

事例Ⅱ 遺伝情報とDNA

1. 授業展開例

時限	学習内容	活動とねらい	指導上の留意点
*1	既習内容の確認 【資料】P. 23～25 実験の目的・操作内容の理解 【資料】P. 26～28 実験： 組換え遺伝子の導入	遺伝情報を担う物質としてのDNAの特徴、DNAの情報に基づいて合成されるタンパク質の働きについて理解させる。 本実験において確かめる学習内容、遺伝子の導入に関する実験操作の目的、注意事項について理解させる。 プラスミドを用いて、大腸菌に LacZ、GFP 遺伝子を導入し、その形質を予想・確認することで、遺伝子の発現の仕組みを理解させる。	○ミクロ（分子レベル）からマクロ（表現型レベル）まで、順に階層を追うことで、学習内容の統合化を図るとともに、取り組む実験がどの内容を確認するものであるかを理解させる。 ○DNAの二重らせん構造と塩基の相補性、遺伝子とゲノムとの関係、転写と翻訳の概要、タンパク質の生命現象における重要性、すべての遺伝子が常に発現しているわけではないことにも触れる。 ○「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（平成15年法律第97号）最終改正：平成19年3月30日法律第8号」に基づいた規則に従い、実験を行う必要がある。学校長の許可、P1レベル#の拡散防止措置、実験室の掲示、衛生面での準備、試料の取り扱い（培養設備・加熱殺菌廃棄など）について配慮する。
*2	組換え遺伝子の導入による遺伝子発現 【資料】P. 29～30		
*3	結果のまとめと考察 【資料】P. 31～32	予想と結果の比較をさせ、遺伝情報の発現の仕組みを理解させる。	○生徒の衛生面での配慮、試料の加熱殺菌廃棄に留意する。

*実験の所要時間を考慮すると、2時限連続展開が望ましい。

※試料を24時間以上培養して、直径1mm以上のコロニーが形成されてから結果を確認する。

なお、中学校理科第2分野では、**(5) 生命の連続性** で、

- ・遺伝子の本体がDNAであること
- ・遺伝子に変化が起きて形質が変化することがあること
- ・体細胞分裂の過程で染色体が複製されること

について学習している。

P1レベル：拡散防止措置の内容

	施設等について満たすべき事項
1	実験室が、通常の生物の実験室としての構造及び設備を有すること。

	遺伝子組換え実験の実施に当たり遵守すべき事項
1	遺伝子組換え生物等を含む廃棄物（廃液を含む。）については、廃棄の前に遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。
2	遺伝子組換え生物等が付着した設備、機器及び器具については、廃棄又は再使用（あらかじめ洗浄を行う場合にあつては、当該洗浄）の前に遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。

3	実験台については、実験を行った日における実験の終了後、及び遺伝子組換え生物等が付着したときは直ちに、遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講ずること。
4	実験室の扉については、閉じておくこと（実験室に出入りするときに除く）。
5	実験室の窓等については、昆虫等の侵入を防ぐため、閉じておく等の必要な措置を講ずること。
6	すべての操作において、エアロゾルの発生を最小限にとどめること。
7	実験室以外の場所で遺伝子組換え生物等を不活化するための措置を講じようとするときなど、実験の過程において遺伝子組換え生物等を実験室から持ち出すときは、遺伝子組換え生物等の漏出や、拡散が起こらない構造の容器に入れること。
8	遺伝子組換え生物等が付着し、又は感染することを防止するため、遺伝子組換え生物等の取扱い後における手洗い等必要な措置を講ずること。
9	実験の内容を知らない者が、みだりに実験室に立ち入らないための措置を講ずること。

2. 教材試料について

本実験では、「遺伝子組換え実験キット Standard Version」（島津理化社製）を用いた。1キット当たり、5セット（1班4名で20名分）入りで、¥14,800であった。

本キットで使用する宿主（大腸菌：*E. coli* JM109）は、毒性がなく自然環境下での生存能力も低い *E. coli* K12株由来である。また、遺伝子を導入するベクターはプラスミドで、タンパク質をコードする遺伝子として、Green Fluorescent Protein (GFP)・Galactosidase の2種類が含まれている。なお、これらには、抗生物質耐性をコードする遺伝子として ampicillin 耐性遺伝子が含まれている。

3. 単元の学習評価例について

観点	関心・意欲・態度	思考・判断・表現	観察・実験の技能	知識・理解
評価 規 準	○遺伝情報とDNA、タンパク質の合成について関心をもち、意欲的にそれらを探究しようとする。	○DNAの構造が遺伝情報を担い得る特徴をもつこと、及びDNAの塩基配列からmRNAの塩基配列、アミノ酸へという情報の流れについて探究する過程を通して、事象を科学的に考察し、導き出した考えを表現している。 ○予想や結果、導き出した考えを文章やスケッチで的確に表現している。	○遺伝情報とDNA、タンパク質の合成についての実験を行い、基本操作を習得するとともに、それらの過程や結果を的確に記録、整理している。 ○微生物の培養に関する基本操作を習得するとともに、事物・現象を科学的に探究する技能を身に付けている。	○遺伝情報を担う物質としてのDNAの特徴について理解し、知識を身に付けている。 ○DNAの情報に基づいてタンパク質が合成されることを理解し、知識を身に付けている。
方 法	・ワークシート ・行動観察 ・学習振り返りシート ・ノート	・ワークシート ・ノート ・課題レポート ・テスト	・実験レポート ・行動観察 ・学習振り返りシート ・テスト	・ワークシート ・テスト ・課題レポート ・学習振り返りシート

