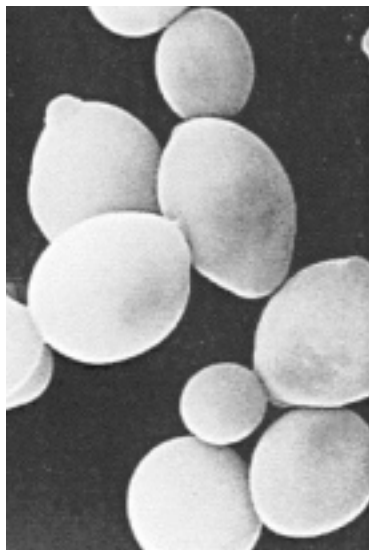


夏休みジュニア科学教室

「DNA をみて、さわって、  
組換ええて、遺伝子の未  
来を考えよう」



2004年8月21日

常盤公園熱帯植物館

山口大学工学部応用化学工学科

## DNA の 3 つのキーワード

・ DNA は せっけいず 設計図

・ 形はひも状

・ 文字は

A · T · G · C

# 家でもできる DNA をみる実験

遺伝子とは生命の設計図です。遺伝子は、DNA と呼ばれる物質でできています。人も植物も微生物も、すべての生物は、同じ DNA を設計図に用いています。

この実験では、DNA を魚の白子から取り出します。さて、どんなものなのでしょう。取り出した DNA の中に、魚を作り上げる情報が詰まっています。同じ DNA がすべての生物に含まれていて、それがその生物の設計図になっていることを理解して下さい。

## 用意するもの

- ・鱈（たら）などの魚の白子 50-100 g --- 魚屋に注文すれば手に入ります。お鍋に最適。
- ・冷凍庫で保存可能。10 g もあれば充分。
- ・台所用洗剤 --- ジョイ（P&G）を使っています。他の洗剤でも可能です。
- ・エタノール --- 薬屋で買えると思います。98-99%のもの。特級でも一級でも可。
- ・水 --- 脱イオン水。水道水でも可。
- ・混ぜるもの --- 箸もストローでもピンセットでもなどなんでもよい。
- ・プラスチックコップなどの容器。透明で観察しやすいもの。
- ・ビニール袋 --- 白子をつぶすため。手のひらサイズがよい。ジッパーがついていると便利。

## 方法

- 1) 白子を 1 g 程度、小指の先ほど、をビニール袋に入れて指や手で 30 秒から 1 分ぐらいよくつぶします。つぶした後、水を 20 ml ぐらい入れる（容器半分量）。
- 2) つぶれた液をコップに移します。この時あまり、粒を入れないように気をつけます。
- 3) 新しいコップにつぶれた液をスポイトで 2 ml 移し、そこに水を 20 ml いれます。
- 4) この中にジョイを 4, 5 滴たらし、かき混ぜます。この時どんな変化があるかを観察します。ここで、ジョイが油を溶かすので少し透明になることが観察できると思います。
- 5) 入っている液の 2 倍量（20 ml なら 40 ml のエタノール容器全量）を液の上に乗せるように入れます。
- 6) それを箸などで、ゆっくりかき混ぜてみて下さい。だんだん箸の周りにひも状のものが巻き付いてくるのがわかると思います。これが DNA です。
- 7) DNA を観察してみてください。大変長いひも状の物質です。いかがですか。
- 8) うまいかないときは 3) の量を増やすか減らしてみてください。通常減らしたほうがうまくいきます。

# DNA はすごく長いひも

私たちの体は小さな部屋が集まってできています。ヒトは60兆個の部屋でできていて、それぞれに部屋にDNAの設計図が置かれています。

顕微鏡でしかみえない小さな部屋には1mもの長さのDNAが入っています(くもの糸を想像するとその太さ0.2mmでは100kmの長さとなるような糸です)。

# 文字は A・T・G・C

このひもにはATGCの文字が書かれています。ヒトでは30億文字あります。既に人類はこのすべてを解読しています。

# 暗号解読もできる。

みなさんの血液型遺伝子の暗号を解読してみましょう。

実はABOは大変似た遺伝子でほんの少ししか違いません。比較するとおもしろい。実はO型遺伝子はA型遺伝子と1文字しか変わらないのに壊れています。解読して比較するとわかるよ。

