

問題

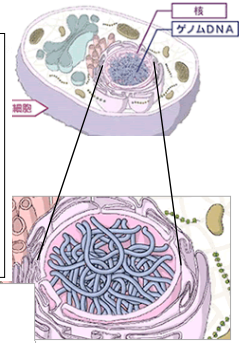
- 1) バクテリオファージを説明せよ。
- 2) T4バクテリオファージの構成成分とその形態を書け。

答案用紙に名前を書くのを忘れないこと。

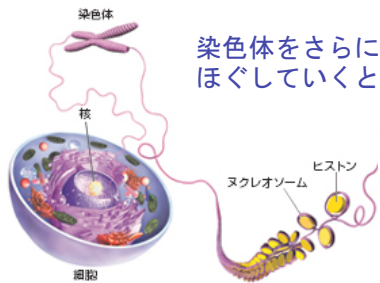
DNAはどこにある？



染色体（男）46本
($2n=46$)



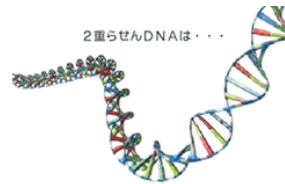
DNAは小さく折りたたまれている



染色体をさらにほぐしていくと

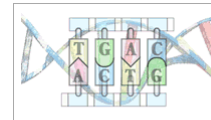
DNAの太さは髪の毛の約4万分の1
その長さは、すべて伸ばすと(1つの細胞で) 2m

