

DNA分子を切斷してみよう

科学者の芽育成プログラム2014年度
土曜ジュニアセミナー第1回

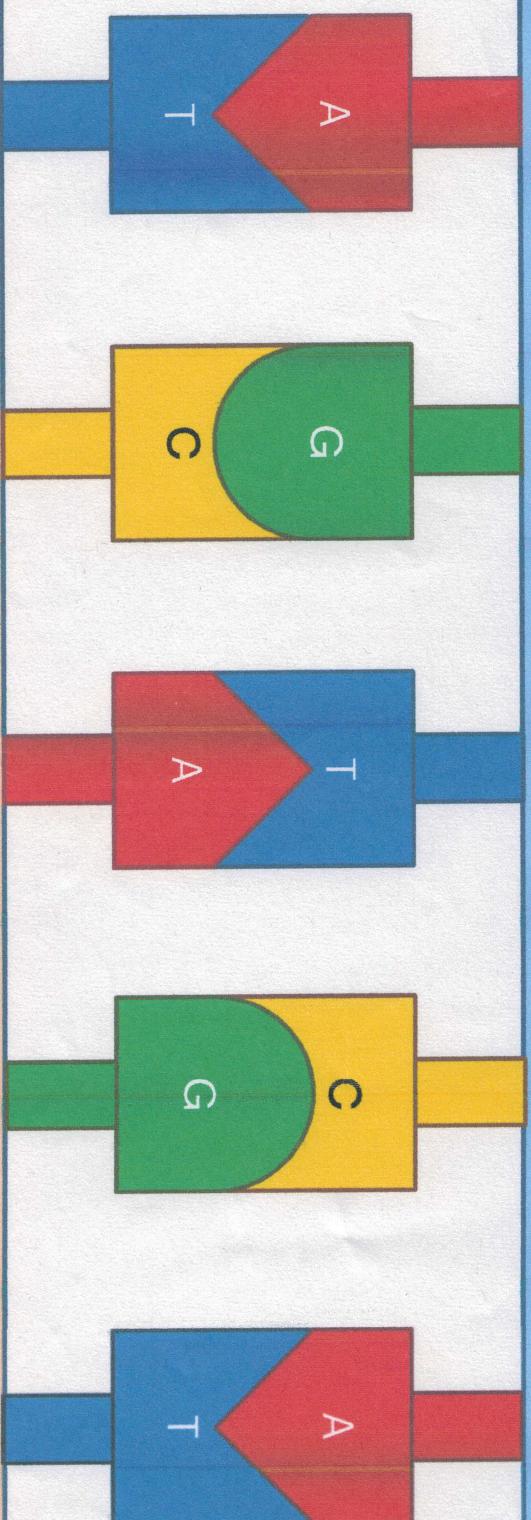
ステップ2
6年 福島 功基

DNAの基本知識

● 斜線トヘ縦モ直モアヘミア
内音モコンドリトヘヨクルアヘテヒテアヘテア
原木友季
2014.8.20

DNAは、アデニン($C_5H_5N_5$)、チミン($C_5H_6N_2O_2$)、グアニン($C_5H_5N_5O$)、シトシン($C_4H_5N_3O$)と
いう4つの塩基と、2'デオキシリポースおよびリン酸を構成要素にもつ化合物で、
塩基と2'デオキシリポースが結合した単位を、ヌクレオシドと呼ぶ。

アデニンと結合したヌクレオシドはアデノシン(A)、チミンが結合したものはチミジン(T)、
グアニンが結合したものはグアシン(G)、シトシンが結合するヒジチジン(C)と呼ばれる。
ヌクレオシドは、さらにリン酸を介してお互いに結合し、ポリマーを形成してDNAとなる。
ヌクレオシドとリン酸の結合単位はヌクレオチドと呼ばれるが、AとT、GとCの組み合わせで、
結合する。



