

組み換えDNA技術からゲノム配列決定

1975年：カリフォルニアのアシロマにおいて、組み換えDNA実験の安全性に関する激しい論争が、研究者の自主的な会議において展開され、組み換えDNA実験の本格的な幕開けとなった。

1979年：3月我が国においても、組み換えDNA実験の開拓に向け「大学等の研究機関等における組み換えDNA実験指針」が文部省大臣告示。

1980年：東京大学医科学研究所および大阪大学微生物病研究所に、組み換えDNA実験施設が設置された。

1983年：東京大学遺伝子実験施設を皮切りに、毎年、組み換えDNA実験施設が整備されるようになった。（施設予定地から江戸時代の土器が出土）

1995年：独立生活を営む生物（細菌）の最初の完全なゲノム配列決定。

2003年：ヒトのゲノム配列完成版が発表される。

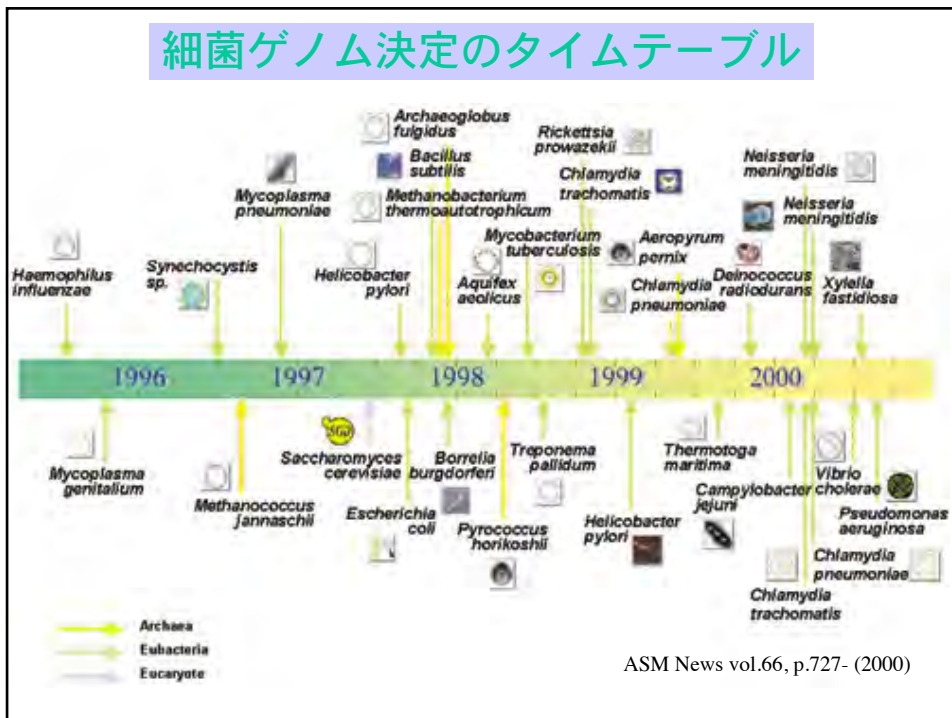
2010年：本間研のピブリオ菌株VIO5の全ゲノム配列を外注で決定。

2010年：本間研のVIO5変異体の変異部位を次世代シーケンサーで決定。

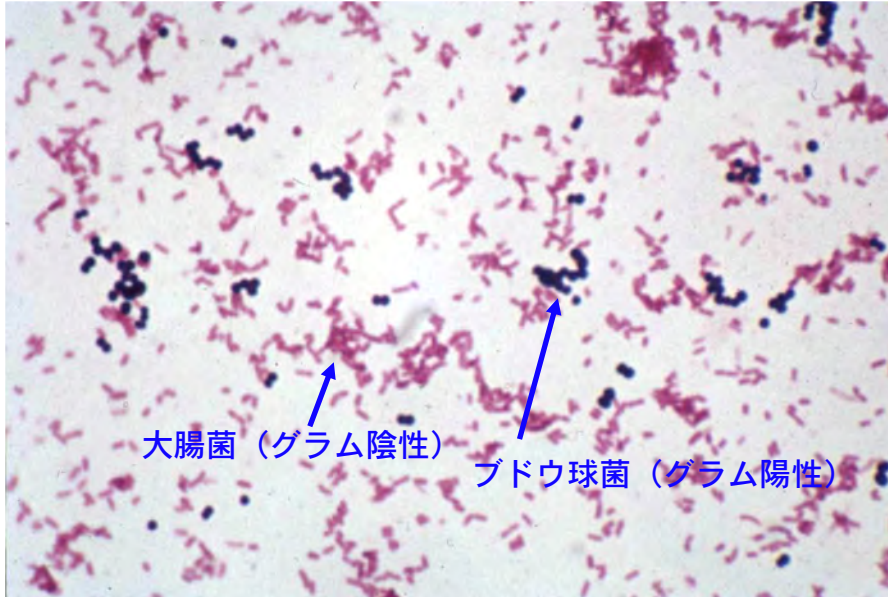
ゲノミクス から **プロテオミクス**
配列解読 から **インフォマティクス**

結局 生命現象理解のために、
タンパク質の機能解析をおこなう

細菌ゲノム決定のタイムテーブル



1. グラム染色



2. 細菌の形 I



ブドウ球菌

Staphylococcus

(*S. aureus*: 黄色ブドウ球菌)

