
1 微生物の取扱い法

1.1	微生物の分離	1
1.1.1	はじめに	1
1.1.2	微生物分離の基本操作	2
1.1.3	無菌操作	3
1.1.4	滅菌操作	4
1.1.5	培養方法	5
1.1.6	培地組成と調整法	9
1.1.7	天然試料からの微生物分離操作	12
1.1.8	分離菌の保存	16
1.1.9	おわりに	17
1.2	微生物の観察	19
1.2.1	光学顕微鏡による観察	19
1.2.2	蛍光顕微鏡による観察	23
1.2.3	電子顕微鏡による観察	31
1.3	微生物の同定	33
1.3.1	遺伝学的手法による同定	34
1.3.2	生理・生化学的性状の観察	44
1.4	微生物の培養	50
1.4.1	微生物用の培地	50
1.4.2	無菌操作	54
1.4.3	微生物菌体量の測定	57
1.4.4	フラスコ培養およびタンク培養	58

2 動物・植物細胞の培養法

2.1	動物細胞の培養と形質転換	61
2.1.1	動物細胞の培養方法	61
2.1.2	動物細胞の形質転換	70
2.2	植物細胞の培養と形質転換	75
2.2.1	植物細胞の培養	75
2.2.2	植物細胞の形質転換	78

3 遺伝子解析法

3.1	プラスミドの調製	93
3.1.1	はじめに	93
3.1.2	DNA を取り扱う一般的な手法と注意点	94
3.1.3	アルカリ-SDS 法によるプラスミド DNA の調製	97
3.1.4	市販のキットを用いたプラスミド DNA の精製	101
3.2	バクテリオファージの調製	101
3.2.1	はじめに	101
3.2.2	<i>in vitro</i> パッケージング	103
3.2.3	ファージブランクの形成	104
3.2.4	ブランク中のファージの回収と保存	105
3.2.5	プレートライセート法によるファージの調製	106
3.2.6	液体培養法によるファージの調製	107
3.2.7	ファージ DNA の調製	108
3.3	mRNA の調製と cDNA ライブラリー作製	110
3.3.1	はじめに	110
3.3.2	RNA の調製	110
3.3.3	mRNA の調製	112
3.3.4	cDNA の合成とライブラリーの作製	114
3.4	PCR 法	118
3.4.1	開発の背景	118
3.4.2	具体的な手法	119
3.4.3	DNA ポリメラーゼ	121
3.4.4	LA-PCR	124

3.4.5	ホットスタート PCR	125
3.4.6	RT-PCR	126
3.4.7	Competitive PCR	127
3.4.8	Real time PCR	128
3.4.9	メチル化特異的 PCR	128
3.4.10	PCR 技術のこれから	128
3.5	遺伝子クローニング	129
3.5.1	制限酵素とリガーゼ	129
3.5.2	DNA の電気泳動	139
3.5.3	組換え DNA による宿主菌の形質転換	149
3.5.4	特定遺伝子の検出法	184
3.6	DNA の塩基配列決定法	188
3.6.1	はじめに	188
3.6.2	ジデオキシ法	188
3.6.3	耐熱性 DNA ポリメラーゼと蛍光標識ヌクレオチド を用いた塩基配列決定法	193
3.6.4	マクサム・ギルバート法	193
3.6.5	スルフリラーゼとルシフェラーゼを用いた新しい 塩基配列決定法(パイロシーケンシング法)	195
3.6.6	ゲノム解析	197
3.7	SNPs(一塩基多型)の解析	199
3.7.1	SNPs マッピングとタイピング	200
3.7.2	SNPs 解析法の分類	200
3.7.3	DNA 固有の特性を利用して一塩基を識別する方法	201
3.7.4	酵素を用いて一塩基を識別する方法	204

4 タンパク質の分析法

4.1	タンパク質の発現	209
4.1.1	遺伝子組換え菌体を用いたタンパク質の誘導発現	209
4.1.2	無細胞発現系の利用	218
4.2	タンパク質の精製	229
4.2.1	菌体破碎と遠心分離	229
4.2.2	硫安分画	236
4.2.3	イオン交換	239

4.2.4	ゲル 濾 過	246
4.2.5	その他の分離法	251
4.2.6	タンパク質の電気泳動	258
4.3	アミノ酸配列(一次構造)の決定法	266
4.3.1	エドマン分解	266
4.3.2	質量分析	273
4.4	タンパク質の特性解析, タンパク質間相互作用の解析	293
4.4.1	Two Hybrid 法	293
4.4.2	表面プラズモン共鳴	303
4.4.3	免疫沈降法	309

5 バイオインフォマティクス

5.1	生物情報データベース	319
5.1.1	核酸塩基配列データベース	320
5.1.2	タンパク質アミノ酸配列データベース	321
5.1.3	タンパク質立体構造データベース	321
5.1.4	統合データベース	322
5.1.5	配列情報の記述	322
5.2	遺伝子の解析	325
5.2.1	遺伝子の相同性解析	325
5.2.2	遺伝子の二次構造予測	336
5.3	タンパク質の解析	339
5.3.1	タンパク質の相同性解析	339
5.3.2	タンパク質の高次構造予測	349

6 タンパク質工学による酵素機能改変

6.1	タンパク質工学の基礎	357
6.1.1	はじめに	357
6.1.2	タンパク質高次構造の維持機構	357
6.1.3	タンパク質工学とは	360
6.1.4	部位特異的変異の導入	360
6.1.5	合理的設計と酵素特性の合理的説明	361

6.2 酵素機能の改変例	363
6.2.1 酵素の耐熱化	363
6.2.2 最適 pH のシフト	368
6.2.3 補酵素特異性の改変	368
6.2.4 基質特異性の改変	368
6.2.5 生産物特異性の改変	369
6.2.6 触媒活性の改変	370

7 ゲノミクスとプロテオミクス

7.1 ゲノミクス	371
7.1.1 配列決定法	372
7.1.2 アセンブル	373
7.1.3 遺伝子アノテーション	378
7.2 トランスクリプトミクス	384
7.2.1 トランスクリプトミクスとは	384
7.2.2 原 理	385
7.2.3 前 処 理	390
7.2.4 データ解析	395
7.2.5 アドバンスド解析	401
7.3 プロテオミクス	411
7.3.1 プロテオミクスとは	411
7.3.2 2次元電気泳動によるタンパク質の解析	412
7.3.3 質量分析(MS)によるプロテオーム解析	420
索 引	437