

キチナーゼ様タンパク質を区別するための 定量 PCR システムの確立

大野 美紗 大学院 化学応用学専攻 博士後期課程 / 小山 文隆 工学部 応用化学科 教授

キーワード: BRP-39, キチナーゼ, キチナーゼ様タンパク質, 遺伝子発現解析, 定量 real-time PCR system, Ym1, Ym2

概要

最近, 我々は, キチナーゼと対照遺伝子の発現レベルを同じスケールで定量と比較するため, 一つの標準 DNA を用いた定量 PCR システム (qPCR) を確立した。この研究において, 我々は, キチナーゼ様タンパク質 (CLPs) を解析するため, すでに確立した定量法を応用した (図1)。少量から大量の転写産物を定量することで, real-time PCR の感度と信頼性を評価することができる。我々の real-time PCR 法は定量において広いダイナミックレンジ, 高い正確性, そして高い感度を提供 (図 2)。Ym2 primer は, Ym1/AMCase と Ym2 にクロス反応を起こした。そこで, pGEM-T Easy の配列を含んだ直鎖の標準 DNA を調製した。この pGEM-T Easy を含むマウス Refs/CLPs 標準 DNA を用いることにより, Ym2 primer のクロス反応の問題を克服でき, Ym1 と Ym2 を同じスケールで, 区別して定量することができる (図1 と図 2)。

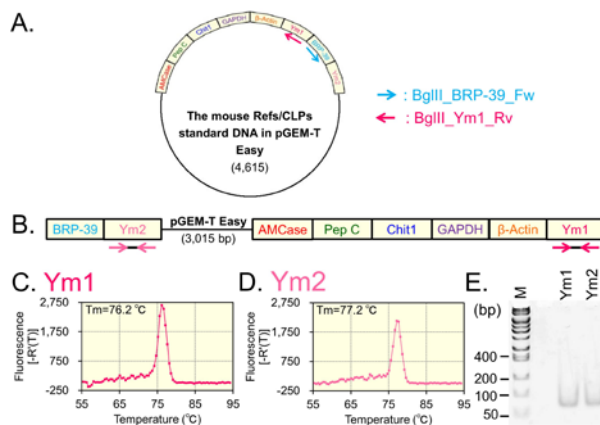


図 1. pGEM-T Easy 配列を含むマウス Refs/CLPs 標準 DNA の作成

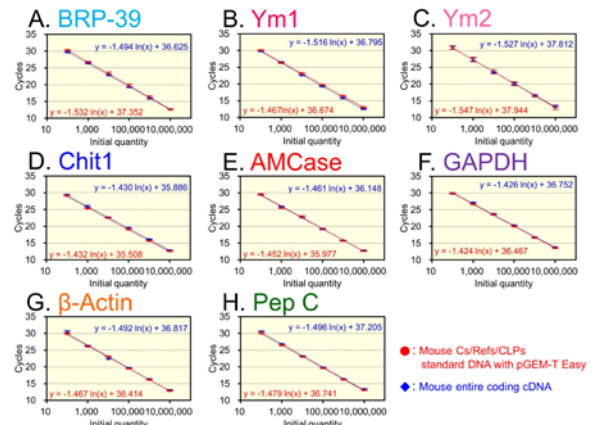


図 2. 標準 DNA の標準曲線

アピールポイント

マウス組織における CLPs の発現レベルを評価するため, 我々は, pGEM-T Easy を含むマウス Refs/CLPs 標準 DNA を用いた定量システムを発展させた。

利用・用途 応用分野

この技術は, 同じスケールで複数遺伝子の mRNA レベルの定量と比較にとってもよく適している。我々の方法は, 生物医工学だけでなく, 臨床で実用的な用途にも適用可能である。

関連情報

- 関連論文 Ohno, M., Kida, Y., Sakaguchi, M., Sugahara, Y. and Oyama, F. (2014) Establishment of a quantitative PCR system for discriminating chitinase-like proteins: catalytically inactive breast regression protein-39 and Ym1 are constitutive genes in mouse lung. **BMC Molecular Biology** 15: 23.
- 関連 URL <http://www.biomedcentral.com/1471-2199/15/23>