

目 次

第 1 章 序論	1
1.1 化学系の学生が「遺伝子操作」を学ぶ意義について	1
1.2 本書の構成	3
1.3 DNA と遺伝子についての基礎知識	4
1.3.1 DNA	4
1.3.2 RNA	6
1.3.3 DNA, RNA の方向性	7
1.3.4 アミノ酸配列とその表現法	7
1.3.5 遺伝子からタンパク質合成への過程	8
1.3.6 遺伝子, タンパク質の名前	11
1.3.7 使用器具, 無菌操作	13
1.3.8 電気泳動法の概要	14
第 2 章 ゲノム DNA の抽出・精製	17
2.1 細胞の破碎	17
2.2 DNA の単離	19
2.3 DNA の精製 (RNA の除去)	21
2.4 キットの利用	22
第 3 章 プラスミドの性質と抽出法	25
3.1 プラスミドとは	25

3.2 プラスミドベクター	26
3.3 プラスミドの形態	27
3.4 プラスミドの抽出・精製	28
第4章 大腸菌	33
4.1 生きた試験管：大腸菌	33
4.2 大腸菌の培養	34
第5章 制限酵素	37
5.1 制限酵素とは	37
5.2 制限酵素によるDNAの切断とアガロースゲル電気泳動	38
5.3 プラスミドの構造とマルチクローニングサイト	40
第6章 DNAデータベースの活用	43
6.1 DNA塩基配列情報検索	43
6.2 遺伝子地図の作成	44
6.3 クローニング	47
第7章 PCRによるDNA断片の增幅	53
7.1 PCRの原理	53
7.2 PCRで使用するDNAポリメラーゼとプライマーについて	55
7.3 プライマー設計	56
7.4 反応条件	59

第8章 大腸菌の形質転換	63
8.1 プラスミドの導入	63
8.2 形質転換株の培養	66
8.3 形質転換マーカーとしての抗生物質耐性	67
8.4 ブルー・ホワイトセレクション	68
第9章 遺伝子破壊	73
9.1 遺伝子破壊の概要	73
9.2挿入失活	74
9.3 遺伝子置換	76
9.4 遺伝子欠損	77
第10章 エレクトロポレーションによる遺伝子導入と 相同組換え	81
10.1 エレクトロポレーション法とは	81
10.2 相同組換え	82
10.3 遺伝子破壊株の選抜	86
10.4 致死遺伝子をマーカーとした変異株の選抜	88
第11章 ハイブリダイゼーション	91
11.1 ハイブリダイゼーションとは	91
11.2 DNA 試料作製とプロッティング	92
11.3 プローブの作成	94
11.4 ハイブリダイゼーションとプローブの可視化	94

11.5 コロニーハイブリダイゼーション	96
第12章 接合伝達による遺伝子導入	97
12.1 接合伝達とは	97
12.2 接合伝達で用いるプラスミド	98
12.3 接合伝達による遺伝子導入操作の例	101
12.4 変異株の選抜	102
第13章 遺伝子導入と強制発現	105
13.1 遺伝子導入実験の必要性	105
13.2 プラスミド上の遺伝子の発現	105
13.3 相同組換えによる遺伝子導入	108
第14章 部位特異的変異（点変異）の導入	111
第15章 遺伝子クローニングの現代的手段	115
15.1 相同組換えを利用した遺伝子クローニング	115
15.2 人工遺伝子	116
第16章 大腸菌による外来遺伝子の強制発現	119
16.1 発現ベクター	120
16.2 発現タンパク質の回収	121

第 17 章 DNA シークエンシング（塩基配列の決定）	123
17.1 ジデオキシ法	123
17.2 サイクルシークエンス法	125
17.3 ダイターミネーター・サイクルシークエンス法の操作	126
17.4 外注による塩基配列決定	128
第18章 変異株の保存	129
第19章 遺伝子組換え実験の制限（カルタヘナ法）	131
用語説明	135
索　引	143