4. 参考資料

- ・「遺伝子組換え実験キット Standard Version」取扱説明書 島津理化社
- ・「生命倫理・安全に対する取組」

文部科学省 ライフサイエンスの広場 <http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/index.html>

拡散防止措置チェックリスト <http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/kakusan.html>

- ・ラクトースオペロン <http://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%83%A9%E3%82%AF%E3%83%88%E3%83%BC%E3%82%B9%E3%82%AA%E3%83%9A%E3%83%AD%E3%83%B3>

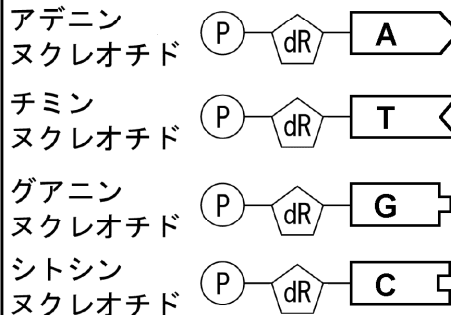
DNA～遺伝子～タンパク質～表現型

I. DNAの基本ユニット：ヌクレオチド



P : [リン酸]
 dR : [デオキシリボース]
 B : [塩基]

4種類のヌクレオチド



B (塩基) →

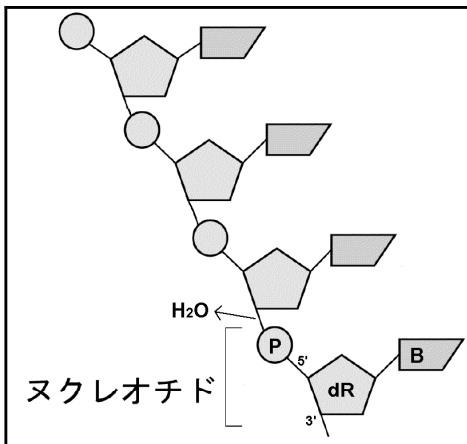
A : [アデニン]

T : [チミン]

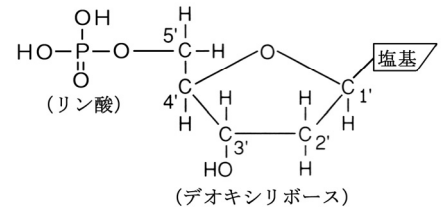
G : [グアニン]

C : [シトシン]

II. ヌクレオチド鎖の形成

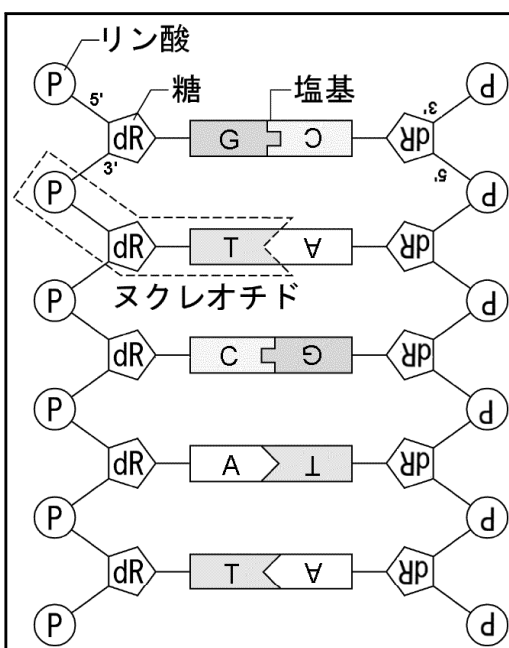


一つのヌクレオチドのリン酸と、別のヌクレオチドのデオキシリボースの3'末端との間で脱水縮合反応（共有結合による付加反応）が起き、それが多数連なることで一本鎖が形成される。



4種類の塩基の配列が、遺伝暗号としての情報を持っている。

III. 二重鎖の形成



(鋳型鎖) (コーディング鎖)

2本のヌクレオチド鎖が、塩基同士で向かい合い、弱い〔 **水素結合** 〕によりつながっている。

塩基同士は特定の組み合わせのみで結合している。

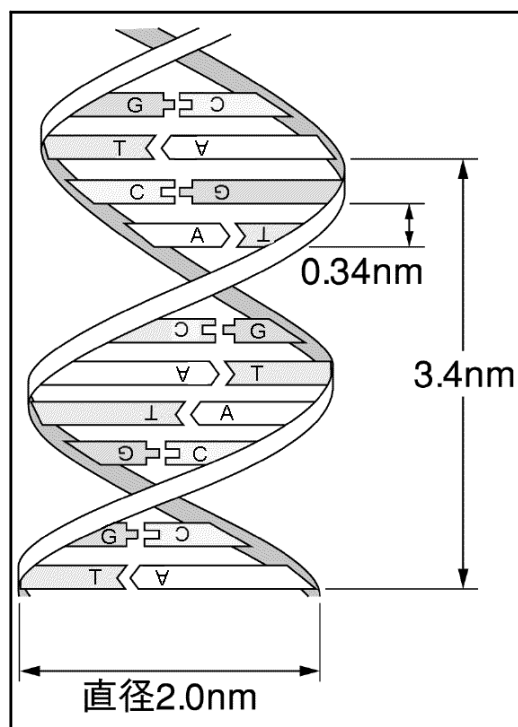
A = [T] G ≡ [C]

C ≡ [G] T = [A]