DNAは4種類の暗号でできている



二重らせん構造のDNAは
4つの塩基から成っている

並び方=遺伝情報の正体



ヒトのゲノムDNAは
約30億個もの塩基からできている

DNA を操作する

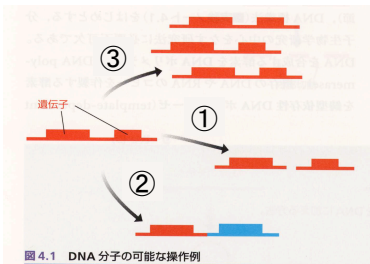


図 4.1 DNA分子の可能な操作例

遺伝子を

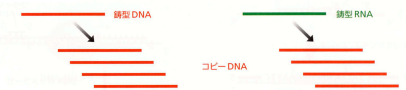
- ①切ったり
- ②貼ったり
- ③増やしたり

- ・ DNA鑑定
- ・ 遺伝子診断 (治療)
- ・ 遺伝子組み換え作物

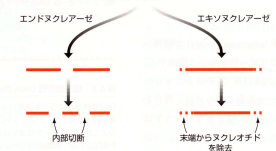
DNA 操作に 用いる酵素

- ①ヌクレアーゼ
- ②DNAリガーゼ
- ③DNAポリメラーゼ

③増やす



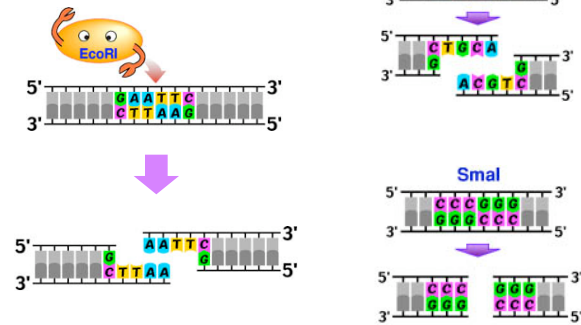
①切る



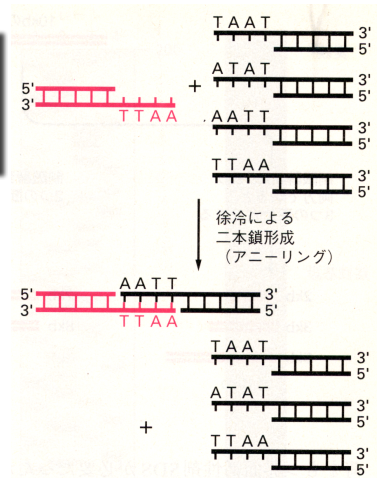
②貼る



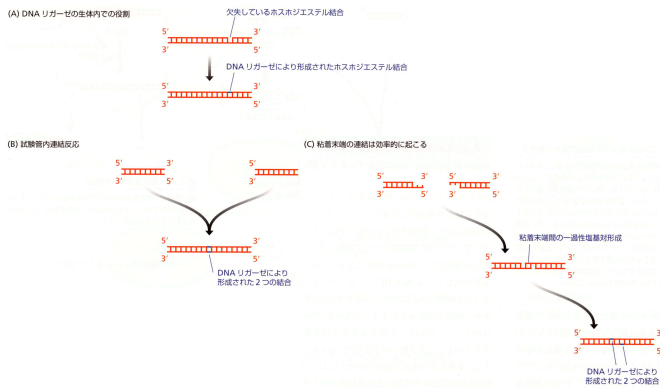
制限酵素でDNAを切る



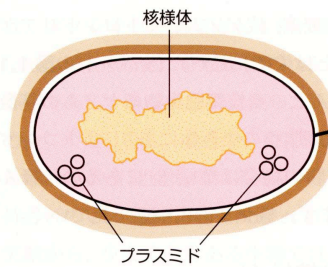
制限酵素切断後のDNA断片の末端 (粘着末端)



DNA リガーゼ



プラスミド



レプリコン：複製起点をもち、それによって自己複製できる DNA 分子

プラスミド：染色体とは別に自己複製される遺伝因子（核外遺伝子）

菌を壊してプラスミドだけを取り出すことができる

プラスミドはある種の原核生物細胞の中に見いだされる小型の環状 DNA である

形質転換

プラスミドをもたない大腸菌細胞（薬剤感受性）

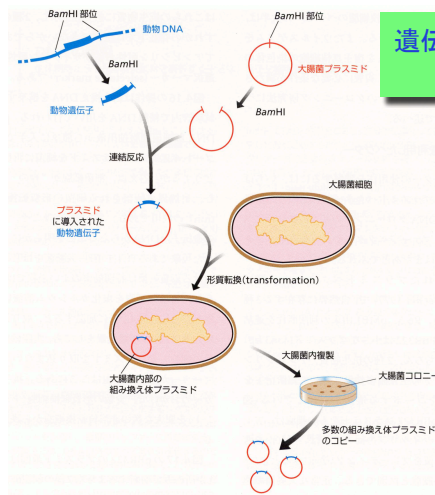
精製したプラスミド DNA（薬剤耐性遺伝子を含む）



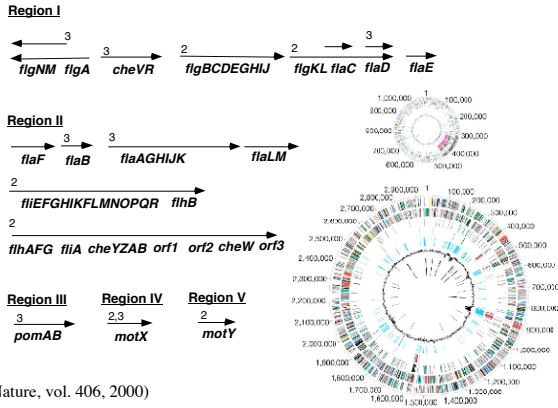
- 1) カルシウム処理法
- 2) 電気穿孔法
- 3) パーティクルガン法

プラスミドを獲得した大腸菌細胞（薬剤耐性）
= 形質転換体

遺伝子クローニングの概要



Flagellar genes of *Vibrio cholerae* (More than 50 genes)