遺伝情報はDNAに塩基配列として書きこまれている

4つのヌクレオチドがどのよだな順番で結合するかによって、非常にたくさんの異なる①DNAが誕生する。

例えれば、n個のヌクレオチドを含むDNAには、4のn乗のヌクレオチド配列が可能である。3ヌクレオチドからなる塩基配列は、一つの情報単位を成す。これをコドンと呼んでいる。コドンは、それぞれに対応するアミノ酸が、次のページの表のように決まっており、コドンの情報に従い、アミノ酸がポリペプチドに結合されてゆく。

DNAの塩基配列はたんぱく質を合成するための設計図である

「へ まか け て て RNA」
か 通 云 物 會 せ る
ほ か く て て よ す

生命活動を担うたんぱく質は、DNAの塩基配列情報によって生合成される。

DNAの塩基配列情報はm(伝令、メッセンジャー)RNAに書き写される。

1つのDNAから多くのmRNAが転写されるが、これはそのあとのタンパク質合成を効率よく行うためである。

mRNAに転写されたDNAのコドン情報をもとに、r(リボソーム)RNAがアミノ酸を作り、t(転移、運搬、ransfär)RNAが、作られたアミノ酸をポリペプチドに結合してゆき、最終的に目的のタンパク質が生合成される。

「セントラルドック」とい、分子生物学、でも重要な考え方ってア

DNA分子を切斷してみよう

科学者の芽育成プログラム2014年度
土曜ジュニアセミナー第1回

ステップ2
6年 福島 功基

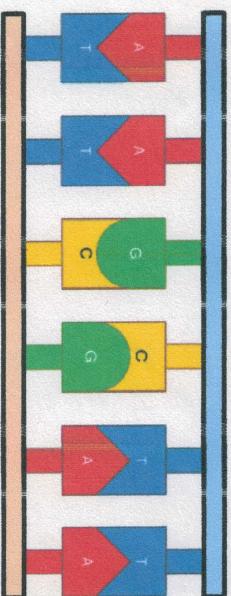
1番目の塩基	2番目の塩基			3番目の塩基
	T	C	A	
T	TTT フュルアラニン (C ₉ H ₁₁ NO ₂)	TCT	TAT	TGT システイン (C ₉ H ₁₁ NO ₃)
	TTC	TCC	TAC	TGC ((C ₃ H ₇ NO ₂ S)
	TTA	ロイシン (C ₃ H ₇ NO ₃)	TAA	TGA 終始コドン
	TTG	(C ₆ H ₁₃ NO ₂)	TCG	TAG 終始コドン
C	CTT ロイシン (C ₆ H ₁₃ NO ₂)	CCT	CAT ヒスチジン (C ₆ H ₉ N ₃ O ₂)	CGT
	CTC	CCC	CAC	CGC アルギニン (C ₆ H ₁₁ NO ₂)
	CTA	CCA	CAA	CGA (C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂)
	CTG	CCG	CAG	CGG G
A	ATT イソロイシン (C ₆ H ₁₃ NO ₂)	ACU	AAT アスパラギン (C ₄ H ₈ N ₂ O ₃)	AGT セリン (C ₃ H ₇ NO ₃)
	ATC	ACC	AAC	AGC C
	ATA	ACA	AAA	AGA A
		トレオニン (C ₄ H ₉ NO ₃)	リジン (C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂)	アルギニン (C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂) G
G	ATG (開始コドン) (C ₅ H ₁₁ NO ₂ S)	ACG	AAG リジン (C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂)	AGG (C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂) G
	GTT バリン (C ₅ H ₁₁ NO ₂)	GCT	GAT アスパラギン酸 (C ₄ H ₇ NO ₄)	GGT T
	GTC	GCC	GAC アラニン (C ₃ H ₇ NO ₂)	GGC C
	GTA	GCA	GAA ドルタミン酸 (C ₂ H ₂ NO ₂)	GGA A
	GTG	GCG	GAG (C ₅ H ₉ NO ₄)	GGG G

