

遺伝子組換えを使用しない、人工核酸アナログを用いた変異遺伝子の単離法に関する研究

著者	竹本 賢一
著者別表示	Takemoto Kenichi
雑誌名	平成21(2009)年度 科学研究費補助金 奨励研究 研究概要
巻	2009
ページ	2p.
発行年	2016-04-21
URL	http://doi.org/10.24517/00062597



遺伝子組換えを使用しない、人工核酸アナログを用いた変異遺伝子の単離法に関する研究

Research Project

All ▼

Project/Area Number

21931022

Research Category

Grant-in-Aid for Encouragement of Scientists

Allocation Type

Single-year Grants

Research Field

臨床医学

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

竹本 賢一 Kanazawa University, 附属病院, 衛生検査技師

Project Period (FY)

2009

Project Status

Completed (Fiscal Year 2009)

Budget Amount *help

¥580,000 (Direct Cost: ¥580,000)

Fiscal Year 2009: ¥580,000 (Direct Cost: ¥580,000)

Keywords

人工核酸アナログ / 遺伝子組換え / nucleophosmin(NPM)遺伝子

Research Abstract

・過去5年分の文献検索により、本研究のモデルケースとして、nucleophosmin(NPM)遺伝子の体細胞変異とLNA(Locked nucleic acid)プローブを用いることとした。
・LNAプローブの効果の確認

LNAプローブの存在下(LNA(+))、非存在下(LNA(-))でABI 310 PCR Gene Scan法にてその効果を確認した。その結果、LNA(+))でも野生型アレル(W type)のピークが完全には消失しなかった。LNAプローブの濃度や他のPCR条件の検討を行ったが、W type vs.M typeの比は最大1対11であった。これはダイレクトシーケンス法でも

同様であり、LNA(+)のPCR産物の塩基配列を確認したところW typeの混入により正確な塩基配列の確認は困難であった。ただし、プラスミドへの組み込み(クローニング)ではランダムに選んだ20コロニー中、LNA(-)ではW type vs.M typeが12対8だったのに対し、LNA(+)では2対12と逆転し、M typeの検出が容易であった。このことによりLNA(+)ではピックアップするコロニー数を減らすことが確認できた。またM typeのサンプルをW typeのサンプルで段階希釈を行い、M typeの検出感度を求めたところ、LNA(-)では1%であったのに対し、LNA(+)では0.2%まで検出可能であった

・まとめ

遺伝子組み換え技術を使用せず、遺伝子変異を単離するという本研究の当初の目的は達成することはできなかったが、人工核酸アナロググローブの使用により、変異クローンの単離効率を上げることが可能であった。このことは遺伝子配列決定までの時間、試薬の節約につながり、迅速な臨床(患者)サービスの提供を可能とした。また変異遺伝子の検出感度も向上できたことから、微小残存病変の検出にも応用が可能であることが示唆された。

Report (1 results)

2009 Annual Research Report

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-21931022/>

Published: 2009-03-31 Modified: 2016-04-21