遺伝暗号としての情報を持っているDNA鎖を鋳型鎖（アンチセンス鎖）、もう一方のDNA鎖をコーディング鎖（センス鎖）という。

IV. 二重らせんの形成

2本鎖が右ねじの向きにねじれて、立体的に安定的な構造をつくる。
10塩基対で1回転する（1ピッチ）。

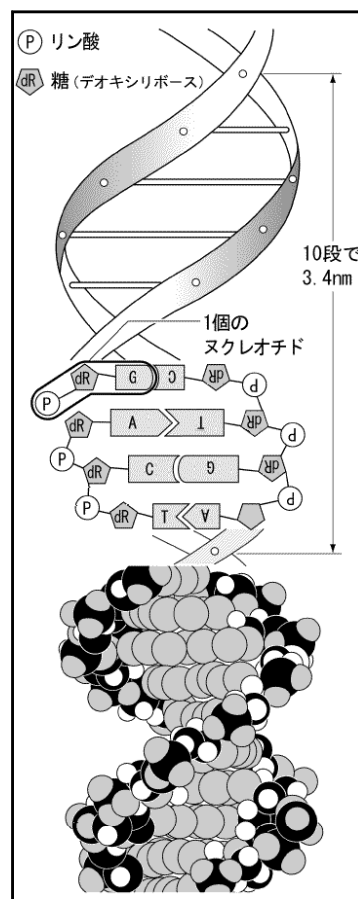


【実習】→モデルを作製して、
構造を立体的に理解する。

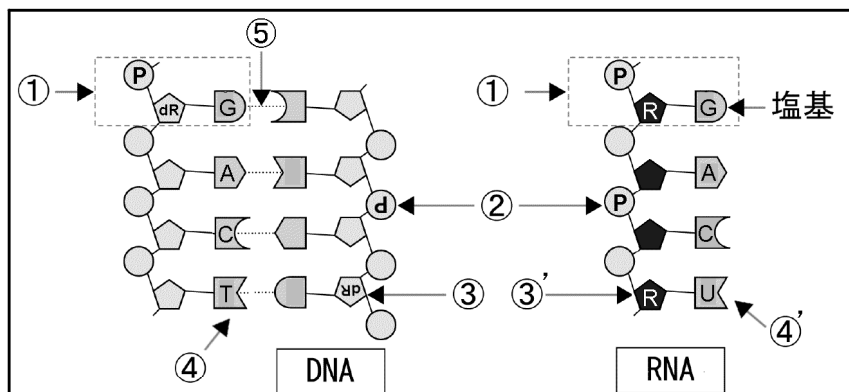
<帯モデル>

<ヌクレオチドモデル>

<空間充填分子モデル>

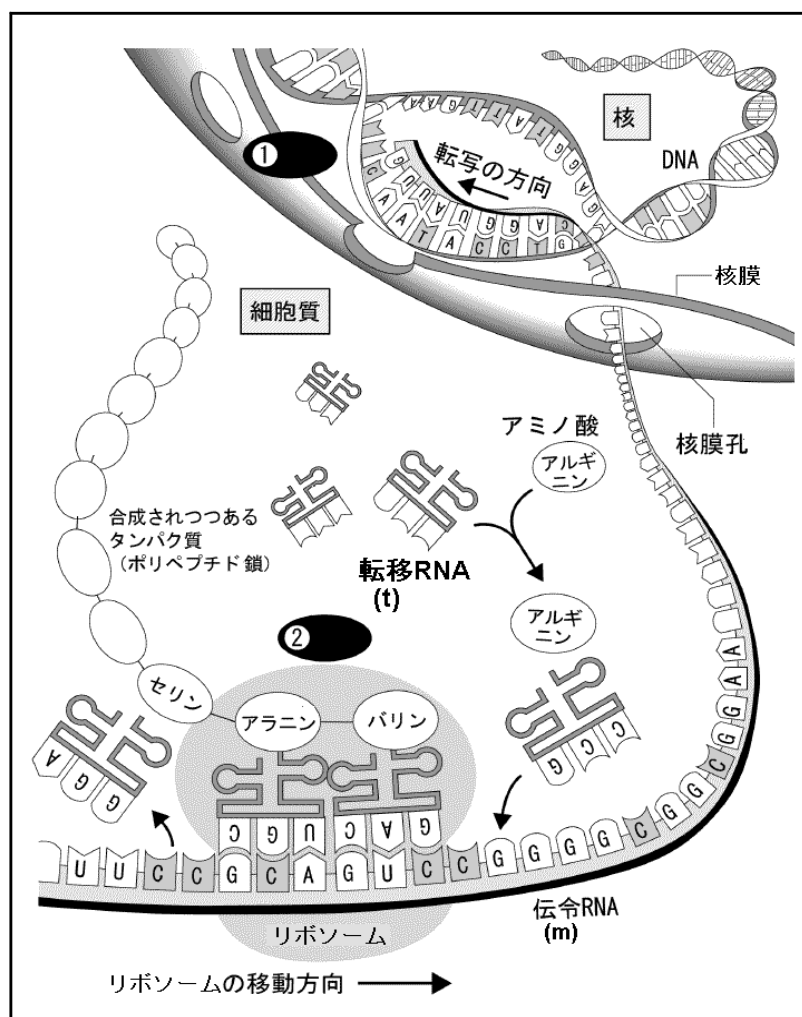


V. DNAとRNAの分子の比較



共通点	基本ユニット	① : [ヌクレオチド]	
	P	② : [リン酸]	
	ヌクレオチド鎖の形成	[脱水縮合] 反応	
相違点	糖	③ : [デオキシリボース]	③' : [リボース]
		<chem>OC[C@H]1O[C@@H](O)[C@H](O)[C@@H]1O</chem> ③ Deoxyribose	<chem>OC[C@H]1O[C@@H](O)[C@H](O)[C@@H]1O</chem> ③' Ribose
	塩基	④ : [チミン]	④' : [ウラシル]
	ヌクレオチド鎖の構造	[二重らせん構造]	[一本鎖]
		⑤ : [水素結合]	

