

遺伝子導入 プロトコール

発現解析とRNAi実験が
この1冊で自由自在!
最高水準の結果を出すための実験テクニック

序 ————— 仲嶋一範

1章 発現戦略 9

1 機能を調べるための実験デザイン ————— 北村義浩 10

2 各種蛍光タンパク質の使い分け ————— 三輪佳宏 17

2章 発現と機能の抑制戦略 25

1 遺伝子抑制解析の動向と戦略 ————— 武内恒成, 河峯麻実 26

2 遺伝子抑制法の種類とメカニズム ————— 萩原啓太郎, 落谷孝広 31

3章 RNAi実験の準備と実践 39

1 RNAiの原理 ————— 程久美子, 北條浩彦 40

2 siRNA デザインの方法と検索ウェブサイト ————— 程久美子 44

3 修飾基のついた siRNA の RNAi 効果とその選択

西賢二, 高橋朋子, 長沢達矢, 程久美子 50

4 siRNA, dsRNA の取扱いと導入の基本

北條浩彦 55

5 shRNA 発現ベクターの構築と導入の基本

松下夏樹 59

4章 遺伝子導入実験プロトコール

71

【DNA, RNA を導入する】

1 リポフェクション法

内野慧太, 落谷孝広 72

2 エレクトロポレーション法による細胞・組織への導入

① 培養細胞への NEPA21 を用いた遺伝子導入

舩廣善和, 小島裕久 83

② 培養細胞への Gene Pulser MXcell を用いた遺伝子導入

藤木亮次 90

③ 電気パルスを用いた筋肉への遺伝子導入

宮崎純一, 宮崎早月 94

④ ニワトリ胚への遺伝子強制発現およびノックダウン

仲村春和 99

3 エレクトロポレーション法による神経細胞への導入

① 子宮内胎仔脳への遺伝子導入

田畑秀典, 久保健一郎, 仲嶋一範 112

② 網膜への遺伝子導入

松田孝彦 121

③ 培養皿上の成熟神経細胞への遺伝子導入

田谷真一郎, 星野幹雄 131

4	分散した神経細胞へのキューベット電極を用いた遺伝子導入	楠澤さやか, 仲嶋一範	137
5	脳スライス培養への遺伝子導入	石田綾, 岡部繁男	141
4	超音波遺伝子導入法	立花克郎	148
5	レーザー熱膨張式微量インジェクターを用いた試料導入	筒井大貴, 東山哲也	158
6	アテロコラーゲンを用いた生体 siRNA デリバリー法	竹下文隆, 落谷孝広	167
7	コレステロールを用いた生体内での siRNA デリバリー法	桑原宏哉, 仁科一隆, 横田隆徳	175
【ウイルスベクターを導入する】			
8	ウイルスベクターの特徴と原理, 製品など	北村義浩	180
9	レトロウイルスベクターによる高効率遺伝子導入法	北村俊雄, 高橋まり子	187
10	レンチウイルスベクター	北村義浩	196
11	E1 欠損型アデノウイルスベクター	三谷幸之介	206
【タンパク質を導入する】			
12	タンパク質直接細胞内導入法	道上宏之, 松井秀樹	220

5章 遺伝子導入実験におけるカルタヘナ法および関連法令 229

1 カルタヘナ法 ————— 三浦竜一 230

2 関連法令 ————— 三浦竜一 241

付録・Tag抗体リスト ————— 仲嶋一範, 北村義浩, 武内恒成 246

索引 ————— 248

Column

1 遺伝子抑制法 (RNAi法) の発展のために ————— 武内恒成 38

2 RNAiによる治療への試み ————— 桑原宏哉, 仁科一隆, 横田隆徳 67

3 shRNAライブラリースクリーニング ————— 恵口 豊 68

4 ケージドDNA/RNAを用いる遺伝子発現の光制御 ————— 古田寿昭 69

5 トランスポゼースを用いた遺伝子発現 ————— 高橋淑子 110

6 針電極を使った視床への導入法と、そのエッセンス
————— 下郡智美, 松居亜寿香 120

ONE POINT

- ・遺伝子銃 15
- ・ノックダウンとノックアウトの違い 42
- ・長鎖dsRNAでもRNAiを観察(誘導)できる哺乳動物細胞 43
- ・配列選択のルール 44
- ・トランスフェクション効率の影響 58
- ・サイドエフェクトと発現リーク 63
- ・超音波の基本知識 148
- ・コレステロール結合siRNAの細胞内でのプロセッシング 176
- ・抽出したHDLの特性の確認 179
- ・レトロウイルスゲノムのスプライシング 190
- ・HIVベクターの実験分類 200
- ・mock infection 202
- ・濃縮法 203
- ・コンフルエンシーと過増殖 204
- ・アデノウイルス使用実験の一般的な注意点 207
- ・ベクターの力価の確認方法 215