

# 分子遺伝学 (今日)

大腸菌の形質転換：DNAが遺伝情報を持つ

無菌操作

機械式ピペッターの取り扱い

分光光度計による濁度測定

プレート操作

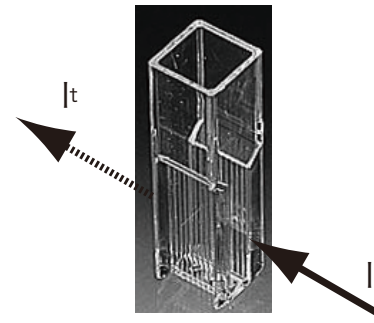
# 生化学 (来週)

$\beta$  ガラクトシダーゼ活性測定

定量解析

プレート観察：表現型と遺伝子型

# 分光光度計



$$T = I_t / I_0$$

$$A = -\log_{10} T = \epsilon c d$$

# 実習室の分光光度計について

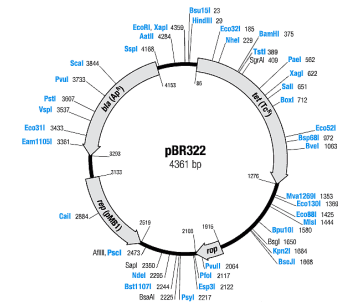
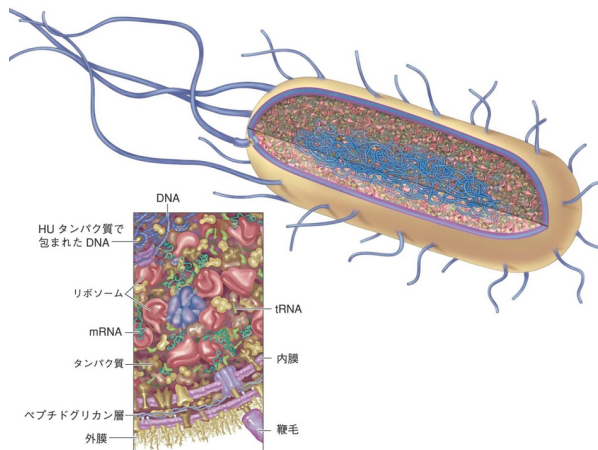
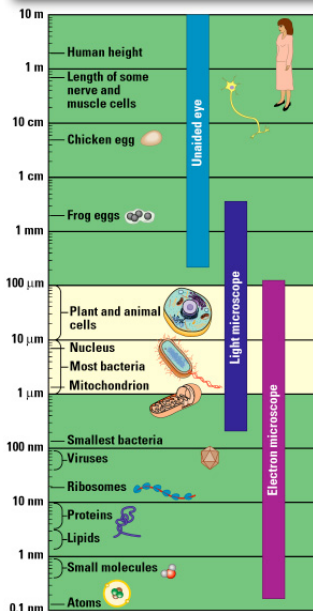
1. 後ろの白い電源を押す (ON)
2. 波長を600 nmにあわせる  
600 go to  $\lambda$ キーを押す。
3. DWで対照を取る  
キュベットに水を入れ、一番左側のホルダーにセットする。  
機械の後方から光が出て手前に検出器があるので方向に気をつける。(光路面は触らない)  
蓋をしっかり締める。  
Auto Zeroキーを押す。
4. サンプルを測定する

大腸菌液を素早く0.8 mlキュベットに取り、機械にセットする。この時の濁度と時間を記録する。(大腸菌は増殖中、時間が経つと沈む)  
測定後は、大腸菌液を「廃液ビーカー」に捨て、軽く水で洗浄する。

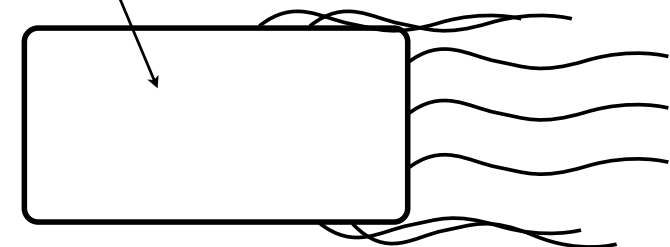
1

2

# 大腸菌 (原核生物) のモデル図



TFB ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Li}^+$ )

