



理数研企画

「遺伝子組換え実験」大腸菌にGFP遺伝子を導入する

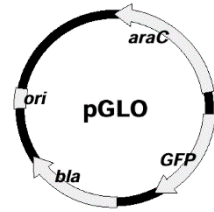
目的① 遺伝子組み換えの原理を理解する。

⇒大腸菌にオワンクラゲから得られる蛍光タンパク質 (GFP) の遺伝子を導入することで、大腸菌がGFPを産生するようになる。

目的② 微生物実験の実験技術を習得する。

<実験の概要>

1. 培地を作成する(LB 培地 ・ LB/*amp 培地 ・ LB/amp/*ara 培地)。
2. E.coli (大腸菌) をLB培地に植菌しインキュベーターで培養する。培養した E.coli で遺伝子組み換えを行う。
3. pGLO (GFP遺伝子が入っているプラスミド) をヒートショック法で E.coli に導入する。negative control としてプラスミドを導入しないパターンも用意する。



※amp・・・ampicillin の略。抗生物質の1つ。通常、大腸菌は amp が培地に入っていると生存できないが、GFP が入ったプラスミドに amp^r 遺伝子も入れておくことで、プラスミドが導入された大腸菌だけが生き残るようにしている。

ara・・・arabinose の略。GFP 遺伝子は arabinose が存在しないと、発現できない仕組みになっている。よって LB/amp/ara 培地で生育した大腸菌のみがGFPを産生するようになる。

<実験の様子>



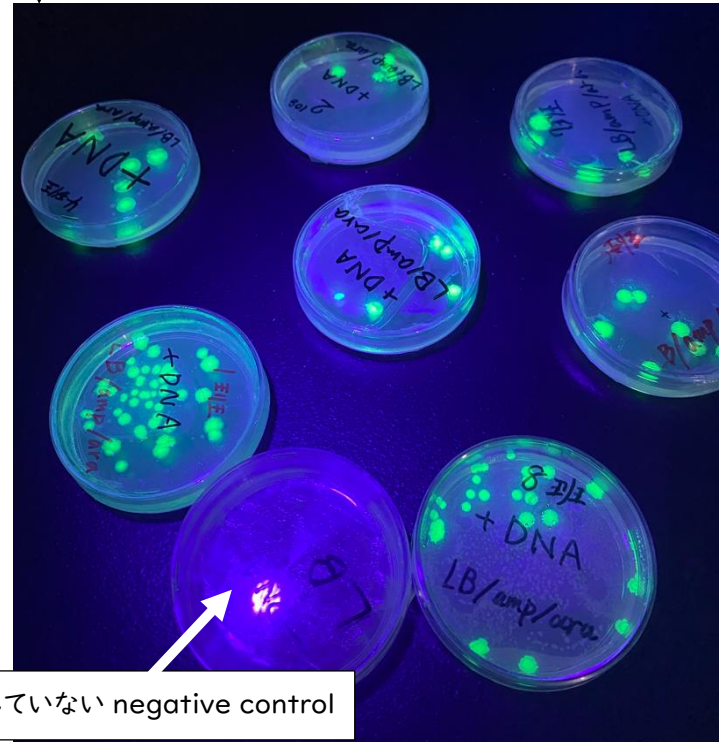
大腸菌を各培地に植菌



クリーンベンチがないので、ガスバーナーで上昇気流をおこし、雑菌がコンタミネーションするのを防いでいます。

↓ 蛍光色に光っているのがGFP(Green Fluorescent Protein)

大腸菌にGFP遺伝子が導入できたか確かめる



GFP遺伝子を導入していない negative control

今回はバイオテクノロジーを学習済みの3年生(理系生物)を対象に遺伝子組み換え実験を行いました。この実験は4日間かけて行い、[LB培地の調製][E.coli の培養][streak plate method][ヒートショック]など生命科学実験で基礎になるスキルの習得を行いました。自分たちで組換え大腸菌を作り出し、実際にGFPが産生され発光した様子を見た生徒たちから、思わず「おおー!」という歓声が上がりました。この実験は資料集等にも載っており、原理も理解できている生徒たちですが、実際にやってみるとなると、まったく別の話となります。ちょっとしたミスでコンタミ(雑菌が混入すること)が起きて培地をダメにしたり、マイクロ単位での調整や、白金耳を使った植菌にも四苦八苦していました。研究者になるには、専門的な知識理解だけではなく、職人のような実験技術も必要であるということを理解した様子でした。 頑張れ、研究者の卵たち!

(文責:尾方)