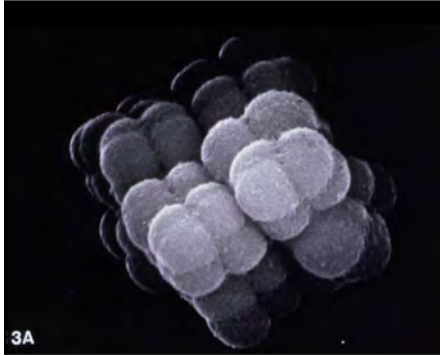


レンサ球菌

Streptococcus

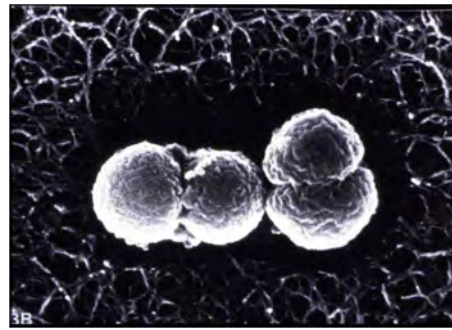
(*S. pneumoniae*: 肺炎レンサ球菌)

3. 細菌の形 II



マイクロコッカス (八連菌)

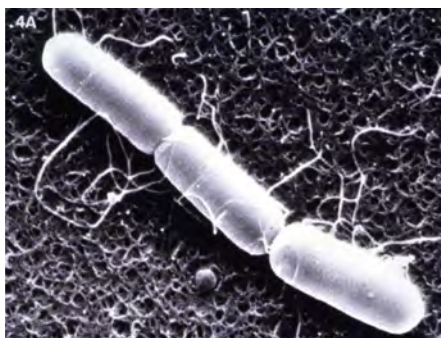
Micrococcus



淋菌 (双球菌)