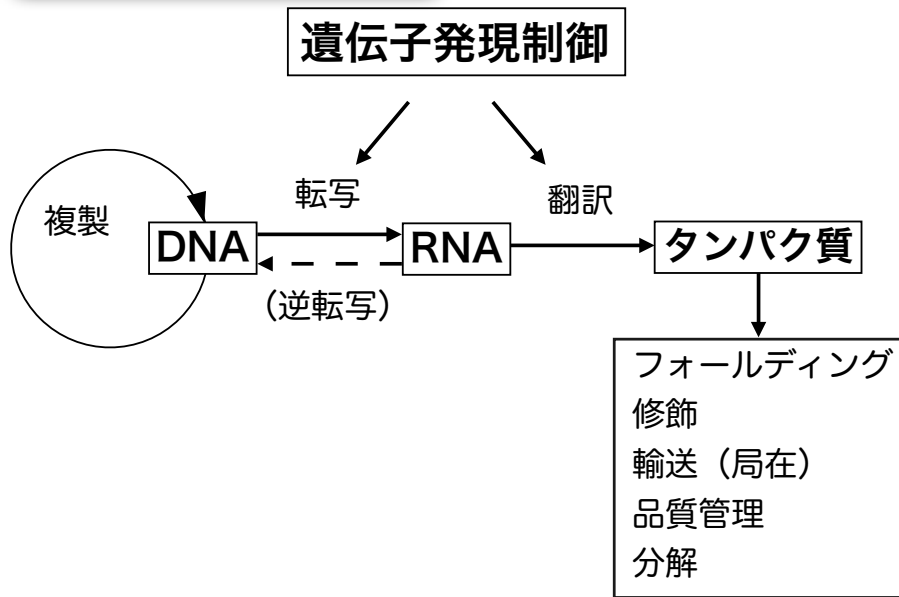


$\text{Amp}^S \rightarrow \text{Amp}^R$

3

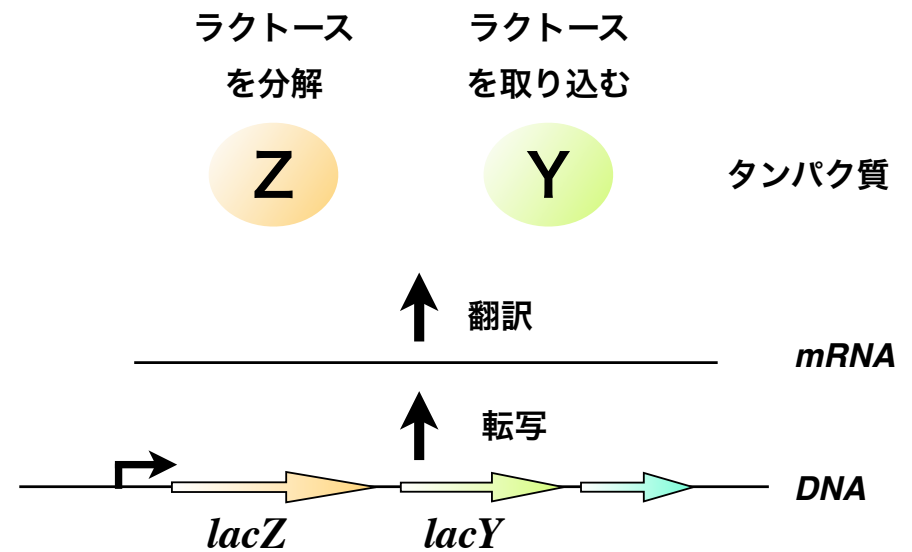
4

## セントラル・ドグマ



5

## 大腸菌ラクトースオペロン



6

## ラクトースオペロン

*lacZ* :  $\beta$ -galactosidase (lactose  $\rightarrow$  glucose + galactose)

