

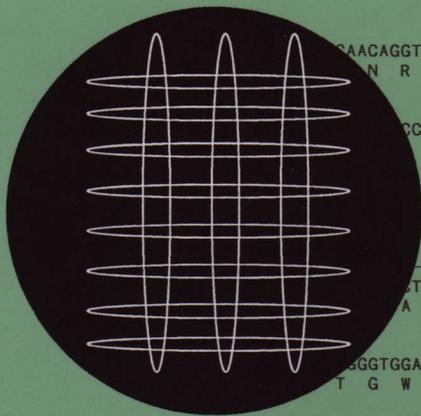
生物工学実験書

改訂版

[社団法人]

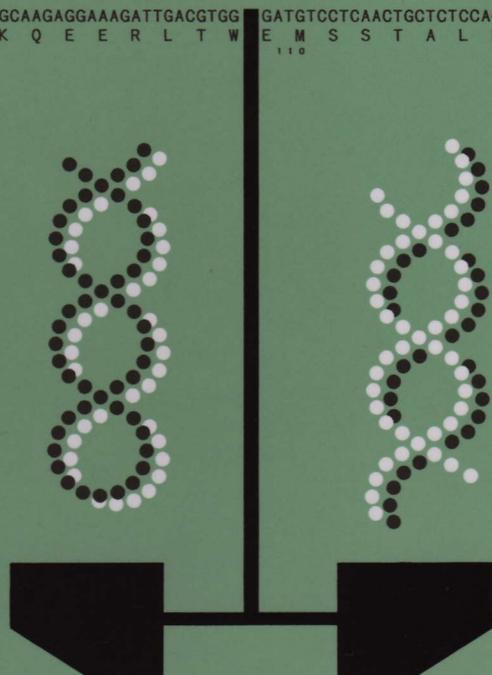
日本生物工学会編

培風館



SAACAGGTGGATCCTCCACGCTGCGTTCCCTGTGCTTCTCCACCACAGCCCTCTCCATCAAG
N R W I L H A A F L L C F S T T A L S I N
-10 1
CCAGCTCCAAGAAAGGACGAACATTCGGAAATGTCAGGAGCTCCTGGAGCAGCTGAAT
Q L Q E R T N I R K C Q E L L E Q L N
10 20
T C A C C T A C A G G G C G G A C T T C A A G A T C C C T A T G G A G A T G A C G G A G A A G A T G C A G A A C
L T Y R A D F K I P M E M T E K M Q K
30 40
T T T G C C A T C C A A G A G A T G C T C C A G A A T G T C T T T C T T G T C T T C A G A A A C A A T T T C T C C
A F A I Q E M L Q N V F L V F R N N F S
60 70
G G T G G A A T G A G A C T A T T G T T G A T C G T C T C C T G G A T G A A C T C C A C C A G C A G A C A G T G T T T C T G
T G W N E T I V V R L L D E L H Q Q T V F L
80 90

AAGACAGTACTAGAGGAAAAGCAAGAGGAAAAGATTGACGTGG GATGTCCTCAACTGCTCTCCACTTG
K T V L E E K Q E E R L T W E M S S T A L H L
100 110



目 次

1 生化学実験	1	2 微生物学実験	85
1.1 基 本	1	2.1 基本操作	85
1.1.1 操 作	1	2.1.1 滅菌機器の扱い	85
1.1.2 データ処理法	7	2.1.2 光学顕微鏡の取り扱い法	86
1.1.3 光学のおよび測光分析	9	2.1.3 滅菌法	89
1.1.4 pH 測定	11	2.1.4 培地の調製	90
1.2 生化学基本物質の定性・定量・構造解析	12	2.1.5 植菌・培養法	91
1.2.1 核酸の定量	12	2.1.6 微生物の増殖量の測定	93
1.2.2 タンパク質の定量	15	2.2 微生物の観察および生理試験	98
1.2.3 糖の定量	21	2.2.1 微生物の観察法	98
1.2.4 糖質の構造解析	23	2.2.2 微生物の観察と分類	102
1.2.5 アミノ酸	35	2.2.3 微生物の一般生理試験	109
1.2.6 脂 質	39	2.2.4 化学分類法	112
1.3 バイオアッセイ	43	2.2.5 分子系統解析による微生物の分類	113
1.3.1 拡散法	43	2.3 微生物分離法	120
1.3.2 希釈法	46	2.3.1 好気性微生物の分離法	120
1.4 分 離	47	2.3.2 嫌気性微生物の分離法	124
1.4.1 細胞の成分分析法	47	2.3.3 抗生物質生産菌（放線菌）の分離法	125
1.4.2 塩 析	48	2.3.4 特殊環境微生物の検索	127
1.4.3 クロマトグラフィー	49	2.3.5 微生物の分離生理試験用培地	131
1.4.4 電気泳動	58	2.4 微生物遺伝学実験	135
1.5 酵素反応	63	2.4.1 変異株の分離実験	135
1.5.1 酵素の扱い	63	2.4.2 細菌の遺伝解析	141
1.5.2 酵素の反応測定	63	2.4.3 酵母菌の遺伝解析	148
1.6 酵素反応速度論	74	2.4.4 糸状菌の遺伝解析	153
1.6.1 初速度	74	2.4.5 遺伝研究用培地	155
1.6.2 K_m 値	75	3 遺伝子工学実験	159
1.7 アドバンス	77	3.1 組換え DNA 実験のバイオハザード ..	159
1.7.1 分離・精製	77	3.2 基本操作	160
1.7.2 誘導・制御	80	3.2.1 DNA の抽出と精製	160
1.7.3 反 応	81	3.2.2 制限酵素による DNA の切断	164
		3.2.3 アガロースゲル電気泳動による DNA の分離	166

