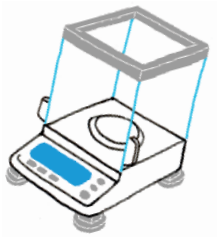
目次

第1章 分子生物学実験器具・物品の取り扱い方

1. 実験ノートと実験データ ……2
1-1 実験ノートと実験データの重要性 ……2
1-2 実験ノートの書き方と保存方法 ……3
COLUMN 実験を上手に行うために ……5
2. 実験器具（素材と基本的な使い方） ……6
2-1 分子生物学実験関連器具の素材の特性 ……6
2-2 ガラス器具 ……8
COLUMN 50 mL の溶液 A を超純水で 10 倍希釈して 500 mL の溶液 B を作る時の注意点 ……9
COLUMN 瓶のラベル ……10
2-3 チューブ・プレート ……11
COLUMN 気密性の確認（蒸発テスト） ……11
2-4 ピペット類 ……13
2-5 遠沈管・シャーレ・シリンジ・メンブレンフィルター・凍結保存用チューブ ……15
2-6 その他 ……18
COLUMN サンプルのラベル ……21



3. 実験器具の洗浄と滅菌 ……22
3-1 ガラス器具の洗浄 ……22
3-2 プラスチック器具の洗浄 ……22
COLUMN 水の種類 ……23
3-3 オートクレーブ処理 ……23
3-4 乾熱滅菌処理 ……25
4. RNA ワークに用いる器具 ……26
4-1 ガラス器具（RNase free のガラス器具） ……26
4-2 プラスチック器具（RNase free のプラスチック器具） ……26
5. 液体窒素 ……27
5-1 液体窒素の取り扱い ……27
5-2 液体窒素によるサンプルの凍結 ……28
6. 電子天秤 ……29
6-1 電子天秤の使い方 ……29
7. pH メーター ……31
7-1 pH を測る方法 ……31

7-2　pHメーターの使い方 …… 31

8. マイクロピペット …… 34

8-1　マイクロピペットとは …… 34
8-2　基本的な使い方 …… 35
8-3　応用的な使い方 …… 36
8-4　ピペット検定 …… 38
COLUMN　マルチチャンネルピペットと電動マイクロピペット …… 39

9. メスピペット …… 41

9-1　メスピペットの種類 …… 41
9-2　メスピペットの選び方 …… 41
9-3　メスピペットの使い方 …… 41

10. 分光光度計・微量分光光度計 …… 47

10-1 分光光度計とは …… 47
10-2 使い方 …… 49
10-3 微量分光光度計によるDNAやRNAの定量 …… 50

11. 遠心機 …… 53

11-1 遠心機の種類 …… 53
11-2 ローターの種類 …… 53
11-3 遠心分離方法の種類 …… 54
11-4 遠心力と回転数 …… 56
11-5 遠心機の使い方 …… 57

12. シェーカー …… 59

13. インキュベーター …… 60

14. デジタルカメラ …… 61

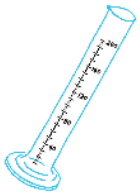
第2章 試薬の調整方法

1. 各種バッファーの特徴 …… 66

2. 各種バッファーの調整方法 …… 68

2-1　Tris-HCl（1 Mストック溶液）の作り方～濃塩酸で合わせる方法～ …… 68
2-2　Trisバッファーの作り方～2種類の塩を混ぜて作る方法～ …… 69
2-3　1 M MOPS（pH7.4）の作り方 …… 69
2-4　リン酸緩衝液（0.1 M PB）の作り方 …… 70
2-5　リン酸緩衝生理食塩水（10×PBS）の作り方 …… 71

3. その他のストック溶液や一般的な溶液の調整 …… 72



3-1　5 M NaCl …… 72
3-2　エタノール …… 72
3-3　5 N水酸化ナトリウム …… 73
3-4　0.5 M EDTA …… 73
3-5　TE（Tris-EDTAバッファー） …… 74

4. フェノール試薬の調整 …… 75

4-1　酸性フェノールの作り方 …… 75
4-2　中性フェノールの作り方 …… 76
COLUMN　簡易的な中性フェノールの調整 …… 77

5. クロロホルム，その他 …… 78

5-1　クロロホルム（クロロホルム＋イソアミルアルコール：CIA）の作り方 …… 78
5-2　フェノールクロロホルム（PCI） …… 78
5-3　1 M硫酸マグネシウム（$MgSO_4$） …… 79
5-4　3 M　酢酸ナトリウム（NaOAc，pH5.2） …… 79
5-5　10 mg/mL RNase A（DNase free） …… 80
5-6　20×SSC（3 M NaCl-0.03 Mクエン酸ナトリウム，pH7.0） …… 80