*lacY* : lactose permease (ラクトース取り込みタンパク質)

*lacA* : galactoside acetyltransferase

|          | $\beta$ -galactosidase activity<br>(Miller units) |
|----------|---|
| -lactose | 10  |
| +lactose | 3000  |

lactoseオペロンはラクトース存在下で発現が誘導される

7

## オペロン説

1965年:ノーベル生理学・医学賞

Jacob, Monod, Lwoff

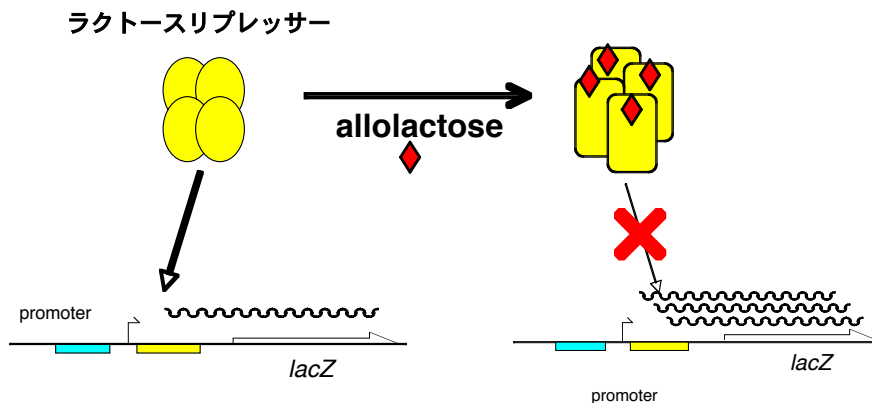
(ジャコブ、モノー、ルポフ)

1) **トランスに働く調節タンパク質**と、その標的となる**シス領域**の相互作用

2) **エフェクター**による調節タンパク質の**アロステリックな構造変化**

8

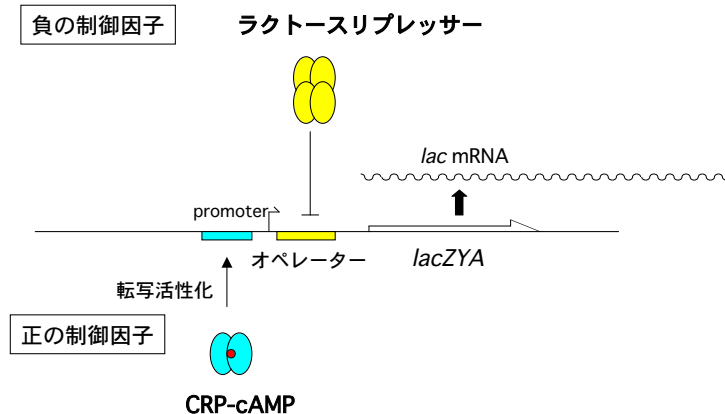
## エフェクターによるトランス因子の活性制御



9

## 大腸菌 lactose オペロンの正、負の制御因子

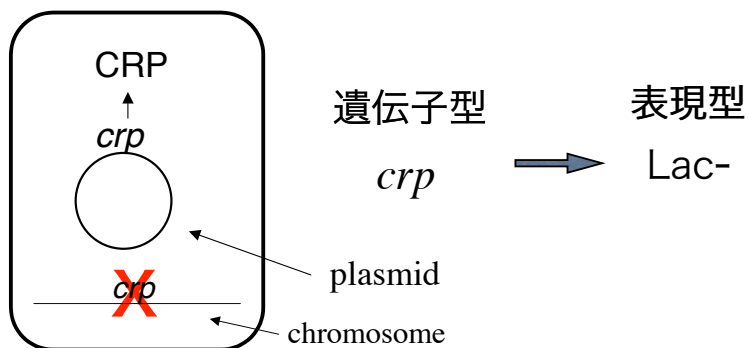
正の制御因子 : CRP-cAMP  
負の制御因子 : LacI (lactose repressor)



