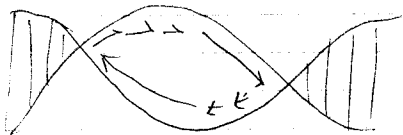


(訂正)



RNAプライマーの分解
DNAポリメラーゼによる
5' → 3' DNA分解
cRNA

(1997年 Mollis 312頁)
耐熱性DNAポリメラーゼは
好熱菌 75°C 付近
高温でも失活しない

PCRとゲノム解析

(前回の続き) DNAポリメラーゼの応用

1. 塩基配列決定
2. 遺伝子クローニング
3. ポリマーゼチェーンリアクション PCR



水素結合

A=T 10塩基は 2°C
G=C 4°C

↓ 95°C 1分間処理

1本鎖DNAの解離

(18~20塩基) 1本のDNAプライマー

ATTCGA

新しく合成

GGT CAG

TAAGCT

CCA GTC

2本のDNAプライマー

↓ 50~60°C 2分間

プライマーの結合 (アニリング)

↓

耐熱性DNAポリメラーゼを加えて 75°C 3分間 (dATP, dCTP, dGTP, dTTP + ATP)

1回のPCR反応でDNAは2倍に増幅

1回反応後、再び 95°C 1分間 → 50~60°C 2分 → 75°C 3分

20~40 cycle (2³⁰⁻⁴⁰)

DNA配列を調べれば

どんな種類のDNAを増幅できる (〜0.1kb)

→ DNA鑑定 (医療的、犯罪捜査 etc.)

1pg DNA → 1μg DNA に合成できる

ゲノム診断

1. 制限酵素断片長多型 RFLP

正常人のβ-ガラクトシド遺伝子 Ms1II で切断

CCGAGG

GGCTCC

患者のβ-ガラクトシド遺伝子

1塩基の変異

CCGTGG

10塩基でつながる

GGCAAC

正常人、患者のDNA (血液細胞)

↓ Ms1II で処理

↓ 電気泳動

→ 10セルロースアゲルで