DNA分子を切斷してみよう

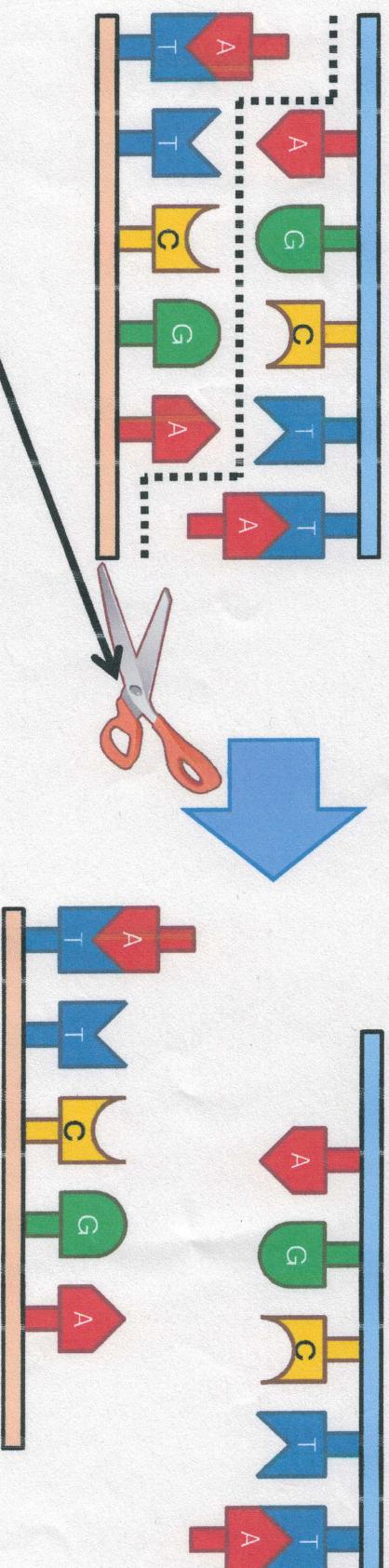
科学者の芽育成プログラム2014年度
土曜ジュニアセミナー第1回
6年 福島 功基
ステップ2

制限酵素 *Hind* III

制限酵素は、塩基配列で、一方が、ある特定の組み合わせの時、DNAを切斷する働きを持つ酵素である。*Hind* IIIは塩基配列が、AAGCTTの時にだけ、下の図のようにDNAを切斷する。



⑨ 制限酵素は *Hind* III だけでなく、
Xba I (塩基配列が TCTAGA の時に働く) や、
cpo I (*Rsr* II) (塩基配列が、CGGACCGや
CGGTCCG の時に働く)、*Eam* 1 105 I (塩基配列
が、GACNNNNGTC の時に働く) などがある。



このハサミの役目をするのが
制限酵素 *Hind* III

てへ絵も自分で作ってからはじめていたいと思ってます。

ラムダファージDNAの制限酵素による切断とアガロース電気泳動による解析

ラムダファージDNAの制限酵素による切断

1. ラムダファージDNA溶液 $17\mu\text{l}$ (DNA濃度0.3 $\mu\text{g}/17\mu\text{l}$)が入ったエッペンドルチューブに、緩衝液Buffer Kを入れる。
2. チューブに $1\mu\text{l}$ の制限酵素HindIIIを加えた後、すぐにボルテックスマキサー(台の上に物を押し付けると、台が震える機械)でよく混ぜ、マイクロ遠心機(チューブを差し込んで蓋を押し付けると、遠心力で液を下に落してくれる小さい機械)で溶液をチューブの底に集める。
3. チューブを37度で30分間インキュベート(保温)する。
4. 30分以上たつたら、インキュベーションの終わったチューブに反応停止液(ブロムフェノールブルー)を $2\mu\text{l}$ 加え、ボルテックスマキサーでよく攪拌し、内容物をチューブの底に集める。