10

## 相補性試験による菌株の遺伝子型の同定

プラスミド（染色体外遺伝因子）が運ぶ遺伝子によって、染色体上の遺伝子の欠損を相補できる。



11

## MacConkey-Lactose Plate

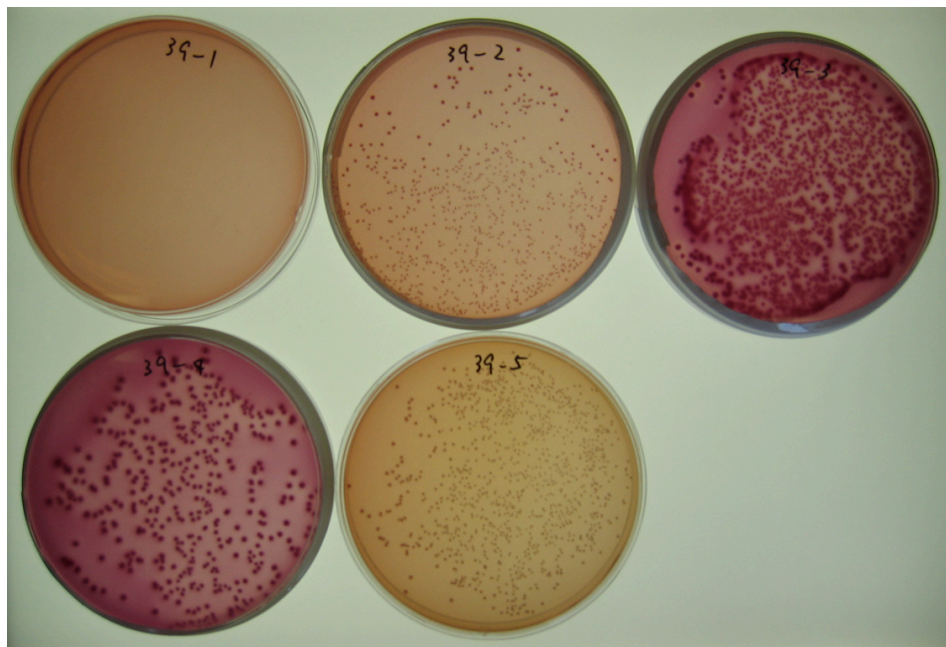
MacConkeyプレートは栄養源としてのpeptoneやNaCl以外にpH指示薬であるNeutral Redなどを含む。このpH指示薬は大腸菌が糖を代謝する際に菌体外に排出される酸に反応して赤色を呈するため、単一の糖源としてラクトースを含むMacConky-Lactoseプレート上ではラクトースを代謝できる菌は赤色のコロニーを、できない菌は無色のコロニーを形成する。

Lac - → White  
Lac ++ → Red  
Lac +/- → Rabbit Eye

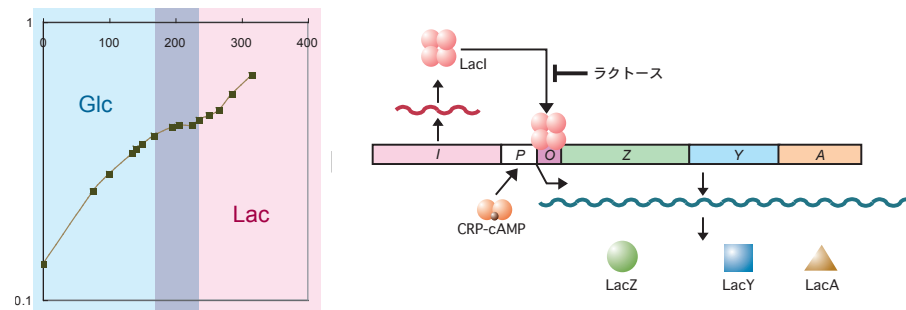
Amp. Sensitive → No Colony  
Amp. Resistant → Colony

