

実はこんなにすごかった!!
納豆菌のDNAを
見てみよう

実施日：2024/06/02(Sun)
協力：株式会社リバネス



今日の流れ(予定)

9:00 開始

9:05~9:15 マイクロピペット説明

9:15~9:30 DNA抽出

9:30~10:00 PCR実験

10:00~10:40 講義

10:40~10:55 休憩

10:55~11:20 質問コーナー

11:20~11:30 電気泳動

11:30~11:50 アンケート記入

11:50~12:00 電気泳動結果観察

12:00 解散

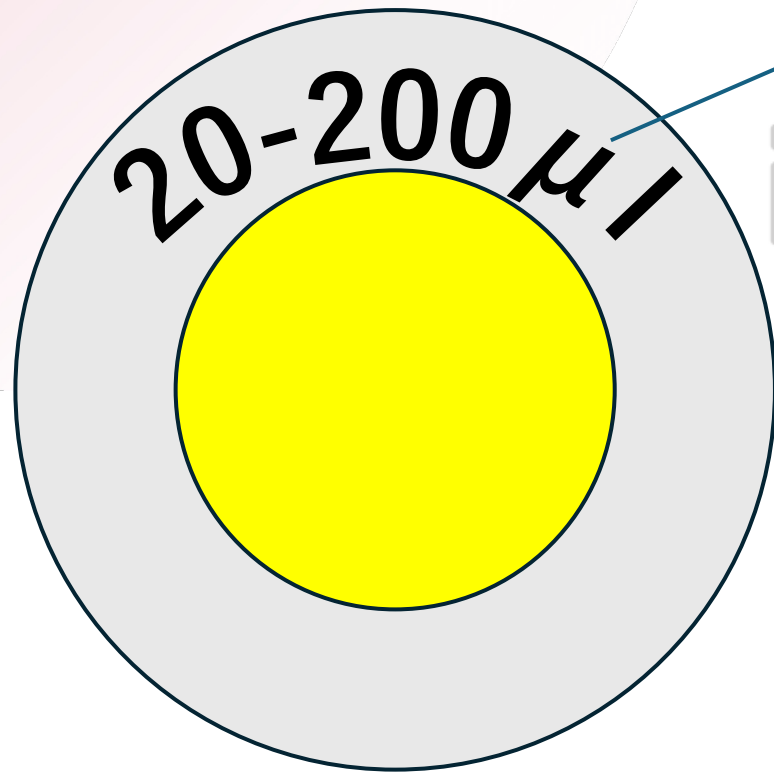
マイクロピペット

マイクロリットル(μl)(mlの1000分の1)単位の液体を計るための器具

生物学の必須アイテム！！

色ごとに計ることのできる量が違うので
その時使いたい液体の量に合わせて
使い分ける

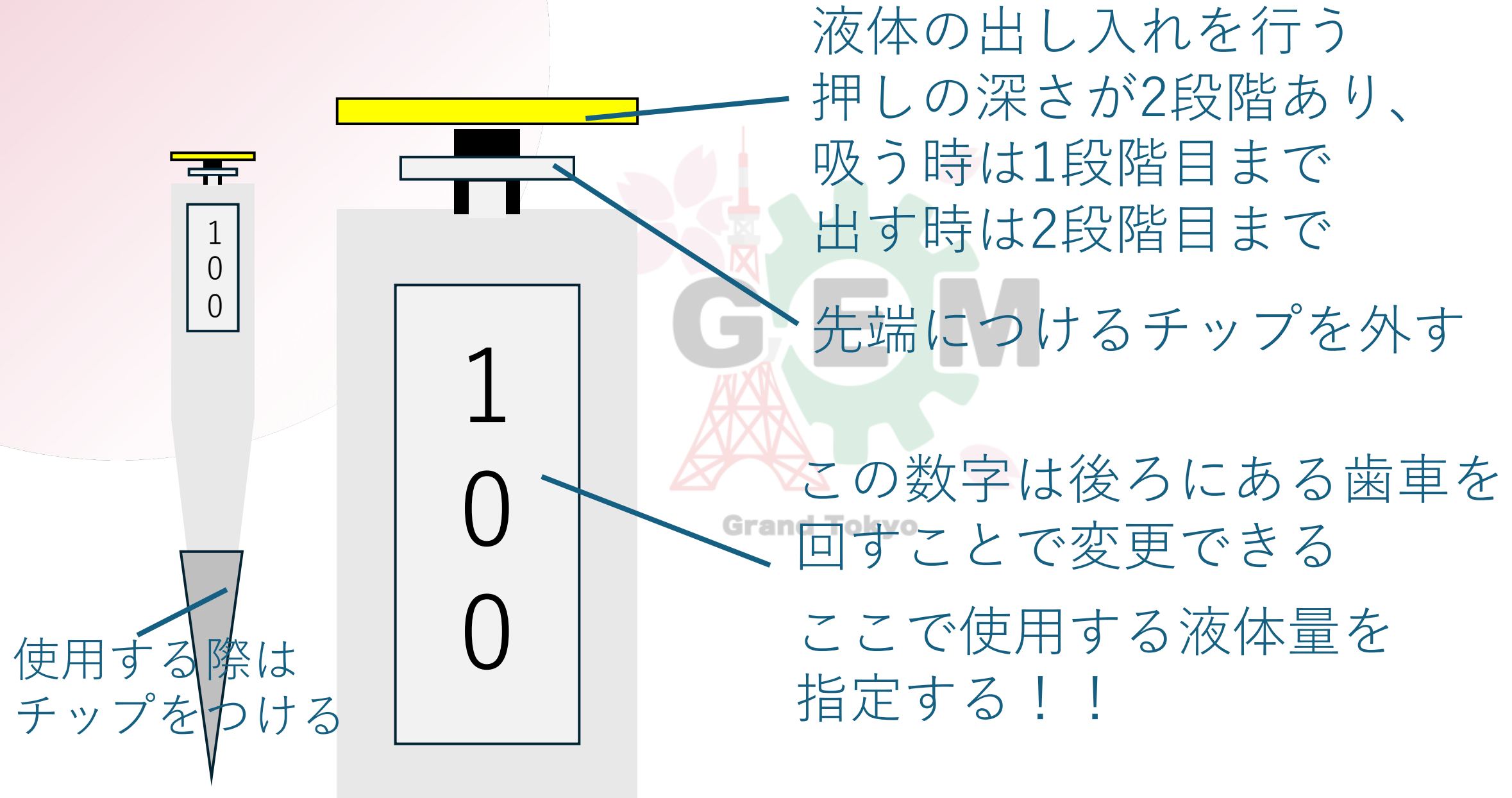
マイクロピペット



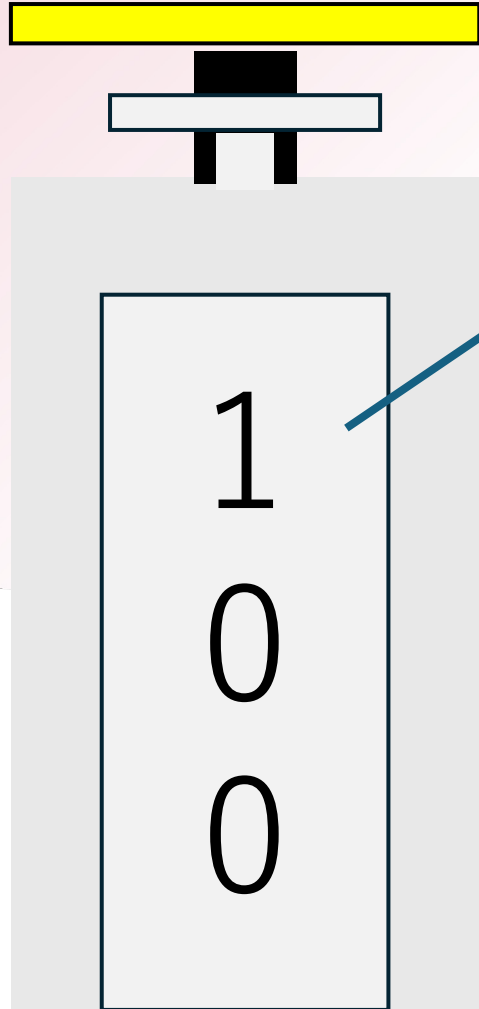
このマイクロピペットで
計ることのできる液体量の範囲
→これに応じて使い分けをする

