

バイオテクノロジー～DNAを増やす・導入する・探索する

目的

- 遺伝子を「切る・つなげる」「増やす」「導入する」ための基本的な技術がどのようなものかわかる。
- 大腸菌への遺伝子組換え実験について、各操作の原理も含めて説明することができる。
- 電気泳動、塩基配列決定法、RNAiなどの技術がどのようなものかわかる。

課題1 DNAを増やすことを「クローニング」という。その代表的な方法に、大腸菌を用いた方法がある。どのようにDNAを増やしているのか、以下のポイントに注意して説明せよ。

- 何のために制限酵素やDNAリガーゼでDNAを切ったりつなげたりするのか？
- プラスミドとは何か？ゲノムDNAとの違いは？
- 増やしたいDNAをどうやって大腸菌の内部に届けるか？
- どのようなしくみで増やしたいDNAが増えるのか？

課題2 制限酵素には、様々な種類のものがあるが、DNAリガーゼによりDNAをつなげるときには、同じ制限酵素で切断された部位同士がつながり、異なる制限酵素で切断された部位がつながることはない。これはなぜか説明せよ。

課題3 大腸菌を用いたDNAクローニングに比べて、PCR法はどのような点が優れているか説明せよ。

課題4 教科書P133問4、問5を解け。

課題5 教科書P133脚注に「あらかじめイントロンを除いたインスリン遺伝子を組みこむ必要がある」とあるが、どのようにすれば「イントロンを除いたインスリン遺伝子」を得ることができるのか説明せよ。

課題6 「遺伝子組換え作物」がどのように作成されているか説明せよ。

課題7 動物への遺伝子導入の方法を2種類説明せよ。

課題8 「ゲノム編集」は「従来の遺伝子組換え」に比べてどのような点が優れているか説明せよ。

課題9 教科書P136「目的の遺伝子が導入された細胞を選択する」を読み、マーカー遺伝子を用いた細胞の選択のしくみを確認せよ。

課題 10 電気泳動に関して、以下の問に答えよ。

- ①なぜDNAはアガロースゲル中を+極に向かって移動するのか？
- ②なぜ、DNAの長さによって移動度に差が出るのか？
- ③DNAはそのままでは「見えない」が、どうすればDNAのバンドを「見る」ことができるか？

課題 11 サンガー法に関して、以下の問に答えよ。

- ①なぜジデオキシリボースによりDNA合成が止まるのか？
- ②なぜ電気泳動の結果から塩基配列を決定することができるのか？

課題 12 教科書P143図42が何を意味しているか確認せよ。

課題 13 cDNAとはどのようなもので、何のために、どのように作成するか説明せよ。

課題 14 教科書P144「GFPを用いた遺伝子発現解析」を読み、そのしくみを確認せよ。

課題 15 教科書P148～P151を読み、以下の問に回答せよ。

- ①LB寒天培地にアンピシリンやIPTGを混合するのはなぜか？
- ②一連の操作では、寒天培地に空気中の細菌が混入する（コンタミネーションという）可能性がある。これを防ぐにはどのような工夫が必要か？
- ③手順⑫で逆さまにするのはなぜか？
- ④実験結果a～dで見られた各コロニーは、どのようなプラスミドを取り込んでいるか？また、それはどのように判断できるか？
- ⑤設問1、2を解け。

確認しておきたい用語

遺伝子組換え 制限酵素 DNAリガーゼ ベクター プラスミド
トランスジェニック生物 アグロバクテリウム ゲノム編集 GFP(緑色蛍光タンパク質)
電気泳動法 アガロースゲル サンガー法 DNAマイクロアレイ解析 逆転写酵素
cDNA ヒトゲノム計画 テーラーメイド医療
ワトソンとクリック ウィルキンス メセルソンとスタール ジャコブとモノー
ニーレンバーグとコラナ サンガー マリス クローン

授業を通じて成長したい人のための発展課題

発展課題は、「創造力」を養うために、2通りの方法で「解」を見つけてみてください。

方法1：資料を見たり、検索をしたりせずに、学習した内容を基に自分の頭で考え、ある結論を導いてみる。

→自分の頭で考えるトレーニング。創造力につながる！

方法2の結論と違う結論、大いにアリ！

むしろ、様々な可能性を提示できることが大きな価値です。

方法2：資料を見たり、検索したりして、「もっともらしく、自分としても理解し納得できる」ような結論をまとめてみる。

→調べる力、難解な内容を咀嚼する力、簡潔にまとめる力につながる！

発展課題1

制限酵素は、もともとどのような生物が何の目的で持っている酵素か考察せよ。

発展課題2

大腸菌がゲノムDNAと別にプラスミドを持つのは何のためか考察せよ。

発展課題3

大腸菌はプラスミドを取り込むことができるのか考察せよ。

発展課題4

遺伝子組換え技術で、どのような遺伝子をどのような生物に導入すると、どのような可能性が開けるか考察せよ。

発展課題5

遺伝子組換えによる遺伝性疾患の治療が研究されている。どのような疾患に有効か考察せよ。また、遺伝子組換えによる治療が困難なのはどのような疾患か考察せよ。

発展課題6

ミトコンドリアだけをGFP（緑色蛍光タンパク質）で可視化したい。どのようにすればGFPをミトコンドリアに局在化させることができるか考察せよ。

発展課題7

電気泳動法は、どのような研究で応用できそうか考察せよ。

発展課題8

DNAマイクロアレイは、どのような研究で応用できそうか考察せよ。

「遺伝子の発現調節」参考資料

ある生物が「どんな遺伝子を持っている」「その遺伝子がどういう働きをしているのか」について調べたいとする。

①遺伝学

1、突然変異体を探す

2、野生型の個体との塩基配列の違いを探す

e x) 翅のなくなったショウジョウバエが見つかった。

野生型と比較したら、ある遺伝子に違いがあった。

→この遺伝子は翅をつくる遺伝子！

②逆遺伝学

1、遺伝子をいじる

2、形質に違いがあるか見る。

e x) ノックアウトマウス

ミオスタチン遺伝子をノックアウトすると・・・筋肉が肥大

→この遺伝子は筋肉の成長を抑制する！

※遺伝学の手法と逆遺伝学の手法は、それぞれどんなことを調べるときに有効な方法か？

- ・ある生物の特殊な性質を見つけたら？
- ・ある生物が同種の生物とは違う行動を見せたら？
- ・全くの未知の遺伝子の機能を調べるとしたら？
- ・他の生物で機能がわかっている遺伝子と相同性の高い遺伝子が見つかったら？

※ノックアウト、ノックダウン、トランスジェニック、ノックインはそれぞれどのように使い分ける？

ノックアウト：遺伝子を壊す

ノックダウン：遺伝子はあるが発現を抑える（RNAiなど）

トランスジェニック：遺伝子を導入する

ノックイン：遺伝子の機能を増強（コピー数を増やす、発現を上げる）