遺伝子操作の実際

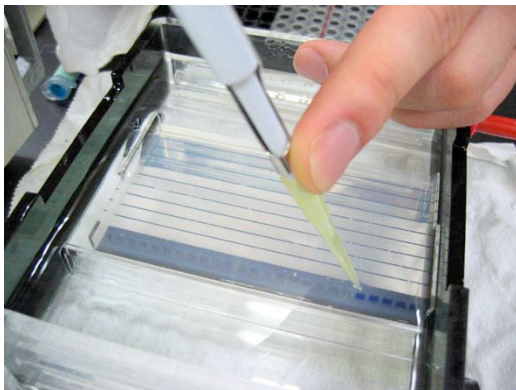
研究室の風景（DNA操作）



研究室の風景（電気泳動）



DNAを目で見よう



アガロースゲル電気泳動

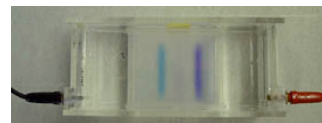
泳動開始



泳動後、ゲルを
臭化エチジウム
(EtBr)で染色

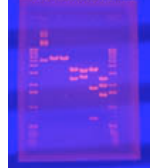
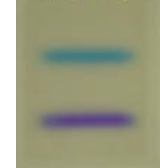
染色したゲルに
紫外線を照射して
観察

泳動開始終了

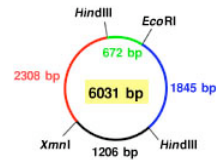
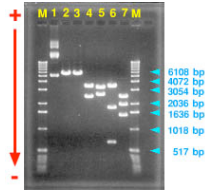


臭化エチジウムで染色
EtBr staining

紫外線を照射
UV irradiation



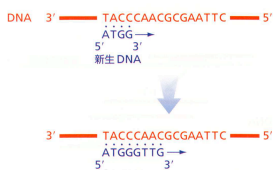
制限酵素地図をつくる



レーン	電気泳動したDNA	DNAの長さ
M	すでに長さ分かっているDNA	ポラロイド写真の右側に記載
1	大腸菌から単離したプラスミド	6031 bp (環状の緑青黒赤)
2	EcoRIで切ったプラスミド	6031 bp (直鎖状の青黒赤緑)
3	XmnIで切ったプラスミド	6031 bp (直鎖状の赤緑青黒)
4	HindIIIで切ったプラスミド	2517 bp (緑青)と3514 bp (黒赤)
5	EcoRIとXmnIで切ったプラスミド	2980 bp (赤緑)と3051 bp (青黒)
6	EcoRIとHindIIIで切ったプラスミド	672 bp (緑)と1845 bp (青)と 3514 bp (黒赤)
7	HindIIIとXmnIで切ったプラスミド	1206 bp (黒)と2308 bp (赤)と2517 bp (緑青)

遺伝子配列の決定法

DNA ポリメラーゼ

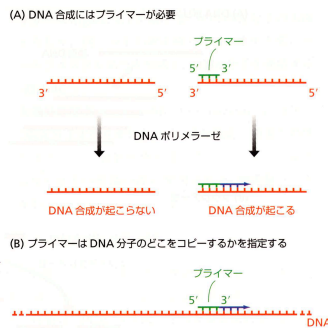


DNA 依存性 DNA ポリメラーゼの活性

新しいヌクレオチドを、伸長中のポリヌクレオチドの3'末端に付加していく。新規ポリヌクレオチドの配列は、鋳型DNAの配列で決まる。

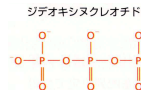
鋳型 DNA が必要
伸長方向が決まっている
(5' → 3')

プライマーが必要



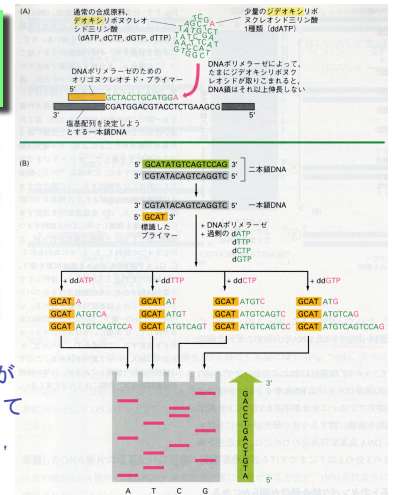
(A) DNAポリメラーゼはポリヌクレオチド新鎖合成の開始にプライマーを必要とする。(B) オリゴヌクレオチドの塩基配列により、鋳型DNA上のどこにプライマーが付着するかが決まり、したがってコピー制御領域が指定される。

