多型性 STS の汎用的調製法：多数の未知 Alu 反復配列領域の同定とその PCR-SSCP 分析

○飯塚真由、増山祥二、関谷剛男、林健志
（国立がんセンター研究所腫瘍遺伝子研究部）

Alu 配列は、ヒトゲノム上に普遍的に存在するヒト特異的反復配列である。その半数以上が多型性を示し、これは SSCP 法により迅速、簡単に検出できる（M.Orita et al., Genomics, 8, 271-278, 1990）。我々は、多型性マーカーとしての Alu 配列をヒト染色体特異的ライブラリーから効率よく簡便に単離する方法を確立した。すなわち、Blur 8、クロラムフェニコール耐性遺伝子、supFを持つプラスミド piBcat を構築し、ヒト染色体第 11 番特異的ライブラリーファージ（ソーティングによって得られた DNA を Hin dIII で完全分解し、Charon 21 A に挿入したもの、ATCC より購入）と piBcat との間で大腸菌内相同組換えを起こさせ、組換えファージを supF で選択した。個々のファージの DNA インサート部分を自己閉環し、大腸菌を形質転換することによりプラスミド化した（クロラムフェニコール選択）。余計な piBcat コピーを除去後、Alu の両側の塩基配列を決定し、PCR 用のプライマーを人工合成し、SSCP 解析を行なった。得られた互いに独立な 17 個の Alu 配列のうち、半数以上が多型性を示した。この結果より、我々の実験系が詳細なヒト連鎖地図を作製するのに必要な多型性マーカーを得るのに役立つことが示唆された。