Twinkle 東京女子医科大学学術リポジトリ
Tokyo Women's Medical University - Information & Knowledge Database
https://twinkle.repo.nii.ac.jp

β 2-Microglobulin is an appropriate reference gene for RT-PCR-based gene expression analysis of hematopoietic stem cells

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-02-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松﨑, 優 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.20780/00032080

主 論 文 の 要 約

ß2-Microglobulin is an appropriate reference gene for RT-PCR-based gene expression analysis of hematopoietic stem cells

(ß2-Microglobulin はマウス造血幹細胞の RT-PCR を用いた遺伝子発現解析における最適な内部標準遺伝子である～Single-Cell RT-PCR に基づく同定～)

東京女子医科大学先端生命医科学研究所
（指導：大和雅之教授）
松﨑　優

Regenerative Therapy; 1: 91-97 (June 2015)に掲載

【目的】

遺伝子発現解析で頻繁に用いられる RT-PCR は、近年では 1 細胞からの解析も可能となり、成体での存在頻度が極端に低い組織幹細胞の研究においても最も有用なツールの一つである。一般的に RT-PCR に基づいた遺伝子発現解析では、内部標準遺伝子の発現を基準にサンプル間の相対的な遺伝子発現量を比較している。従って、サンプル間の遺伝子発現レベルを正確に比較するためには、最適な内部標準遺伝子の選択が極めて重要である。しかしながら、適切な内部標準遺伝子を決定する方法については未だ十分な議論がなされていない。そこで本研究では、Single-Cell RT-PCR を用いて適切な内部標準遺伝子を同定する方法を新たに確立し、マウス造血幹細胞において適切な内部標準遺伝子を検討した。

【方法】

未培養および異なる 3 条件下で培養された造血幹細胞を用いて、一般的に内部標準遺伝子として汎用される 4 つの遺伝子（*Actb*、*ß2m*、*Gapdh*、*Hprt*）の発現を、SMART 法を用いた Single-Cell RT-PCR にて 1 細胞レベルで解析し、各々の条件間における各遺伝子の発現レベルの変動を比較した。

【結果】

Single-Cell RT-PCR により、検討に用いた全ての未培養造血幹細胞において *β2m* の発現が確認された。また、異なる 3 条件で培養後の造血幹細胞においても、*β2m* が最も安定した発現を示した。さらに各々の条件間における 4 遺伝子の発現レベルを比較したところ、*β2m* の発現の変動が最も小さい（2 倍以内）ことが示された。

【考察】

1 細胞レベルでの解析により、*β2m* が個々の造血幹細胞において、培養の有無や培養条件等に依存せずに最も安定的な発現を示していた。これらより、少なくとも本研究で検討した条件下においては、*β2m* が最も適した内部標準遺伝子として考えられるが、他の条件下においては改めて確認が必要になる可能性も否定できない。一方、バルクサンプルを使用する従来法では、1 細胞当たりの全 mRNA の量が大きく異なるサンプル間で共通に使用できる内部標準遺伝子の探索は非常に困難であったが、本研究で確立した方法では 1 細胞当たりの遺伝子発現の変化を正確に反映するため、そのようなケースにおいても適応可能であると考えられ、より適切な内部標準遺伝子の同定方法として非常に有用であると考えられる。

【結論】

本研究の結果より、マウス造血幹細胞における RT-PCR に基づく遺伝子発現解析においては、*β2m* が最適な内部標準遺伝子であることが示唆された。また、本研究で確立された Single-Cell RT-PCR に基づいた適切な内部標準遺伝子の同定法は、基本的には様々な細胞への応用も可能であり、RT-PCR に基づく遺伝子発現解析における結果のより正確な解釈や理解に大きく寄与するものと考えられる。