VI. 遺伝子のはたらき



【セントラルドグマ】

DNAの〔塩基配列〕

遺伝情報

↓ ①:〔転写〕

mRNAの塩基配列

三組暗号（トリプレット）

アミノ酸指定（コドン）

↓

tRNAの塩基配列

（アンチコドン）

+

指定されたアミノ酸を運搬

↓ ②:〔翻訳〕

リボソーム内でアミノ酸が

ペプチド結合

↓

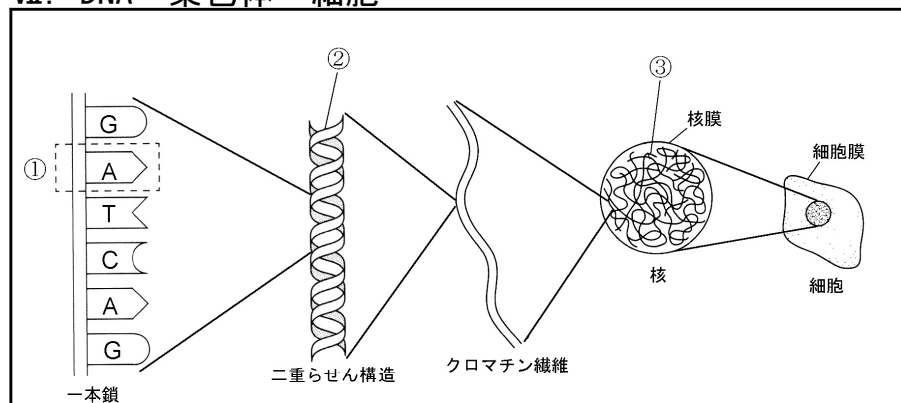
タンパク質の独自の立体構造を形成

↓

生成されたタンパク質がもつ機能が働く〔発現〕

実験→ユスリカの唾腺染色体を検鏡し、
パフの形成（転写）の様子を観察する。

VII. DNA～染色体～細胞



実験→細胞からDNAを抽出する
過程における操作の意味を、構
造や成分の性質と関連させて理
解する。

①:〔ヌクレオチド〕

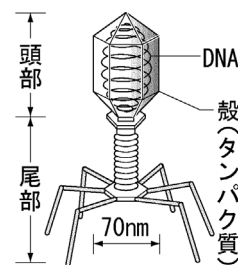
②:〔DNA〕…リン酸がーに帯電している。〔→15%食塩水で塩析→エタノールに不溶〕

クロマチン繊維…DNA分子がヒストン（タンパク質）に巻き付き、さらに折りたたまれて形成された構造物〔→タンパク質分解酵素（0.3%トリプシン水溶液）で分解処理〕

③:〔染色体〕…クロマチン繊維が、ループ状・コイル状に折りたたまれて凝集した構造物
核膜・細胞膜…主にリン脂質とタンパク質によって形成されている生体膜〔→界面活性剤で破壊〕

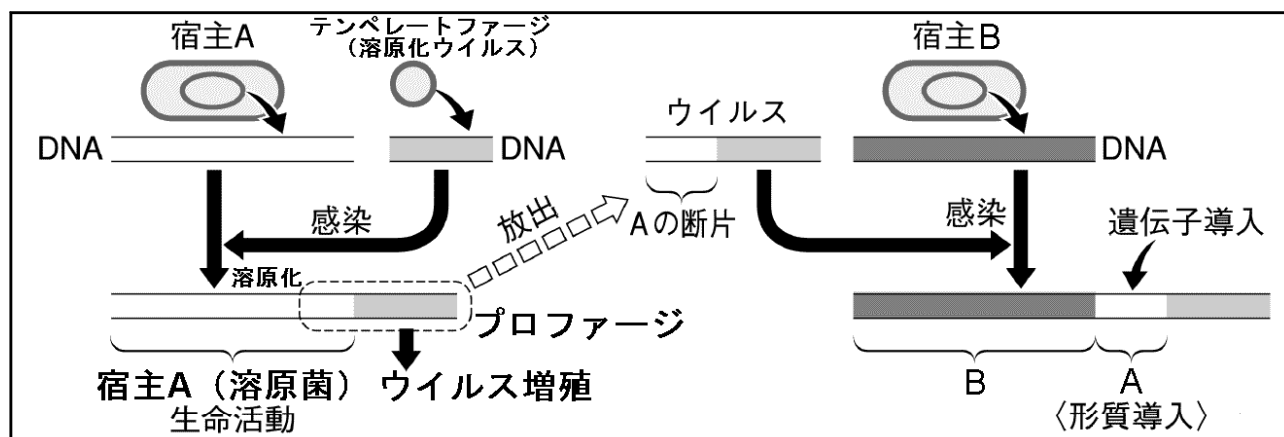
VIII. 遺伝子組換え

バクテリオファージ bacteriophage：細菌に感染するウイルスの総称。タンパク質の外殻に遺伝情報を担う核酸（主に二本鎖DNA）を持っている。バクテリオファージ（＝以降、ファージという）が感染し増殖すると、細菌は溶菌という現象を起こして死ぬ。この現象によってまるで細菌が食べ尽くされるかのように消えてしまうため、これにちなんで「細菌（bacteria）を食べるもの（phagos：ギリシア語）」を表す名が付けられた。自らは遺伝子しか持たず、宿主細胞の形質発現の機構を使って増殖する。このウイルスと放射性同位体（ ^{35}S または ^{32}P ）を用いて遺伝物質がDNAであることを示した A. D. Hershey と M. Chase の実験（1952年）が、遺伝子の本体がDNAであることを初めて証明した。



