

主催: NPO法人くらしとバイオプラザ21 協賛: 個人遺伝情報取扱協議会  
 共催: 東京農工大学遺伝子実験施設 バイオ・ラッド ラボラトリーズ  
 協力: 東京テクニカルカレッジ・バイオ科

### 第11回ヒトゲノムを用いた実験教室「私たちのDNA」 「ゲノムDNA抽出とAlu配列の解析」

2016. 9. 24.  
 おおとう みちえい  
 大藤道衛

### 「私のゲノムDNA抽出とAlu配列の解析」

午前中  
 大藤: 実験の概要  
 佐々先生: 同意書の作成  
実物に触れてみる(実験)  
 自分のゲノムDNAを取り出す。  
 Alu配列の分析を始める。  
 自分のゲノムDNAを観察する。

午後  
 丹生谷先生: ラボツアー  
 横野先生: 講義「遺伝情報と私たち: 差別しない/されないために」  
 大藤: 講義「ゲノムの話 私たちはどこから来たの?~生まれと育ち~」  
 実験: 電気泳動によるAlu配列の解析  
 佐々先生: バイオカフェでゲノムについて皆で討論

2

### 本実験教室の目的

本実験教室では、受講者自身の口腔内細胞を用いて、ゲノムDNAの抽出やDNA解析を体験します。

実験のデータから病気や体質を調べるものではありません。

本実験を通じ、ゲノムについて興味を持っていただければ幸いです。

関連事項: テキスト2ページ

### 細胞

細胞の絵: 柳田充弘著「細胞から生命がみえる」岩波新書(1995)より引用  
 ヒト写真引用: <http://www.nature.com/news/2008/080221/full/news.2008.614.html>

### 数のはなし

約70億人/地球      約37兆個\*細胞/1人

A, G, C, T  
 約30億塩基のゲノムDNA x 2 / 1細胞  
 約23,000遺伝子 / 1ゲノムDNA

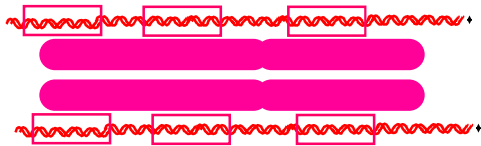
\*注: ヒトの細胞数は、60兆個と言われていたが、最近の研究により、37兆個が有力となった。Bianconi E et al. Ann Hum Biol. 40:463-71.(2013)

### 遺伝子はどこにあるの?

関連事項: テキスト4, 20ページ

ゲノム=遺伝子+染色体  
Genome=gene + chromosome

DNA (デオキシリボ核酸)



ゲノムの役割

1. 遺伝情報を親から子へ伝えること(遺伝)
2. 遺伝情報を活用すること(遺伝子発現)

関連事項: テキスト20ページ

7

ゲノム=遺伝子+染色体  
Genome=gene + chromosome

ゲノムは、遺伝子の1セット。  
物質としては、DNA。

ゲノムの役割

1. 遺伝情報を親から子へ伝えること(遺伝)
2. 遺伝情報を活用すること(遺伝子発現)

関連事項: テキスト20ページ

8

ゲノムDNAと遺伝子(イメージ画)

The FANTOM Consortium (RIKEN YOKOHAMA)  
The Transcriptional Landscape of the Mammalian Genome  
Science, 309, 1559 – 1563, (2005)

