

発明の名称:フォワードプライマー

利用・用途・応用分野

細胞内での目的遺伝子の発現・タンパク質の機能解析、有用タンパク質の生産に利用可能

目的・課題

遺伝子発現させるために遺伝子構成を作製する操作は大変煩わしい。より簡単に遺伝子発現できる方法の開発が望まれている。
PCR産物を直接利用する線状DNAによる遺伝子発現に成功し、大幅に遺伝子操作は簡単になったが、数百から数千塩基対のプロモータ領域と遺伝子を繋げることが課題である。

解決ポイント

プライマーに含有可能な短い配列で、かつプロモータ活性を有する配列があれば、プライマーにプロモータ活性を有する配列を含有できると考え、CMVプロモータの一部の配列を含有する様々なプライマーを作製し、プロモータ活性を検討した。
その結果、40~75塩基という非常に短く、かつ哺乳動物細胞実験にて広く用いられているヒト翻訳伸長因子1-アルファ(EF1 α)プロモータと同等の高いプロモータ活性を有する配列を見出した。さらに、40~75塩基のプロモータ活性を有する配列を解析し、共通配列を有していることを見出した。

研究概要・アピールポイント

- ◆ PCRのみでプロモータ活性を有する配列を目的遺伝子配列の上流に連結可能、制限酵素処理やライゲーションという煩雑な操作やプロモータ配列を含むDNA断片の調製が不要。
- ◆ かかるプライマーを用いればプロモータ配列を有さず、目的遺伝子配列を有する線状二本鎖DNAをテンプレートとしてPCRを行うことでプロモータ活性を有する配列を目的遺伝子配列の上流に備えた線状二本鎖DNAを容易に作製できる。
- ◆ 目的遺伝子配列の上流に既にプロモータ配列が連結している線状二本鎖DNAでも目的遺伝子の発現が低い場合には、目的遺伝子配列又は既存のプロモータ配列の上流に本発明プライマーを用いてプロモータ活性を有する配列を連結させると目的遺伝子の発現をより向上できる。

◆ お問合せ先 ◆

有限会社山口ティール・エル・オー TEL: 0836-22-9768 E-mail:tlojim@yamaguchi-u.ac.jp