Grand Tokyo

マイクロピペット



マイクロピペット



20-200 μl の範囲で使えるピペットの場合

この状態で指定している液体量は、
100 μl

200-1000 μl の範囲で使えるピペットの場合

この状態で指定している液体量は、
1000 μl

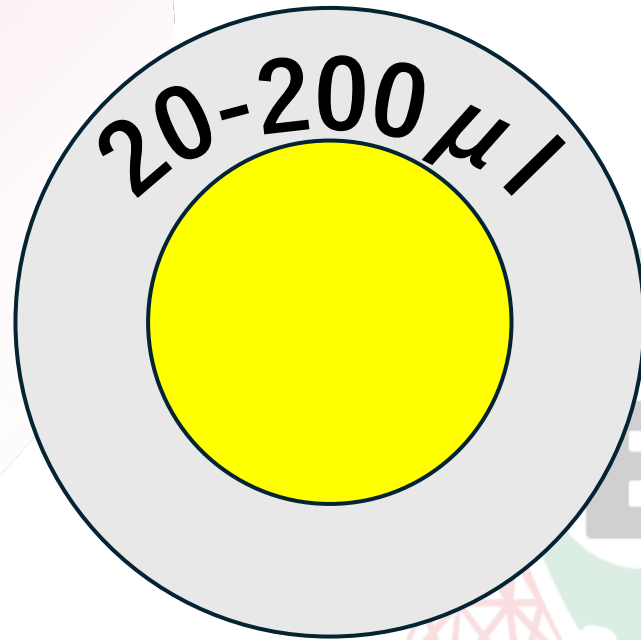
1-10 μl の範囲で使えるピペットの場合

この状態で指定している液体量は、
10 μl

マイクロピペット



0
3
0

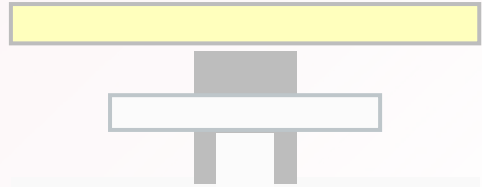


