

## ■ DNA の二本鎖形成とタンパク質の結合

一本鎖DNAと相補DNAの結合、及び一本鎖DNAとタンパク（single-strand binding protein, SSB）の結合反応を行いました。

### 1. プロトコル

- センサー：30MHz ツインセンサー
- 流速：20μL/min
- サンプル量：100μL
- 送液バッファー：TNE (10mM Tris-HCl, pH8.0, 150mM NaCl, 1mM EDTA)
- DNA：ビオチン化オリゴDNA (20mer) 5μg/mL  
biotin-5'-AGGGACTTTCCTGACGTGT-3'
- 相補DNA (20mer) 10μg/mL  
3'-TCCCCTGAAAGGACTGCACA-5'
- SSB：2.5μg/mL

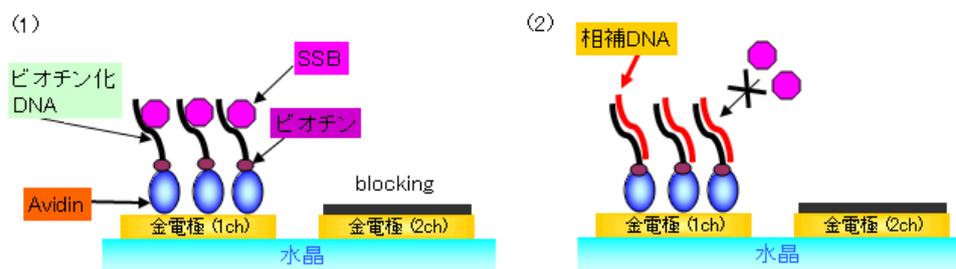


図1：模式図

- (1) 反応電極側にアビジンを固定し、リファレンス電極側をブロッキングします。  
ビオチン化一本鎖DNAを流し、反応電極側に固定した後、SSBの結合反応を見ます。
- (2) NaCl溶液でSSBを溶出後、相補DNAを流します。再度SSBを流します。

