

A PCRとは

DNAは、糖とリン酸のらせん状の2重の鎖の間を、4種類の塩基が「はしご段」のように並んで結合した構造をしている。1つの細胞が2つに分裂する際、2重らせんが一度ほどけ、それぞれの配列（塩基）に対し、対になる塩基を新たにつなぎ、コピーを作ることによって、細胞毎のDNAを一定に維持している。

PCRは、このコピーを作る過程を人工的に応用することにより、目的とする遺伝子配列のみを大量にコピーする方法である。理論的には一組(2本鎖)のDNAからスタートしてコピーするたびに2倍ずつ増幅していく(図1①)。1回コピーすれば $2^1=2$ 倍、10回コピーすれば $2^{10}=1024$ 倍、50回コピーすれば $2^{50}=112$ 兆倍に増幅する。しかし、実際には、ある一定以上に増えると増幅反応に制限がかかり(図1②)、最終的にはそれ以上は増えない(図1③)。

B リアルタイムPCRの結果から目的の遺伝子配列の増幅を検出する処理

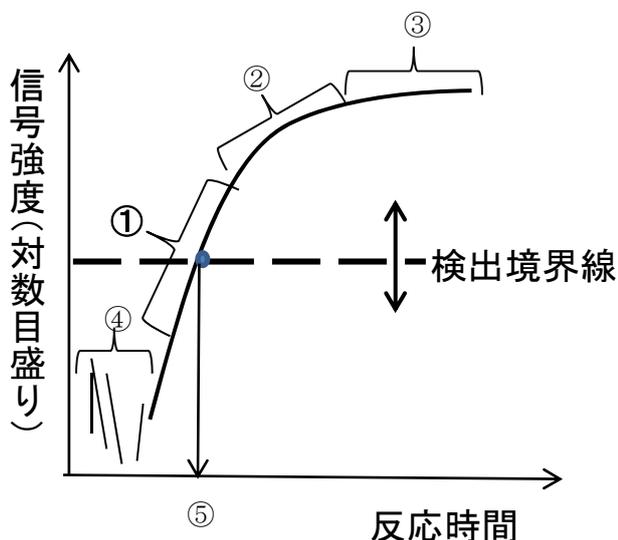


図1 リアルタイムPCRのイメージ図

種子から抽出したDNA溶液中に検出対象の遺伝子が存在していれば、PCRにより、コピーがスタートする。コピーされたDNAを検出するための信号を検出器が捉え、信号の強さをリアルタイムでグラフ化する(図1)。

検出対象の遺伝子が存在していても、一定量のDNAがコピーされるまでの間は、信号が微弱過ぎるため、正確なグラフ化ができない(図1④)。

コピーされた遺伝子が一定以上の量に達し、コピーする度に2倍ずつ増幅(指数関数的増幅)していれば(図1①)、目的の遺伝子が検出されたと判断し、検出境界線を引き、反応時間のどのタイミングで検出されたのかを数値化する(図1⑤)。