問題 1

Grand Tokyo

ではこのピペットで液体を滴定すると、
何 μl 計ることができる？

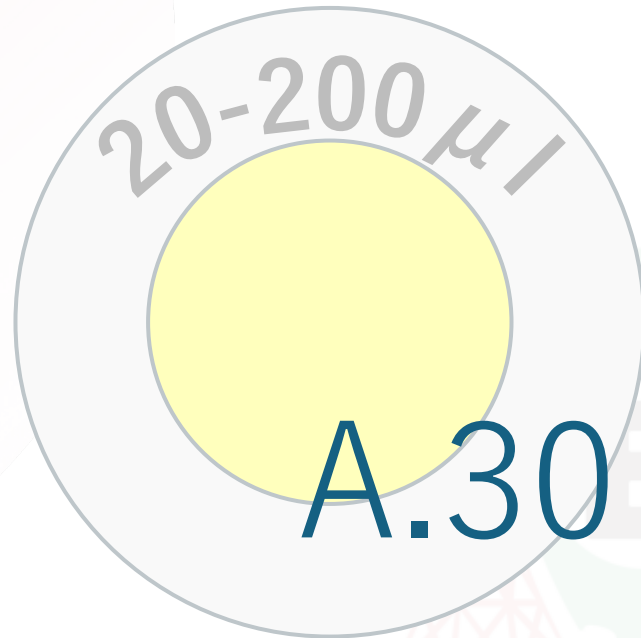
マイクロピペット



0

3

0

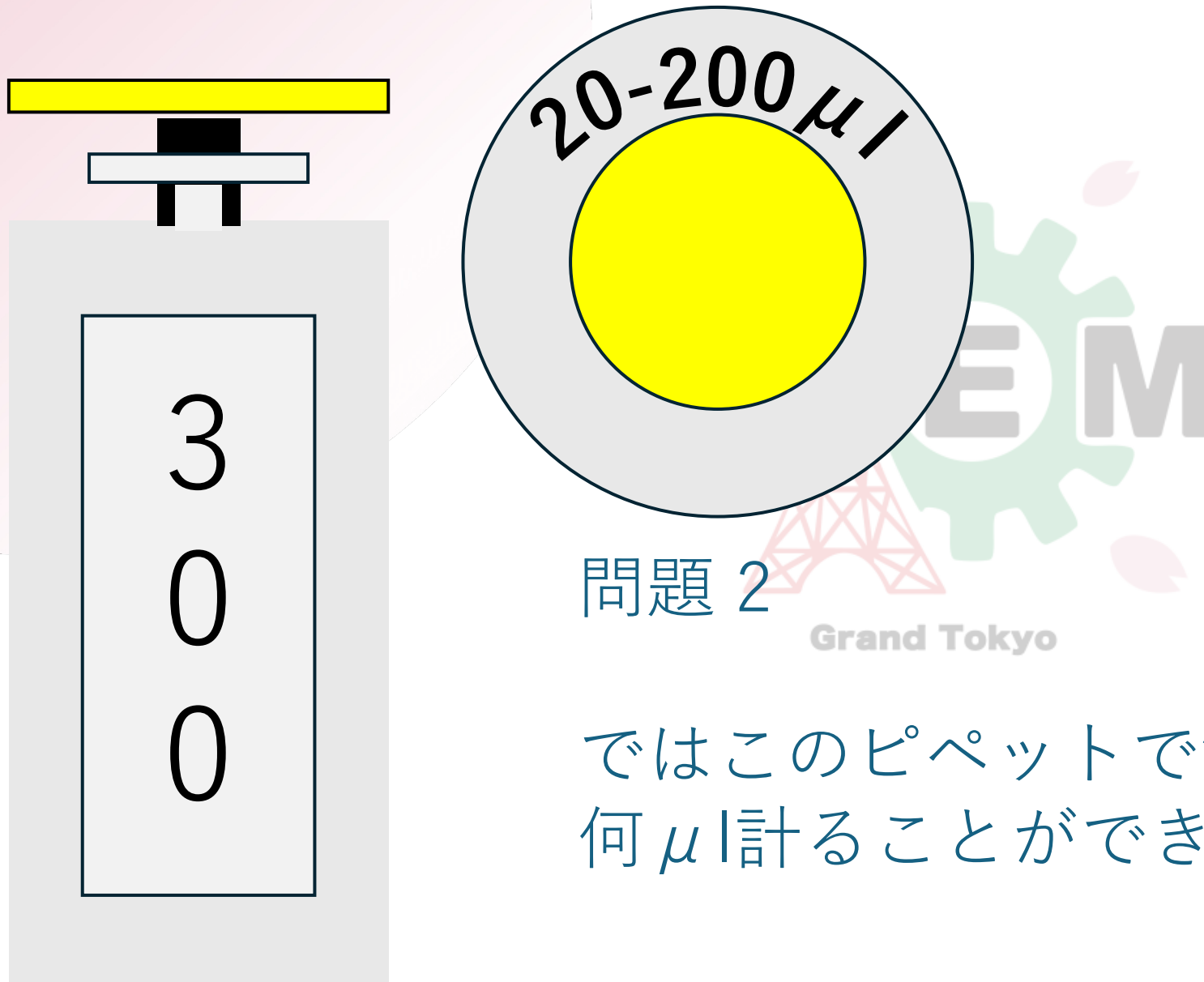


問題1

Grand Tokyo

ではこのピペットで液体を滴定すると、
何 μ l計ることができる？

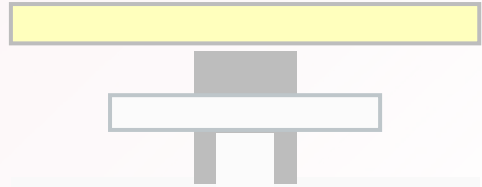
マイクロピペット



問題 2

ではこのピペットで液体を滴定すると、