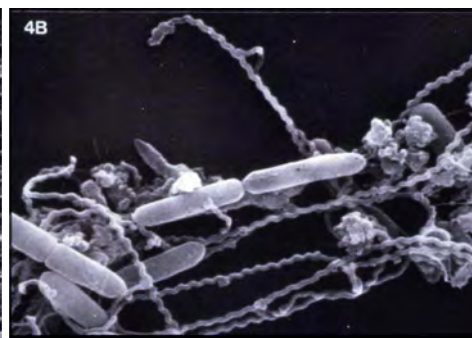
Neisseria gonorrhoeae

4. 細菌の形 III



枯草菌

Bacillus subtilis

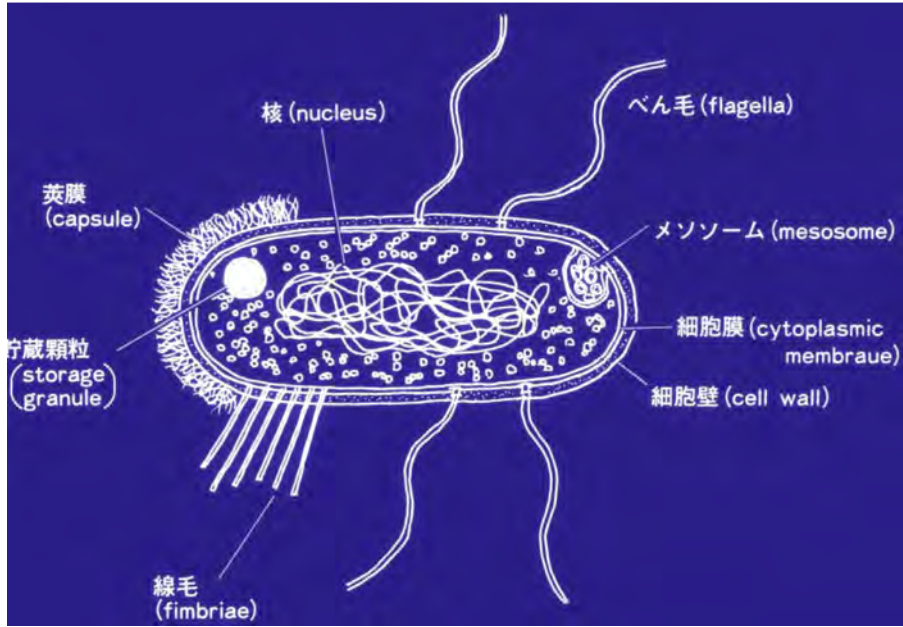


枯草菌とレプトスピラ

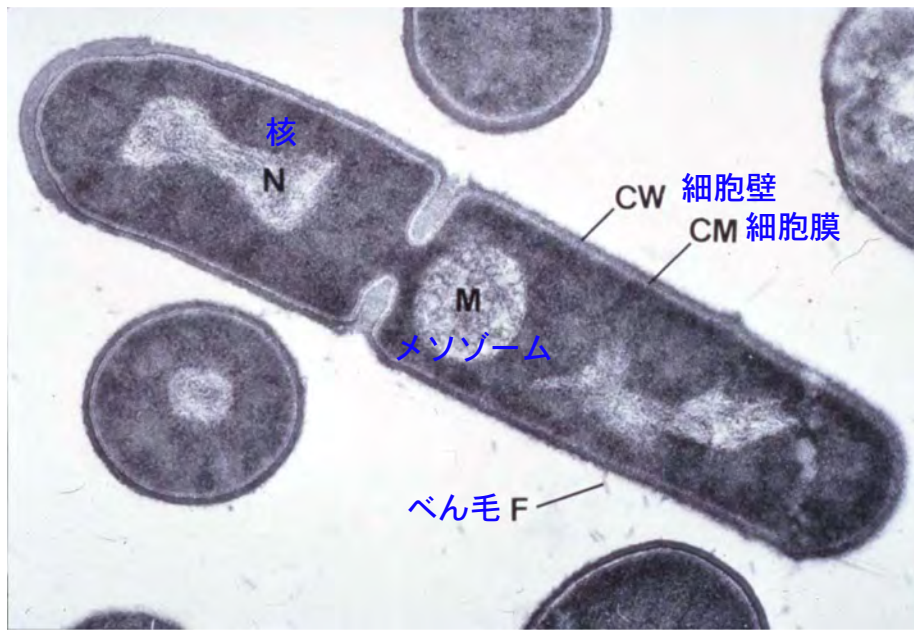
Leptospira

(スピロヘータ)

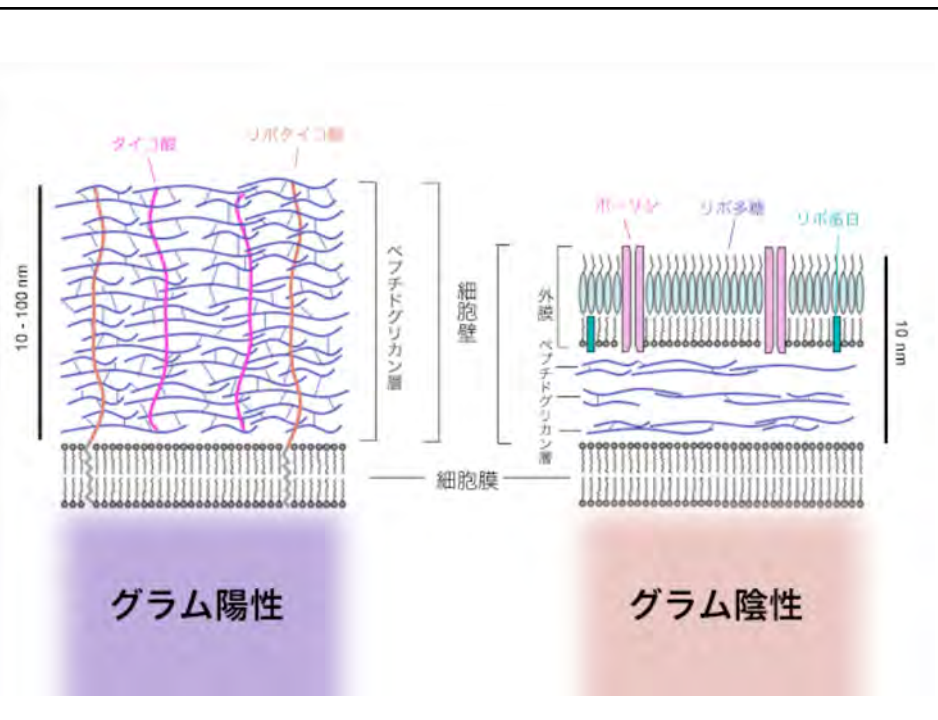
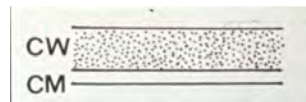
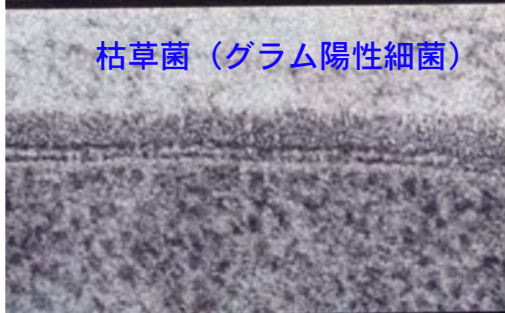
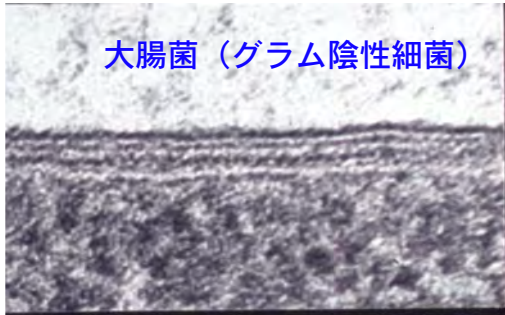
5. 細菌の構造



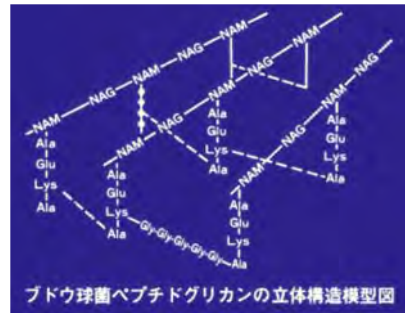
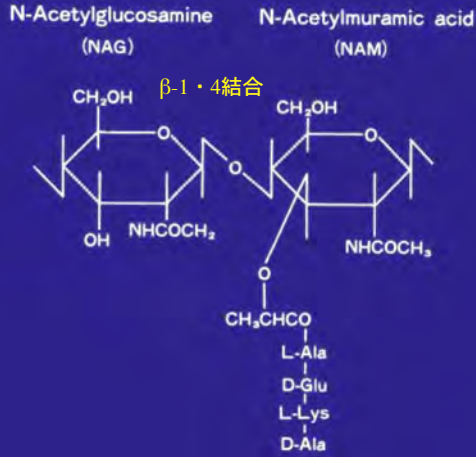
6. 枯草菌の超薄切片像