3.2.4	DNA の脱リン酸化処理	167	4.1.5	カビのプロトプラスト形成	214
3.2.5	DNA リガーゼによる DNA の連結	168	4.2 植物細胞工学実験		216
3.2.6	大腸菌コンピテント細胞の調整および形質転換	169	4.2.1	植物培養細胞の誘導と培養	216
3.2.7	アルカリ法によるプラスミド DNA の抽出	170	4.2.2	生長点培養	222
3.2.8	制限酵素地図の作成	171	4.2.3	植物組織および培養細胞からの器官形成	223
3.2.9	アガロースゲルからの DNA 断片の回収	171	4.2.4	植物ホルモンによる組織の生長制御 ——ジベレリンによるアミラーゼの誘導	226
3.3	PCR 法による生体組織からの遺伝子増幅	172	4.2.5	植物プロトプラストの調整と再生	227
3.4	塩基配列の決定	176	4.2.6	異種植物間の細胞融合	229
3.4.1	シークエンスの原理——ジデオキシ法	176	4.2.7	パーティクルガンによる外来遺伝子の導入と一過性発現	231
3.4.2	シークエンスケミストリー	177	4.2.8	植物の形質転換	236
3.4.3	ゲルの作製	178	4.2.9	植物細胞増殖とアントシアニン生成	240
3.4.4	テンプレートの調整	178	4.3 動物細胞工学実験		246
3.5	サザン(プロット)ハイブリダイゼーション	179	4.3.1	培養動物細胞の増殖測定	246
3.6	ウエスタン(プロット)ハイブリダイゼーション	183	4.3.2	核酸合成と細胞増殖	250
3.7	FISH 解析法	187	4.3.3	動物培養細胞の凍結保存	253
3.7.1	染色体標本作成法	187	4.3.4	マウスミエローマ細胞と赤血球の細胞融合	254
3.7.2	プローブの調整	189	4.3.5	サイトカインの誘導とその生物検定	257
3.7.3	蛍光 <i>in situ</i> ハイブリッド (FISH) 法	191	4.3.6	ほ乳動物細胞の染色と形態観察	261
3.8	遺伝子破壊実験	194	4.3.7	骨髄細胞の染色体観察	262
3.8.1	遺伝子破壊のためのプラスミドベクターの構築	195	4.3.8	マウスを用いた動物実験	265
3.8.2	遺伝子破壊実験	196	4.3.9	培養ほ乳動物細胞への外来遺伝子の導入と一過性発現	271
3.8.3	<i>ada</i> 遺伝子機能の推定	196	4.4 免疫学実験		273
3.9	エレクトロポレーション法(電気穿孔法)	198	4.4.1	免疫拡散法を利用した特異抗体の検出	273
3.10	レポーター遺伝子を用いた遺伝子発現の解析	203	4.4.2	hapten-carrier 抗原(TNP-BSA)の調製	275
4	細胞工学実験	205	4.4.3	溶血プラーク法および ELISPOT 法による抗体産生細胞の検出	276
4.1	微生物細胞工学	205	4.4.4	赤血球凝集反応による抗 SRBC 抗体価の測定	279
4.1.1	酵母の細胞周期と核の挙動	205	4.4.5	受身赤血球凝集反応による特異抗体の検出	280
4.1.2	酵母のプロトプラスト化と細胞融合	208	4.4.6	補体による感作羊赤血球の溶血反応	281
4.1.3	酵母の形質転換	211	4.4.7	酵素免疫測定法(ELISA 法)による抗 TNP 抗体のクラス特異的検出	281
4.1.4	パルスフィールドゲル電気泳動法による酵母染色体 DNA の分離	212	4.4.8	ELISA 法による抗体の検出	283