# 体験 DNA の暗号解読

- 1) 暗号は 3 文字で一つ。
- 2) 解読されると 20 種類のパーツ(アミノ酸)のどれかになる。  
(ATG は M となる)
- 3) 解読終了暗号が 3 種ある (STOP)

## 遺伝暗号解読表

TTT	F	TCT	S	TAT	Y	TGT	C
TTC	F	TCC	S	TAC	Y	TGC	C
TTA	L	TCA	S	TAA	STOP	TGA	STOP
TTG	L	TCG	S	TAG	STOP	TGG	W
CTT	L	CCT	P	CAT	H	CGT	R
CTC	L	CCC	P	CAC	H	CGC	R
CTA	L	CCA	P	CAA	Q	CGA	R
CTG	L	CCG	P	CAG	Q	CGG	R
ATT	I	ACT	T	AAT	N	AGT	S
ATC	I	ACC	T	AAC	N	AGC	S
ATA	I	ACA	T	AAA	K	AGA	R
ATG	M	ACG	T	AAG	K	AGG	R
GTT	V	GCT	A	GAT	D	GGT	G
GTC	V	GCC	A	GAC	D	GGC	G
GTA	V	GCA	A	GAA	E	GGA	G
GTG	V	GCG	A	GAG	E	GGG	G

## A 型遺伝子配列 暗号表で解読してみよう。

ATG GCC GAG GTG TTG CGG ACG CTG GCC GGA AAA CCA AAA TGC CAC GCA CTT CGA CCT ATG  
ATC CTT TTC CTA ATA ATG CTT GTC TTG GTC TTT GGT TAC GGG GTC CTA AGC CCC AGA  
AGT CTA ATG CCA GGA AGC CTG GAA CGG GGG TTC TGC ATG GCT GTT AGG GAA CCT GAC CAT  
CTG CAG CGC GTC TCG TTG CCA AGG ATG GTC TAC CCC CAG CCA AAG GTG CTG ACA CCG TGT  
AGG AAG GAT GTC CTC GTG GTG ACC CCT TGG CTG GCT CCC ATT GTC TGG GAG GGC ACA TTC  
AAC ATC GAC ATC CTC AAC GAG CAG TTC AGG CTC CAG AAC ACC ACC ATT GGG TTA ACT GTG  
TTT GCC ATC AAG AAA TAC GTG GCT TTC CTG AAG CTG TTC CTG GAG ACG GCG GAG AAG CAC  
TTC ATG GTG GGC CAC CGT GTC CAC TAC TAT GTC TTC ACC GAC CAG CCG GCC GCG GTG CCC  
CGC GTG ACG CTG GGG ACC GGT CGG CAG CTG TCA GTG CTG GAG GTG CGC GCC TAC AAG CGC  
TGG CAG GAC GTG TCC ATG CGC CGC ATG GAG ATG ATC AGT GAC TTC TGC GAG CGG CGC TTC  
CTC AGC GAG GTG GAT TAC CTG GTG TGC GTG GAC GTG GAC ATG GAG TTC CGC GAC CAC GTG  
GGC GTG GAG ATC CTG ACT CCG CTG TTC GGC ACC CTG CAC CCC GGC TTC TAC GGA AGC AGC  
CGG GAG GCC TTC ACC TAC GAG CGC CGG CCC CAG TCC CAG GCC TAC ATC CCC AAG GAC GAG  
GGC GAT TTC TAC TAC CTG GGG GGG TTC TTC GGG GGG TCG GTG CAA GAG GTG CAG CGG CTC  
ACC AGG GCC TGC CAC CAG GCC ATG ATG GTC GAC CAG GCC AAC GGC ATC GAG GCC GTG TGG  
CAC GAC GAG AGC CAC CTG AAC AAG TAC CTG CTG CGC CAC AAA CCC ACC AAG GTG CTC TCC  
CCC GAG TAC TTG TGG GAC CAG CAG CTG CTG GGC TGG CCC GCC GTC CTG AGG AAG CTG AGG  
TTC ACT GCG GTG CCC AAG AAC CAC CAG GCG GTC CGG AAC CCG TGA

