

医科大学体験実習レポート 2024

川崎医科大学附属高等学校

2年 組 番 氏名

レポートには、必ずタイトル・小見出しを付ける（付け方の例：1 (1) ①の順番で）など、各自工夫して読みやすくすること。



令和6年7月18/19日（金） 分2遺伝実習 教室 担当 先生

■目的

口腔粘膜細胞からゲノムDNAを調製する
調製したゲノムDNAを用いて、遺伝型解析を
行う。遺伝型解析ではゲノムDNA中のTAS2R9
とTAS2R38遺伝子をPCRで増幅し、その産物
をもとに制限酵素を用いて遺伝型の判定
を行う。本実習では遺伝子診断で使われる
PCRなどを体験する。
遺伝子診断を理解するうえで、DNAの増幅
原理、制限酵素反応、電気泳動など遺伝子
研究の基礎技術習得を学ぶ。

■方法（器具、試薬、観察点、注意点）

1. ゲノムDNAの抽出

- (1) 左側の口腔を綿棒ですりPBSの
入チューブに採取。粘膜をPBSに
懸濁する。
- (2) 遠心して細胞を沈殿させる。
- (3) 右側の口腔を綿棒ですり(1)と同じチューブに
採り、採取した粘膜をPBSに懸濁する。
- (4) 再び同じチューブに細胞を沈殿させる。
- (5) ピペットマンP1000で上清だけを吸取し捨て、残ったチューブ内のサンプリングに
「細胞溶解液1」を入れポリテックサラーで撹拌する。
- (6) 同じチューブに「プロテイナーゼK」と「細胞溶解液2」を加えポリテックサラーで撹拌し
60℃のヒートブロックを立ち放置する。
- (7) 同じチューブに「100% エタノール」を入れポリテックサラーで撹拌する。
- (8) スピンカラムに洗浄用チューブを付け(7)までにできたDNAが溶解した
細胞溶解液を全量スピンカラムに添加する。



アセスルファミン味覚調査



2. PCR

(1) 人の本チューブを用意しPCR反応液を調製する。

2xPCR反応液	25μL	(2) 試薬を添加し、反応液
9μMプライマー溶液 Forward	5μL	中の液体をしっかりと
3μMプライマー溶液 Reverse	5μL	まじり混ぜる。
ゲノムDNA	5μL	
純水	10μL	
合計	50μL	

(3) サーマルサイクラーにセットし反応を開始する。

反応ステップ 温度(℃) 時間(分) 備考

	A	98	180	5分間のDNAの熱安定性
B(1→2→3)	B-1	98	10	
100回繰り返し	B-2	55	5	
	B-3	72	30	
	C	72	30	
	D	12	00	

3. PCR産物(DNA)の精製

- (1) PCR反応液30μLをサーマルサイクラーから取り出す。
- (2) DNA精製用のスピンカラムを洗浄用チューブにセットする。
- (3) サンプルに「結合バッファー」を加えピペットでよく撹拌する。
- (4) ピペットでスピンカラムに全量移す。
- (5) 遠心し、圈一をもう一度する。

4. 制限酵素反応原理

- (1) 新しいチューブを取り出し、TAS2R9、TAS2R38のPCR産物に
「制限酵素溶液」もしくは「制限酵素」を加え、100μLで調整し「ジェンブレイク」
を、97℃のインキュベーターで反応させる。

5. アガロースゲル作製

- (1) 5%のアガロースゲルを作製する。TAEを「スリッパ」で「コーム」
量り取る。三角フラスコに入れる。アガロースを
「マイクロ波」で量り取り、先ほどの三角フラスコに入れる。
量りこみ「マイクロ波」でアガロースを完全に溶かす。
- (2) 三角フラスコが触れくらいいに冷まし、ゲルトレイを
セットし、ゲルトレイに流し込み、コームを量り込む。



- (3) 4のゲルを冷やし、固まるのを待つ

4. 参考

「制限酵素液」は制限酵素を含む溶液で、特定の配列を特定 DNAを切断する。
「制限酵素」は制限酵素のみで、制限酵素である。

医科大学体験実習レポート 2024

川崎医科大学附属高等学校

2年 組 番 氏名

レポートには、必ずタイトル・小見出しを付ける（付け方の例：1 (1) ①の順番で）など、各自工夫して読みやすくすること。



令和6年7月19日（金） 化学実習 教室 担当 先生

■目的

男株、女株の細胞に含まれる
RNAの発現量の違いを調べる。

■方法（器具、試薬、観察点、注意点）

（HEK293T：女株、EBF8：男株）

1. 細胞ペレットからRNAを抽出する。

①「ISOGENE」を入れて5分放置し、クロホルムを入れて
激しくシャイクした後と5分放置し、遠心すると3層に
分かれる。



2. 「nanodrop, Qubit」を使ってRNAの定量をする。

3. 抽出RNAを逆転写してcDNAを作成する。

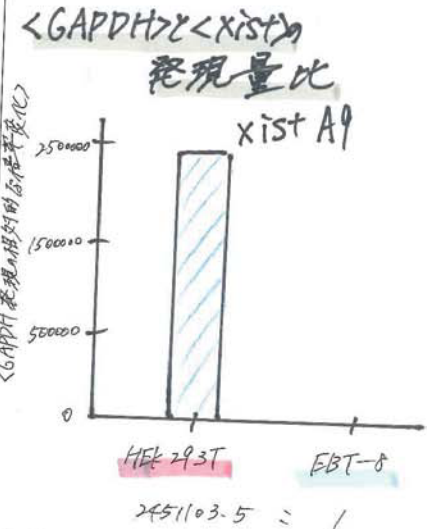
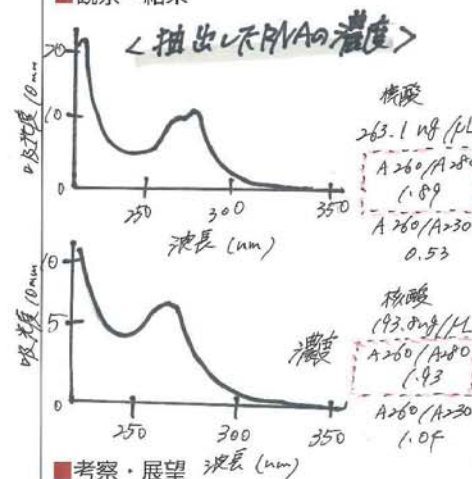
4. qPCRを使って定量をする。

<nanodrop, Qubit>



※ 人体に有害な物質を扱うため、
手袋など保護具の着用を徹底する

■観察・結果



■考察・展望

1. GAPDH/Xistの比を比べると、
Xistの比率が大きくなり、また、HEK（女株）、EBF8（男株）
を比べるとHEKの比率が250万近く多いことがわかる。
2. 今回は、比を比べたので、元の細胞に含まれる
RNAの総量はわからない。
→ 初期値と比を使えばわかるのでは？

■結論

1. 男女のRNAの発現量には、
大きな差があった。
2. ある種の病気はこれに伴って男女で差が
あるかもしれない。

■感想

今回の実習では、男・女に含まれるRNAの発現量の差を調べることで、
遺伝子の構造と理解（1）、実用と応用と理解（2）、興味・関心（3）に
つながった。特に（1）の遺伝子の構造と理解が、今回の実習の中心とな
った。また、（2）の実用と応用と理解が、今回の実習の中心とな
った。また、（3）の興味・関心（3）が、今回の実習の中心とな
った。