DNA 塩基配列の決定 (ジデオキシ法)



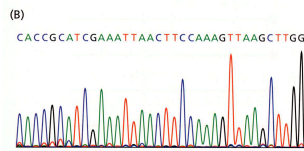
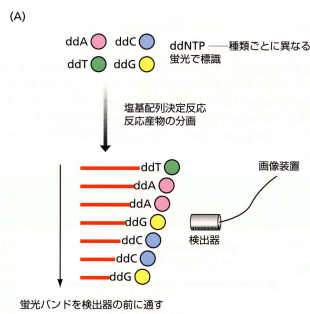
* ddNTPのOH基がH基に入れ替わっている位置

ジデオキシヌクレオチドがDNAポリメラーゼによってDNA鎖に取り込まれると、それ以上伸長しなくなる。



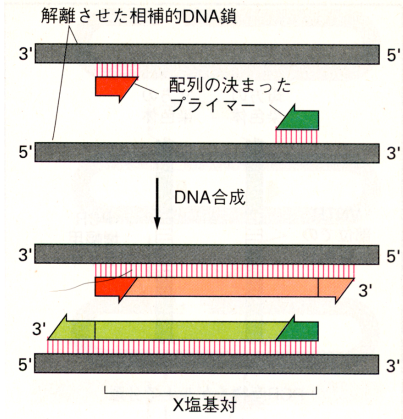
DNA 塩基配列決定の自動化

各ジデオキシヌクレオチドを異なる蛍光物質で標識。
1本の試験管内で反応を行う。

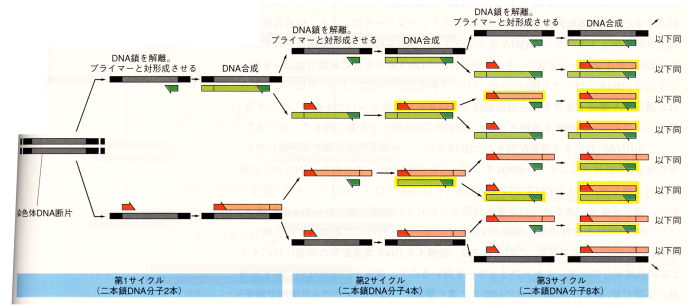


DNA鑑定はどのように行うか？

PCR (ポリメラーゼ連鎖反応)

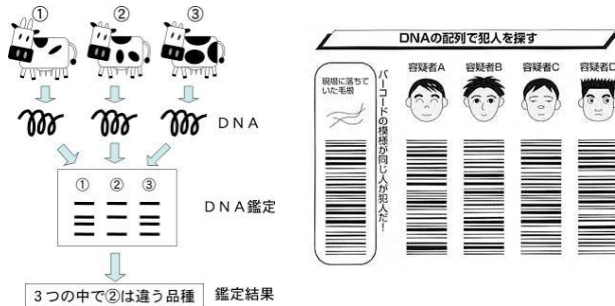


PCR 法による DNA 増幅



二つのプライマーで挟まれた領域が増幅される。

DNA鑑定でなにがわかるか

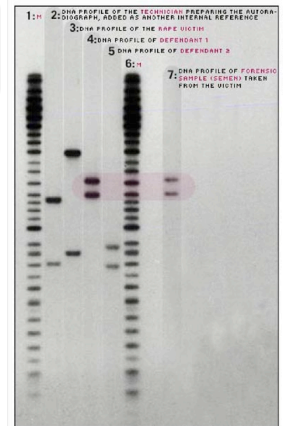


血液型すらわからないようなわずかな血液でも鑑定ができる
 だ液などその人の体の部品ならどんなものでも鑑定ができる

実際に使われている例

DNA鑑定を用いた犯罪捜査
 これはアメリカでの一例。

1. サイズマーカー
2. 技術員のDNA
3. 被害者のDNA
4. 容疑者 1 のDNA
5. 容疑者 2 のDNA
6. サイズマーカー
7. 犯人のDNA



裁判所に出す証拠としても最も信用されるものとされている