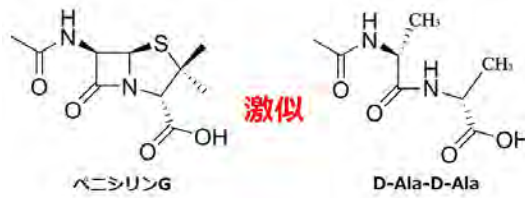
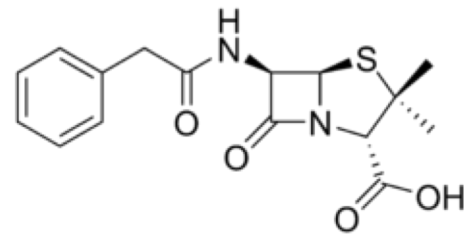
7. 超薄切片法で見た細胞壁の構造



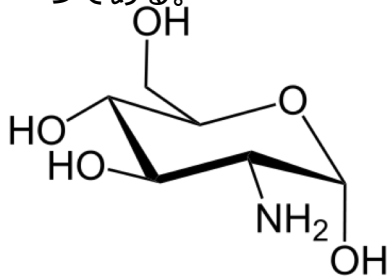
ペプチドグリカンの構成ユニットとペプチド鎖の結合



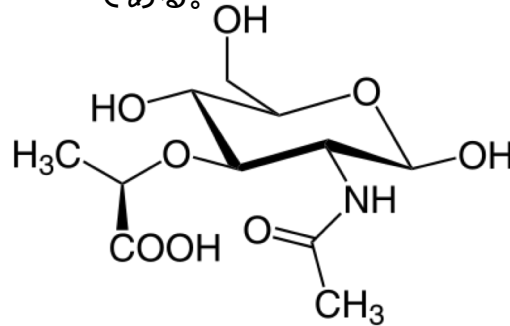
ペニシリンG



グルコサミン(Glucosamine、
化学式 $C_6H_{13}NO_5$)は、**グル
コース**の一部の水酸基が**アミ
ノ基**に置換された**アミノ糖**の
一つである。



N-アセチルムラミン酸
(N-Acetylmuramic acid)
は、N-アセチルグルコサ
ミンから誘導された単糖
である。



単一成分、またはコンドロイチン（コンド
ロイチン硫酸）との混合物として、栄養補給サ
プリメントや健康食品として販売されている
が、経口摂取の場合の変形性膝（-しつ）関節
症の改善効果は医学的に認められていない。

SUNTORY サントリーの健康食品・化粧品
サントリーウエルネスOnline

グルコサミンをお探しの方へ

サントリーグルコサミン&コンドロイチンは、

グルコサミン7年連続売上**No.1**^{※1}

しかも、満足度**96%!**^{※2}



累計売上
1900万
本!



サントリー
グルコサミン&コンドロイチン

グルセチンプラス

180粒入り/1日6粒目安(約30日分)

※1日の目安量を参考に、摂り過ぎにならないよう注意してご利用ください。

通販でしか購入できません

4,500円+税

購入する

※お得なコースもご用意しております。

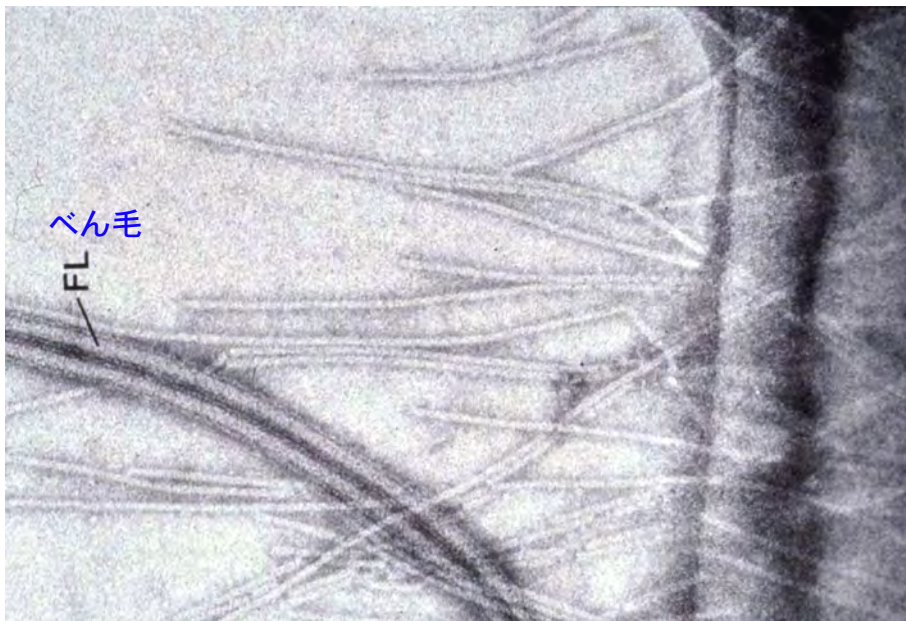
※表示価格には別途、消費税がかかります。 ※原則7日以内まで返品可能です。(送料はお客様負担) [詳細はこちら](#)
 ※1 2007-2013年売上金額(確定) 出典:H・Bフーズマーケティング便覧2009-2015 No.2 機能志向食品欄(グルコサミン成分カテゴリー内シェア)
 (株)富士経済
 ※2 円グラフ出典:サントリーのグルコサミン継続飲用1年以上のお客様対象の調査(2010年) n=700

