

DNA 断片の分析「DNA 電気泳動」

【背景】

現在のバイオテクノロジーの基本的手法として組換え DNA 分子の作成がある。遺伝子を組換えすることで、ある植物に害虫・病気に対する耐性を持たせたり、機能しない遺伝子や変異型遺伝子を持つ生物に機能する遺伝子や正常な遺伝子を与えたりすることも可能になってくる。組換え DNA 分子を作成するためには組込む DNA 断片の大きさを知る必要がある。よって、本実験ではゲル電気泳動法という方法で DNA 断片の大きさを決定する。DNA の大きさを決定するためには、分子の混合物を断片の大きさごとに分ける必要がある。その後、実験中の断片の大きさを既知の断片の大きさと比較する。

【本実験の目的】

- ① ラムダ DNA を制限酵素で切断し、いろいろな大きさの DNA 断片にする。
- ② 様々な大きさの DNA 混合物から大きさごとに分離する。
- ③ 分離した分子それぞれの大きさを確認する。

【実験】

〈実験1〉制限酵素処理

〔目的〕・電気泳動用アガロースゲルの作成

- ・ λ DNA の制限酵素処理

〔材料〕生徒用机

- ・マイクロチューブ(各 4 色 1.5mL 1 本ずつ 計 4 本)
- ・DNA(λ DNA) 25 μ L
- ・RB(制限酵素用バッファー(restriction buffer)) 60 μ L

共通

- ・電気泳動用ゲルトレイ、ゲルコーム
- ・電気泳動用バッファー(1×TAE) 100mL(2 班分)
- ・アガロース粉末 1g (2 班分)
- ・クラッシュアイス入り保冷ボックス(制限酵素 *EcoR* I, *Hind* III, *Pst* I が保存されている)
- ・恒温水槽
- ・遠心分離機

〔方法〕電気泳動用アガロースゲルの作成

1. アガロース 1g を 100mL の電気泳動用バッファーに加える(200mL 三角フラスコ)。
2. 電子レンジを使って、アガロースを溶解させる(やけどに注意！軍手をする)。
3. ゲルトレイにコームが正しくさきつていることを確認して、静かにゲルを注ぎこむ。
4. そのままラップをかぶせて、冷蔵庫で保管する。