

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

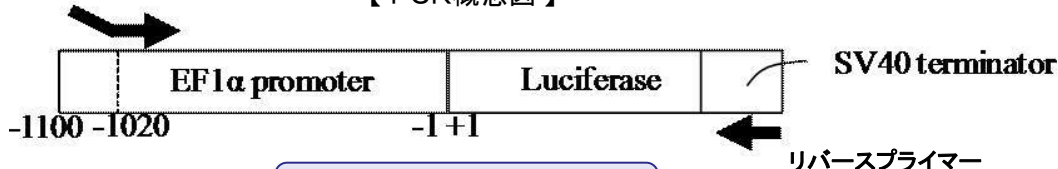
制限酵素処理や煩雑な操作、プロモータ配列を含むDNA断片の調製が不要なPCRによって、プロモータ活性を有する配列を目的遺伝子配列の上流に連結することが可能なフォワードプライマーの提供を課題とする。

解決ポイント

シミアンウイルス40(以下、「SV40」ともいう)の一部の配列を含有する様々なプライマーを作製してプロモータ活性を検討した。その結果、30~80塩基という非常に短く、かつ哺乳動物細胞実験において広く用いられているヒト翻訳伸長因子1-アルファ(以下、「EF1α」ともいう)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、かかる30~80塩基のプロモータ活性を有する配列を解析したところ、共通の配列を有していることを見出した。

フォワードプライマー

【PCR概念図】



研究概要・アピールポイント

- ◆ 本発明のフォワードプライマーは、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。
- ◆ PCRのみでプロモータ活性を有する配列を目的遺伝子上流に連結可能。
- ◆ 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を行うことにより、プロモータ活性を有する配列を目的遺伝子上流に備えた線状二本鎖DNAを容易に作製できる。
- ◆ 目的遺伝子等の上流に既にプロモータ配列が連結している場合でも、目的遺伝子の発現が低い場合は、本発明のフォワードプライマーを用いて、目的遺伝子配列又は既存のプロモータ配列の上流にプロモータ活性を有する配列を連結させることで目的遺伝子の発現を向上できる。

◆ お問い合わせ先 ◆

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