

# ウシおよびヒツジのリボヌクレアーゼ P (RPPH1) 遺伝子の検出によるウシ・ヒツ ジ細胞数の測定法

岩手大学 農学部 共同獣医学科  
教授 村上 賢二

# 従来技術とその問題点

1. 従来，細胞数の測定には培養細胞などについて細胞懸濁液を作製し，細胞計算盤を用いて顕微鏡下で観察する必要があった。
2. リボヌクレアーゼP RNAコンポーネントH1 (RNase P) 遺伝子はゲノムに1コピーとして存在することから、この遺伝子をリアルタイムPCR法を用いて定量することにより、実際に顕微鏡を用いて細胞数を計測することなく、細胞数を測定することが可能となる。
3. ヒトにおいては既に市販化されているものはあるが、ウシ、ヒツジなどの反芻動物においては現在までなかった技術である。

# 新技術の特徴・従来技術との比較

- RNase P遺伝子は、通常参照遺伝子として用いられる $\beta$ -アクチン遺伝子などと比較して遺伝子変異が少なく、PCR時における増幅の正確性が高いと言われている。



- 従って、変異の少ないRNase P遺伝子を用いることで、より正確な細胞数の測定の向上が期待される。

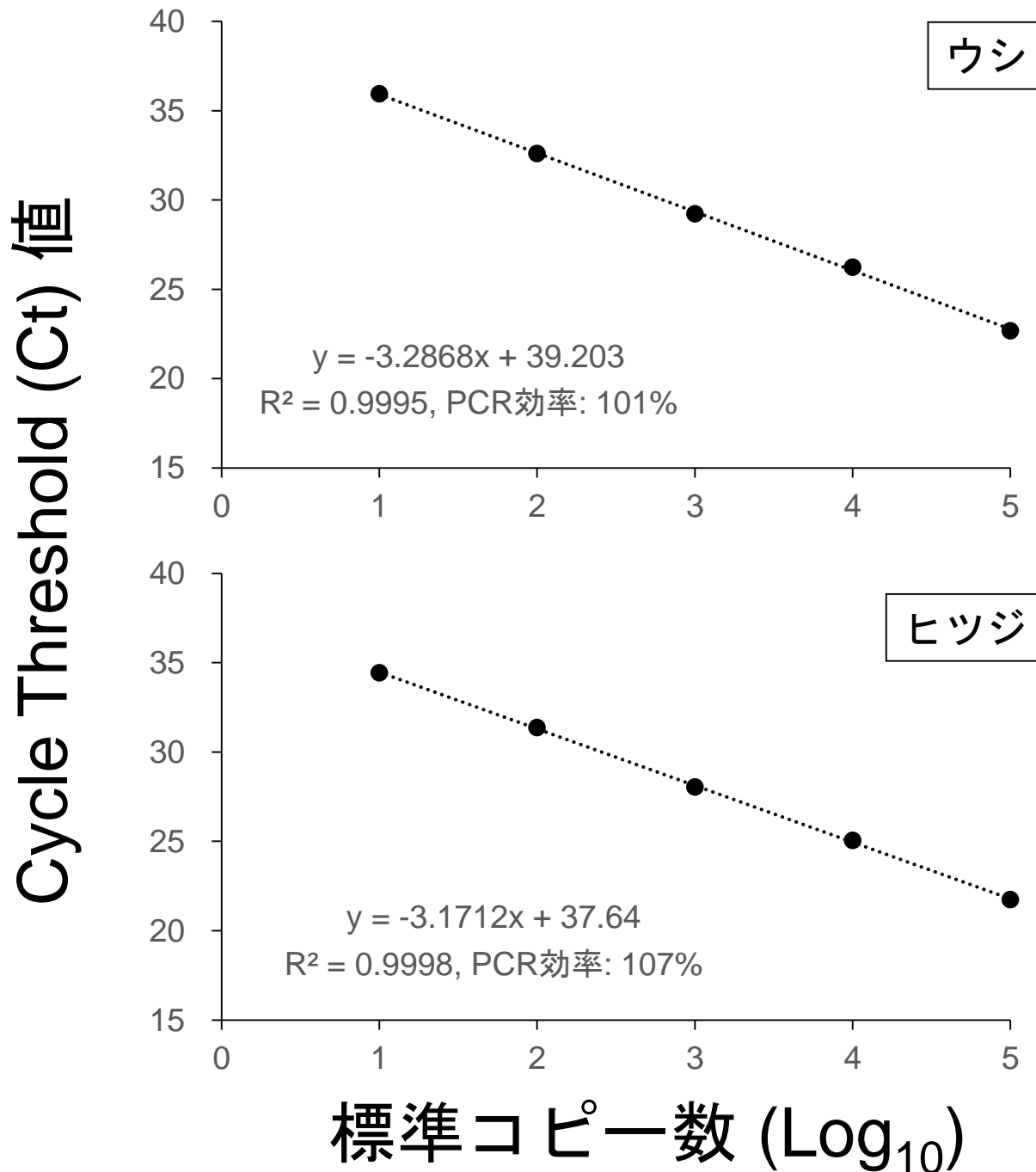
# 想定される用途

本技術はウシ、ヒツジなどの細胞生物学、生理学、病理学などに幅広く応用可能と考えられる。



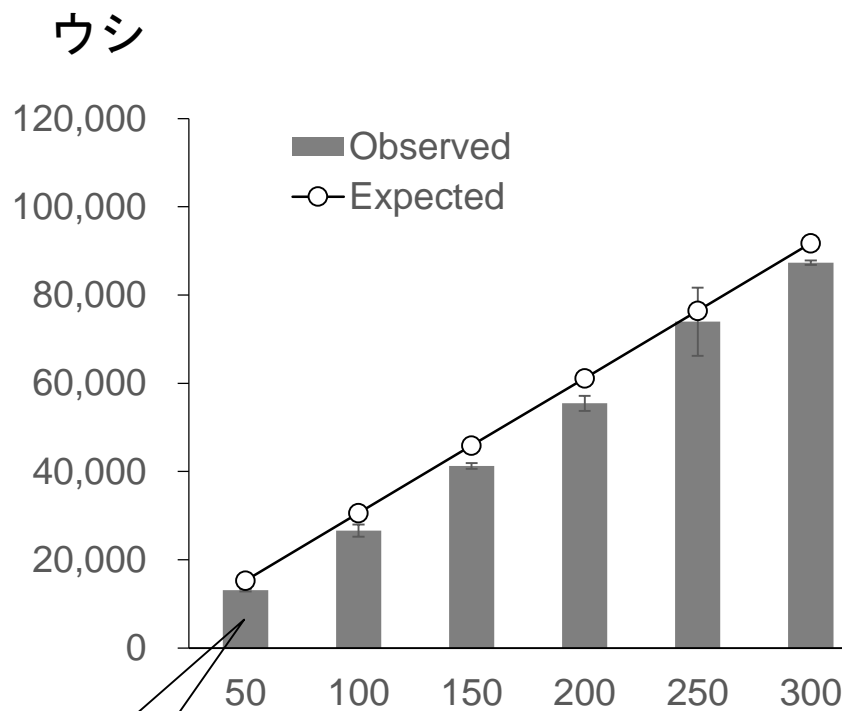
特に、ヒトにおいては、細胞を使った実験または細胞に感染するヒトT細胞性白血病ウイルス、AIDSウイルス、ヒトヘルペスウイルスなどに感染した臨床材料からそれらウイルスなどを検出する際に、その試験・検査の質を保証するための内部標準遺伝子として使われていることから、動物試験研究において、その質の保証や獣医療における臨床検査に応用されることが期待される。