遺伝情報を活用するとは?  
生命の骨格: セントラルドグマ

関連事項: テキスト23ページ

ターゲットDNA配列: Alu配列

第16染色体 predicted variant 92 (PV92) locus のAlu配列多型解析

16番目のヒトの染色体上にあるPV92という住所(場所)にAluと名付けたDNAの配列をもっているかどうかを調べる実験

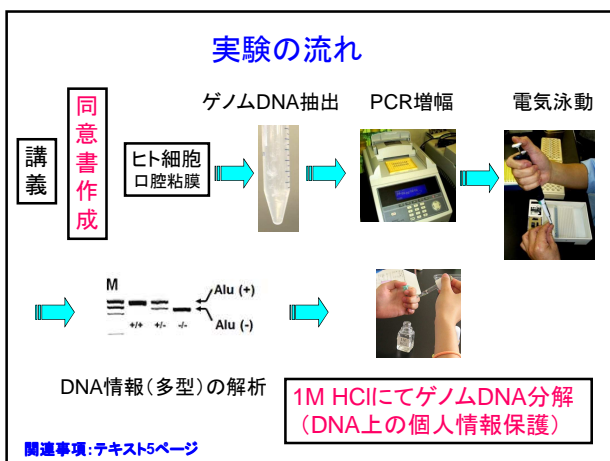
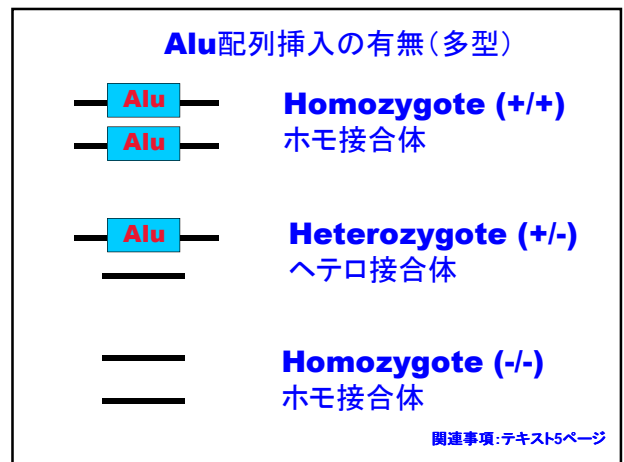
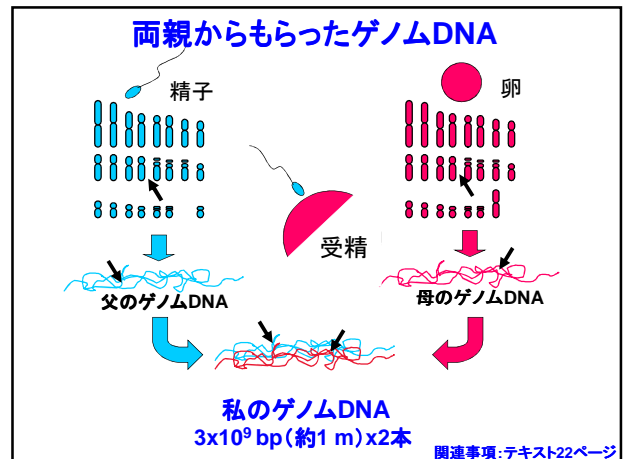
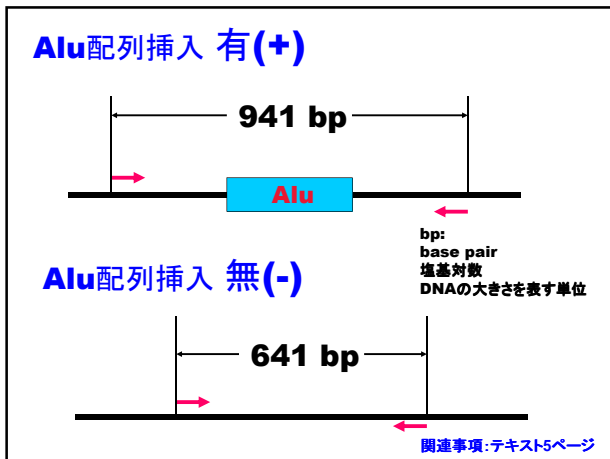
Alu配列は、H-cadherin遺伝子内(イントロン)に存在