何 μ l計ることができる？

マイクロピペット



0

3

0



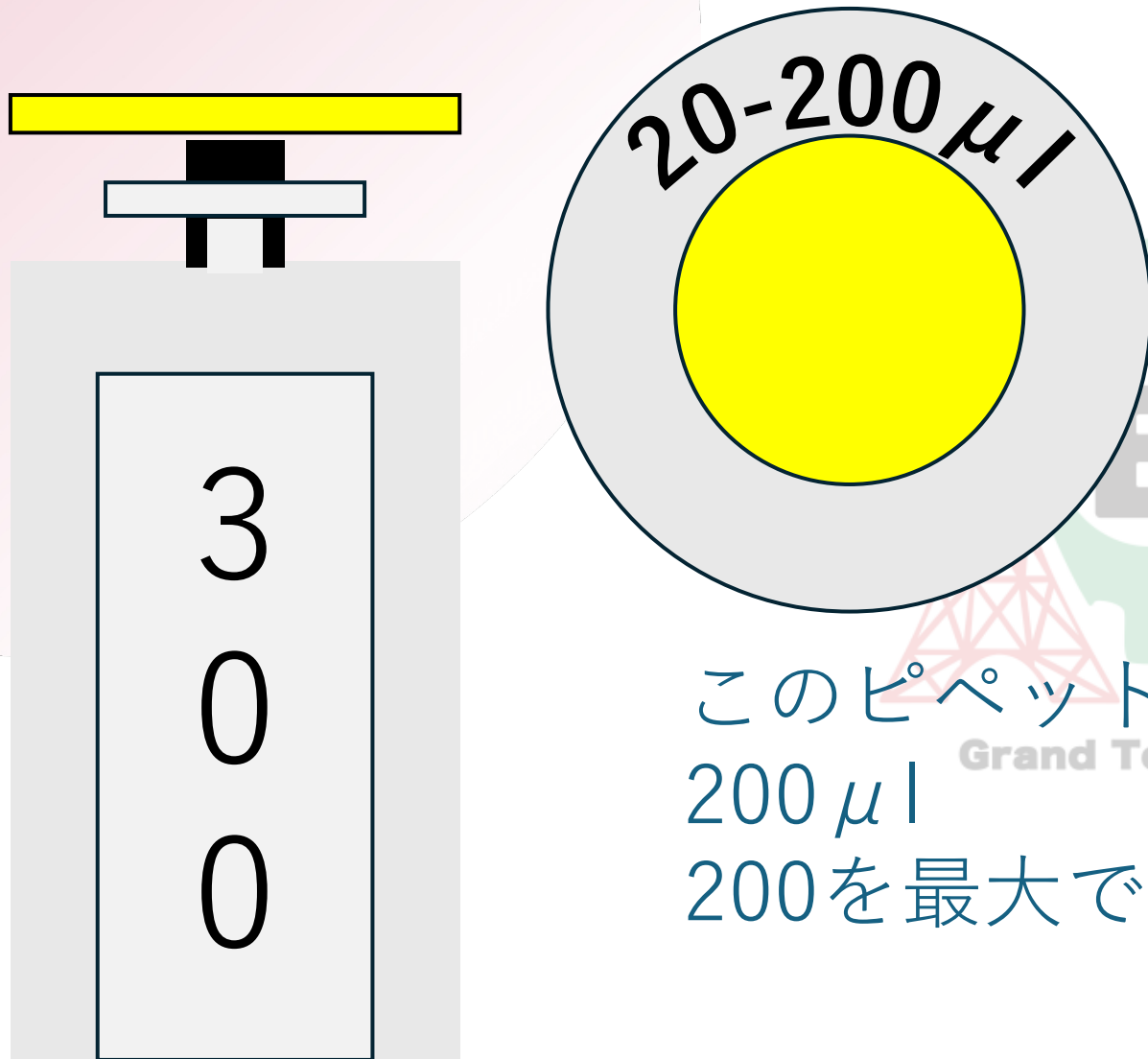
A.計ることができない

問題1

Grand Tokyo

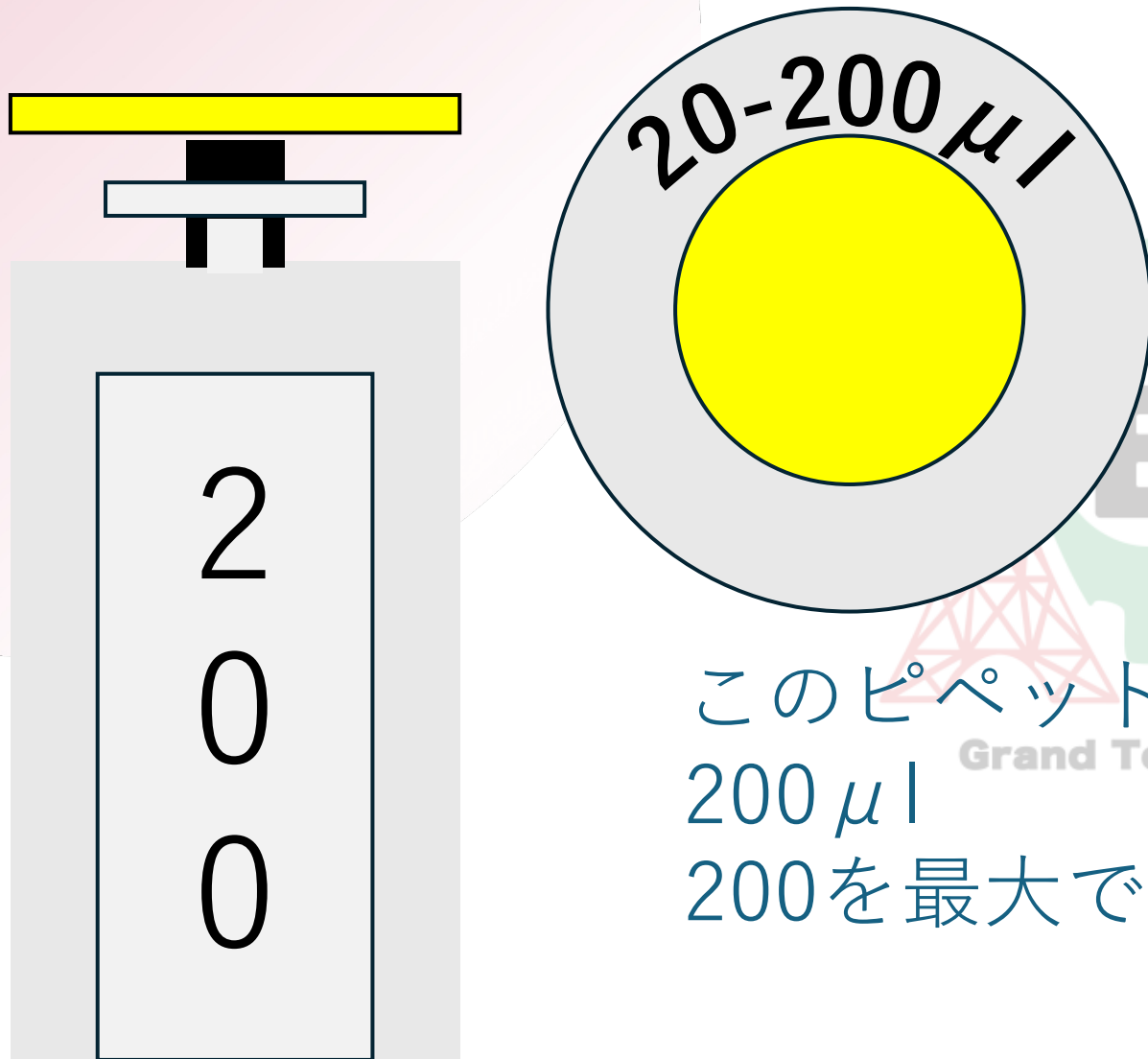
ではこのピペットで液体を滴定すると、
何 μ l計ることができる？

マイクロピペット



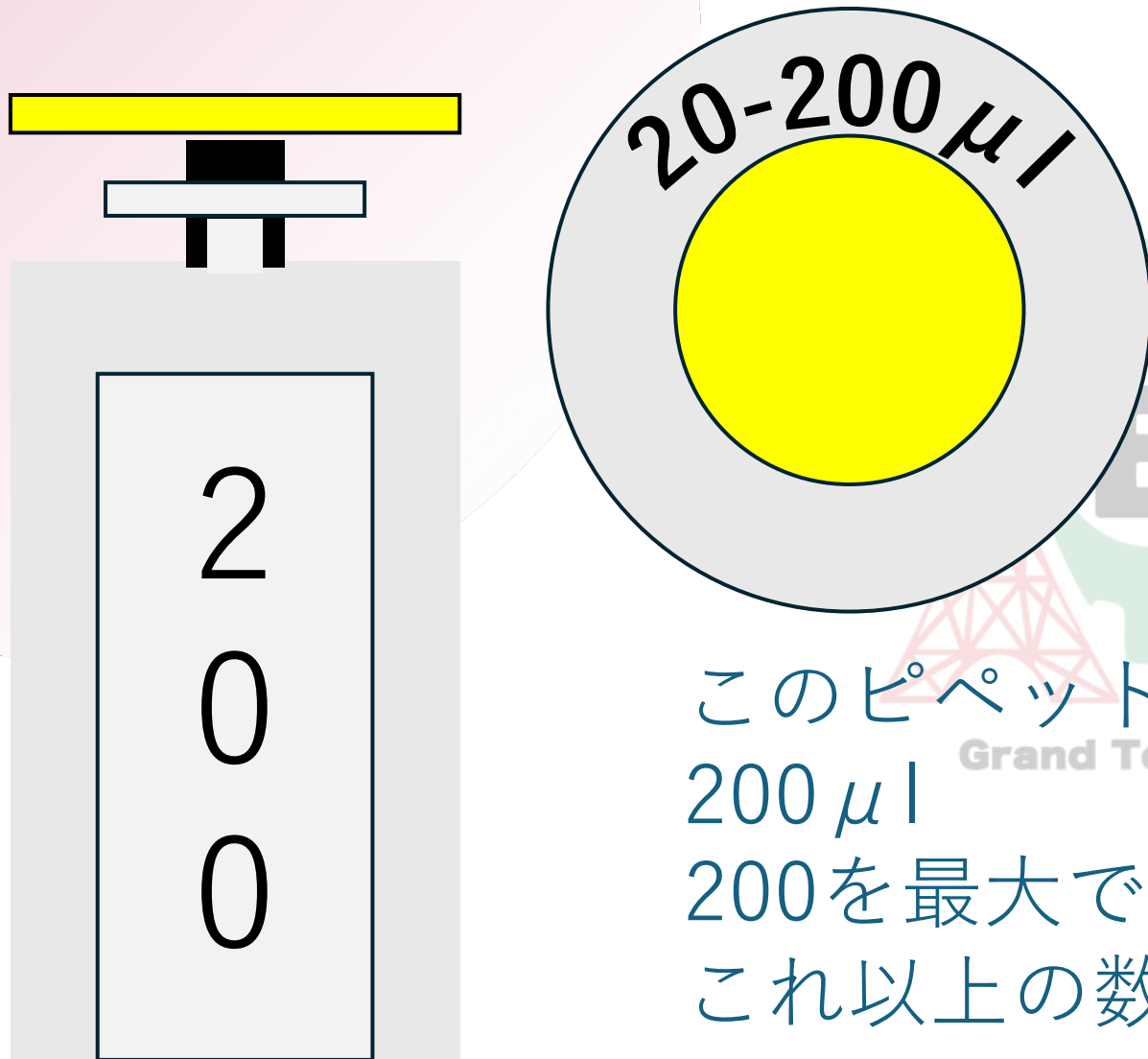
このピペットの計ることのできる最大量は
 $200\text{ }\mu\text{l}$
200を最大で表すと、