テンプレートファージ（temperate：穏健な）の場合、感染しても一部の細菌を除いて増殖が起こらず、部分的にしか溶菌を起こさない。このとき、ファージの増殖が起こらない細菌の内部では、ファージはゲノムDNAとして（プロファージと呼ばれる）安定した状態で保存されており、細菌が分裂する際も子孫に伝達されていく。この現象は「**溶原化**」と呼ばれ、プロファージを保有する細菌を溶原菌と呼ぶ。プロファージのゲノムは溶原菌のゲノムに組み込まれたり、あるいはプラスミドとして宿主のゲノムとは独立して細胞内に存在する。テンプレートファージの例としては、大腸菌に感染するラムダファージがよく知られ研究されている。

テンプレートファージを利用して宿主の細菌に任意の遺伝子を導入する技術も開発された。この技術は形質導入と呼ばれ、ラムダファージによる大腸菌への形質導入が、分子生物学分野で繁用されている。



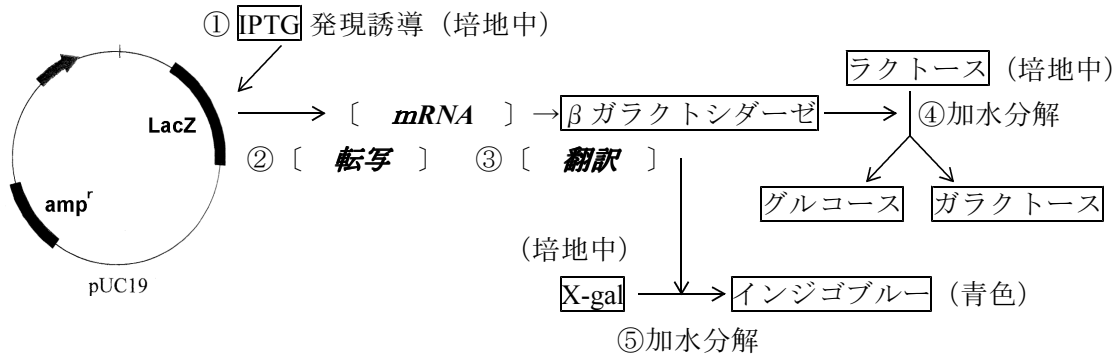
プラスミド plasmid：細胞内で複製され、娘細胞に分配される染色体以外のDNA分子の総称。細菌や酵母の細胞質内に存在し、染色体のDNAとは独立して自律的に複製を行う。一般に環状二本鎖構造をとる。遺伝子工学分野においては、遺伝子組換えの際に多く用いられる。様々な改変がなされた数kbp*のプラスミドが多く作られており、研究用キットとして市販されている。

大腸菌を用いた遺伝子クローニングでは、まずプラスミドを取り出し、次いで制限酵素で切断し、切断部位に増幅しようとするDNA断片（プラスミドと同じ制限酵素で切り出したもの）をDNAリガーゼで結合させる。この組換えプラスミドを大腸菌に導入し、大腸菌の大量培養により組み換えDNAを増幅する。

* kbp：DNAの長さの単位。二本鎖の場合 bp（＝base pair[塩基対]）で表す（1kbp=1000bp）。

● 本実験（組換え遺伝子導入による遺伝情報の発現）で取り扱う領域の確認

LacZ遺伝子（約3 kbp）：発現により、培地中のラクトースを分解する酵素 β ガラクトシダーゼを生成する。培地中に X-gal（5-bromo-4-chloro-3-indolyl-beta-D-galactoside）があると、青色に発色することで、発現を確認できる。



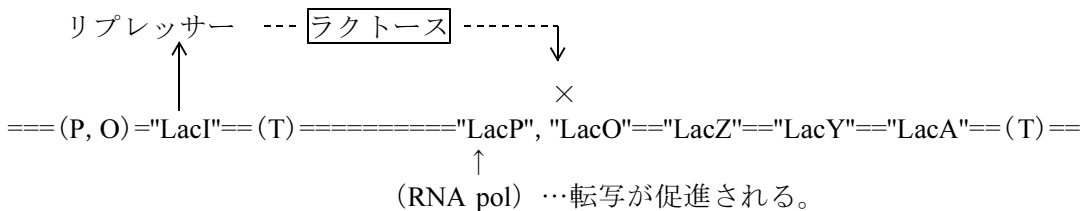
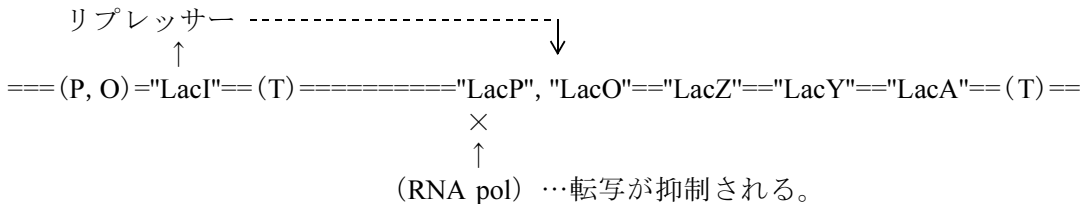
① IPTG 発現誘導について

＜大腸菌のラクトースオペロン＞

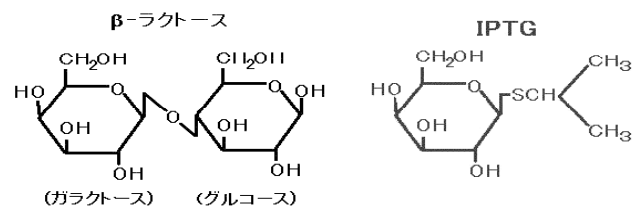
大腸菌においては、LacI（リプレッサーの構造遺伝子）に続いて、調節領域である LacP（プロモーター配列）、LacO（オペレーター配列）の二つと、構造遺伝子領域である LacZ、LacY、LacA の三つが並んでいる。

