

10

マイクロ波によって促進される遺伝子増幅反応
Microwave-Accelerated DNA Amplification白川泰裕, 榮田尚寿, 吉村武朗, 大内将吉
(九工大院・生命情報工)Yasuhiro Shirakawa, Naohisa Sakaeda, Takeo Yoshimura, Shokichi Ohuchi
(Department of Bioscience and Bioinformatics, Kyushu Institute of Technology)

はじめに：マイクロ波照射によって、あらゆる有機化学反応について反応時間の大幅な短縮や収率の向上が達成されている。生体触媒である酵素反応においてもマイクロ波照射の効果を検証するために遺伝子増幅反応に着目した。2004年にFernerらがPolymerase Chain Reaction (PCR) に対してマイクロ波照射を検討したが、十分なマイクロ波効果は得られなかった。PCRの複雑な温度制御をマイクロ波照射で実現できなかったことが原因であると考えられる。そこで、この研究では、温度が一定で遺伝子増幅が可能なRolling Circle Amplification (RCA)にマイクロ波照射を検討することとした。

実験：マイクロ波反応装置はシングルモードのグリーンモチーフ (IDX) を用いた。RCAの反応容器としては、0.2 mlのP.P. チューブを用い、75塩基の鋳型DNAと2種のプライマー、耐熱性酵素Bst DNA polymeraseを液量が25 μ lになるように加えて反応させた。マイクロ波出力は、10 W付近で温度が一定になるように制御した。RCA反応によって得られる遺伝子は、さまざまな鎖長をもつ遺伝子の混合物として電気泳動上ではスメアバンドとして観察されるが、遺伝子強度を比較し検証した。

結果：マイクロ波を照射しない系では反応30分でラダーバンドが確認され始めたが、マイクロ波照射下では同じ強度のバンドが10分で現れた。すなわち、およそ3倍の反応速度で繰り返し遺伝子が増幅された。他のDNA polymeraseを用いた場合も、RCA反応に対しては少なからずマイクロ波照射の効果が現れた。マイクロ波照射の効果は、いわゆる加熱効果と思われるが、温度計で観察される温度に見合った以上の反応促進効果をもたらした。この詳細なメカニズムは明らかではないが、電磁波の中でもそれほど強くないエネルギーであるマイクロ波が、化学進化の過程の中で遺伝子増幅などの酵素反応の加速に役立った可能性が考えられる。また、今回のRCAの増幅法はウイルスの複製様式に近いことから、ウイルスの遺伝子増幅過程にも影響を与えている可能性も考えられる。