毒素原性大腸菌のもつ線毛CFA/I

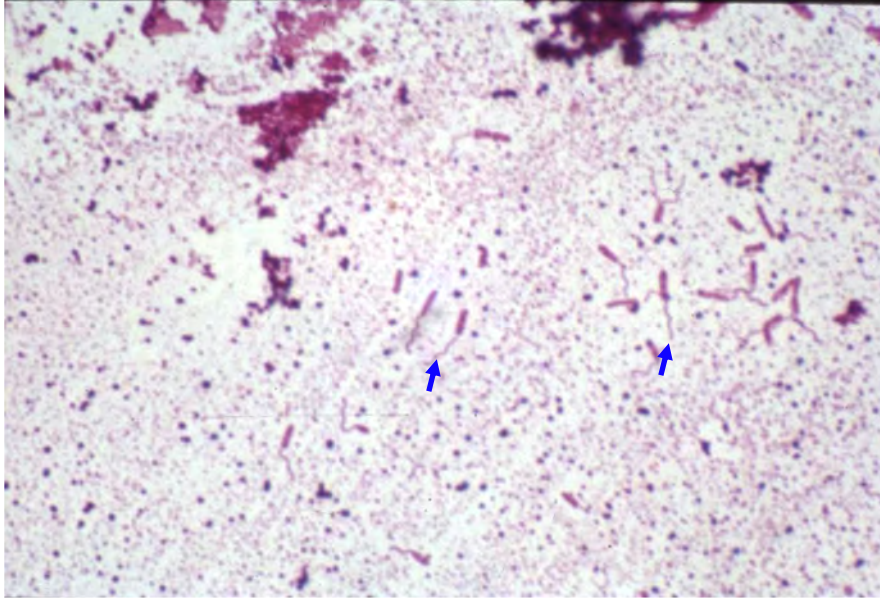
ヒトの腸管粘膜に付着する性質があり腸管への定着因子となっている



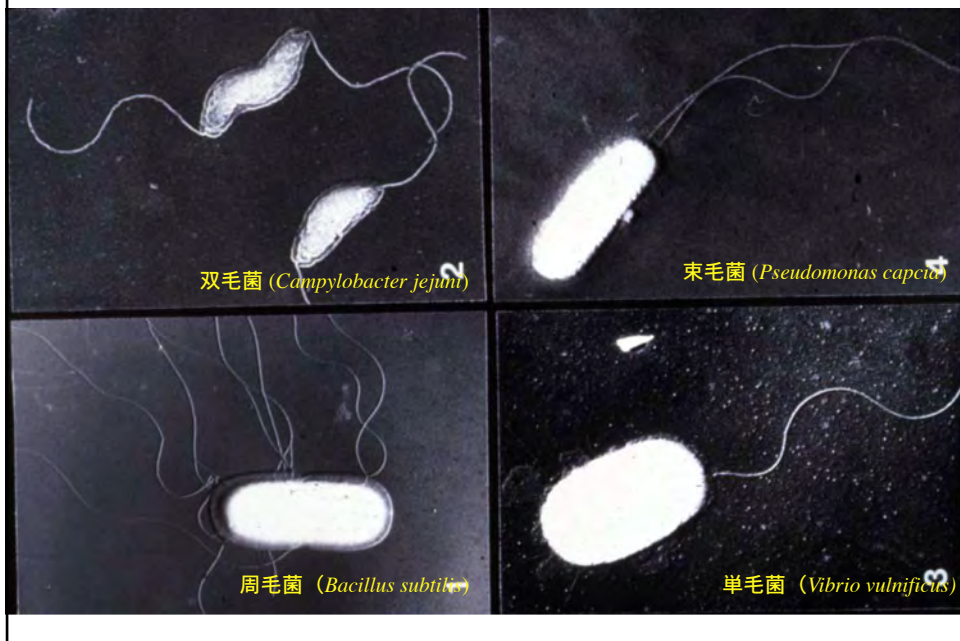
16. 大腸菌のtype I線毛とべん毛

