

電気泳動の分子篩いと DNA 一塩基の分離分析

Electrophoretic molecular sieving and 1-bp separation for DNA

○山口 佳則^{1,2}、竇 曉鳴¹ (1. 華東理大理、2. 阪大院工)

○Yoshinori Yamaguchi¹, Xiaoming Dou²

(1. Faculty of Science: East China Univ. of Science and Technology, 2. Graduate School of Engineering: Osaka Univ.)

E-mail: yoshi.yamaguchi@ap.eng.osaka-u.ac.jp

DNA の塩基配列は、サンガー法と呼ばれる DNA の前処理とキャピラリー電気泳動による一塩基の長さの違いによる分析の組み合わせで分析される。サンガー法による前処理では、4つの異なる蛍光色素によって標識されたそれぞれの4つの塩基を混合して、PCRを行うことによって一塩基の違いのPCR産物が生成される。一塩基の長さだけ異なるこのPCR産物は、DNAの合成がそれぞれの蛍光標識塩基の位置で停止されるので、その長さを分析することによって、塩基配列を分析することが可能である。一塩基の違いを分析するにはキャピラリー電気泳動を利用する。キャピラリー電気泳動は内径が数十マイクロメートルの融合石英のガラス管の中に篩い物質となるポリマーを充填し、DNAを電気泳動して分析する手法である。キャピラリー内部を電気泳動されるDNAは充填されたポリマーとの分子篩い効果によって、移動度がその塩基長によって変化し、泳動時間に違いが生まれる。分子篩い効果によって、一塩基の長さの違いに分けられたDNAはキャピラリーの終端で蛍光検出され、DNAの電気泳動ピークとして解析される。一塩基の違いによる移動度の違いを生むには、充填される篩い分子とDNAの絡み合いの効果を絡み合いの理論を用いて解析する必要がある。キャピラリー電気泳動におけるDNAの分離検出はDNA一分子の検出に近い。具体的にはサンプルとして一回に導入されるDNAの量は数ナノリットルで、その中に含まれるDNAは数千個である。キャピラリー電気泳動で検出されるDNAは集団の効果が軽減されており、分子篩い効果を議論するうえで理想系に近い。今回、DNAの一塩基の分析を、キャピラリー電気泳動におけるDNAの移動度、分子篩い効果のための高分子充填剤の物理的な性質を評価することによって、実験的に検証した。高分子充填剤の分子篩い効果に最も影響のある細孔のサイズは動的光散乱の方法によって評価した。今回の実験的検証によって、DNAの一塩基の分離分析に必要な高分子充填剤の物理的性質を高分子の絡み合いの理論を用いて検証することが出来た。

<参考文献>

Y. Yamaguchi, Z. Li, X. Zhu, C. Liu, D. Zhang, X. Dou, " Polyethylene Oxide (PEO) and Polyethylene Glycol (PEG) Polymer Sieving Matrix for RNA Capillary Electrophoresis ", *PLoS One*, 10(6):e0131265. (2015) | doi:10.1371/journal.pone.0123406