

エクソソーム RNA 抽出試薬の検討

エクソソームマーカー CD9・CD63・CD81 の RT-qPCR にて

©森田 邦恵¹⁾、金子 京平²⁾、江ヶ崎 梓¹⁾
新潟医療福祉大学¹⁾、新潟県立新発田病院²⁾

体液中 Exosome を用いたリキッドバイオプレシーが癌研究において注目されている。Exosome は免疫応答の誘導・調整細胞間コミュニケーション・遺伝子転写速度の調節の役割を持つことから、Exosome はタンパク質・核酸のような分子で由来細胞の状況を反映した情報が内包されている。このため疾患組織由来の Exosome を解析し新たなバイオマーカーを見出す可能性が期待されている。

Exosome の抽出方法として発見当初から超遠心法が行われているが抽出工程が難しく超遠心機が必要なことから臨床での応用は不向きに考えられている。2015 年から血清・血漿・培養細胞から Exosome を抽出する試薬が多く開発されているが各社を比較する評価報告が少ない。そのため過去に我々の研究グループが各社の血清・血漿・培養細胞から Exosome の RNA (以下 ExoRNA) を抽出する試薬に対する評価を行い QIAGEN 社の試薬が最も抽出効率が高いことを確認した。

血液中 Exosome のバイオマーカーを臨床応用するため、さらに検体が凍結か新鮮血の違いと血漿か血清での違いに

よる ExoRNA 抽出効率の比較が必要となる。そこで QIAGEN 社の Exosome 抽出試薬で -80°C で凍結保存を行った検体と採取後すぐに解析を行った場合と解析を行う検体が血清と血漿による条件の違いで ExoRNA 抽出効率の比較を Exosome マーカー CD9・C63・CD81 による RT-qPCR で評価し検討した。

解析の結果、凍結保存を行った検体は新鮮血と同じ程度のエクソソームマーカーが確認された。血清・血漿の比較では、CD9 の解析結果で、血漿の定量結果が高いことが確認された。以上の解析結果より、血液からのエクソソーム RNA の抽出では、凍結検体と新鮮血で差が見られないこと、血漿では血清より高い抽出効率であることは確認された。

将来的にはこの結果から、凍結した血漿または培養細胞の上層から抽出した Exosome を用いバイオマーカーを同定し疾患 (特に癌疾患) の早期発見に貢献していきたいと考えている。

連絡先 025-257-4492