression Analysis of Plasma MicroRNA in Rat by Real-time PCR

[概要]

最近、血中 microRNA はエクソソームに含まれていることから、高温、酸、凍結融解などの条件による安定性を持っていることが分かってきました^{1)、2)}。また、疾患をもつ患者と健常者における microRNA の発現が異なることが分かってきました。このことから、薬物肝臓障害のマーカーとして microRNA の発現変化が注目されはじめ^{3)、4)}、microRNA をバイオマーカーとして活用するための研究が積極的に行われております。

当社では、血液中または組織中の microRNA の抽出・精製から発現解析を、信頼性基準および GLP に対応したサービスにて行っております。以下に miRNA の抽出から発現解析まで、実施した例について、示します。

[実施例]

投与前 24 時間絶食の Sprague-Dawley 系ラット (5 週齢、オス) にコントロールとして 0.5%カルボキシメチルセルロース (0.5%CMC) と肝障害を惹起させるためにアセトアミノフェン (APAP) を 500 mg/kg または 1000 mg/kg を経口投与し、0, 6, 12, 24, 36, 48 時間後に採血を行いました (投与は 0 時間と 24 時間に実施し、給餌は初回投与後 12 時間後から開始しました)。その後、血漿 200 μ L を前処理に用いて、血漿中の miR-122、miR-192 の発現変動 (n=3) をリアルタイム PCR により調べました。

miR-122、miR-192 はラットおよびヒトにおいて、肝障害のマーカーである ALT よりも早い時期に肝障害時に血中で上昇する^{3)、4)}と言われている microRNA であり、本結果は文献値と同じく投与 12 時間で各 microRNA の上昇が認められ、microRNA の発現変動を確認できました。

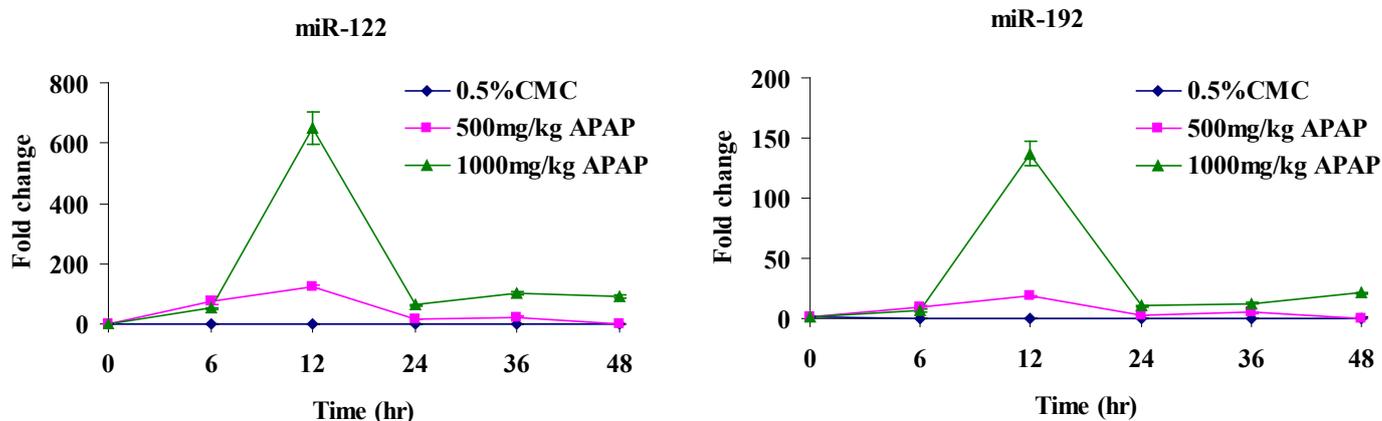


図 アセトアミノフェン投与による miRNA の変動 (n=3)

[引用]

- 1) Patrick S. Mitchell et al., (2008) Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105** : 10513 – 10518.
- 2) Xi Chen et al., (2008) Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Research* **18** : 997 – 1006.
- 3) Yu Yamaura et al., (2012) Plasma MicroRNA Profiles in Rat Models of Hepatocellular Injury, Cholestasis, and Steatosis. *PLoS ONE* **7** : e30250.
- 4) Yi Zhang et al., (2010) Plasma MicroRNA-122 as a Biomarker for Viral-, Alcohol-, and Chemical-Related Hepatic Diseases. *Clinical Chemistry* **56** : 1830 – 1838.

[関連技術リンク]

Bioplex 200 を用いた蛍光マイクロビーズ法による mRNA 発現解析

<https://www.scas.co.jp/technical-informations/technical-news/pdf/tn391.pdf>