

<補足資料>

形質転換について

プラスミド DNA の取り込み
 Amp. Sensitive → No Colony
 Amp. Resistant → Colony

ラクトースオペロンの発現
 Lac - → White
 Lac ++ → Red
 Lac +/- → Rabbit Eye

自分の班のコロニー数と表現型を記入し、予想される結果と比べて考察せよ。

	株名()	<i>wt</i>	<i>crp</i>	<i>cya</i>	<i>lacZYA</i>	分かること
pBR322						
pCRP						
pLAC						
pCYA						
分かること						

ラクトースオペロンの発現制御について

「表現型の観察」
 表現型と遺伝子型の関係はどうなっているのか？

#1~4 の遺伝子型は何であると考えられるか？ 区別できない場合は、どのような実験をすればよいか？

形質転換の実験を TB X-Gal (Amp) プレートを用いてできるか？

負の制御と正の制御はどちらが優先的に働くとと言えるか？

「 β -Gal assay」

定量実験と訂正実験の違いとは？

サンプリングの際に OD600 をできるだけ合わせた方が良い。Miller units では OD600 で割っているのになぜだろうか？（ヒントは 11 ページ、15 ページ内にある）

グルコース存在下（ラクトース非存在下）で活性が 0 でない生理的意義は？

グルコース存在下ではラクトースが存在してもラクトースオペロンの発現が押さえられる（グルコース効果）。教科書のモデルでは、これは細胞内 cAMP 濃度の低下により正の制御因子 CRP-cAMP 量が減るためとある。今回の結果から導かれるモデルを論理的に構築せよ。モデルが複数考えられる場合は、それぞれどのような実験をすれば証明できるかまで考察する。

上級コースとして以下の問題を与えるので挑戦してみよ。

株	遺伝子型	β ガラク トシダーゼ活性	
		-Lactose	+Lactose
wt.	$I^+ O^+ Z^+$	1	3000
1	A	3000	3000
2	B	250	3000
3	C	1	10
4	$I^+ O^+ Z^+ / F' I^+ O^+ Z^+$	2	6000
5	$A / F' I^+ O^+ Z^+$	2	6000
6	$B / F' I^+ O^+ Z^+$	250	6000
7	$C / F' I^+ O^+ Z^+$	2	20

*4-7 は宿主染色体と F' プラスミド(1 copy/cell)の両方に *lac* オペロンをもつ部分 2 倍体である。

- 1) A, B, C は *lacI* もしくは *lac* operator の変異体である。どのような変異であるか推察せよ。また、どのような実験をすれば確認できるか、考察せよ。
- 2) リプレッサーとオペレーターの仕事について上の実験結果より分かることを考察せよ。