## B 型遺伝子配列 暗号表で解読してみよう。

ATG GCC GAG GTG TTG CGG ACG CTG GCC GGA AAA CCA AAA TGC CAC GCA CTT CGA CCT ATG  
ATC CTT TTC CTA ATA ATG CTT GTC TTG GTC TTT GGT TAC GGG GTC CTA AGC CCC AGA  
AGT CTA ATG CCA GGA AGC CTG GAA CGG GGG TTC TGC ATG GCT GTT AGG GAA CCT GAC CAT  
CTG CAG CGC GTC TCG TTG CCA AGG ATG GTC TAC CCC CAG CCA AAG GTG CTG ACA CCG TGT  
AGG AAG GAT GTC CTC GTG GTG ACC CCT TGG CTG GCT CCC ATT GTC TGG GAG GGC ACG TTC  
AAC ATC GAC ATC CTC AAC GAG CAG TTC AGG CTC CAG AAC ACC ACC ATT GGG TTA ACT GTG  
TTT GCC ATC AAG AAA TAC GTG GCT TTC CTG AAG CTG TTC CTG GAG ACG GCG GAG AAG CAC  
TTC ATG GTG GGC CAC CGT GTC CAC TAC TAT GTC TTC ACC GAC CAG CCG GCC GCG GTG CCC  
CGC GTG ACG CTG GGG ACC GGT CGG CAG CTG TCA GTG CTG GAG GTG GGC GCC TAC AAG CGC  
TGG CAG GAC GTG TCC ATG CGC CGC ATG GAG ATG ATC AGT GAC TTC TGC GAG CGG CGC TTC  
CTC AGC GAG GTG GAT TAC CTG GTG TGC GTG GAC GTG GAC ATG GAG TTC CGC GAC CAT GTG  
GGC GTG GAG ATC CTG ACT CCG CTG TTC GGC ACC CTG CAC CCC AGC TTC TAC GGA AGC AGC  
CGG GAG GCC TTC ACC TAC GAG CGC CGG CCC CAG TCC CAG GCC TAC ATC CCC AAG GAC GAG  
GGC GAT TTC TAC TAC ATG GGG GCG TTC TTC GGG GGG TCG GTG CAA GAG GTG CAG CGG CTC  
ACC AGG GCC TGC CAC CAG GCC ATG ATG GTC GAC CAG GCC AAC GGC ATC GAG GCC GTG TGG  
CAC GAC GAG AGC CAC CTG AAC AAG TAC CTA CTG CGC CAC AAA CCC ACC AAG GTG CTC TCC  
CCC GAG TAC TTG TGG GAC CAG CAG CTG CTG GGC TGG CCC GCC GTC CTG AGG AAG CTG AGG  
TTC ACT GCG GTG CCC AAG AAC CAC CAG GCG GTC CGG AAC CCG TGA

## O型遺伝子配列 暗号表で解読してみよう。

ATG GCC GAG GTG TTG CGG ACG CTG GCC GGA AAA CCA AAA TGC CAC GCA CTT CGA CCT ATG  
ATC CTT TTC CTA ATA ATG CTT GTC TTG GTC TTG TTT GGT TAC GGG GTC CTA AGC CCC AGA  
AGT CTA ATG CCA GGA AGC CTG GAA CGG GGG TTC TGC ATG GCT GTT AGG GAA CCT GAC CAT  
CTG CAG CGC GTC TCG TTG CCA AGG ATG GTC TAC CCC CAG CCA AAG GTG CTG ACA CCG TGT  
AGG AAG GAT GTC CTC GTG GTA CCC CTT GGC TGG CTC CCA TTG TCT GGG AGG GCA CAT TCA  
ACA TCG ACA TCC TCA ACG AGC AGT TCA GGC TCC AGA ACA CCA CCA TTG GGT TAA CTG TGT  
TTG CCA TCA AGA AAT ACG TGG CTT TCC TGA AGC TGT TCC TGG AGA CGG CGG AGA AGC ACT  
TCA TGG TGG GCC ACC GTG TCC ACT ACT ATG TCT TCA CCG ACC AGC CGG CCG CGG TGC CCC  
GCG TGA CGC TGG GGA CCG GTC GGC AGC TGT CAG TGC TGG AGG TGC GCG CCT ACA AGC GCT  
GGC AGG ACG TGT CCA TGC GCC GCA TGG AGA TGA TCA GTG ACT TCT GCG AGC GGC GCT TCC  
TCA GCG AGG TGG ATT ACC TGG TGT GCG TGG ACG TGG ACA TGG AGT TCC GCG ACC ACG TGG  
GCG TGG AGA TCC TGA CTC CGC TGT TCG GCA CCC TGC ACC CCG GCT TCT ACG GAA GCA GCC  
GGG AGG CCT TCA CCT ACG AGC GCC GGC CCC AGT CCC AGG CCT ACA TCC CCA AGG ACG AGG  
GCG ATT TCT ACT ACC TGG GGG GGT TCT TCG GGG GGT CGG TGC AAG AGG TGC AGC GGC TCA  
CCA GGG CCT GCC ACC AGG CCA TGA TGG TCG ACC AGG CCA ACG GCA TCG AGG CCG TGT GGC  
ACG ACG AGA GCC ACC TGA ACA AGT ACC TGC TGC GCC ACA AAC CCA CCA AGG TGC TCT CCC  
CCG AGT ACT TGT GGG ACC AGC AGC TGC TGG GCT GGC CCG CCG TCC TGA GGA AGC TGA GGT  
TCA CTG CGG TGC CCA AGA ACC ACC AGG CGG TCC GGA ACC CGT GA