Alu配列が有っても無くてもH-cadherin遺伝子の機能は正常  
→ 病気や体質に関係ないAlu配列を解析

Alu: 制限酵素AluIで切断される配列をもつDNA断片  
住所: DNA上の場所をlocus(ローカス)と呼ぶ PV92 locus

関連事項: テキスト4-5ページ

関連事項: テキスト4ページ



**ピペット練習**

関連事項: テキスト11ページ

**マイクロピペット**→液体を採取する道具。



**チップ**

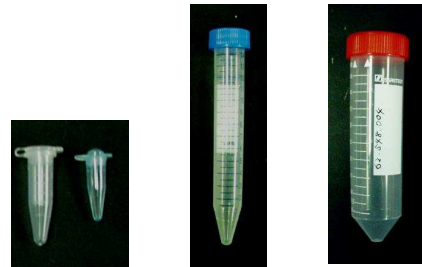
→マイクロピペットの先端に付け、液体を採取するもの(使い捨て)。



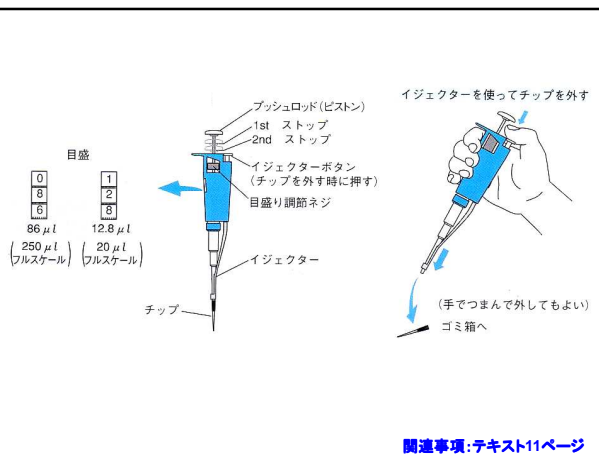
関連事項:テキスト6ページ

**チューブ**

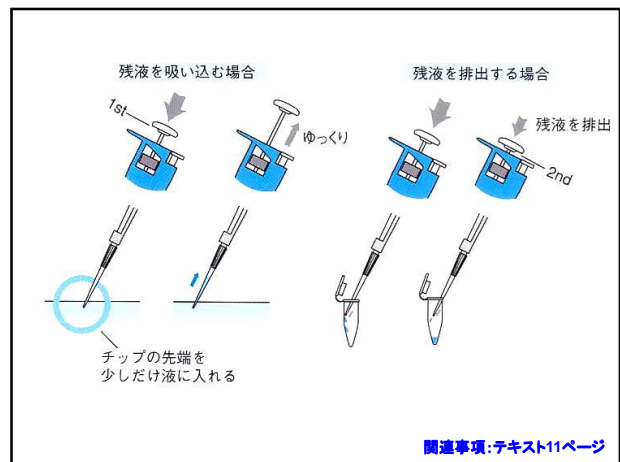
→試験管のこと、実験ではプラスチック製のものを用いる(使い捨て)。



関連事項:テキスト6ページ



関連事項:テキスト11ページ



関連事項:テキスト11ページ



**溶液を眼で確認しながらピペット操作**

引用:大藤道衛:「バイオ実験超基本Q&A改訂版」羊土社(2010)

23

**ピペティング**

→溶液の混ぜ方の1つ。  
溶液をピペットのチップ中に吸い込んだり、出したりすることを繰り返し、溶液を混ぜる。



関連事項:テキスト8, 11ページ

### ピペティングの練習

B.J.(ブルージュース)を水に溶かしこみピペット操作の練習をしましょう。



チューブに100 $\mu$ Lの水が入っています。そこに、20 $\mu$ LのB.J.を、加え、混ぜてみましょう。

関連事項:テキスト11ページ

**タッピング** → 溶液の混ぜ方の1つ。利き手の中指の腹でチューブの先端を、ゆっくり叩くことで溶液を混ぜる。



関連事項:テキスト8, 11ページ

## ゲノムDNA抽出 (解析用)

### 抽出

→細胞内から特定の物質を取り出すこと  
(この実験では、細胞内からDNAを抽出する)。

関連事項:テキスト12ページ

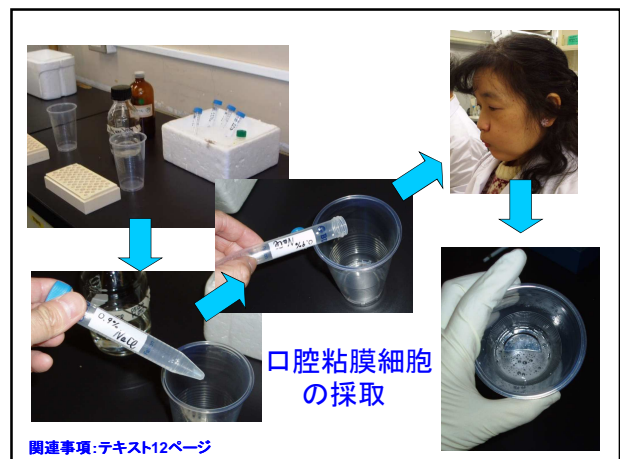
実験するために知っている便利なゲノムDNAの性質

①DNAは熱に強い物質です。正確には、熱で形が変わりますが、温度を下げれば元に戻ります。

②DNAは、DNA分解酵素で簡単に壊れてしまいます。そして、DNA分解酵素は、細胞内ばかりでなく唾や汗の中にも入っています。


③あまり激しく攪拌すると物理的に切れてしまいます。

28





遠心機にて  
沈殿が出るまで  
遠心分離(2分以上)



上清⇒廃棄  
沈殿⇒口腔内細胞  
(含:ゲノムDNA)