DNAのアガロースゲル電気泳動による解析

アガロース

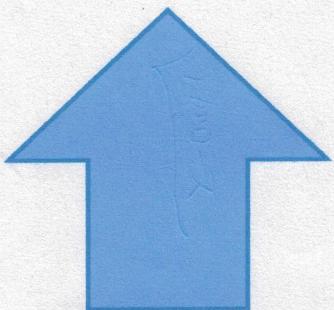
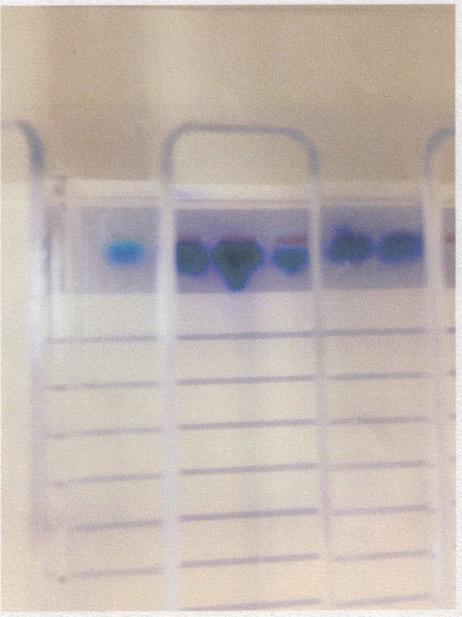
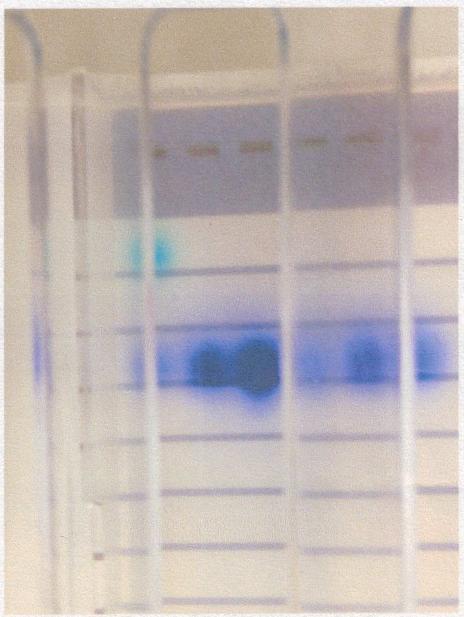
1. ピペットマンを使い、サンプル $15\mu\text{l}$ をゲルのレーン(穴の中)に入れる。
2. 100ボルトで20分間電気泳動する。この時、陽極と陰極を間違えないようにする。
3. その後、LEDモニターの下でバンドパターンを確認する。

DNA分子を切断してみよう

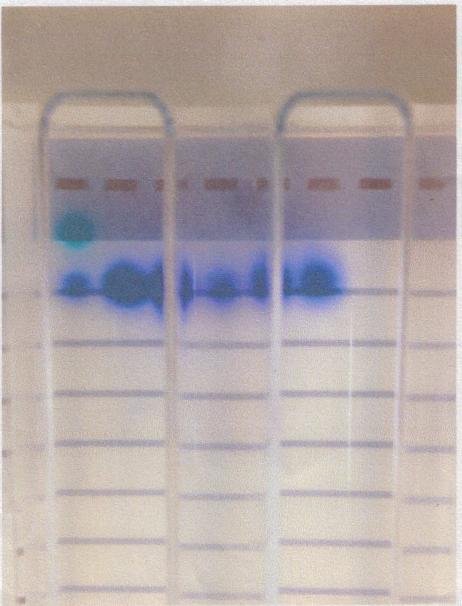
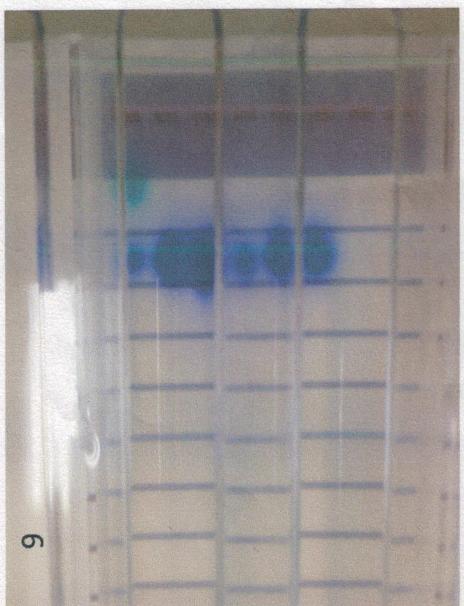
科学者の芽育成プログラム2014年度
土曜ジュニアセミナー第1回

