

## 完全長cDNA合成法 (Synthesis of full-length cDNA)

完全長cDNAとは、キャップが付加している第一番目の塩基（転写開始点）から、ポリ(A)テールまでの全ての領域を含んでいるcDNAを意味する。

完全長cDNAは、次の2段階の工程によって合成される（図1）。第一工程は、完全なmRNAから、キャップをはずし、代わりにDNA-RNAキメラオリゴヌクレオチドを付加する工程である。分解したmRNAの5'末端のリン酸基を前もってはずしておくことにより、完全なmRNAの5'末端のみにDNA-RNAキメラオリゴヌクレオチドが付加した産物が得られる。すなわちこの工程で完全なmRNAの選択をしていることになる。第2の工程は、DNA-RNAキメラオリゴヌクレオチドが付加したmRNAを鋳型にして、ベクタープライマー方式でcDNAを合成する工程である。多機能クローニングベクターpKA1を用いているので、インビトロやインビボでcDNAを直ちに発現可能である（図2）。

本法で合成した完全長cDNAは、次の特徴を有する。

- (1) キャップ付加部位からポリ(A)テールまでを含む正真正銘の完全長cDNAである。
- (2) cDNAの向きが決まっている。
- (3) 欠失や変異を含まない。
- (4) インビトロ翻訳や動物細胞内発現によって蛋白質を調製できる。

### 参考文献

1. S. Kato, S. Shingo, S.-W. Oh, N.-S. Kim, Y. Umezawa, N. Abe, M. Yokoyama-Kobayashi, T. Aoki  
Construction of a human full-length cDNA bank.  
*Gene* **150**: 243-250, 1994.
2. 加藤誠志  
ホモ・プロテインcDNAバンクの構築—ヒト全蛋白質の取得に向けて—  
*BIO INDUSTRY* **11**:760-770, 1994.

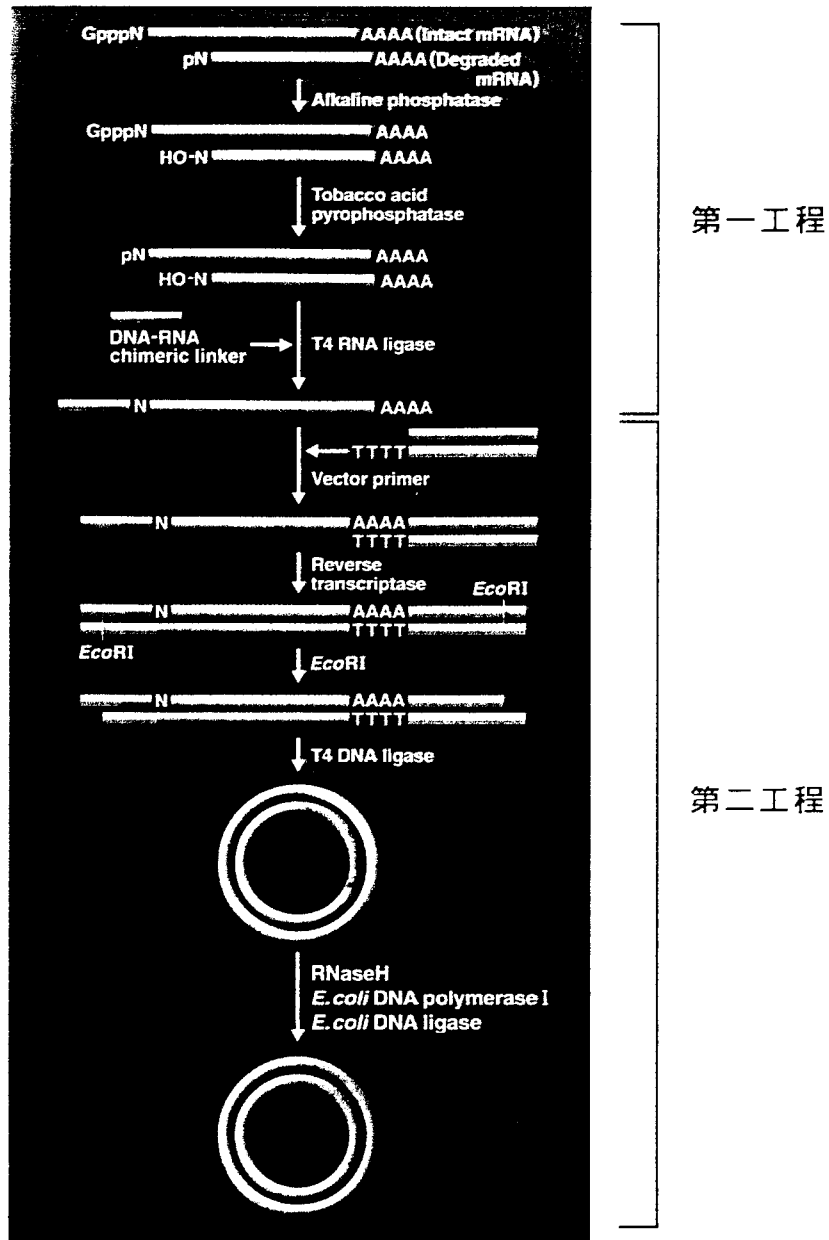


図1 完全長cDNA合成法

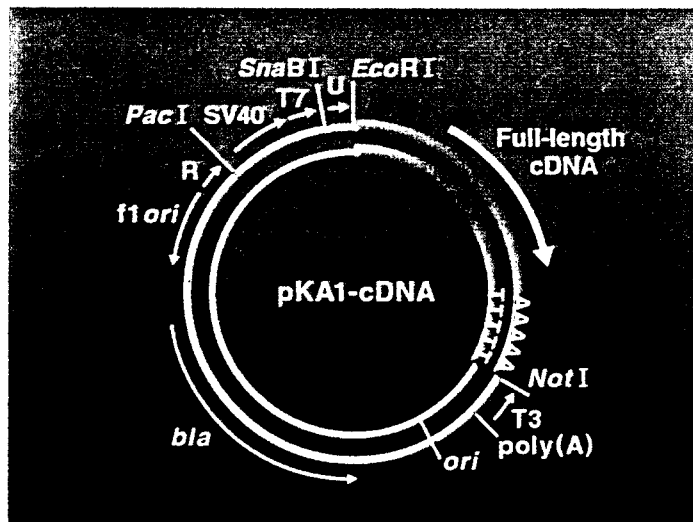


図2 多機能クローニングベクターpKA1の構造