# 標準DNAを用いたリアルタイムPCRの評価

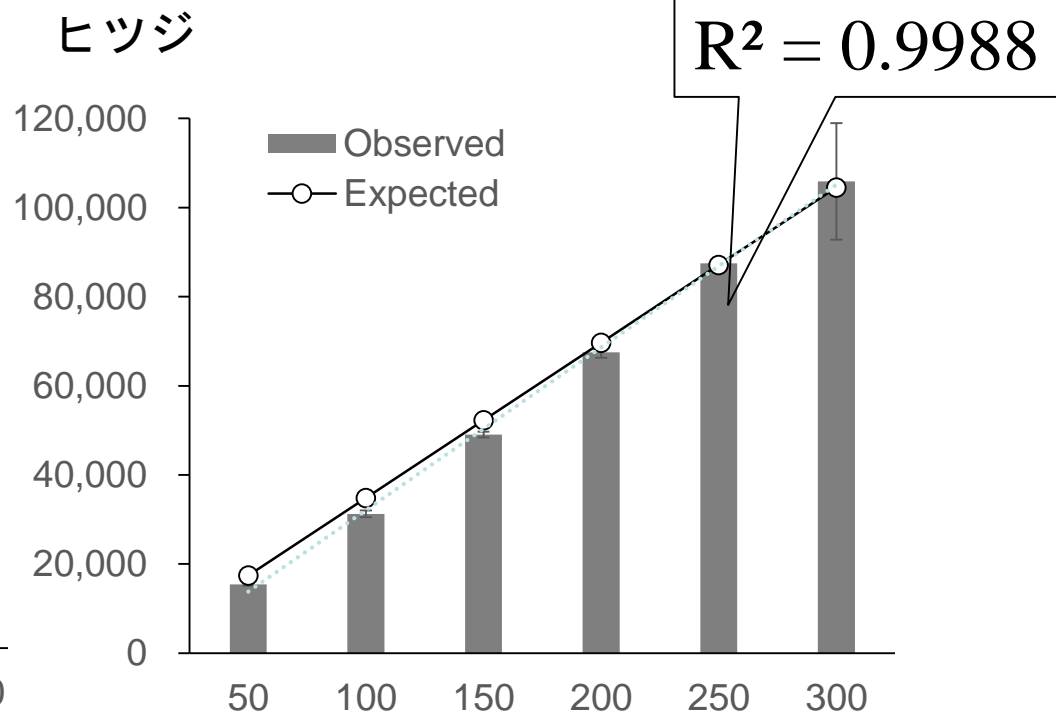


# 細胞DNA量依存性に直線的に検出コピー数が増加 (リアルタイムPCR)

検出された RNase P 遺伝子コピー数



$R^2 = 0.998$



$R^2 = 0.9988$

末梢血単核細胞ゲノム DNA (ng)

# 実用化に向けた課題

- 現在、ヒトT細胞白血病の原因ウイルスと同属である牛白血病ウイルスの検出法において、参照遺伝子としてRNase P遺伝子を用いた2重蛍光リアルタイムPCR法を開発しているところである。
- 今後、さらに実用化に向けた条件設定を行っていく。

## 企業への期待

- PCR試薬の開発技術を持つ、企業との共同研究を希望。
- また、家畜衛生・公衆衛生分野，ワクチン開発への展開を考えている企業には、本技術の導入が精度の高い病原体検出法の開発に有効と思われる。



# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 :

動物の内部標準ポリヌクレオチドおよびそれを用いた  
標的ポリヌクレオチドの検出方法

- 出願番号 : 特願2014-232208  
(特開2016-93147)

- 出願人 : 岩手大学

- 発明者 : 村上賢二

# お問い合わせ先

**岩手大学 研究推進機構**  
**プロジェクト推進部門 知財Gr.**

**TEL 019-621-6494**

**FAX 019-604-5036**

**e-mail [iptt@iwate-u.ac.jp](mailto:iptt@iwate-u.ac.jp)**