12

# ラクトースオペロンの発現制御と DIAUXIE



13



14

## Dual control of the *lac* operon

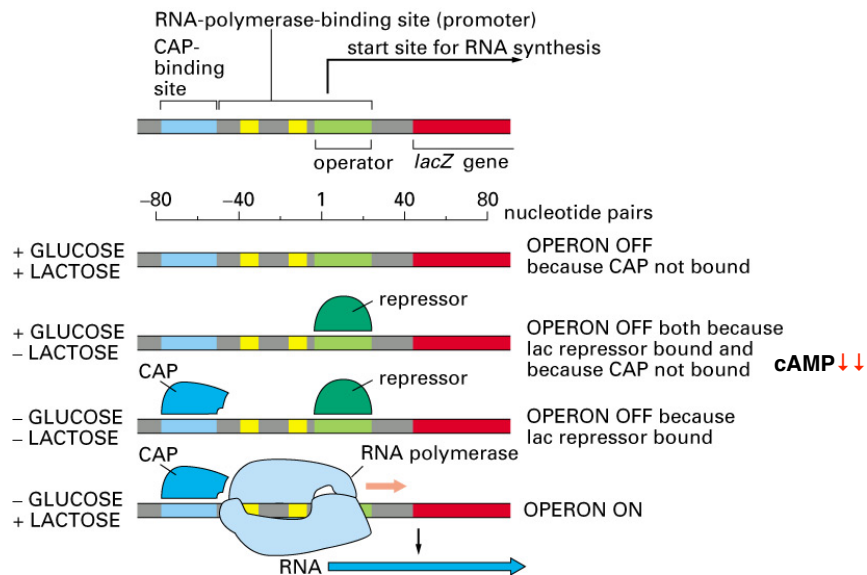
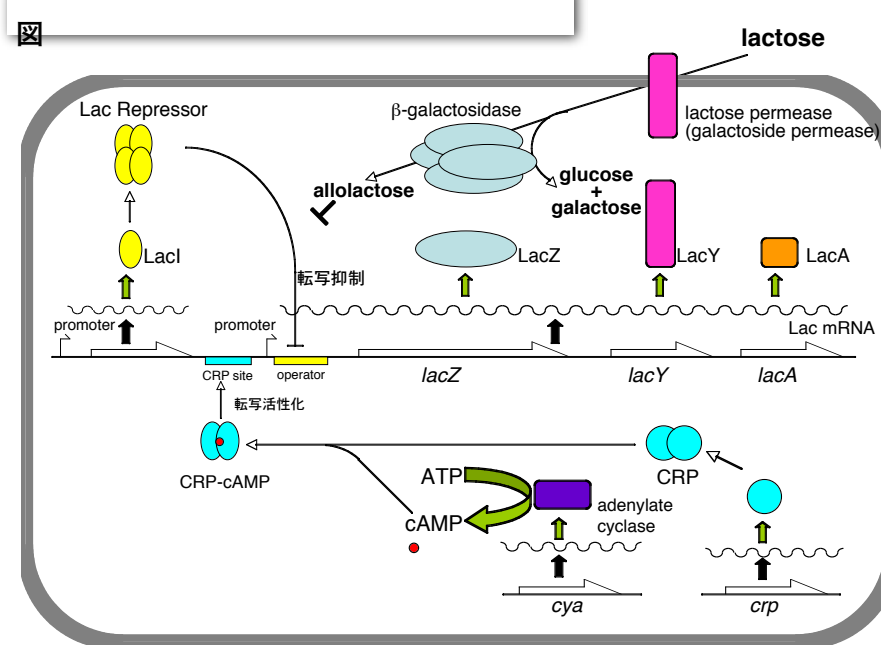


Figure 7-38. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

15

## 大腸菌ラクトースオペロン制御系のモデル



16