

## Q &amp; A

小林 賢

防衛医科大学校, 検査部

**Q.** プライマーや dNTP などを混合した PCR 用のバッファー類を保存して使用することは可能でしょうか？

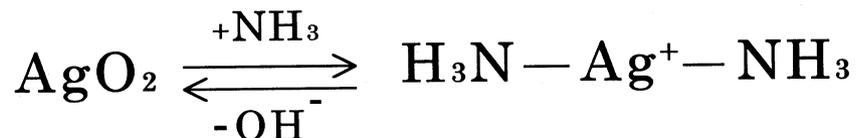
**A.** PCR 用の反応混合液を予め作成し、冷凍保存して使用することは可能です。これにより、PCR 混合液の作成時間が短縮されます。従って、一連の操作時間が非常に短くなると思われます。この混合液を作成するには、PCR 反応バッファー、プライマー、dNTP、蒸留水だけを混合しておいて、使用時に Taq DNA ポリメラーゼと鋳型 DNA を加える方法、鋳型 DNA だけを除いたすべての溶液を混合しておく方法、上流プライマーと下流プライマーに蒸留水を加えたものとそれ以外のものを合わせて別々に保存する方法などが考えられます。全 DRB1 遺伝子などを増幅する場合には、すべての溶液を混合して、保存しておくことが便利です。また、DRB1 group specific や allele specific に増幅する場合には、プライマーとそれ以外の溶液を別々に保存しておくことが楽になると思われます。-20°C で保存してお

けば数カ月は使用可能です。Taq DNA ポリメラーゼの入っていない混合液でしたら +4°C でも一年以上は十分使用可能です。また、Taq DNA ポリメラーゼが入っていても +4°C で一ヶ月ぐらいでしたら使用できると思います。

**Q.** PCR-SSCP などで使用される銀染色は何処に銀が結合して染色されるのでしょうか？

**A.** 銀イオンは、蛋白質の場合主に SH 基（スルフィドリル基）に結合すると考えられています。それに対して、核酸ではプリン塩基であるアデニンの 6 位、グアニンの 2 位およびピリミジン塩基であるシトシンの 4 位にある NH<sub>2</sub> 基（アミノ基）に結合すると考えられています。

銀染色の原理は、図 1 の反応式で示すように硝酸銀などの銀イオンを還元し、金属銀として析出させ、赤褐色の染色像を得るもので、ほぼ写真の原理と同じです。



(red-black)

(transparent)

図1