### 2. 反応波形

2-1 ビオチン化オリゴDNAを流し、アビジン固定電極に固定しました。その後、SSBを流して一本鎖DNAとの結合を確認しました。

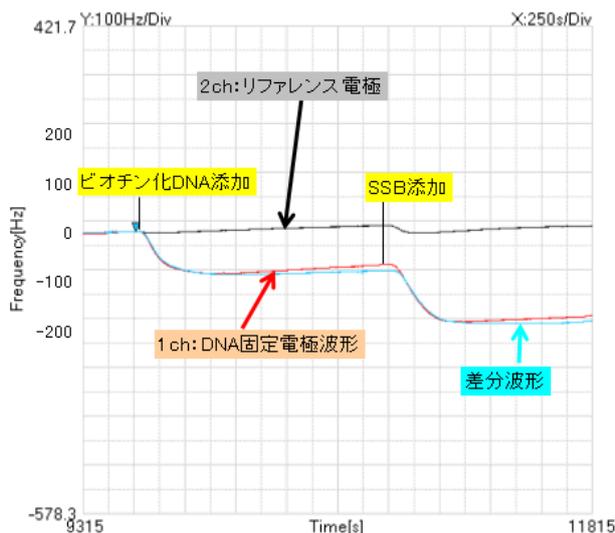


図2：ビオチン化DNA固定及びSSB結合波形

2-2 NaClによりSSBを溶出後、相補DNAを流して二本鎖の形成を観察しました。その後、SSBを流し、二本鎖DNAに結合しないことを確認しました。

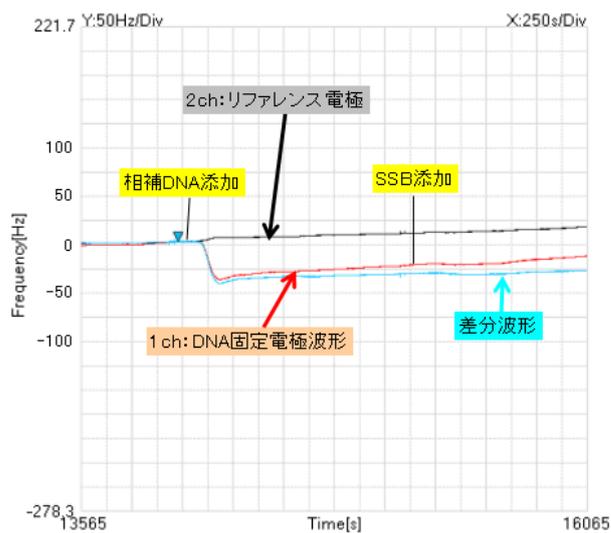


図3：二本鎖DNA形成及びSSB添加後の波形

■ DNA の二本鎖形成とタンパク質の結合

3. 参考

相補DNAと結合性の無いDNA配列（ランダムDNA）を固定し、反応を見ることも可能です。

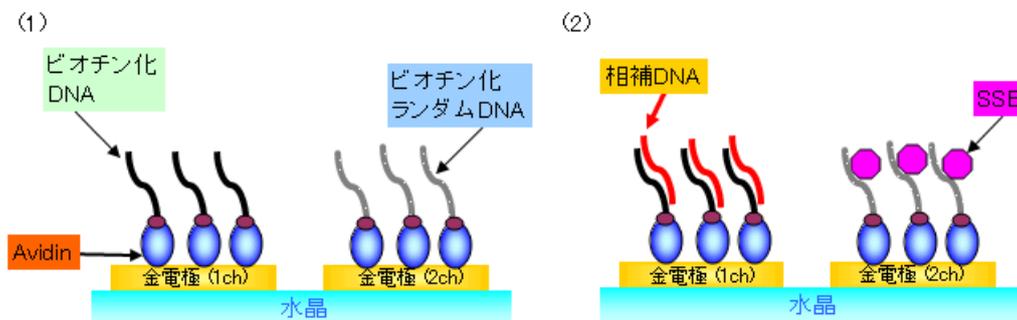


図4：模式図

- (1) 両電極にアビジンを固定します。その後、ビオチン化DNAを各電極にそれぞれ固定します。
- (2) 相補DNAを流した後、SSBを流します。

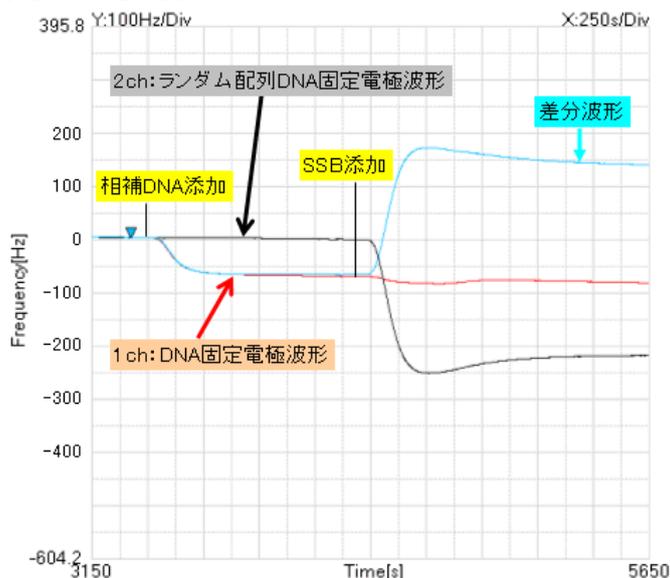


図5：反応波形

相補DNAは1chにのみ反応します。二本鎖が形成されているため、続くSSB添加で反応は見られません。対して2chは相補DNAは結合しませんが、一本鎖であるためSSBの結合が観察されます。

4. 用語解説

DNA (Deoxyribonucleic acid)

DNAはアデニン、グアニン、シトシン、チミン（それぞれA,G,C,T）の4つの塩基及び糖、リン酸から構成されます。二本のDNAが塩基を中心に常に逆向きに結合する性質を持っています。この塩基の配列によって多様な遺伝情報を保持しています。

相補DNA

ある一本鎖DNAに対し、逆側の一本鎖DNAのことを相補DNAと呼びます。塩基にはそれぞれ対になる相手が決まっているため（AとT、GとC）、相補DNA配列も1つしかありません。

SSB (Single Strand Binding Protein)

一本鎖DNAにのみ特異的に結合するタンパク質です。二本鎖の形成を妨げる機能を持ちます。

オリゴDNA

人工的に合成した一本鎖のDNAのことです。

ランダムDNA

標的DNA配列を含まず、ランダムに塩基をつなげたDNAです。