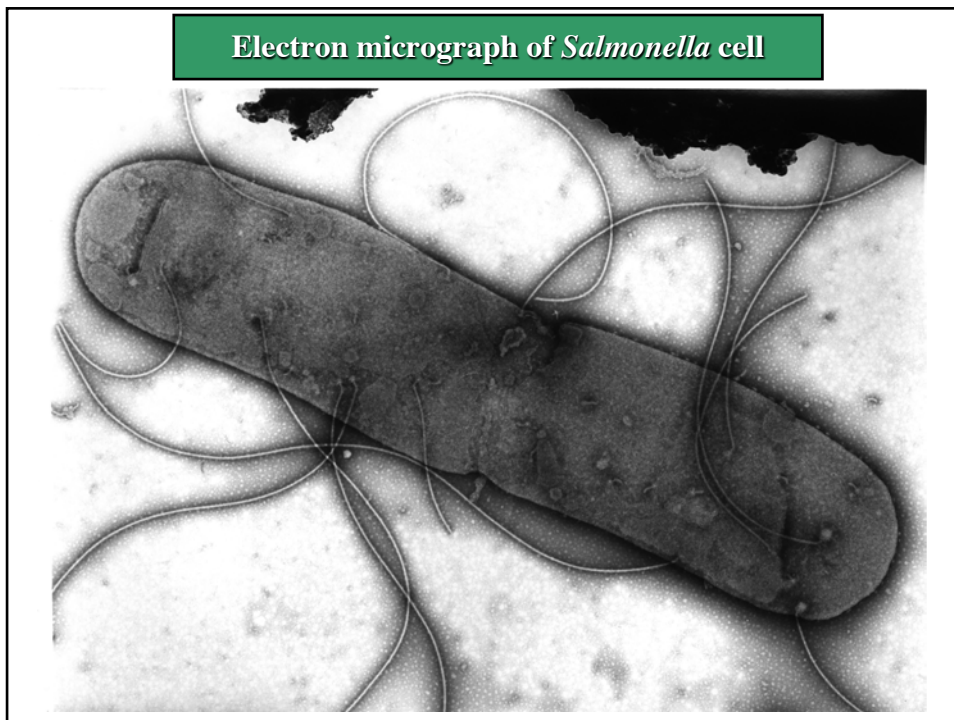
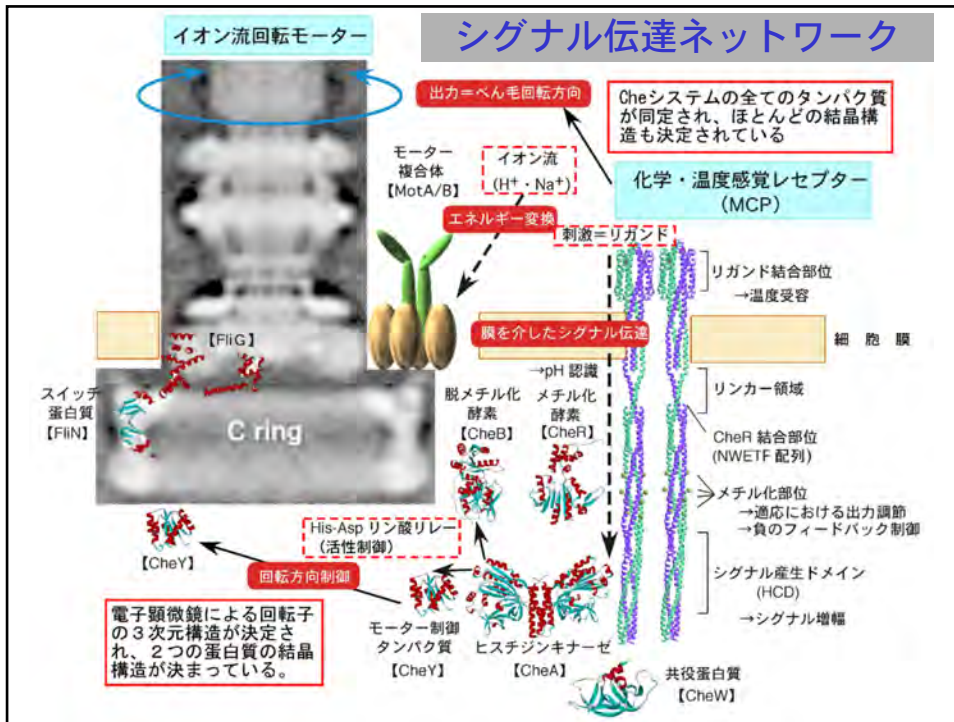


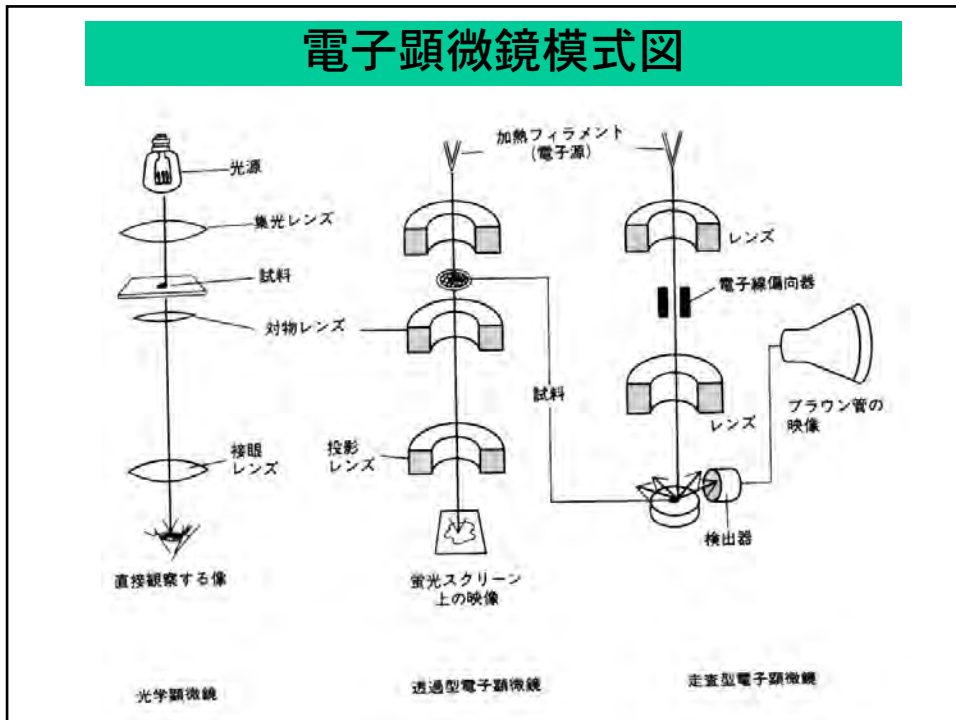
緑膿菌のべん毛染色 (戸田法)



