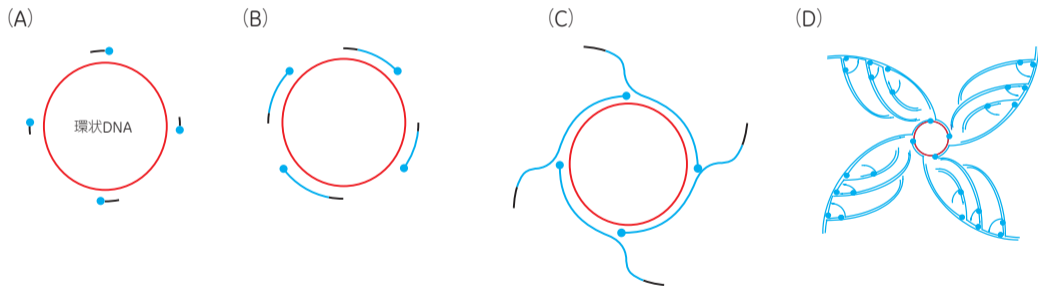


RCA (Rolling Circle Amplification) 法とは?

環状DNAを、バクテリオファージ由来のPhi29 DNA ポリメラーゼにより、指数関数的に増幅させる方法です。この酵素は、ランダムヘキサマーから合成を開始し、環状DNAの複製起点に達しても、鎖置換能を持っていることにより、その鎖を剥がしながら合成を進めます。出発材料の環状DNAだけでなく、合成され剥がされた部分からもさらに合成は進むので、指数関数的な増幅が起こることになります。

また、この酵素は、高い忠実度 (high-fidelity) と校正活性を持つため、複製時に起こる塩基の取込みエラー率は 1×10^{-7} で、Taq DNA ポリメラーゼ (1×10^{-5}) と比べても非常に低く抑えられています。



—ランダムヘキサマー ● Phi29 DNA ポリメラーゼ

ランダムヘキサマーが環状DNAに結合し (A)、Phi29 DNA ポリメラーゼによって伸長反応が行われます (B)。Phi29 DNA ポリメラーゼの鎖置換活性により合成された鎖を置換しながら合成を進めます (C)。ランダムヘキサマーがアニールする部位が新たに露出し、branching (ブランチング) と呼ばれる現象により合成が進行します (D)。