生物工学実験書

社団法人
日本生物工学会編

培風館
目 次

第1章 生物工学基本操作———1
1.1 データ処理法 ..............................................1
1.2 コンピュータの使用法 .....................................3
1.3 光学的および測光分析 .....................................5
1.4 機器の使用法と滅菌機器の扱い ...........................7
   1.4.1 滅菌器具の扱い方
   1.4.2 オートクレープ殺菌法(高圧蒸気殺菌)
   1.4.3 乾熱滅菌法
   1.4.4 ピペットマンの使用法
   1.4.5 微量用遠心機の使用法
   1.4.6 光学顕微鏡の取り扱い法
1.5 滅菌法 ..................................................12
1.6 培地の調製 ..............................................13
   1.6.1 培地の種類
   1.6.2 培地の調製法
   1.6.3 綿栓の使用法
1.7 植菌・培養法 ............................................14
   1.7.1 植菌法
   1.7.2 培養法
1.8 微生物増殖実験 ........................................16
   1.8.1 微生物の増殖量の測定
   1.8.2 大腸菌の増殖
1.9 糖の定量 ..............................................20
   1.9.1 ソモジ-ネルソン法(Somogyi-Nelson method)
   1.9.2 フェノール-硫酸法
   1.9.3 その他の糖の定量法
   1.9.4 前処理
   1.9.5 グルコースオキシダーゼ/ベルオキシダーゼによるグルコースの定量
1.10 核酸の定量 ............................................23
   1.10.1 紫外部吸収による定量
   1.10.2 蛍光検出法による定量

1.11 タンパク質の定量 .......................................24
   1.11.1 紫外部吸収法による定量
   1.11.2 ローリー-フォリッジ法による定量
   1.11.3 ブラッドフォード法による定量
   1.11.4 ローリー法およびビュレット法による定量
   1.11.5 薄層クロマトグラフィーによるアミノ酸・ペプチドの定性分析法
1.12 バイオアッセイ .........................................32
   1.12.1 拡散法
   1.12.2 希釈法

第2章 微生物学実験 ————37
2.1 微生物の観察および生理試験法 ..........................37
   2.1.1 微生物の観察法
   2.1.2 微生物の一般生理試験
   2.1.3 微生物の観察と分類
2.2 微生物分離法 ..........................................52
   2.2.1 好気性微生物の分離法
   2.2.2 嫌気性微生物の分離法
   2.2.3 抗生物質感受性菌(放線菌)の分離法
   2.2.4 特殊環境微生物の検索
   2.2.5 アミラーゼ産生菌の分離
   (附) 微生物の分離生理試験用培地一覧
2.3 微生物遺伝学実験 .......................................64
   2.3.1 変異株の分離実験
   2.3.2 酵母変異株の分離実験
   2.3.3 細菌変異株の分離実験
   2.3.4 原核細菌の遺伝解析
   2.3.5 酵母菌の遺伝解析
   2.3.6 細菌の遺伝解析
   (附) 遺伝研究用培地
2.4 微生物細胞工学 ————87
   2.4.1 酵母の細胞周期と核の挙動
第3章 遺伝子工学実験 ———— 97

3.1 基本操作 ———— 97
3.1.1 ゲノム DNA の調製
3.1.2 制限酵素による DNA の切断
3.1.3 ベクター pBR 322 の脱リン酸処理
3.1.4 DNA リガーゼによる DNA の連結（ライケーション反応）
3.1.5 大腸菌コンピュータ細胞の調製
3.1.6 大腸菌の形質転換とレプリカによる選択
3.1.7 アルカリ法によるプラスミド DNA の抽出
3.1.8 アルカリ法により抽出したプラスミド DNA の切断と分析
3.1.9 アガロースゲル電気泳動
3.1.10 PCR によるマウスインインターフェロン-β 遺伝子の增幅

