

超耐熱性DNAリガーゼの開発

数年前まで核酸の増幅方法はPCR (Polymerase Chain Reaction)法しかなかったため、遺伝子検査はそれに頼らざるを得なかった。しかし、最近耐熱性DNAリガーゼを用いたLCR (Ligase Chain Reaction)法¹⁾が開発され、PCR法では検出困難な1塩基のみの変異を、簡単かつ高感度に検出することが可能となった。今回、我々は95℃の高温下で生育する超好熱始原菌 *Aeropyrum pernix* (アエロピラム・ペルニックス)のゲノム情報から世界最高の熱安定性を示す超耐熱性DNAリガーゼを発見した²⁾。本酵素は従来のものに比べて著しく耐熱性が増強されており、100℃では極めて安定、105℃における酵素活性の半減期でさえ1時間である(図1)³⁾。

DNAリガーゼは、標的遺伝子に貼り付いた連続する2つのDNA断片の末端を結合させる活性

がある(図2)。この反応を利用して遺伝子変異を検出するLCR法では、まず2本鎖DNAを高温(94℃以上)で解離させる。従ってそれに使う酵素は94℃の高温下で長時間安定であることが必須である。従来、LCR法で使用されてきた耐熱性DNAリガーゼは、約1時間で、酵素活性は半減する。従って熱安定性が極めて高い本酵素を用いることにより、標的遺伝子の検出感度は約100000倍に増大し、また、より高温で2本鎖DNAを解離させることで解離時間も短縮され、従来の酵素に比べ約2分の1の検出時間で済むと期待される。

本酵素は遺伝子の診断だけではなく、微量サンプルやPCRと連係した遺伝子増幅など、分子生物学における新たな応用範囲をも広げられると思われる。当特別研究体では、今後本酵素の応用面での開発に力を入れていく予定である。

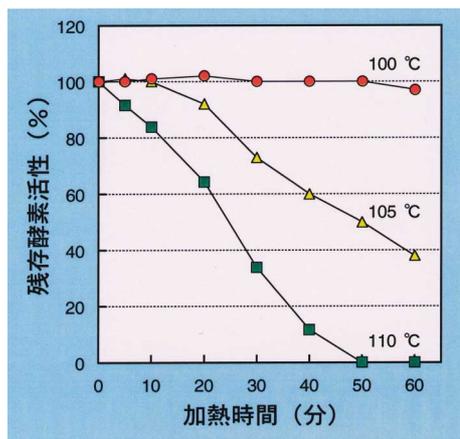


図1 本酵素の熱安定性

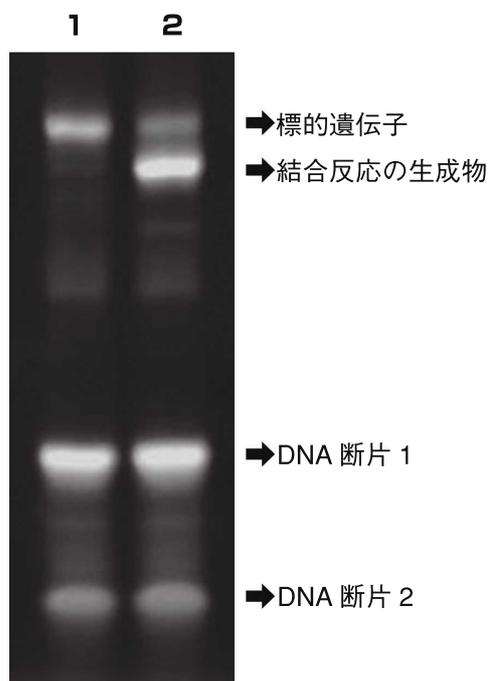


図2 本酵素のDNA結合反応
1はDNAリガーゼなし、
2はDNAリガーゼあり。



ぜん すうんじょん
全 崇鍾
jeon.sj@aist.go.jp
人間系特別研究体

関連情報

- 1) W.H. Benjamin Jr, K.R. Smith, K.B. Waites: *Methods Mol. Biol.*, Vol. 226, 135-150 (2003).
- 2) 特願 2003-045224 「耐熱性DNAリガーゼ」(石川一彦, 全崇鍾) .
- 3) S. -J. Jeon, K. Ishikawa: *FEBS Letters*, Vol. 550, 69-73 (2003).