マイクロピペット



このピペットの計ることのできる最大量は
200 μ l
200を最大で表すと、

マイクロピペット



このピペットの計ることのできる最大量は
200 μ l

200を最大で表すと、
これ以上の数字が表示はできるが計れない

マイクロピペット



マイクロピペットの扱いは
非常にややこしいので、
2 滴定の度にTAに合っているか
0 確かめてもらってください！

※TAのみんなは確認作業を都度お願いします

これ以上の数字が表示はできるが計れない

今回の実験手順



今回の実験手順

DNA抽出

今回抽出するDNAは、納豆菌とブロッコリー

詳細は各テーブルのプロトコル(実験説明書)を
参考にしてTAにもたくさん質問してください！

原理は後で説明します！！（マジでごめん）

Grand Tokyo

今回の実験手順

DNA抽出

9:15~9:30



Grand Tokyo

今回の実験手順 PCR法

納豆・ブロッコリーのDNA(抽出済み)

PCR Mix A, PCR Mix B

チューブ

サーマルサイクラー



今回の実験手順 PCR法

- ①PCR Mixをチューブ3つに $22.5\mu\text{l}$ ずつ加える
- ②チューブに抽出したDNAを加える
- ③サーマルクライマーにセットする
- ④温度サイクル

今回の実験手順

PCR法

後ほど説明！

95°C 1分

95°C 30秒

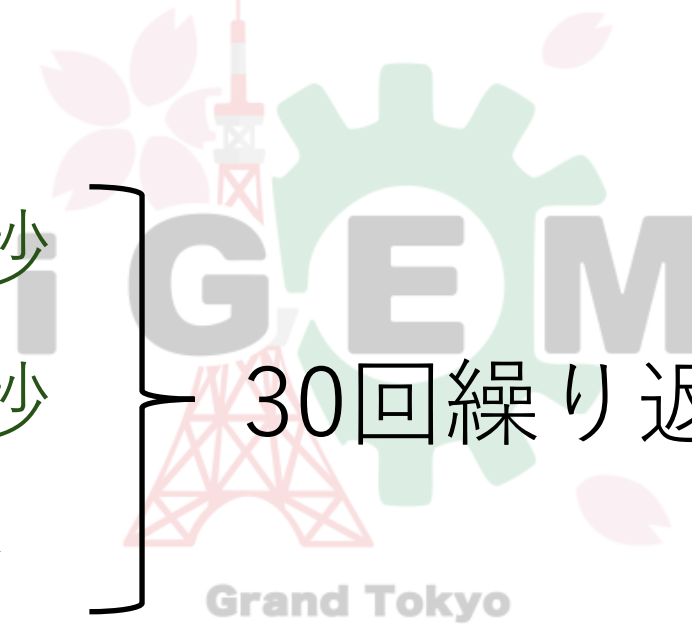
60°C 30秒

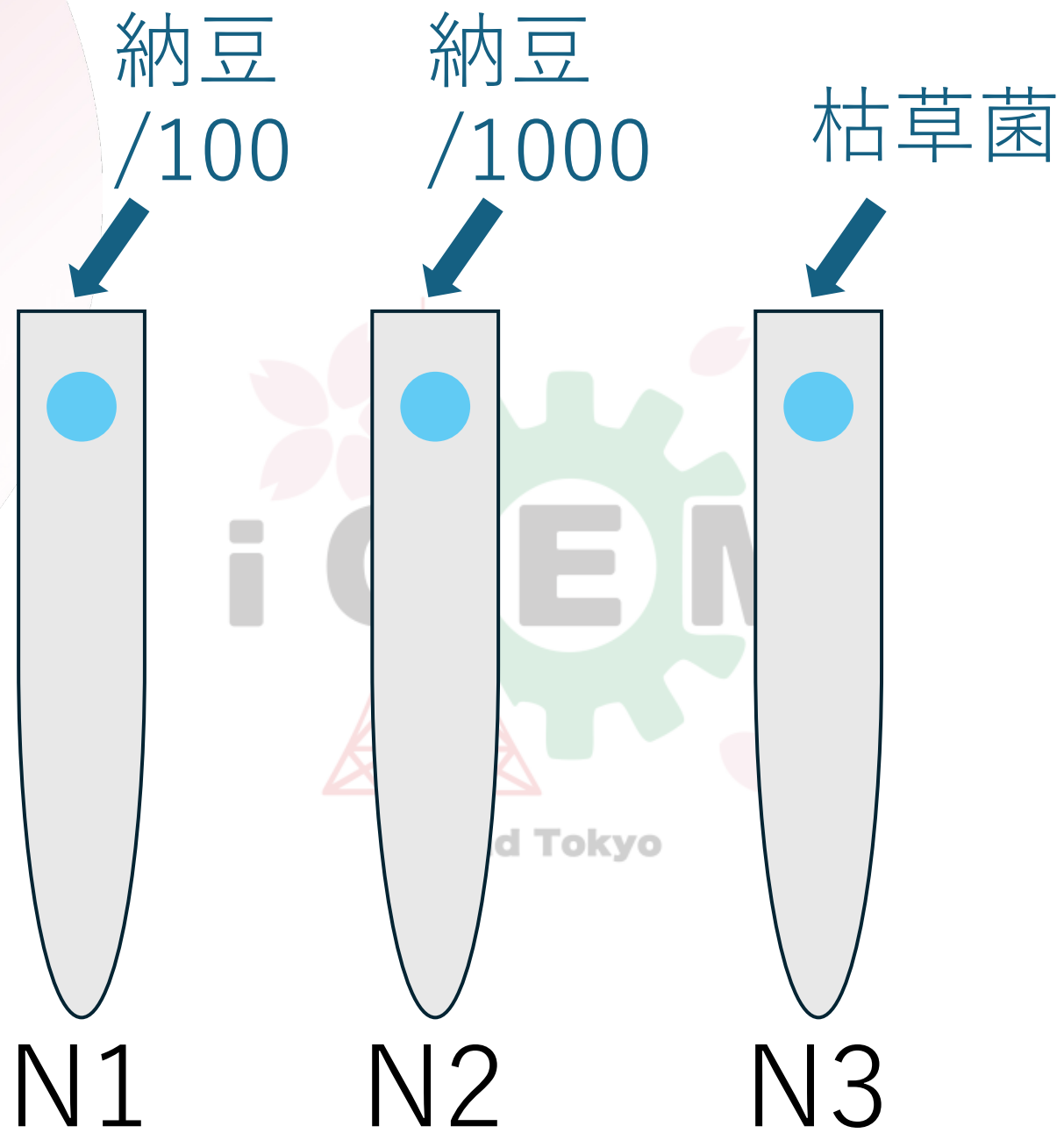
72°C 1分

30回繰り返す

72°C 5分

12°C

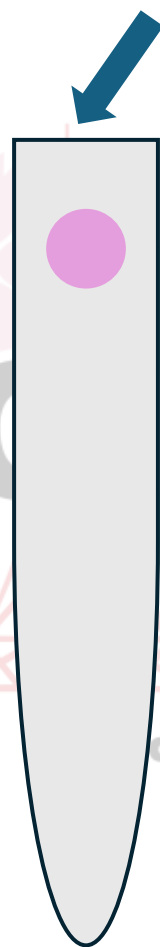




ブロッコリー /100 ブロッコリー /1000 枯草菌



B1



B2



B3

今回の実験手順

PCR実験

