

令和 5 年度 化学生命工学実験 3

実験名

学籍番号 : 082110424

氏名 : 中村優作

実施日 :

1 目的

2 操作

2.1 PCR

PCR 酵素 15 μ L が入ったマイクロチューブに超純水 3 μ L と template 6 μ L と primer 6 μ L を加えて調整した。調整した溶液を装置にセットし、以下の図 1 プログラムで PCR を行った。

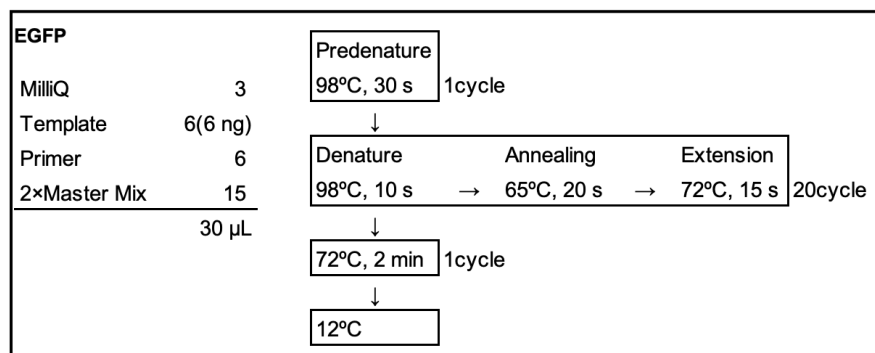


図 1: PCR プログラム

2.2 電気泳動

6x loading buffer 入りのエッペンチューブに PCR 後の溶液を 10 μ L 加えた。その後 100V で 20 分間電気泳動をした。その後、電気泳動で確認できたバンドを切り出してカラムで DNA を観察した。ゲル精製した EGFP と $GABA_{B1}$ をコードする DNA 断片とベクターとなる pBlueScript を制限酵素で切断した。

2.3 ligation

エッペンチューブ 2 本に制限酵素処理をした pBluescript(vector) を 2.5 μ L ずつ加え、続いて片方に EGFP をコードする DNA 断片 (insert)、もう片方に $GABA_{B1}$ をコードする DNA 断片 (insert) を 2.5 μ L 加えた。酵素と緩衝液である ligation mix を 5 μ L 加えて、16°C で 30 分反応させた。2 μ L の 6x loading buffer が入ったエッペンチューブに ligation 前のペリレン、EGFP, GABA を各 3 μ L ずつ加えた。また、1 μ L の 6x loading buffer が入ったエッペンチューブ 2 本にそれぞれペリレンと EGFP 4 μ L ずつ、ペリレンと GABA 4 μ L ずつ加えた。これらの溶液を 16°C で 30 分反応させた。その後、30 分間 100V で電気泳動をした。

2.4 transformation

2.3 で調整したペリレンと EGFP の溶液、ペリレンと GABA の溶液を $5\mu\text{L}$ とり、新しいチューブ内でコンピテントセル $30\mu\text{L}$ とそれぞれの溶液を混合した。タッピング後、氷上で 5 分間静置して、コンピテントセルを 42°C で 45 分間加熱した。その後 5 分間静置して LB プレートへ菌を撒いた。

3 結果

4 考察

5 設問/課題

6 参考文献

参考文献