

第 49 回 バイオテクノロジー5～遺伝子増幅と解析～

■PCR 法について説明せよ。

- ・ ポリメラーゼ連鎖反応法
- ・ コピーしたい DNA を用意
- ・ 目的の塩基配列（遺伝子）を挟むようなプライマーを用意
- ・ 「高温で 2 本鎖 DNA が解離→温度を下げてプライマーが結合→再び温度を上げて DNA ポリメラーゼによって、DNA をコピー」・・・このサイクルを機械が自動で反復
- ・ 短時間で大量の目的 DNA を得られる（クローニングの一種）
- ・ 耐熱性の DNA ポリメラーゼの発見によって溶液交換の手間が省け、能率的となった

■核酸、タンパク質の電気泳動の方法を説明せよ。

- ・ 核酸：-に荷電している
- ・ アガロース電気泳動法：寒天ゲル内に核酸を配置し、電圧を加えることにより、-を帯びている核酸が+電極側へ移動する。このとき、核酸の大きさにより、移動距離が異なるため、既に分子量がわかっているマーカーと比較すれば、対象の核酸の分子量が判明する
- ・ タンパク質：立体構造が複雑な上に、電荷がまちまち。そこで、SDS（ドデシル硫酸ナトリウム）という界面活性剤を用いて、強制的に直線状とし、-に荷電させる
- ・ SDS-PAGE（SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法）：あとは核酸のときと同様に、専用のゲル内を泳動させれば分子量ごとに分離できる。

※こうして分離した各種のタンパク質について、より高度な解析を行いたいときは、さらに質量分析（第 1 回参照）を行う

■塩基配列の解析法を述べよ。

- ・ サンガー法：一般的
- ・ ddNTP（ジデオキシヌクレオチド）：本来のヌクレオチドと似ており、DNA 合成の過程で使用される。しかし、構造が異なるため、そこで DNA 合成が停止してしまう
- ・ 例えば、塩基として A を持つ ddNTP を混ぜて DNA 合成を行わせると、塩基配列中の A の場所で途切れた DNA 断片ができる
- ・ どの A で途切れるかはランダムであり、途切れた場所により DNA 断片の長さ（すなわち分子量）が異なる。これは泳動すれば分離できるため、A の場所が決定できる
- ・ 他の 3 種の塩基を持つ ddNTP でも同様のことを行えば、塩基配列がわかる

※DNA を合成するサンガー法に対し、DNA を切断するアプローチのマクサム・ギルバート法もあるが、試薬が危険であるために最近是用いられない