ステップ2
6年 福島 功基

電気泳動中は下のように紫色の部分が、徐々に右に動いていった。

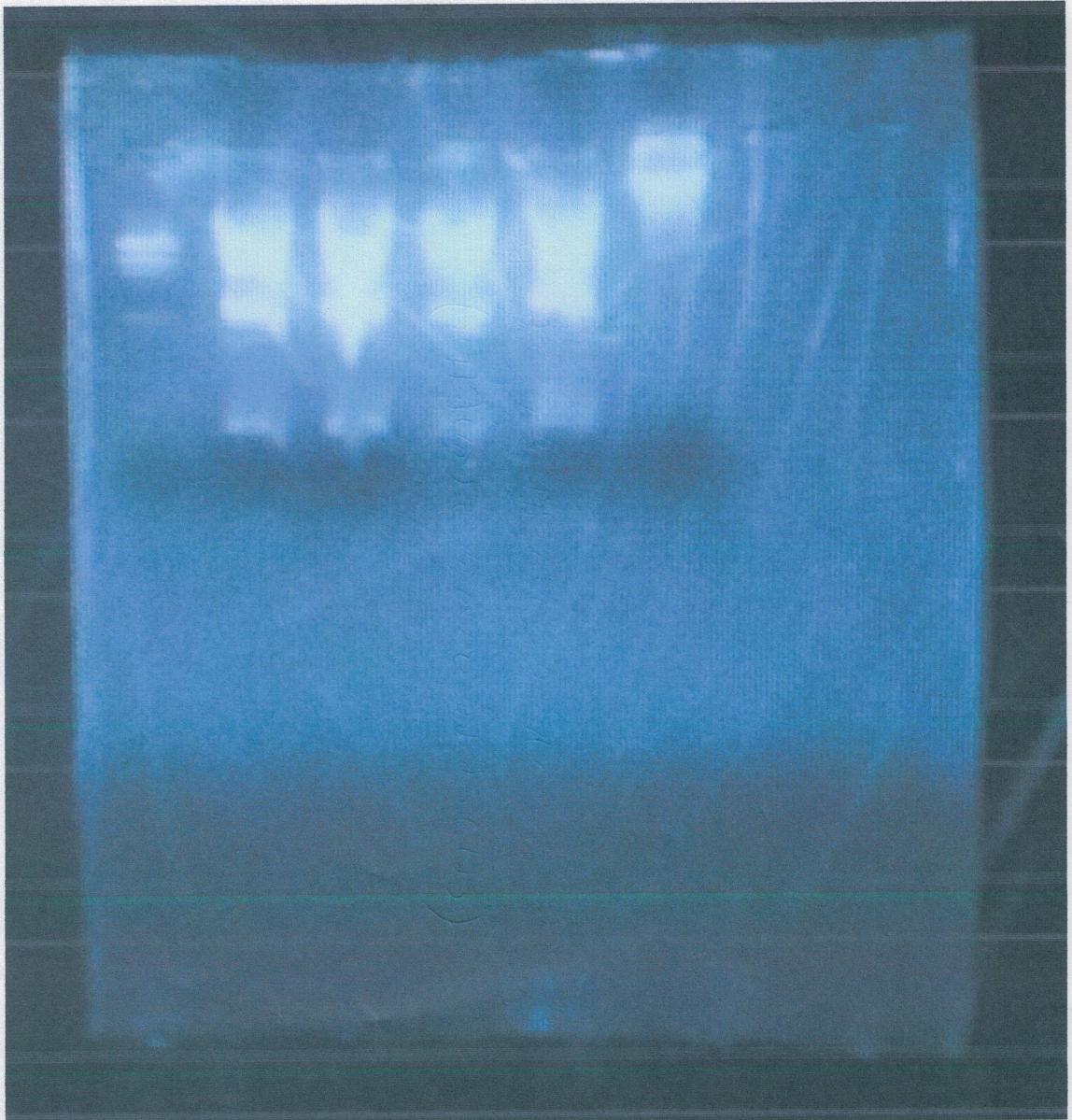


△ まだ少し泳ぐよ。
(時間(分)も分かれなくなっちゃう)



DNA分子を切斷してみよう

LEDモニターで確認した結果がこうなった。



OK
≡

科学者の芽育成プログラム2014年度
土曜ジュニアセミナー第1回

ステップ2
6年 福島 功基

DNA分子を切斷してみよう

科学者 の 萌芽 成 プロ グラム 2014 年度
土曜 ジュニア セミナー 第1回

ステップ2
6年 福島 功基

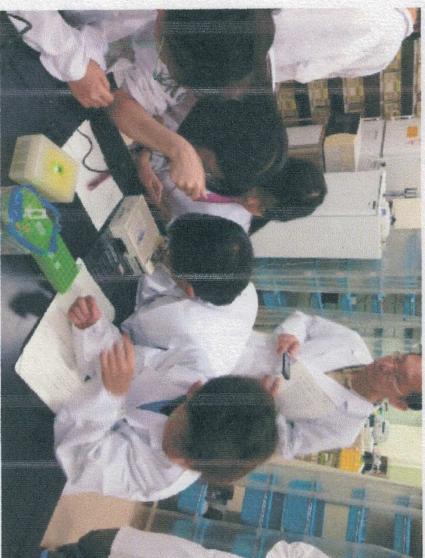
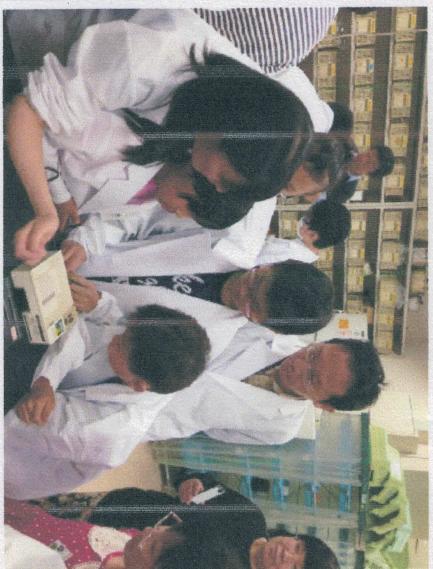
DNAが切れると何ができるか

DNAが切れるときの現象を観察する。例えは、おいしいが少ない量しか取れないトウモロコシと、まずいが沢山の量が取れる大豆があつた時、遺伝子を切れる制限酵素がわかつていれば、2つの遺伝子を制限酵素で切って、空いたところに目的の遺伝子を組み込むことができる。トウモロコシに、大豆の遺伝子を組み込むことによって、おいしくて沢山の量ができるトウモロコシに、取れるようになるかもしない。

しかし、遺伝子組み換えでできたものは、本当にトウモロコシと言えるのかという問題が残る。また、遺伝子組み換えでできたものを、人が食べて安全かどうかもわからない。

それらの事を解決していけば、もっと活用の道は広がるのではと思った。

⑥
おまけ
作業中の様子



⑦
おまけ
作業中の様子