沈殿 約50μL  
沈殿に上清が残る

沈殿懸濁液全量 約50μL

InstaGeneマトリックス 200μL  
添加後よく混合(ピペティング)する



関連事項:テキスト12ページ

31

遠心分離機  
→遠心力によりチューブ内の固形物を  
底に集めることができる機械



関連事項:テキスト6ページ

遠心分離

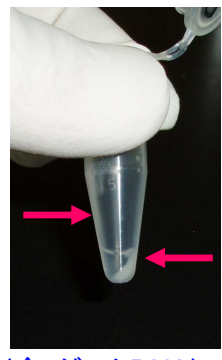
上清捨てる

InstaGeneマトリックス添加

口腔粘膜細胞

関連事項:テキスト12ページ

33




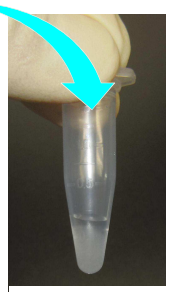
上清残

沈殿

約50μL  
口腔内細胞(含:ゲノムDNA)

関連事項:テキスト12ページ

34

全量


細胞けんたく液  
(約50μL)  
ピペティング

InstaGene  
マトリックス  
(200μL)

関連事項:テキスト12ページ

35

ピペティング  
→溶液の混ぜ方の1つ。  
溶液をピペットのチップ中に吸い込んだり、  
出したりすることを繰り返し、溶液を混ぜる。

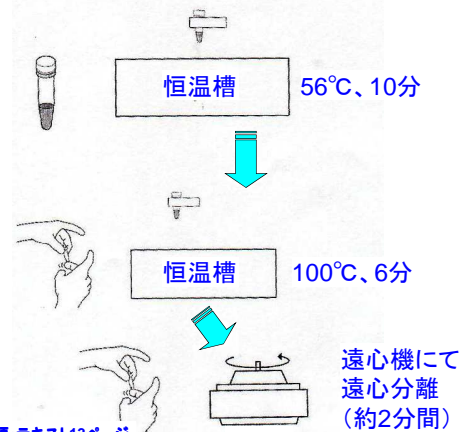


関連事項:テキスト8, 11ページ

**タッピング** → 溶液の混ぜ方の1つ。  
 利き手の中指の腹でチューブの先端を、  
 ゆっくり叩くことで溶液を混ぜる。



関連事項: テキスト8, 11ページ



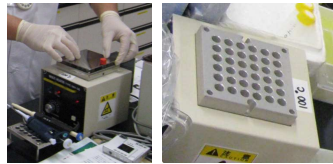
関連事項: テキスト13ページ



56°C処理  
10分間

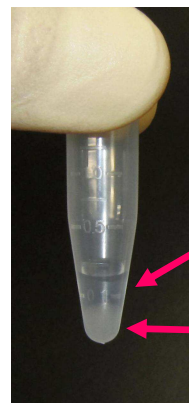


100°C処理  
6分間



よく混ぜる

関連事項: テキスト13ページ



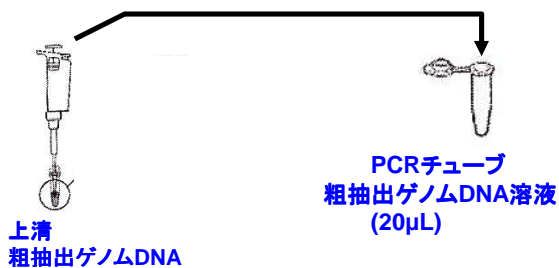
20μL  
PCRチューブへ

上清  
(粗抽出ゲノムDNA)

沈殿(マトリックス)  
~PCRを阻害~

関連事項: テキスト13ページ

20 μL



関連事項: テキスト14ページ

## PCR反応

### 仕込み

→ 実験のときに、試薬をチューブに加えて  
 反応や機械に掛ける準備をすること

**20  $\mu$ L 添加 (スタッフが行います)**

PCRプレミックス溶液  
黄色い溶液  
PCR反応に必要な  
プライマーや酵素

PCRチューブ  
粗抽出ゲノムDNA溶液  
(20 $\mu$ L)

**PCR反応液  
全量40 $\mu$ L**

関連事項: テキスト14ページ

**PCR反応**

**約3時間**

関連事項: テキスト39-40 ページ

**PCR** → 少ないDNAを増やす反応  
実験は反応温度を  
一定時間ごとに变化させて行う。

関連事項: テキスト39-40 ページ

**増幅配列はどこにあるの?**

PV92 Alu配列  
H-cadherin 遺伝子

染色体

2 nm  
11 nm  
30 nm  
300 nm  
700 nm  
1,400 nm

関連事項: テキスト4,39 ページ

**PCR反応**

関連事項: テキスト39-40 ページ

**ゲノムDNA抽出  
(観察用)**

関連事項: テキスト13 ページ



