

iGEM Grand Tokyo × ADvanceLab 実験教室  
「遺伝子組み換えってなんだろう？」

## 概要

大豆DNA抽出液をPCRサイクルにかけて特定の遺伝子を増やし、電気泳動をすることでその遺伝子を観察する。

※今回、本来であれば大豆のDNA抽出から実施する予定でしたが時間及び作業に使用する試薬の都合上本日は我々で既に抽出済みのDNAを使用します。  
なお我々が行ったDNAの抽出過程に関しては後ほど解説します！！

## タイムスケジュール

- 12:00 教室開始
- 12:00~12:30 アイスブレイク
- 12:30~13:15 実験説明
  - 実験の全体像の簡単な説明
  - DNA抽出の作業と原理の説明
  - PCR作業の説明
- 13:15~13:45 PCR作業
- 13:45~15:00 PCRサイクル実行
- 13:45~14:30 講義
  - PCR実験の原理説明
  - 合成生物学・iGEMに関する講義
- 14:30~14:45 休憩
- 14:45~15:00 ADvance Labに関する説明
- 15:00~15:15 電気泳動に関する説明
  - 電気泳動の原理説明
  - 作業説明
- 15:15~15:45 電気泳動作業
- 15:45~16:15 電気泳動
- 16:15~16:30 電気泳動結果観察(UV照射)
- 16:30~17:00 振り返り・アンケート回答・質疑応答
- 17:00 教室終了・解散



iGEM Grand Tokyo × ADvanceLab 実験教室  
「遺伝子組み換えってなんだろう？」

## 実験プロトコル

### 1.PCRの準備と実行

1.大豆のDNA抽出液を希釈する。

|            |            |
|------------|------------|
| DNA抽出液     | 1 $\mu$ l  |
| MilliQ(純水) | 14 $\mu$ l |

1/10 => DNA 0.5 $\mu$ l + MilliQ 4.5 $\mu$ l => 5 $\mu$ l

1/20 => DNA 0.5 $\mu$ l + MilliQ 9.5 $\mu$ l => 10 $\mu$ l

2.プライマーを希釈する。

|           |             |
|-----------|-------------|
| Primer(F) | 0.5 $\mu$ l |
| Primer(R) | 0.5 $\mu$ l |
| MilliQ    | 1 $\mu$ l   |

Primer 0.5 $\mu$ l + MilliQ 0.5 $\mu$ l => 1 $\mu$ l

3.PCRのための溶液を作成する。

|                      |              |
|----------------------|--------------|
| DNA(1/1, 1/10, 1/20) | 各1 $\mu$ l   |
| Primer希釈液(F,R)       | 各0.6 $\mu$ l |
| KOD Master Mix       | 15 $\mu$ l   |
| MilliQ               | 12.8 $\mu$ l |

DNA 1 $\mu$ l + Primer(F) 0.6 $\mu$ l + Primer(R) 0.6 $\mu$ l + KOD Master Mix 15 $\mu$ l + MilliQ 12.8 $\mu$ l => 30 $\mu$ l

4.先ほど作った溶液を3つに分注する。

3.で作った溶液30 $\mu$ l => 10 $\mu$ l3つに分ける



iGEM Grand Tokyo × ADvanceLab 実験教室  
「遺伝子組み換えってなんだろう？」

PCRサイクル(TAが操作します!!)

98℃ 3分

98℃ 10秒

50℃ 5秒 ×30サイクル

68℃ 3秒

68℃ 7分

12℃ ∞

## 2.電気泳動

1.3つに分注したPCR産物を1つにまとめる。

10μl × 3 => 30μl

2.電気泳動機器にゲルをセットする。(TAが行います!!)

3.ゲルへのアプライ

マーカー 4μl

各PCR産物 5μl

Loading Dye 1μl

計 6μl

をそれぞれ以下の通りにウェルにアプライする



