

PCR

PCRは Polymerase Chain Reaction（日本語ではポリメラーゼ連鎖反応）の略名で生物における生命情報を司る遺伝子を増やす反応のことを示す。反応は利用したい生物の DNA に対して増やしたい遺伝子領域を挟み込む形でフォワードプライマーとリバースプライマーを用意する。フォワードプライマーは二本鎖 DNA の当該遺伝子領域の 5' 末端付近より、10~30 塩基ほどの相補的なオリゴヌクレオチドのことで、同様にリバースプライマーは当該遺伝子領域の末端の 3' 末端付近より、その反対側の DNA に対して相補的に作成した合成 DNA である。さらに、材料として DNA の複製時に伸長反応を進める酵素、DNA ポリメラーゼ、増幅させる領域の材料となるヌクレオチド（ATP、GTP、CTP、TTP）などを利用する。必要なものを専用のチューブに入れて 95°C前後にすると二本鎖 DNA の水素結合が切れ、一本鎖の DNA となる。そこで温度を下げると、フォワードプライマーおよびリバースプライマーが一本鎖 DNA に会合する。次に少し温度を上げて DNA ポリメラーゼの最適反応温度になると一本鎖 DNA に会合したプライマーを認識して、ヌクレオチドを材料に一本鎖 DNA に対して相補的な配列で伸長反応をすすめる。合成された DNA は新たな鋳型になるため、一本から二本、四本という形で反応を繰り返すたびに 2^n ずつ増えていく。実験によって開きがあるものの、実際には繰り返し回数が 25~30 回程度が一般的である。その結果、元の遺伝子が 100 万倍以上に増えたものを得ることができる。

得られた増幅 DNA の確認は主にアガロースゲル電気泳動で行い、DNA 配列の確認は DNA シークエンサーなどを用いて行う。さらに、遺伝子組み換え実験などの場合はこれを直接またはプラスミド（核外環状遺伝子）などに組み込み、宿主に導入する。

また、RNA の増幅にも利用できる。その際には逆転写酵素と呼ばれ、RNA の塩基配列情報を元に DNA を合成していく反応を行い、その結果、一本鎖の DNA が出来上がる。その後は、DNA の増幅と同じ要領で反応を進めていくことで、目的の遺伝子の増幅産物が得られる。

(内野 昌孝)