

書き込みバイオ実験

# 分子生物学実験の 基本

ポケットブック

使用開始日:

## 研究室の情報

研究室名:

グループ名:

部屋番号:

コアタイム:

## 連絡先

〒

住所:

研究室の内線:

緊急連絡先:

〒

災害時の連絡先:

## 研究テーマ

## メンバー

## 備考

実験器具に関する特記事項等まとめ  
(用途・滅菌保管場所・発注のルールなど)

◆ビーカー，三角フラスコ

◆メスシリンダー，メスフラスコ

◆メディウム瓶

◆チューブ

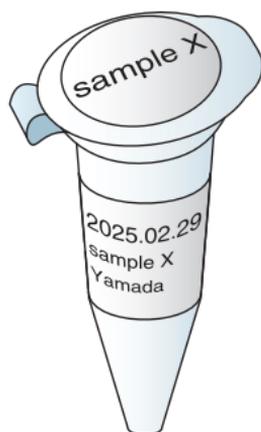
◆プレート

## 1. サンプルの保存方法 (DNA・RNA・タンパク質)

動物や植物から取り出した組織、大腸菌、培養細胞等、実験の過程でさまざまなサンプルが作製される。多くの物質は、低温であればあるほど分解や酸化を防ぐことができるが\*1、冷やせば冷やすほど保管コストもかかるので、サンプルの保存温度には落とし所が必要である。

### 1-1 ラベリング

保存の際には実験内容との関連がすぐわかるように、サンプルには、年月日・サンプル名・作製者を記載するとともに(図1)、実験ノートに保存場所とサンプル情報を記載しておく必要がある。



ラベリングのルール  
(研究室の特記事項を記載)

図1 ラベリングの1例

\*1 凍結融解により劣化するものもあるのでそれも注意する

## ● 温度条件

- Step1 95°C 3分  
# テンプレートの高次構造の解消・DNAポリメラーゼの活性化  
↓
- Step2 95°C 10秒  
# DNAを1本鎖にする  
↓
- Step3 60°C 10~30秒<sup>\*7</sup>  
# プライマーのアニーリング  
↓
- Step4 72°C 1 kb/分 # 伸長反応  
↓
- Step5 Step2にもどり、30~35回くり返す<sup>\*8</sup>  
↓
- Step6 72°C 5分 # 最後の伸長反応の完遂  
↓
- Step7 12~16°C ∞



## ● 温度の意味

現在販売されているサーマルサイクラーでは、上部も温度制御可能になっている。蒸発した試薬が結露して試薬濃度が変わってしまわないよう、上部の温度は105°C程度に設定する。Step2, 3の時間は酵素に添付されているプロトコルに応じて適宜調整する。Step4は一般的な酵素の伸長速度に合わせている。もし高速で伸長するもの(例えばPrimeSTAR<sup>®</sup> Max DNA Polymeraseは1 kb/5秒程度で伸長可能)を利用する場合は、それにしたがる。

<sup>\*7</sup> ポリメラーゼの取扱説明書にしたがる

<sup>\*8</sup> 装置によっては「(くり返した数) + 1」がサイクル数になるので注意