

PCR実験 プロトコール

失敗しないための実験操作と条件設定のコツ

序 _____ 佐々木博己

1章 PCRの基礎知識と準備 _____ 9

1 PCRの原理と各項目へのナビゲーション _____ 佐々木博己 10
→発明の歴史, 核酸の化学, PCRの基本原理を知る

2 PCRの装置 _____ 青柳 一彦 19
→サーマルサイクラーの種類と特徴を知る

3 鋳型DNA, RNAの調製 _____ 佐々木博己 26
→鋳型の種類に応じた調製法の基本を知る

4 実験目的別プライマー設計法 _____ 佐々木博己 33
→プライマー設計の基本と注意点を知る

5 DNAポリメラーゼの使い分け _____ 青柳 一彦 41
→用途に応じたDNAポリメラーゼの種類と特徴を知る

6 試薬と反応条件 _____ 佐々木博己 47
→オーソドックスなPCR反応液の組成と反応条件を知る

2章 目的遺伝子を増やす・伸ばす・単離する 55

1 ゲノムPCR 佐々木博己 56

→ゲノムDNAから目的のDNA断片を増幅する

2 生体試料（コロニー，血液，細胞，組織）からのPCR 佐々木博己 65

→鋳型を精製することなく直接，目的のDNAを増幅する

3 RT-PCR 青柳 一彦 74

→逆転写反応とPCRの2段階で，RNAを二本鎖cDNAとして増幅する

4 微量検体からのPCR, RT-PCR 青柳 一彦 88

→微量なサンプルからDNA, RNAを網羅的に増幅する

3章 遺伝子の構造・発現を解析する 111

1 ダイレクトシーケンス 河府 和義 112

→PCR産物をサブ・クローニングしないで，直接シーケンス解析を行う

2 リアルタイムPCR 青柳 一彦 120

→PCRによる増幅過程をリアルタイムにモニタリングし，定量する

3 メチル化特異的PCR (MSP) 佐々木博己 132

→ゲノムDNAのメチル化の有無を解析する

4 クロマチン免疫沈降 (ChIP) 河府 和義 141

→特定ゲノム領域へのタンパク質の結合や修飾状態を解析する

4章 PCR産物を利用する 149

1 多様なベクターへのサブ・クローニングとその利用法 青柳 一彦 150

→PCR産物をベクターに導入し、遺伝子の構造解析や機能解析に用いる

2 遺伝子機能解析のための変異導入 河府 和義 166

→DNA配列の目的とする位置に点変異を導入する

3 遺伝子多型・変異の検出 佐々木博己 173

→既知の多型、未知の多型、点突然変異を検出する

付録①キット一覧 192

付録②いろいろなPCRの応用・改良技術 199

索引 208

ONE POINT 

- ・濃(深)色効果と淡色効果 13
- ・プライミング 35
- ・ユニット (U) 50
- ・シングルコピー配列 59
- ・汚染 (contamination) にはご注意を 64
- ・電気泳動用バッファー 177