遺伝子 DNA の設計図から何ができるのでしょうか？

DNA 設計図で部品をつくり、それを組み立てたのがヒトや様々な生物です。

部品はタンパク質と呼ばれます。アミノ酸がパーツとなり、集まって、タンパク質ができ、これらが集まって、ヒトの体ができます。

部品の一つを体験してみます。

ごはんを食べると消化されて吸収されます。消化とはごはん(でんぷん)を分解することです。分解しているのがタンパク質の一つ「アミラーゼ」です。消化酵素と呼ばれています。

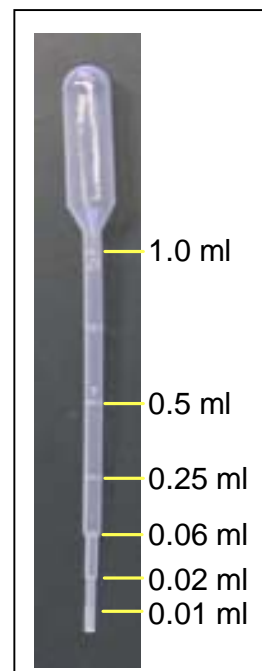
アミラーゼはだ液に入っています。

# だ液アミラーゼ活性の観察

## 1 人分の準備

でんぷん液（ふたつき）	1 本
マイクロチューブ	1 本
スポイト	2 本（だ液，発色液用）
発色液	1 本（10 ml-グループに一本）

- 1) 自分のだ液をスポイトで採取しマイクロチューブに入れます。  
0.5 ml ぐらい採取する。
- 2) ふたつき試験管にはでんぷん液が 2 ml 入っています。だ液を 0.02 ml（最初の段まで）スポイトで取り，でんぷん液に入れる。
- 3) 時間を計る。
- 4) 一分後，発色液を 1 ml 入れる。
- 5) だ液を入れていないチューブと比較してみてください。ヨウ素でんぷん反応で紫になるものが，だ液アミラーゼで分解されて色が消えます。



透明が強い人はアミラーゼが強い人です。

でんぷん液：2 ml; 0.5%可溶性でんぷん，100 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 50 mM クエン酸, pH6