菌体へのべん毛のつきかた







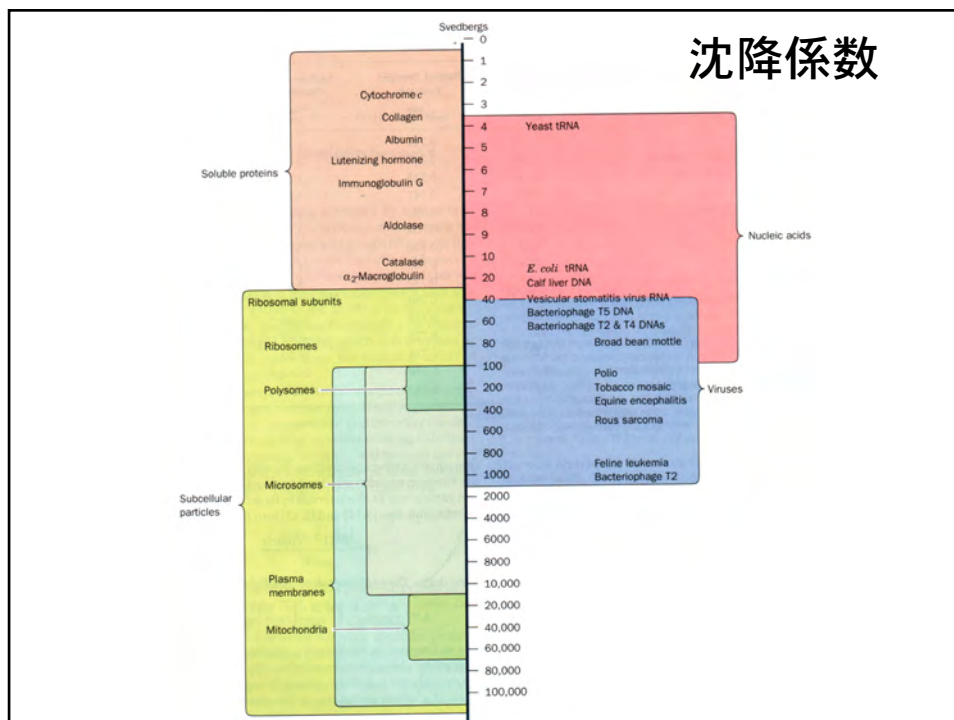
最新の電子顕微鏡

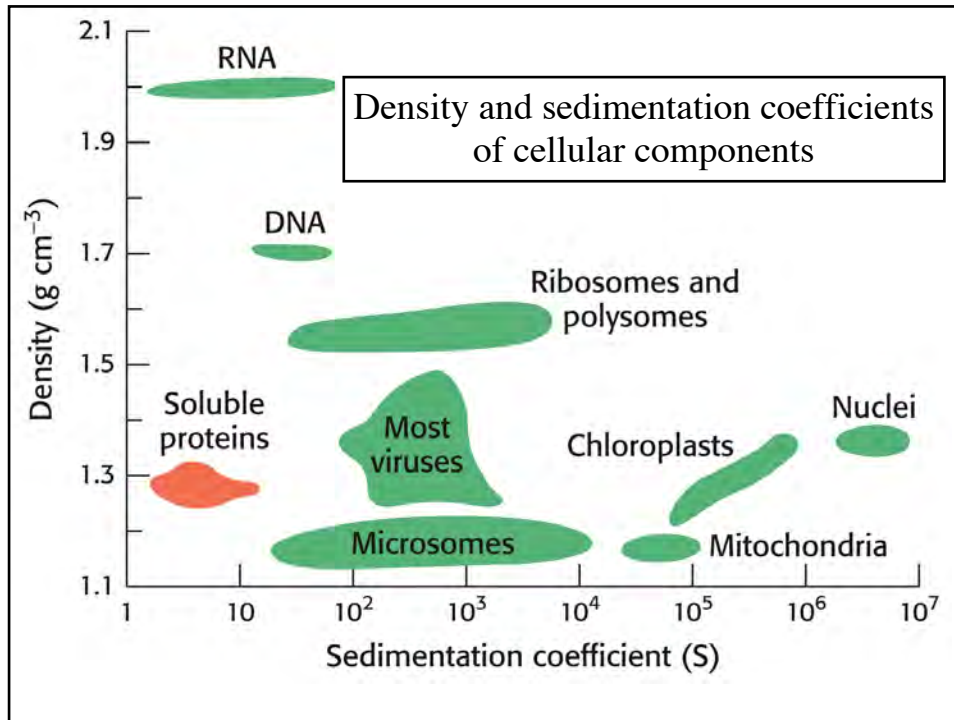
この値段はいくらで
しょうか？

安いもので、
5000万円くらい

べん毛の単離プロトコール

- 1) 菌体の回収 (低速遠心)
- 2) しょ糖を含む緩衝液にいれる
- 3) リゾチーム処理+ EDTA
- 4) トリトンX-100処理
- 5) $MgSO_4$ +DNase
- 6) EDTA
- 7) 低速遠心
- 8) 10万gで遠心
- 9) 沈殿をバッファーに懸濁