=== (P, O) = "LacI" = (T) ===== "LacP", "LacO" = "LacZ" = "LacY" = "LacA" = (T) ==

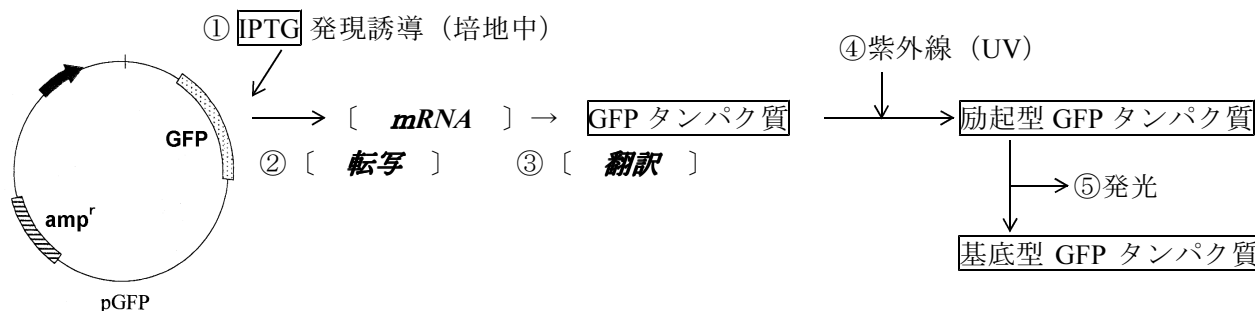
LacI は常時発現しており、一定の速度でリプレッサータンパク質を生産している。このリプレッサータンパク質は、DNA 上の Lac オペレーターとの親和性が高く、通常この領域を認識して結合している。リプレッサーがオペレーターに結合した状態にあるときは、RNA ポリメラーゼのプロモーター領域への結合が阻害され、以降に続く LacZ、LacY、LacA の構造遺伝子の mRNA への転写が抑制されている。



リプレッサータンパク質は、アロラクトース（細胞内でラクトースが異性化したもの）などの誘導物質と結合すると高次構造が変化し、不活性型となってオペレーターから解離する（あるいは結合できなくなる）。リプレッサータンパク質がオペレーターから解離すると、RNA ポリメラーゼによる LacZ、LacY、LacA の構造遺伝子の mRNA への転写が可能になる。こうした調節因子（今回は LacI）の働きを変える因子（本実験では IPTG）をインデューサーという。



GFP遺伝子：発現により緑色蛍光タンパク質*を生成する。紫外線照射により蛍光を発することで、発現を確認できる。



* 緑色蛍光タンパク質 (Green Fluorescent Protein, GFP)

オワンクラゲ (*Aequorea victoria*) がもつ分子量約27kDa*の蛍光タンパク質である。1960年代に下村 脩によって、カルシウムイオンで発光するタンパク質イクオリンとその光を受けて緑色に光る GFP が発見・分離精製された。

GFP は励起光を当てると単体でも発光する。下村によるその発見から30余年を経た1990年代、GFP 遺伝子の同定・クローニングに成功し、M. Chalfie、R. Y. Tsien らのグループが、異種細胞への GFP 遺伝子導入・発現に成功した (2008年に、下村、M. Chalfie 及び R. Y. Tsien はノーベル化学賞を共同受賞)。

GFP の発色は基質を必要としないことや単体で機能するなどの特徴から、また、発色団形成に酵素反応が必要でないこと、異種細胞への発現方法が確立したことなどから1990年代にレポーター遺伝子として広く普及した。

アンピシリン (Ampicillin)：細菌類の細胞壁合成阻害剤。細菌類の細胞壁成分であるペプチドグリカンの架橋合成が阻害される。(動物細胞や植物細胞にはもともとペプチドグリカン層がないためアンピシリンは作用しない。) 架橋形成の阻害自体は細菌にとって毒性がないが、ペプチドグリカンの架橋阻害により細胞増殖の度にペプチドグリカンが薄くなる。そのため、細胞壁による細胞の機械的強度が低くなり、細胞外液が薄い場合、浸透圧によって水が細胞内に流れ込み、溶菌が起きる。結果として数回分裂すると細菌は死ぬことになる。

アンピシリン耐性遺伝子 (amp^r) は β -ラクタマーゼという酵素をコードしているマーカー遺伝子。この酵素を持つ細菌はアンピシリンを加水分解できるため、アンピシリンを含んだ培地でも生育が可能となる。

一般に形質転換を行う際には、目的の遺伝子とアンピシリン耐性遺伝子を含んだプラスミドを大腸菌へ入れる。プラスミドが入らなかった大腸菌はアンピシリンによって死ぬため、プラスミドが入った大腸菌、すなわち目的の遺伝子が入った大腸菌のみが選択できる。

※Da：統一原子質量単位 (dalton、記号 Da)

微小な質量を表す単位で、静止して基底状態にある自由な炭素12 (^{12}C) 原子の質量の1/12と定義されている (1 kDa = 1000Da)。質量を統一原子質量単位で表した数値は、その分子からなる純物質 1 mol (アボガドロ定数個の分子) の質量をグラムで表した数値に等しい。