発色液：0.01% ヨウ素，0.1%よう化カリウム

発色液はイソジンうがい液を似た成分です。イソジンうがい液を 100 倍希釈しても同様の結果が得られます。

（講師がコントロールを用意する）

## こうじ菌タカアミラーゼ遺伝子の配列とほん訳したアミノ酸配列

```

atg atg gtc gcg tgg tgg tct cta ttt ctg tac ggc ctt cag gtc gcg gca cct gct ttg
M M V A W W S L F L Y G L Q V A A P A L
gct gca acg cct gcg gac tgg cga tcg caa tcc att tat ttc ctt ctc acg gat cga ttt
A A T P A D W R S Q S I Y F L L T D R F
gca agg acg gat ggg tcg acg act gcg act tgt aat act gcg gat cag aaa tac tgt ggt
A R T D G S T T A T C N T A D Q K Y C G
gga aca tgg cag ggc atc atc gac aag ttg gac tat atc cag gga atg ggc ttc aca gcc
G T W Q G I I D K L D Y I Q G M G F T A
atc tgg atc acc ccc gtt aca gcc cag ctg ccc cag acc acc gca tat gga gat gcc tac
I W I T P V T A Q L P Q T T A Y G D A Y
cat ggc tac tgg cag cag gat ata tac tct ctg aac gaa aac tac ggc act gca gat gac
H G Y W Q Q D I Y S L N E N Y G T A D D
ttg aag gcg ctc tct tcg gcc ctt cat gag agg ggg atg tat ctt atg gtc gat gtg gtt
L K A L S S A L H E R G M Y L M V D V V
gct aac cat atg ggc tat gat gga gcg ggt agc tca gtc gat tac agt gtg ttt aaa ccg
A N H M G Y D G A G S S V D Y S V F K P
ttc agt tcc caa gac tac ttc cac ccg ttc tgt ttc att caa aac tat gaa gat cag act
F S S Q D Y F H P F C F I Q N Y E D Q T
cag gtt gag tat tgt tgg cta gga gat aac act gtc tcc ttg ctt gat ctc gat acc acc
Q V E Y C W L G D N T V S L L D L D T T
aag gat gtg gtc aag aat gaa tgg tac gac tgg gtg gga tca ttg gta tcg aac tac tcc
K D V V K N E W Y D W V G S L V S N Y S
att gac ggc ctc cgt atc gac aca gta aaa cac gtc cag aag gac ttc tgg ccc ggg tac
I D G L R I D T V K H V Q K D F W P G Y
aac aaa gcc gca ggc gtg tac tgt atc ggc gag gtg ctc gac gtt gat ccg gcc tac act
N K A A G V Y C I G E V L D V D P A Y T
tgt ccc tac cag aac gtc atg gac ggc gta ctg aac tat ccc att tac tat cca ctc ctc
C P Y Q N V M D G V L N Y P I Y Y P L L
aac gcc ttc aag tca acc tcc ggc agc atg gac gac ctc tac aac atg atc aac acc gtc
N A F K S T S G S M D D L Y N M I N T V
aaa tcc gat tgt cca gac tca aca ctc ctg ggc aca ttc gtc gag aac cac gac aac cca
K S D C P D S T L L G T F V E N H D N P
cgg ttc gct tct tac acc aac gac ata gcc ctc gcc aag aac gtc gca gca ttc atc atc
R F A S Y T N D I A L A K N V A A F I I
ctc aac gac gga atc ccc atc atc tac gcc ggc caa gaa cag cac tac gcc ggc gga aac
L N D G I P I I Y A G Q E Q H Y A G G N
gac ccc gcg aac cgc gaa gca acc tgg ctc tcg ggc tac ccg acc gac agc gag ctg tac
D P A N R E A T W L S G Y P T D S E L Y
aag tta att gcc tcc gcg aac gca atc cgg aac tat gcc att agc aaa gat aca gga ttc
K L I A S A N A I R N Y A I S K D T G F
gtg acc tac aaa ctg gcc cat cta caa aga cga cac aac gat cgc cat gcg caa ggg cac
V T Y K L A H L Q R R H N D R H A Q G H
aga tgg gtc gca gat cgt gac tat ctt gtc caa caa ggg tgc ttc ggg tga
R W V A D R D Y L V Q Q G C F G *

```

# ここで大事なこと

DNA の文字やその解読方法はすべての生物で共通

だから遺伝子組換えができる

1. ヒトの遺伝子 酵母や動物に入れる 医薬品生産
2. ヒトの遺伝子 遺伝病のヒトに入れる 遺伝子治療
3. 有用な遺伝子 微生物や動物に入れる 有用物質生産
4. 有用な遺伝子 植物に入れる 遺伝子組換え植物
5. 遺伝子診断や DNA 鑑定も DNA の特徴を利用した方法

# 酵母への遺伝子導入実験

パンやお酒は微生物の酵母菌が働いて美味しくしています。この酵母菌に遺伝子を導入する方法を体験してみます。驚くほど簡単な操作で遺伝子を酵母菌に入れることができます。

酵母菌はアミラーゼを持っていません。そこでアミラーゼ遺伝子を酵母菌に導入します。

用意するもの(1グループ)