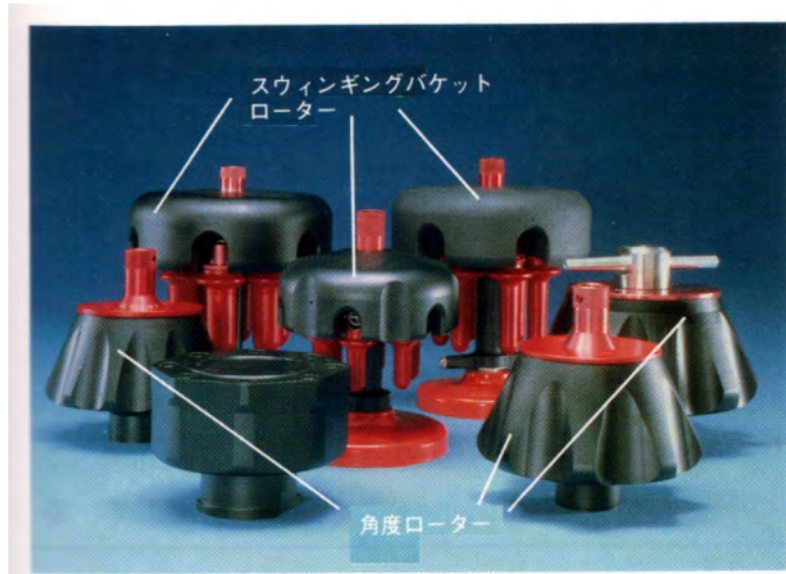
超遠心機



型式：CP100MX
 最高回転速度(rpm)：100,000
 最大遠心加速度($\times g$)：803,000
 回転制御精度(rpm)： ± 10
 加減速時間：0~100,000rpm:5分
 温度制御精度/表示： $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$
 真空方式：
 油回転真空ポンプ+油拡散真空ポンプ
 到達圧力0.13Pa以下
 駆動部保証：完全10年間
 冷却方式：
 フロンレス、サーモモジュール冷却システム
 表示
 大きさ(mm)：(W)790 \times (D)690 \times (H)1,000
 質量(Kg)：400
 標準価格(円)：

定価 800万円

超遠心ローター



70万円
210万円
350万円
700万円
1000万円
1800万円

遠心分離 I

遠心力

$$\text{加速度} = \alpha = r \omega^2$$

$$\text{角速度 (rad} \cdot \text{s}^{-1}) = \omega = d\theta / dt$$

$$\text{半径} = r$$

$$\text{加速度 } g = 9.8 \text{ m/s}^2$$

$$r = 10 \text{ cm} \quad \begin{aligned} 6,000 \text{ rpm} &\Rightarrow 0.1 \cdot (2\pi \cdot 100)^2 = 39,438 \text{ m/s}^2 = 4,024 g \\ 30,000 \text{ rpm} &\Rightarrow 0.1 \cdot (2\pi \cdot 500)^2 = 985,960 \text{ m/s}^2 = 100,608 g \end{aligned}$$

沈降力 は 遠心力から 浮力を引いたもの

$$F_s = m\omega^2 r - V_p \rho \omega^2 r$$

V_p = 体積

ρ = 溶液の密度

m = 質量

摩擦力 $F_f = v f$

v = 粒子の沈降速度

f = 摩擦係数

粒子の沈降速度は沈降力と摩擦力が釣り合うまで加速する

$$m = M(\text{分子量}) / N(\text{アボガドロ数})$$

$$\text{従って } m\omega^2 r - V_p \rho \omega^2 r = v f$$

$$\bar{V} = \text{偏比容} \approx \text{密度の逆数}$$

$$V_p = \bar{V} m = \frac{\bar{V} M}{N}$$

1 g の粒子を無限大溶溶媒に溶かしたときの溶液増加

20°CのDWに蛋白質を溶かしたとき⇒約0.73cm³g⁻¹

遠心分離 II

$V_p = \bar{V} \cdot m$; \bar{V} = 偏比容 \equiv 密度の逆数

$$V_p = \bar{V}m = \frac{\bar{V}M}{N} \quad \longrightarrow \quad vf = \frac{M(1 - \bar{V}\rho)\omega^2 r}{N}$$

沈降係数 s を定義する $10^{-13}s = 1S(\text{スドベリ})$ として表す

$$s = \frac{v}{\omega^2 r} = \frac{1}{\omega^2} \left(\frac{d \ln r}{dt} \right) = \frac{M(1 - \bar{V}\rho)}{Nf}$$

加速度に対する粒子の沈降速度

半径 r の粒子の f (摩擦係数) はストークの式で計算される

$$f = 6\pi\eta r_p \quad \eta = \text{粘度}$$

f と f_0 (最小摩擦係数: 水和していない球体) を求めることで分子形が推定出来る