9:30 ~ 10:00



Grand Tokyo

我々は・・・



iGEM Grand Tokyo

iGEMとは？

- ・「合成生物学」の世界大会
- ・生物版「ロボコン」
(ロボットコンテスト)と呼ばれる
- ・各自解決したいテーマを設定し、
「合成生物学」というアプローチで
社会問題に挑んでいる。

じゃあ、合成生物学って？



合成生物学とは

生物学の「新ジャンル」

解析生物学

生物に関する
発見・観測を
記録する

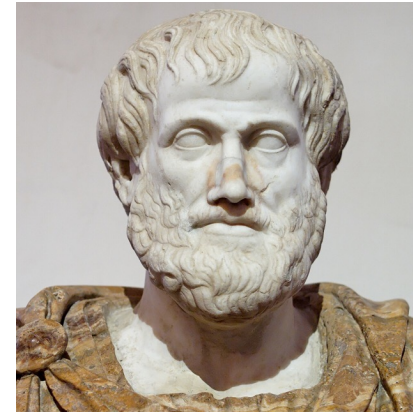
すでにいる生物を
見る・知る

合成生物学

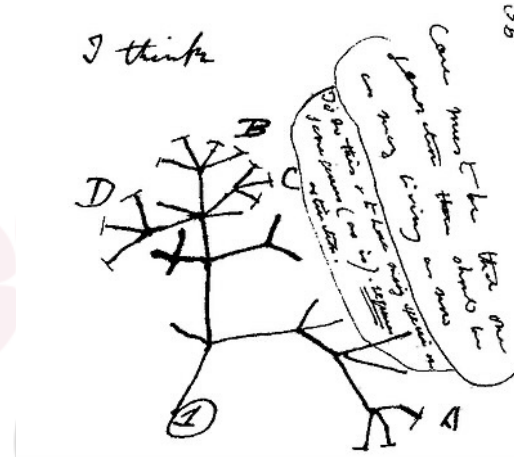
理論に基づいて
生物を
デザインする

まだいない生物を
作る

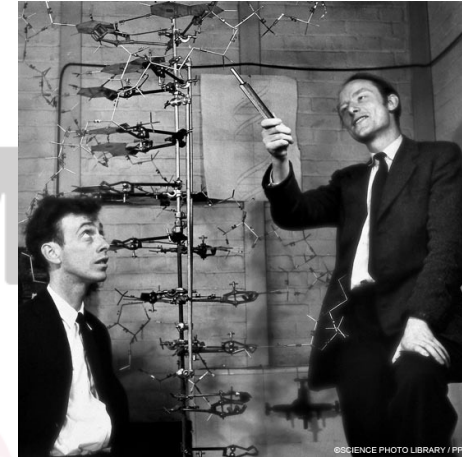
前4世紀・古代ギリシャ
アリストテレスが生物の分類法を提示



18世紀・スウェーデン
リンネが生物の分類を確立



1859年・イギリス
ダーウィンが進化論を提唱



1860年代・フランス
パスツールが自然発生説を否定

1865年・オーストリア
メンデルが遺伝の法則を発見

1953年・イギリス
クリック・ワトソンがDNAの二重らせん構造を解明

2003年
ヒトゲノム解析完了

解析生物学

1968年
制限酵素の発見

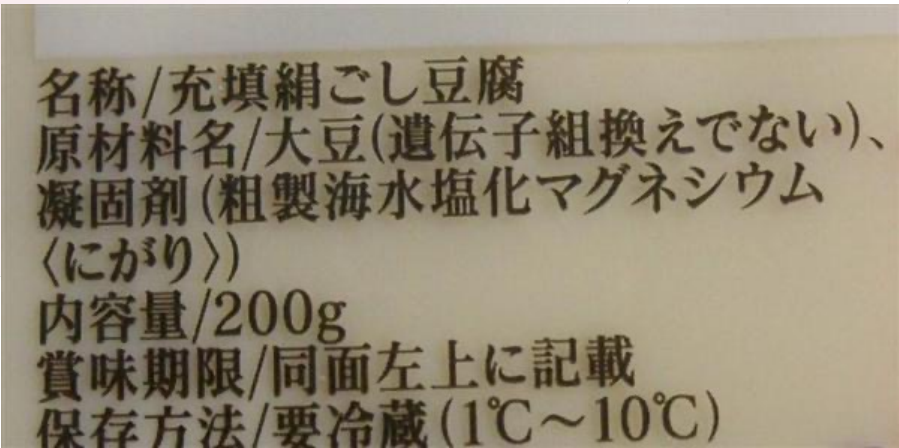
1996年
クローン羊ドリー誕生

合成生物学

合成生物学は…
より現代社会への寄与に
密接にリンクした
新たな学問分野

遺伝子組み換え

ある生物のDNAを別の生物のDNAに組み込んで
新たな遺伝子を発現させる技術



名称/充填絹ごし豆腐
原材料名/大豆(遺伝子組換えでない)、
凝固剤(粗製海水塩化マグネシウム
〈にかり〉)
内容量/200g
賞味期限/同面左上に記載
保存方法/要冷蔵(1℃～10℃)