6. 試薬やサンプルの取り扱い・保存 …… 81

COLUMN　凍結サンプル・試薬の解凍 …… 83

第3章 DNA/RNAの抽出

1. サンプルの保存方法（DNA・RNA・タンパク質） …… 86

1-1　ラベリング …… 86
1-2　核酸の保存 …… 86
COLUMN　RNA抽出前の組織のための“RNA保存液”の利用 …… 87
1-3　タンパク質の保存 …… 88

2. 組み換え体の管理 …… 91

2-1　カルタヘナ法 …… 91
2-2　規制の対象 …… 91
2-3　遺伝子組み換え生物などの使用 …… 92
2-4　保管・輸送・譲渡 …… 93
2-5　ゲノム編集技術で得られる生物の取り扱い …… 93
COLUMN　大学連携バイオバックアッププロジェクト（IBBP） …… 94

3. DNA/RNAの抽出作業 …… 95

3-1　ホモジェナイズ …… 95
3-2　ホモジェナイズの方法 …… 95
3-3　酵素によるDNA抽出（ゲノムDNA） …… 96

3-4　RNAを抽出する時のホモジェナイズ …… 96
3-5　シリカを用いた核酸精製の原理 …… 97
3-6　カラムキットによるDNA/RNAの抽出 …… 97
3-7　ビーズによるDNA/RNAの抽出 …… 102
3-8　フェノール試薬を用いた抽出 …… 105
3-9　エタノール試薬を用いた抽出 …… 105
3-10　フェノールクロロホルムを用いた抽出試薬によるゲノムDNAの抽出 …… 106

第4章　ゲノムデータベースの使い方

1. Ensemblを用いたゲノムデータベースでの遺伝子の探し方 …… 110
1-1　Ensemblとは …… 110
1-2　遺伝子の検索と検索結果の見方 …… 111
1-3　実際に正しいかどうか系統樹を作ってみよう …… 113
2. Blastによる遺伝子検索 …… 116
2-1　ゲノムデータベースからのBlastによる遺伝子検索 …… 116
2-2　ゲノムデータベースにおけるBlastの使い方 …… 117
3. Ensemblで予想cDNAや予想coding sequenceの塩基配列を取得する …… 120
3-1　イントロン・エキソン構造の表示 …… 120
3-2　予測cDNA配列（transcript）を取得し，翻訳開始点を探す …… 122
3-3　種間比較 …… 125
COLUMN　便利なツール～配列取得から遺伝子系統樹作成，配列操作まで～ …… 127

第5章　PCR

1. PCRの原理と準備 …… 132
1-1　PCRの原理 …… 132
1-2　PCRの3つのステップ …… 132
2. プライマー設計 …… 133
2-1　プライマー設計とは …… 133
2-2　Tm値 …… 133
COLUMN　Tm値の計算方法 …… 133
2-3　GC含有率 …… 136
2-4　プライマー設計で気を付けた方がよいことチェックリスト …… 136
2-5　ソフトウェアやウェブサイトを用いたプライマー設計 …… 137
3. 酵素の選択・エキソヌクレアーゼ活性・ホットスタート …… 147

3-1　酵素の選択 …… 147
3-2　エキソヌクレアーゼ活性 …… 147
3-3　TdT活性 …… 148
3-4　ホットスタート …… 148

4. PCRの基本プロトコル …… 149
4-1　試薬・温度条件 …… 149

5. 電気泳動 …… 150
5-1　切り出し・定量（吸光度，蛍光） …… 150
5-2　ゲルの作り方・泳動 …… 151
5-3　染色方法 …… 152
COLUMN　アガロースゲルの先染め・後染めのメリット・デメリット …… 153
5-4　溶出方法 …… 153
5-5　DNAの濃度の測定 …… 154

6. PCR・電気泳動のトラブルシューティング（2 step PCR, touch down PCR） …… 155
6-1　「目的の長さ」が増えない …… 155
6-2　収量が少ない …… 155
6-3　電気泳動したときのバンドが不明瞭 …… 155
6-4　複数のバンドがみられる …… 156
6-5　電気泳動のバンドがゆがむ …… 157

第6章 シーケンス

1. シーケンスの原理 …… 160
1-1　ジデオキシ法（サンガーシーケンス法）の原理 …… 160
1-2　プライマー設計時の注意点 …… 161

2. PCR産物からのシーケンスの準備 …… 162
2-1　酵素を使う方法 …… 162
COLUMN　販売されているAlkaline Phosphatase …… 162
2-2　ビーズを使う方法（ビーズ精製） …… 164

3. プラスミドのシーケンス …… 165
3-1　プラスミドのシーケンスの特徴 …… 165
3-2　プライマー設計時の注意点 …… 165
3-3　プライマー不要のサービス …… 165

4. サイクルシーケンス反応 …… 166
4-1　BigDye™ terminator v3.1を使用したシーケンス …… 166

索引 …… 169