5 生物化学工学実験	287	5.9 固定化酵素および固定化菌体実験	354
5.1 菌体量の測定	287	5.9.1 固定化生体触媒反応	354
5.1.1 微生物菌体量の測定	287	5.9.2 酵素の固定化と固定化酵素による連続反応	358
5.1.2 微生物の密度測定	291	5.9.3 固定化酵素の調整とその特性	360
5.2 殺菌	293	5.9.4 固定化インペルターゼの調整とその反応特性の解析	363
5.2.1 殺菌の基本条件	293	5.10 バイオセンサー	367
5.3 培養装置の取扱い方法	301	5.10.1 バイオセンサー基礎実験	367
5.3.1 ミニジャーファーメンターによる大腸菌の増殖培養実験	301	5.10.2 バイオセンサーによる亜硫酸の定量	371
5.4 回分培養	305	5.11 発酵プロセス制御	375
5.4.1 酵母の回分培養	305	5.11.1 プロセスの動特性および制御	375
5.4.2 酵母のフラスコ培養	308	5.11.2 指数流加培養による酵母流加培養制御	377
5.4.3 微生物菌体生産における物質収支式の作成	311	5.11.3 温度センサーの動特性	380
5.4.4 組換え大腸菌を用いたアルカリフォスターゼ生産	313	5.11.4 発酵における溶存酸素濃度の制御	381
5.4.5 <i>Aspergillus niger</i> によるグルコン酸発酵	315	5.12 分離精製	383
5.4.6 枯草菌の深部培養による α -アミラーゼ、プロテアーゼの生産とその分離機構	317	5.12.1 膜によるタンパク質の分離	383
5.4.7 麹菌の麩培養による酵素の生産と酵素の製剤化	319	5.12.2 カラムクロマトグラフィーによる糖の分離	385
5.4.8 微生物のフラスコ培養による酵素（プルラーナーゼ）生産	320	5.12.3 ゲルクロマトグラフィーの分離機構	388
5.4.9 <i>Penicillium chrysogenum</i> によるペニシリン発酵	323	6 環境化学実験	397
5.4.10 ヨーグルトのスターター作成	324	6.1 排水・廃棄物処理実験	397
5.4.11 ビタミン B ₁₂ の発酵生産	325	6.1.1 活性汚泥法による排水処理実験	397
5.4.12 バイオマスの生物的メタン変換法	330	6.1.2 余剰汚泥のメタン発酵実験	409
5.5 連続培養	332	6.2 河川の水質調査とモデル解析	410
5.5.1 連続培養装置設計の基本的条件	332	6.2.1 河川水域における水質調査	410
5.5.2 グルコース制限下におけるパン酵母のケモスタット連続培養	333	6.2.2 数理モデルに基づく水環境解析	413
5.6 発酵槽の酸素供給能力	336	6.3 化学物質の生分解実験	415
5.6.1 亜硫酸ソーダ法	336	6.3.1 阪大法/TOC 阪大法による化学物質の分解性評価実験	415
5.6.2 動的測定法	337	6.3.2 River die-away 法による化学物質分解のシミュレーション試験	416
5.7 培養液の粘度および攪拌混合	340	6.4 環境変異原の検出実験	418
5.7.1 培養液の粘度測定	340	6.4.1 Ames テストによる河川水の変異原性評価	418
5.7.2 攪拌動力の測定	345	6.4.2 <i>umu</i> テストによる化学物質の変異原性評価	419
5.7.3 連続攪拌反応器内の液混合特性の測定	348		
5.8 酵素反応	350		
5.8.1 回分反応操作による酵素反応速度の測定	350		
5.8.2 連続攪拌反応操作	353		

7 生物情報工学実験 ————— **421****7.1 コンピュータ基本操作** …………… **421**

7.1.1 コンピュータを知る [その1]
——表計算ソフトを利用して実際にデータ
処理を行う 421

7.1.2 コンピュータを知る [その2]
——グラフィック機能の利用 425

7.1.3 UNIX 言語とファイルの取扱い方 427

7.2 FORTRAN プログラム作成法 …………… **439**

7.2.1 はじめに 439

7.2.2 プログラミングに必要な準備 439

7.2.3 プログラム作成から実行までの概要
441

7.2.4 FORTRAN 演習——基礎文法と実行
443

7.2.5 FORTRAN 演習——実際編 446

7.3 生物情報検索 …………… **449**

7.3.1 インターネットの利用 449

7.3.2 インターネットによる情報検索 [その1]
——インターネットによる文献検索
449

7.3.3 インターネットによる情報検索 [その2]
——インターネットによる塩基、アミノ酸
配列およびそれに関与する情報の収集
450

7.4 生物情報解析実験 …………… **454**

7.4.1 生体分子工学実験 454

7.4.2 ゲノム情報解析 462

7.4.3 Protein Data Bank の利用 466

7.4.4 生体高分子の立体構造解析 468

索引 ————— **475**

和文索引 …………… 475

欧文索引 …………… 479