

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, 河嵩麻実 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

舛廣善和, 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

田畠秀典, 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 ウィルスベクターの特徴と原理, 製品など 北村義浩 180

⑨ レトロウィ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 レンチウィルスベクター 北村義浩 196

⑪ E1欠損型アデノウィルスベクター 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 | ・抽出したHDLの特性の確認 179 |
| ・ノックダウンとノックアウトの違い 42 | ・レトロウイルスゲノムの
スプライシング 190 |
| ・長鎖dsRNAでもRNAiを観察（誘導）
できる哺乳動物細胞 43 | ・HIVベクターの実験分類 200 |
| ・配列選択のルール 44 | ・mock infection 202 |
| ・トランسفェクション効率の影響 58 | ・濃縮法 203 |
| ・サイドエフェクトと発現リーク 63 | ・コンフルエンシーと過増殖 204 |
| ・超音波の基本知識 148 | ・アデノウイルス使用実験の
一般的な注意点 207 |
| ・コレステロール結合siRNAの
細胞内でのプロセシング 176 | ・ベクターの力価の確認方法 215 |