3.2 遺伝子工学実験例 1 ———— 110
3.2.1 プラスミド DNA の分離と薬剤耐性遺伝子の形質転換
3.2.2 サプクリーニング実験
3.2.3 サザンハイブリダイゼーション

3.3 遺伝子工学実験例 2 ———— 117

3.4 遺伝子工学実験例 3 ———— 123
3.4.1 はじめに
3.4.2 順序知識
3.4.3 大腸菌用培地作製
3.4.4 器具の滅菌
3.4.5 プラスミド DNA の制限酵素地図作成
3.4.6 組み換え DNA の作製
3.4.7 大腸菌形質転換
3.4.8 大腸菌からのプラスミド調製

3.5 遺伝子工学実験例 4 ———— 135
3.5.1 大腸菌を用いたセルフクリーニング実験

3.6 遺伝子工学実験例 5 ———— 139

3.7 遺伝子工学実験例 6 ———— 149
3.7.1 大腸菌 DNA の抽出・精製とその性質
3.7.2 遺伝子のクローニング
3.7.3 大腸菌染色体中の変異の同定

3.8 遺伝子工学実験例 7 ———— 161
3.8.1 イオン交換樹脂を用いたプラスミド DNA の単離精製と解析

第4章 生化学実験 ———— 165

4.1 生体成分、代謝産物の単離・同定・性質 ———— 165
4.1.1 細胞の成分分画法
4.1.2 クロマトグラフィーによる分離
4.1.3 糖質の構造分析
4.1.4 ベプチド誘導体の構造決定
4.1.5 呑味ベプチドの化学合成
4.1.6 光合成色素の抽出・精製と人工光合成
4.1.7 シクロキズトリンの作る包接錯体
4.1.8 Aspergillus oryzae 培養液よりコウヨ酸の分離
4.1.9 抗生物質の発酵生産と精製

4.2 酵素・微生物を用いた有機反応 ———— 191
4.2.1 リパーゼによる立体選択的エステル化
4.2.2 リパーゼによるアルコールの光学分割
4.2.3 バン酵母による (+)-(S)-3-hydroxybutanoic acid ethyl ester の調製
4.2.4 バン酵母による不斎還元

4.3 酵素学実験 ———— 193
4.3.1 酵素活性の測定法
4.3.2 酵素の精製
4.3.3 酵素の性質
4.3.4 酸性ホスファターゼの酵素化学的性質
4.3.5 α-アミラーゼの酵素化学的性質
4.3.6 グルコアミラーゼの酵素化学的性質
4.3.7 ピタミン B12補酵素依存ジェールデヒドラーーゼの酵素化学的性質
4.3.8 酵母のメタノール酸化に関与する酵素の性質
4.3.9 β-ガラクトシダーゼの反応速度パラメータ

4.4 微生物における酵素合成の調節 ———— 230
4.4.1 大腸菌における β-ガラクトシダーゼの誘導合成とカタボラムトリプレッション（例 1）
4.4.2 大腸菌における β-ガラクトシダーゼ生産の誘導とカタボラムトリプレッション（異化代謝産物制御）（例 2）
第7章 生体情報工学実験 423

7.1 生体分子工学実験 423
7.1.1 遺伝情報の解析
7.1.2 アミノ酸配列の解析
7.1.3 生体分子の立体構造観察
7.1.4 生体分子の立体配座

7.2 医用生物工学実験 445
7.2.1 薬物送達システム
7.2.2 薬物の膜透過 in vitro 実験法
7.2.3 体内薬物動態の計算機シミュレーション
7.1.4 薬動学コンパートメントモデルの in vitro 実験法

7.3 生体情報実験 456
7.3.1 生体信号を測定するための演算増幅器の使い方
7.3.2 神経細胞の興奮伝播実験
7.3.3 神経-筋シナプスによる情報伝達実験
7.3.4 味覚器による情報変換実験

索引 465

和文索引 465
欧文索引 471