医療分野（インスリンやB型肝炎ワクチン）

食品分野（大豆など・人工甘味料にも）

工業分野（バイオエタノール）

などさまざまな分野で活用されている！

遺伝子組み換え

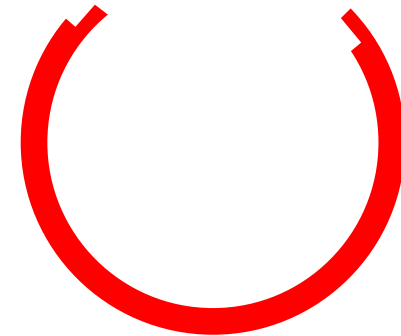
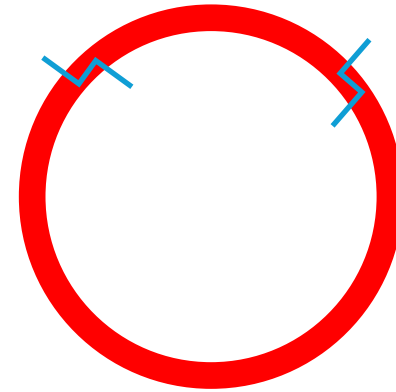


遺伝子組み換え

ヒトの遺伝子



プラスミド



制限酵素処理

Grand Tokyo

遺伝子組み換え

制限酵素処理

DNAは
ヌクレオチドが
鎖状に連結して
できている

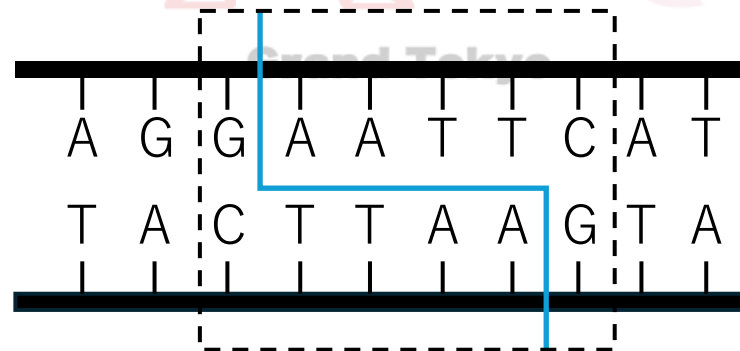
2本のDNAを連結させている
塩基には4つの種類があり、

A-T

G-C で結合している（相補結合）



特定の回文配列を
認識して切断する



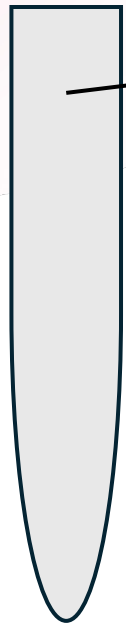
実験方法説明



Grand Tokyo

PCR法

少量のDNAから特定のDNA断片領域を
大量に増幅させる技術



鋳型となるDNA

DNAポリメラーゼ

4種類のヌクレオチド

2種類のプライマー

サーマルサイクラー



PCR法での温度制御を
自動で行う機器

PCR法

①DNAの熱変性を利用して、
高温で解離させる

95°C

i G E M

Grand Tokyo

PCR法

①DNAの熱変性を利用して、
高温で解離させる

変性

95°C

i G E M

Grand Tokyo

PCR法

アニーリング

②プライマーを
ヌクレオチド鎖に結合させる **60°C**



増幅したい領域

PCR法

③DNAポリメラーゼによって
ヌクレオチド鎖が合成される

伸長

72°C



増幅したい領域

PCR法

①~③を繰り返す



PCR法

これを30回繰り返すと
DNAは何倍になる???