DNA液	1本 0.02 ml
遺伝子導入液	1本 0.2 ml
かきとり棒	1本
- U培地	1枚
スポイト	2本
スプレッター	1本

## 1. 実験操作

用意したYPDプレート上に生育している酵母菌をかきとり棒でできるだけ多く集める。

2. 「かきとり棒」の酵母菌全部を遺伝子導入液に直接入れる。米粒程度。



4. この状態で遺伝子が酵母の中に入っています。42℃ に置けば早く入る。42℃ で 1 時間程度、室温で半日から一日置きます。

5. スポイトで酵母遺伝子混合液を取り、「- U」プレートに垂らす。

6. 「スプレッター」で液をプレート上に均一に引き伸ばす。



7. 室温で3 - 7日で白いコロニーが現れる。これが遺伝子導入できた酵母菌です。



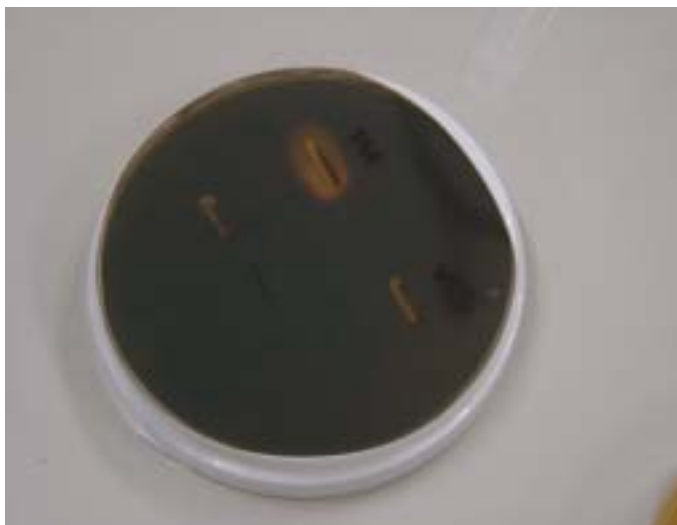
# 酵母アミラーゼの検出---

## これが遺伝子組換え酵母だ！

用意するもの（1グループ分）

酵母を塗ったでんぷん培地	1枚
スポイト	1本
ヨウ素粉	全体に一つ。講師が用意する。

1. でんぷん培地に塗布した酵母菌がプレートに白く増殖しているはずです。このプレートにヨウ素を反応させ、でんぷんを検出します。
2. 酵母を塗った培地をふたを下にしてあげ、ヨウ素の粉をふたにまき、培地を乗せます。プレートをビニールテープで巻けば発色が始まります（写真）。プレートは振らないように。
3. すぐにヨウ素でんぷん反応が始まり、プレートが紫色を示すはずですが、ただし、アミラーゼ導入酵母の周りは透明のはずです（写真）。



## 参考

### 酵母菌

種名: *Saccharomyces cerevisiae* サッカロミセス セレビスエ<sup>2-5)</sup>

和名: 出芽酵母, 酒酵母, パン酵母 (いずれも同一種)

### DNA液

プラスミド DNA 液

プラスミドとは遺伝子を運ぶために環状 DNA です。これをベクターと呼びます。

### 遺伝子導入液

40% ポリエチレングリコール 4000

0.1 M DTT (ジチオスレイトール)

0.2 M 酢酸リチウム

### YPD培地

2% グルコース

1% イーストエキストラクト

2% ポリペプトン

0.004% ウラシル

2% 寒天

オートクレーブ 120 , 15 分。

寒天をオートクレーブで溶かして滅菌した後, プラスチックシャーレに注ぎ(約 30 ml) ふたをして放置。固まったら使用できる。ある程度乾燥してから(室温 2~3 日) 袋に入れて冷蔵庫保存する。

### でんぷん培地

2% グルコース

0.17% イーストナイトロジェンベース(アミノ酸, 硫酸アンモニウムなし)

0.5% 硫酸アンモニウム

1% 可溶性でんぷん

2% 寒天

クエン酸 - リン酸バッファー pH 6.0 (20 mM クエン酸と 40 mM リン酸を 37 : 63 となるよう混ぜ合わせて pH6) に上記成分を溶かす。オートクレーブ 120 , 15 分。プレートを作製。

### -U培地

0.17% イーストナイトロジェンベース(アミノ酸, 硫酸アンモニウムなし)

0.5% 硫酸アンモニウム

2% グルコース

オートクレーブ 120 , 15 分。

この培地には栄養であるウラシルが入っていない。