実験

組換え遺伝子の導入による遺伝情報の発現

【目的】大腸菌に、外界から遺伝子を導入し、遺伝子が働く仕組みについて理解する。

【材料】病原性のない安全な大腸菌 (*E. coli* JM109株)、遺伝子組換え実験キット

【用語の確認】

形質転換：外来 DNA が微生物等によって取り込まれて（ **遺伝子の組換え** ）や細胞の（ **表現型** ）の変化を起こす遺伝現象。

amp：アンピシリンの略。大腸菌を殺す（ **抗生物質** ）。

プラスミド：多くの細菌に寄生する（ **染色体外遺伝子** ）。2 本鎖の（ **環状 DNA** ）分子。

・本実験で、プラスミドに導入した遺伝子は、アンピシリン耐性遺伝子および蛍光タンパク質（GFP）遺伝子または β ガラクトシダーゼ（LacZ）遺伝子である。

IPTG*：GFP 遺伝子、LacZ 遺伝子の（ **発現** ）を調節する物質。

*イソプロピル- β -チオガラクトピラノシド（Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside）は、ラクトースオペロンの転写を誘導する。ラクトースリプレッサーに結合してその働きを阻害し、ラクトースを分解する β -ガラクトシダーゼの発現を誘導する。クローニング（遺伝子の増殖）においては、LacZ 遺伝子の部分に目的の遺伝子が導入され、IPTG はその遺伝子の発現を誘導することになる。

X-gal： β ガラクトシダーゼにより分解され、（ **青** ）色を示す物質。

【方法】

〈前日の準備〉

（１）ループを使用して大腸菌プレートからコロニーを一つ釣菌し、スタータープレート 2 枚に画線した（→写真）。プレートの蓋が下になるように 37℃ のインキュベータ内に 1 日間静置し、直径 1 mm のコロニーが生育するまで大腸菌を培養する。本実験には増殖中の大腸菌を使用する。

（２）IPTG（赤キャップ）と X-gal（青キャップ）は、それぞれ溶解液を粉末が入ったチューブへ全量加え、攪拌して溶解する。実験当日まで 4℃ で保存しておく。



《当日の実験》 ◎班員で協力して、すべての操作はできるだけ素早く行う。

→**考察 1**～**考察 7**で、各実験操作にはどのような意味があるのか、【結果と考察】で考えてみよう。

（１）チューブ 2 本（ピンク・白）（カルシウムイオンを含む形質転換用溶液 250 μ L 入）をチューブラックに挿し、氷上に置く。→**考察 1**

（２）大腸菌を、プレートからそれぞれ新しいループを使用して直径 1 mm のコロニーを力をいれすぎないようにして釣菌し、両方のチューブにそれぞれ加える。大腸菌が細かく分散するように、よく溶液と混ぜる。→**考察 2**

【参考】・本実験では、「遺伝子組み換え実験キット Standard Version」（島津理化社製）を用いた。

- (3) 氷上に5分間静置する。→**考察3**
- (4) 組換えを起こすチューブ（ピンクだけ）にプラスミド溶液50 μ Lを、よく振り落してから新しいピペットを使用して全量加えて混ぜる。
- (5) チューブ（ピンク・白）をチューブラックに挿した状態で、氷上に10分間静置する。→**考察4**
- (6) チューブ（ピンク・白）を42℃に設定したお湯に1分間浸し、直ちに氷上に戻して2分間静置する。チューブラックに挿した状態で操作する。この操作をヒートショックという。→**考察5**
- ※ここでの一連の操作（冷やす・温める・冷やす）はできるだけ素早く行う。
- (7) SOC 培地（緑色キャップ）を新しいピペットを使用して、260 μ L（130 μ L $\times$ 2回）ずつ両方のチューブに加えて混ぜる。→**考察6**
- ※ピペットの先端に大腸菌溶液がつかないように注意する。
- (8) 37℃のインキュベーターで10分間静置する。→**考察7**
- (9) LB/amp プレート1枚（プレート④）に、X-gal（青キャップ）とIPTG（赤キャップ）をそれぞれ65 μ Lずつ加え、コンラージ棒を使用して培地全体に広げる。
- (10) 新しいピペットを使用して、下記のようにそれぞれの大腸菌混合液をそれぞれ①～④のプレートへ130 μ Lずつ植菌する。

白チューブ：組換えなし	ピンクチューブ：組換え「あり」
① LBプレート	③ LB/amp プレート
② LB/amp プレート	④ LB/amp プレート（X-gal と IPTG を加えた）

※間違えないように、蓋にマジックで、名称（①～④）等を記しておく。

大腸菌がチューブの底に沈んでいるので、よく混ぜてからピペットで計り取る。

- (11) それぞれ新しいコンラージ棒を使用して、プレート全体に大腸菌混合液を広げる。強くやりすぎると培地が壊れてしまうので注意する。
- (12) プレートを逆さまにして、37℃のインキュベーターで24時間以上静置して培養する。直径1 mm 以上のコロニーが生育するまで大腸菌を培養する。

【結果と考察】

I. (1)～(8)の各操作にはどのような意味があるのか、空欄に適する語を入れよ。

考察1：低温下の組換え操作で、大腸菌の形質転換反応を（ **安定的** ）に起こさせるため。

考察2：大腸菌を細かく分散し、(4)で加えるプラスミドとの（ **接触率** ）を高める。

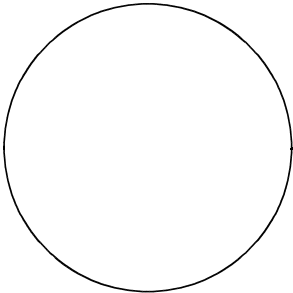
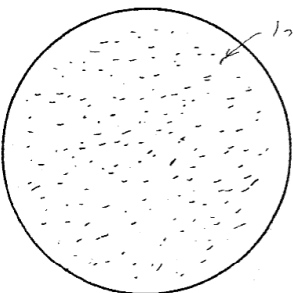
考察3と4：大腸菌の細胞膜（負の電荷）をカルシウムイオン（正の電荷）によって（ **中和** ）させる。(4)で加えるプラスミド（負の電荷）と細胞膜との（ **反発力** ）を弱め、大腸菌がプラスミドを取り込みやすくする。

