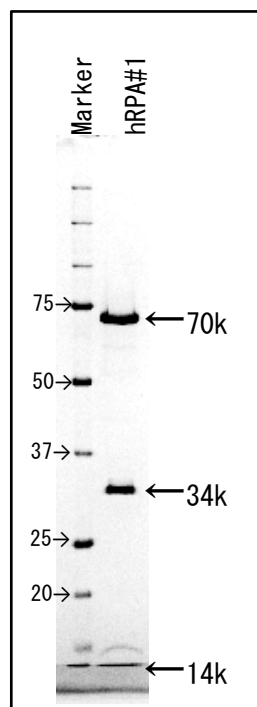


## ヒト一本鎖 DNA 結合タンパク質 RPA (hRPA), タグなし, functional

商品コード	02-047
容量	50μg
保存	-20℃
濃度	1 mg/ml
バッファ	20mM Hepes NaOH (pH8.0), 1mM EDTA, 0.01% NP40, 0.3M NaCl, 50% glycerol, 1mM DTT, 0.1mM PMSF, 2μg/ml leupeptine (防腐剤、キャリアタンパク質を含まない)。
調製法と純度	ヒト RPA の 3 つのサブユニット(RPA1-3)の全長 DNA を発現するプラスミド DNA を導入したヒト 293T 細胞抽出液から DEAE-sepharose (Cytiva 17070910), HiTrap Heparin HP (Cytiva 17040701), ssDNA cellulose (自社調製)を使って精製した。精製された hRPA は 70kDa, 34kDa, 14kDa のペプチドバンドから構成され、95%以上の純度を持つ (Fig. 1)。
活性	本精製品を使うと電気泳動度シフト法で一本鎖 DNA (ssDNA)特異的な結合活性を検出することができる (Fig. 2)。
用途	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. EMSA による ssDNA 特異的結合の検出 (Fig. 2)。</li> <li>2. 複製、修復、組換え、DNA 損傷応答の生化学的反応の構成因子として使用。</li> <li>3. RPA 結合因子のプルダウン解析</li> </ol>
背景	<p>RPA(replication protein A)は p70 (RPA1; <a href="#">HGNC:10289</a>)、p34 (RPA2; <a href="#">HGNC:10290</a>)、p14 (RPA3; <a href="#">HGNC:10291</a>)の 3 つのサブユニットからなる 3 量体複合体で、真核生物で高度に保存された一本鎖 DNA 結合タンパク質である。RPA は SV40 ウイルス DNA の試験管内複製反応で必須のタンパク質として同定され RFA (replication factor A) や HSSP (human single-stranded DNA binding protein)とも呼ばれた(<a href="#">PNAS 1987, 84, 1834-8</a>, <a href="#">EMBO J 1988, 7, 1211-8</a>, <a href="#">PNAS 1988, 85, 2523-7</a>)。このタンパク質は、一本鎖 DNA 結合活性により DNA-タンパク質複合体を形成し、細胞内の一本鎖 DNA を DNA 分解酵素や高次構造形成から守り、ゲノム安定性維持に関与する因子の集合や解離を調節する。したがって、複製、修復、組換えの多様な DNA 代謝過程に要求され(ref. 1, 2)、ATR (ataxia telangiectasia and Rad3-related タンパク質キナーゼ)を介した細胞の DNA 損傷応答を制御する。細胞内では RPA が一本鎖 DNA に結合した時 (S 期中または DNA 損傷後)、RPA2 が DNA 依存タンパク質キナーゼによってリン酸化されることが知られている (ref. 3)。</p>
データリンク	UniProt/KB: <a href="#">P27694</a> (RFA1_HUMAN), <a href="#">P15927</a> (RFA2_HUMAN), <a href="#">P35244</a> (RFA3_HUMAN)
注意：本製品は研究用として販売しており、動物への医療、臨床診断用、軍事目的には使用しないようお願いいたします。	

データ画像: 02-047 ヒト一本鎖 DNA 結合タンパク質 RPA (hRPA) タグなし、活性型

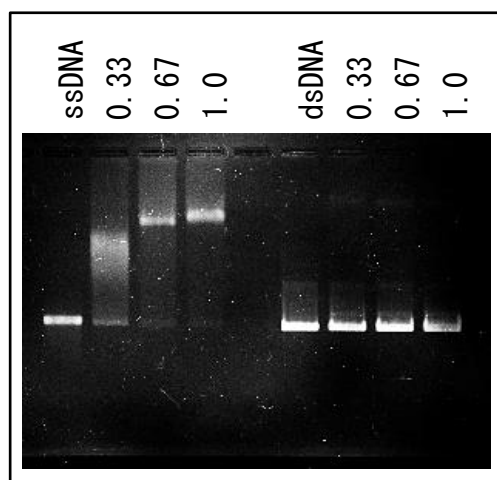


**Fig. 1 精製した hRPA**

精製した hRPA 3  $\mu$ g (右) を 12.5% SDS-PAAG で分離し CBB 染色した。右側の分子量を記載した矢印は、それぞれ RPA の 3つのサブユニットの位置と分子量を示す。

**Fig. 2 EMSA による精製した hRPA の ssDNA 特異的結合活性の検出**

基質となる 0.9kb DNA 断片は、PCR 増幅によって調製した。0.1  $\mu$ g の DNA 断片それぞれの、98°C 熱処理したもの (ssDNA)、またはしなかったもの(dsDNA)を用意し、表示した量の hRPA とともに 10  $\mu$ l の反応液(10mM TrisHCl pH7.5, 10mM MgCl<sub>2</sub>, 50mM NaCl) 内で氷上 10min、インキュベーションした。反応産物は TAE バンファァーを含む 1% アガロースゲルで 30min、100V 泳動し、その後 GelRed (BTI Biotium, 41003-T)によって染色した。加えた hRPA の量に従って ssDNA が特異的にシフトアップしている。使用した条件下では、hRPA 無添加の ssDNA 断片も dsDNA 断片も同様に位置に泳動されるが、ssDNA の方が染色効率が低く観察される。



**関係商品:**

10-085 Anti-RPA antibody  
02-040 T4 SSB (gene32)  
02-042 E. coli SSB  
02-044 Taq SSB  
02-046 HishRPA

**参考文献:**

1. [Replication Protein A, the Main Eukaryotic Single-Stranded DNA Binding Protein, a Focal Point in Cellular DNA Metabolism](#) Nasheuer HP, Meaney AM, Hulshoff T, Thiele I, Onwubiko NO. Int J Mol Sci. 2024 25 588. doi: 10.3390/ijms25010588 PMCID: PMC10779431
2. [Replication protein A: a multifunctional protein with roles in DNA replication, repair and beyond](#) Dueva R, Iliakis G. NAR Cancer. 2020 2 doi: 10.1093/narcan/zcaa022 PMCID: PMC8210275
3. [Replication-mediated DNA damage by camptothecin induces phosphorylation of RPA by DNA-dependent protein kinase and dissociates RPA:DNA-PK complexes](#) ShaoRG, Cao CX, Zhang H, Kohn KW, Wold MS, Pommier Y. EMBO J. 1999 18 1397–1406. doi:10.1093/emboj/18.5.1397 PMCID: PMC1171229