

改訂

# 培養細胞実験 ハンドブック

基本から最新の幹細胞培養法まで完全網羅!

## 目次

序 .....	黒木登志夫
---------	-------

### 第1章 培養実験の総論

1. 細胞培養実験のストラテジー .....	黒木登志夫 許南浩	22
2. いろいろな培養法 .....	許南浩	26
3. 研究によく使われる細胞 .....	許南浩	31
4. 培養細胞の品質管理 .....	中村幸夫 許南浩	37
5. 細胞バンクの役割 .....	中村幸夫 水澤博	42
6. 細胞培養の倫理問題, 特許 .....	増井 徹	49

### 第2章 細胞培養の基本技術

1. 培養の設備・器具と洗浄・滅菌 .....	宮崎正博	55
2. 培地の特徴と選択 .....	星 宏良	61
3. 無菌作業 .....	宮崎正博	65
4. コンタミネーション(微生物, マイコプラズマ, 細胞)の防止 .....	樽松美治	69
5. 細胞の継代 .....	宮崎正博	75
6. クローニング .....	宮崎正博	80
7. 細胞の凍結保存・輸送方法 .....	樽松美治	84

## 第3章 初代培養

1. 線維芽細胞 .....	加治和彦	90
2. ケラチノサイト .....	柏木麻里子	97
3. 肝細胞 .....	宮崎正博	105
4. 血液細胞 .....	坂本明美 徳久剛史	110
5. 神経細胞 .....	藤田恵理子 桃井隆	116
6. 血管内皮 初代培養内皮細胞 .....	渋谷正史	121
7. 脂肪細胞分化培養 分化過程の経時的解析法 .....	浅香 勲	125

## 第4章 細胞の増殖と死

1. 細胞増殖の判定法 増殖曲線, MTTアッセイ .....	片岡 健 許 南浩	131
2. 基質依存性増殖/アノイクス (Anoikis) .....	安達正晃	135
3. 細胞の同調と細胞周期の解析 .....	田原栄俊 井出利憲	139
4. 培養細胞におけるアポトーシスの分析法 .....	木口 薫	145
5. 細胞の不死化 .....	田原栄俊 井出利憲	154

## 第5章 培養細胞の解析

1. 一般的な観察法 .....	河野葉子	161
2. GFP可視化技術を用いたオルガネラ動態観察 .....	加納ふみ 村田昌之	168
3. 細胞運動観察法 .....	矢野 元 佐邊壽孝	172
4. 染色体解析 .....	久郷裕之 押村光雄	177
5. 細胞分画法 .....	野瀬 清	184
6. 細胞からのRNAの抽出と解析 ノーザン解析, RT-PCR .....	高石樹朗	188
7. タンパク質の解析 ウェスタンブロット法, 免疫染色法 .....	阪口政清	194

## 第6章 遺伝子工学的・細胞工学的手法

1. トランスフェクション .....	大場 基	200
2. ウイルスベクターによる遺伝子導入 .....	大場 基	205

3. タンパク質導入法 .....	阪口政清	211
4. 細胞融合法 .....	則兼聡子 井上敏昭 押村光雄	215
5. タグ融合タンパク質 .....	高石樹朗	219
6. RNAを用いた遺伝子発現抑制 .....	阪口政清	225
7. ドミナントネガティブ法 .....	大場 基	229

## 第7章 生体組織への近似化，分化制御

1. 細胞外基質の役割 .....	寺谷 工 落谷孝広	235
2. 細胞培養に使用される担体 .....	田所美香 町田浩子 大串 始	241
3. 伸展培養法 .....	片野坂友紀 竹内 崇 貝原恵子 成瀬恵治	247
4. 低酸素・低栄養培養法 癌組織微小環境を模倣した培養 .....	江角浩安	252
5. 培養内組織形成法 三次元培養法 .....	許 南浩 片岡 健	257
6. 動物への細胞移植 .....	許 南浩	262

## 第8章 幹細胞培養 - 再生医療の実現を目指して -

1. ヒトES細胞の培養法 .....	山内香織 末盛博文	267
2. iPS細胞の樹立 .....	大貫茉里 山中伸弥	274
3. 細胞融合と体細胞核の再プログラム化 .....	多田 高	284
4. ES細胞からの神経分化誘導 .....	小坂田文隆 高橋政代	291
5. ES細胞からの内胚葉系細胞の分化誘導 .....	白木伸明 桑 昭苑	297
6. ES細胞からの赤血球誘導 .....	寛山 隆 中村幸夫	302
7. ヒトES細胞をソースとする血小板産生培養法 .....	高山直也 中内啓光 江藤浩之	308
8. ヒト骨髄間葉系幹細胞 .....	手塚建一	314
9. 神経幹細胞 .....	森 英樹 金村米博	319