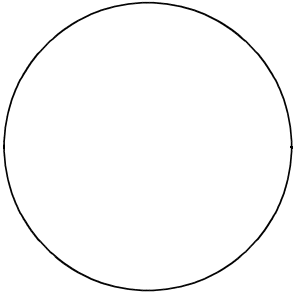
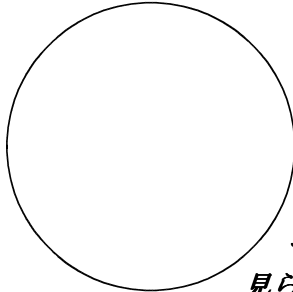
考察5：温度の変化が（ **急激** ）なほど、大腸菌がプラスミドを取り込みやすくなる。（ **形質転換の効率が上がる** ）。

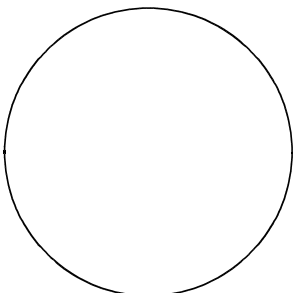
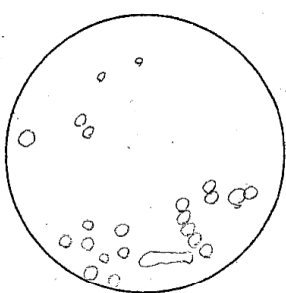
考察6：SOC 培地はヒートショックによって細胞膜などにダメージを受けた大腸菌を（ **回復・安定化** ）させる。

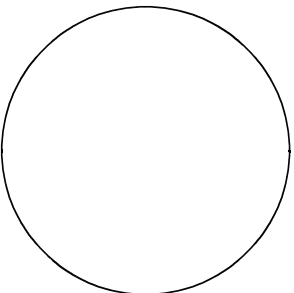
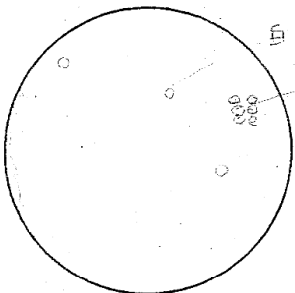
考察7：大腸菌に導入されたアンピシリン耐性遺伝子が（ **発現** ）し始め、アンピシリン入り培地でも大腸菌が（ **生育** ）できるようにさせる。

II. (10) の各プレートの〔予想〕と【結果】を図示し、各項目を記入せよ。

① アンピシリン (-)、プラスミド (-)	
〔予想〕 コロニーの 様子 	【結果】 コロニーの 様子 
・大腸菌のコロニーの色や数は？ 白い 増える	・大腸菌のコロニーの色や数は？ 抗生物質を添加していないので、多くの大腸菌が生育した。
・UV を照射した時の変化は？ 光らない	・UV を照射した時の変化は？ 蛍光タンパク質は、発現していないので、光らない。→遺伝子が組換えしていないため。
・コロニー周辺の寒天培地の色の変化は？ 変化なし	・コロニー周辺の寒天培地の色の変化は？ βガラクトシダーゼは発現していないので、コロニーは白い。→組換えしていないため。

② アンピシリン (+)、プラスミド (-)	
〔予想〕 コロニーの 様子 	【結果】 コロニーの 様子 
・大腸菌のコロニーの色や数は？ 白い 少ない、減っている	・大腸菌のコロニーの色や数は？ 抗生物質耐性がないので、大腸菌の生育が阻害される。→遺伝子が組換えしていないため。
・UV を照射した時の変化は？ 光らない	・UV を照射した時の変化は？ 光らない。
・コロニー周辺の寒天培地の色の変化は？ 変化しない	・コロニー周辺の寒天培地の色の変化は？ 色は変化しない。

③ アンピシリン (+)、プラスミド (+)	
〔予想〕 コロニーの様子 	【結果】 コロニーの様子 
・大腸菌のコロニーの色や数は？ 白い、黄色い 増える	・大腸菌のコロニーの色や数は？ 抗生物質耐性をもち、大腸菌が生育できる。 →遺伝子が組換えしているため。
・UV を照射した時の変化は？ 青い 光らない	・UV を照射した時の変化は？ IPTG が無いため、GFP 遺伝子はあるが、光らない。
・コロニー周辺の寒天培地の色の変化は？ 変化なし	・コロニー周辺の寒天培地の色の変化は？ IPTG が無いため、LacZ 遺伝子はあるが、色は変化しない。

④ アンピシリン (+)、プラスミド (+)、IPTG (+)、X-gal (+)	
〔予想〕 コロニーの様子 	【結果】 コロニーの様子 
・大腸菌のコロニーの色や数は？ 黄色い、青い 多い	・大腸菌のコロニーの色や数は？ 青または白のコロニーがいくつか生育した。 →遺伝子が組換えしているため。
・UV を照射した時の変化は？ 青い、緑色 光る	・UV を照射した時の変化は？ IPTG があるため、GFP 遺伝子が発現して黄緑色に光る。
・コロニー周辺の寒天培地の色の変化は？ 青い	・コロニー周辺の寒天培地の色の変化は？ IPTG があるため、LacZ 遺伝子が発現して X-gal が分解され青く発色する。