PCR法

A. 約 2^{30}



電気泳動

アガロースゲル（寒天）中でDNAを
電気によって移動させることで、
DNAの大きさに応じて分離させる手法

電気泳動機器



Grand Tokyo

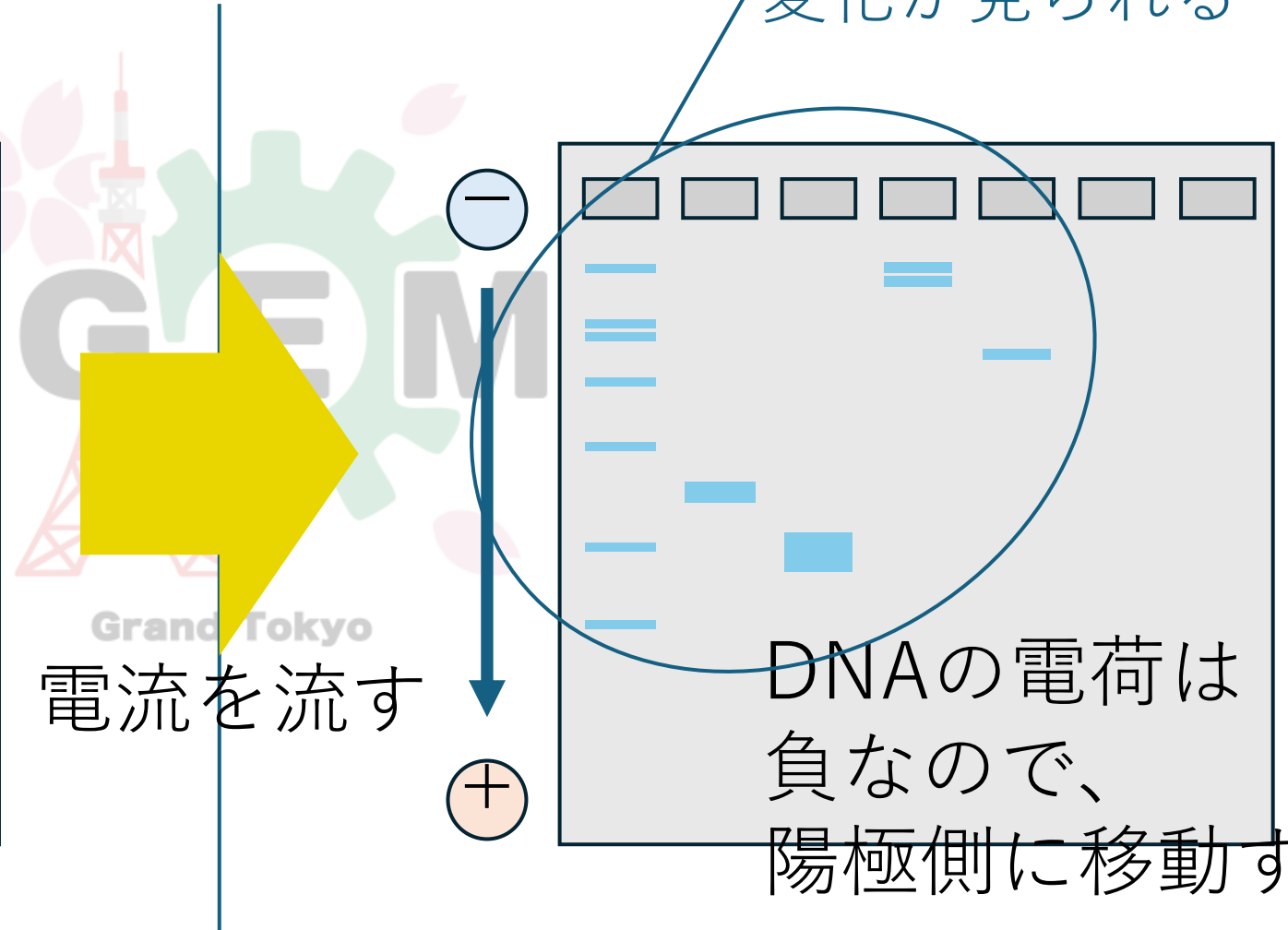
電気泳動

アガロースゲルの
穴（ウェル）に
マーカーとサンプルを
アプライ

電流を流す

DNA断片の
大きさによって
変化が見られる

DNAの電荷は
負なので、
陽極側に移動する



今回の実験手順

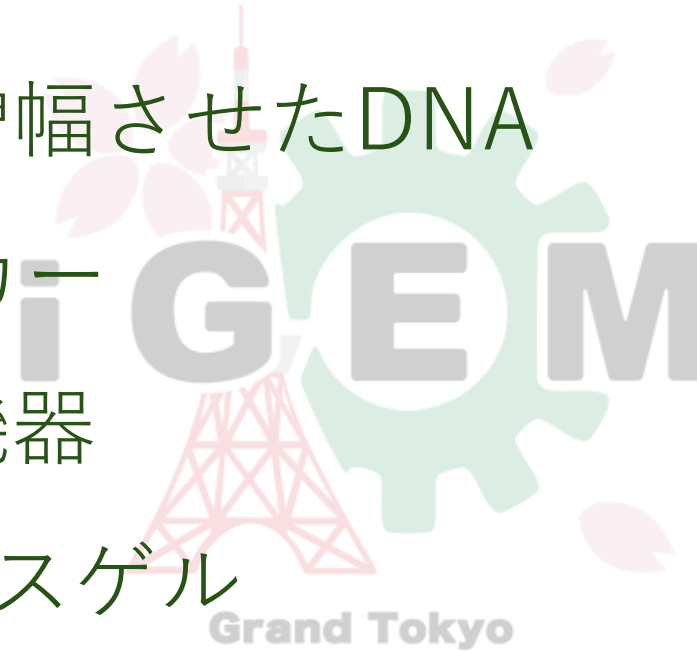
電気泳動

PCR法で増幅させたDNA

DNAマーカー

電気泳動機器

- アガロースゲル
- 泳動用バッファーTAE



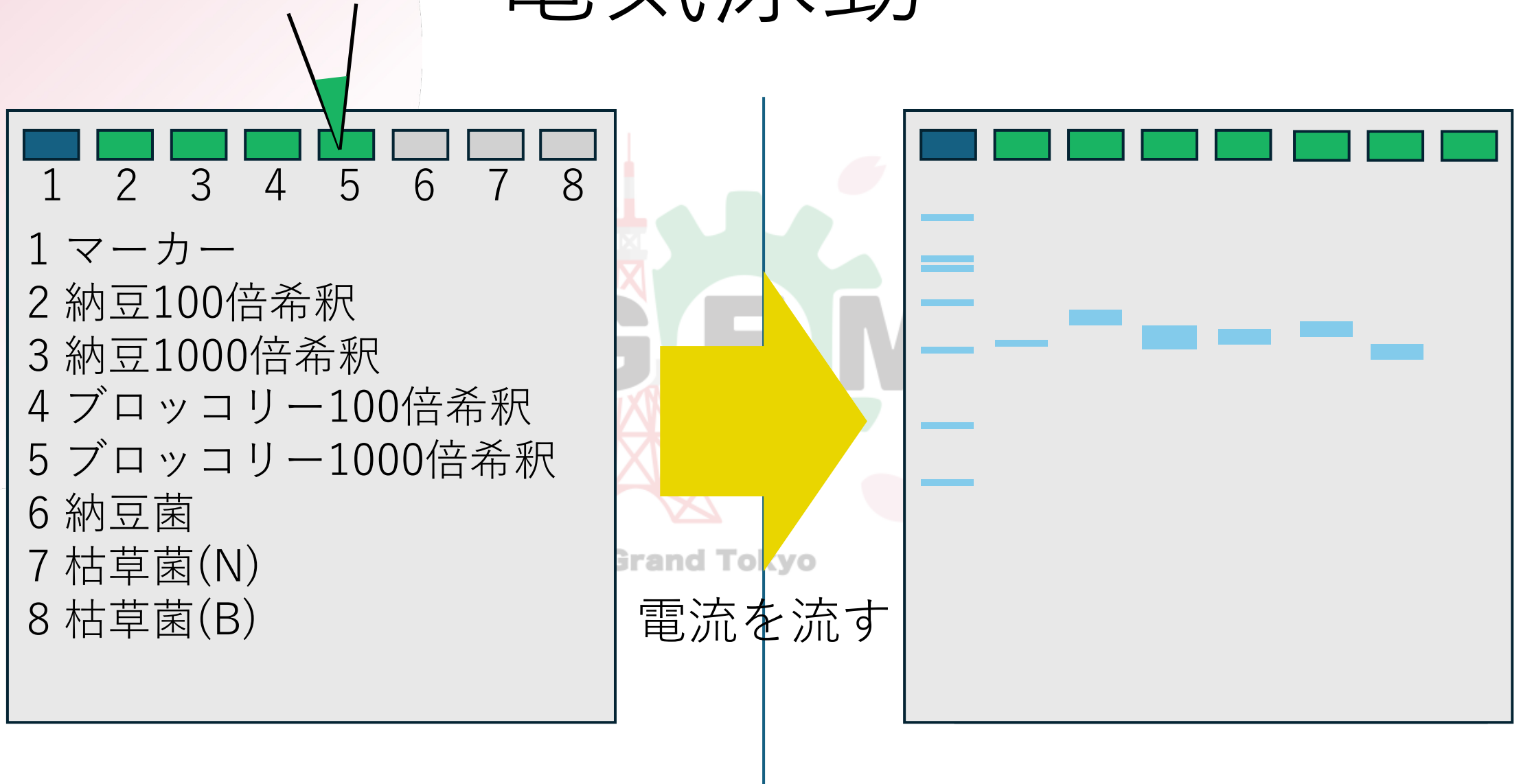
今回の実験手順

電気泳動

- ①各チェーンへのアプライ順を記録
- ②DNAマーカを5 μ lずつアプライ
- ③サンプルを5 μ lずつアプライ

Grand Tokyo

電氣泳動



今回の実験手順

電気泳動

⑥100Vで泳動開始

⑦20分待機

⑧UV照射によりゲル撮影

※危険なので絶対に直接触れないこと



アンケートに関して



本日のイベントに関する
事後アンケートへの回答に
ご協力よろしく申し上げます。
※後ほどメールでも配信いたします

Grand Tokyo



Grand Tokyo