索引 .....		325
----------	--	-----

# 執筆者一覧

監 修	黒木登志夫 (Toshio Kuroki)	日本学術振興会学術システム研究センター
編 集	許 南浩 (Namho Huh) 中村幸夫 (Yukio Nakamura)	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞生物学分野 独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター細胞材料開発室

## 執筆者(50音順)

浅香 勲	AGCテクノグラス株式会社TC・試薬部試薬グループ、現：京都大学物質-細胞統合システム拠点iPS細胞研究センター/独立行政法人科学技術振興機構山中iPS細胞特別プロジェクト	高石樹朗 高知大学医学部皮膚科学講座 高橋政代 独立行政法人理化学研究所発生・再生科学総合研究センター網膜再生医療研究チーム
安達正晃	札幌医科大学医学部内科学第一講座	高山直也 東京大学医科学研究所幹細胞研究センター幹細胞治療部門
井出利憲	愛媛県立医療技術大学	竹内 崇 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科システム生理学分野
井上敏昭	鳥取大学医学部生命科学科ゲノム医工学分野	多田 高 京都大学再生医科学研究所附属幹細胞医学研究センター幹細胞加工研究領域
江角浩安	国立がんセンター東病院	田所美香 独立行政法人産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門
江藤浩之	東京大学医科学研究所幹細胞研究センター幹細胞治療部門	田原栄俊 広島大学大学院医歯薬学総合研究科創生医科学専攻病態探究医科学講座細胞分子生物学研究室
大串 始	独立行政法人産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門	手塚建一 岐阜大学大学院医学系研究科再生分子統御学講座組織・器官形成分野
大場 基	昭和大学腫瘍分子生物学研究所	寺谷 工 国立がんセンター研究所がん転移研究室
大貫茉里	京都大学再生医科学研究所再生統御学研究部門再生誘導研究分野	徳久剛史 千葉大学大学院医学研究院分化制御学
小坂田文隆	独立行政法人理化学研究所発生・再生科学総合研究センター網膜再生医療研究チーム	中内啓光 東京大学医科学研究所幹細胞研究センター幹細胞治療部門
押村光雄	鳥取大学大学院医学系研究科機能再生医科学専攻生体機能医工学講座遺伝子機能工学部門	中村幸夫 独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター細胞材料開発室
落谷孝広	国立がんセンター研究所がん転移研究室	成瀬恵治 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科システム生理学分野
貝原恵子	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科システム生理学分野	野瀬 清 昭和大学薬学部微生物薬品化学教室
加治和彦	静岡県立大学大学院生活健康科学研究科老化制御研究室	則兼聡子 鳥取大学大学院医学系研究科機能再生医科学専攻
柏木麻里子	ハーバード大学/マサチューセッツ総合病院皮膚科学研究所	寛山 隆 独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター細胞材料開発室
片岡 健	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞生物学分野	藤田恵理子 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第五部
片野坂友紀	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科システム生理学分野	許 南浩 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞生物学分野
金村米博	国立病院機構大阪医療センター臨床研究センター再生医療研究室	星 宏良 株式会社機能性ペプチド研究所
加納ふみ	東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻生命環境科学系	増井 徹 独立行政法人医薬基盤研究所生物資源研究部JCRB細胞バンク
河野葉子	昭和大学歯学部口腔病理学教室	町田浩子 独立行政法人産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門
木口 薫	米国MD Andersonがんセンター	水澤 博 独立行政法人医薬基盤研究所生物資源研究部JCRB細胞バンク
久郷裕之	鳥取大学大学院医学系研究科機能再生医科学専攻生体機能医工学講座遺伝子機能工学部門	宮崎正博 岡山学院大学人間生活学部食物栄養学科
桑 昭苑	熊本大学発生医学研究センター再建医学部門幹細胞制御分野	村田昌之 東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻生命環境科学系
樽松美治	コージンバイオ株式会社	桃井 隆 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第五部
黒木登志夫	日本学術振興会学術システム研究センター	森 英樹 大阪府立大学大学院理学系研究科生物科学専攻
阪口政清	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞生物学分野	矢野 元 愛媛大学大学院医学系研究科分子細胞生理学分野
坂本明美	千葉大学大学院医学研究院分化制御学	山内香織 京都大学再生医科学研究所附属幹細胞医学研究センター霊長類胚性幹細胞研究領域
佐邊壽孝	財団法人大阪バイオサイエンス研究所分子生物学部門	山中伸弥 京都大学再生医科学研究所再生統御学研究部門再生誘導研究分野/京都大学物質-細胞統合システム拠点iPS細胞研究センター
渋谷正史	東京医科歯科大学分子腫瘍医学分野	
白木伸明	熊本大学発生医学研究センター再建医学部門幹細胞制御分野	
末盛博文	京都大学再生医科学研究所附属幹細胞医学研究センター霊長類胚性幹細胞研究領域	