

原理からよくわかる リアルタイム PCR

完全 実験ガイド

CONTENTS

◆ 序	北條浩彦
◆ 本書の構成	4
◆ 初心者のためのリアルタイムPCR用語解説30	10

基本編

—原理と基本知識—

1 リアルタイムPCRの原理	北條浩彦	14
2 リアルタイムPCRの定量方法	北條浩彦	22
協力／ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社、ライフテクノロジーズジャパン株式会社		

リアルタイムPCRを使った解析の基本

3 転写産物からの遺伝子発現解析の流れ	吉崎美和	31
4 遺伝子変異（SNP）のタイピングの原理① TaqMan [®] プローブを使う	勝本 博	36

5 遺伝子変異 (SNP) のタイピングの原理② HybProbe, HRM を使う	片山知秀	42
6 遺伝子変異 (SNP) のタイピングの原理③ CycleavePCR法	吉崎美和	51
7 特異的アレルの検出の原理 castPCR法による体細胞変異の検出	勝本 博	55
8 遺伝子発現量の測定の実際	白神 博	59
9 プライマー/プローブの設計の手順① インターカレーション法とプローブ法の場合	大瀬 墓	64
10 プライマー/プローブの設計の手順② マルチプレックスPCRの場合	北條浩彦, 清水則夫	72

実践編

—プロトコールを中心に—

I 章 遺伝子発現解析

1 経時的な遺伝子発現を量る 時計遺伝子の概日発現リズムを例に	小川雪乃, 程 肇	75
2 遺伝子発現抑制効果を評価する siRNAによるRNAiを例に	西 賢二, 日野公洋, 程久美子	83
3 単一細胞の遺伝子発現を量る Single cell cDNA amplification法とリアルタイムPCR解析	中村友紀, 斎藤通紀	91
4 遺伝子変異を検出する 腫瘍細胞におけるEGFR遺伝子変異を例に	庄司月美, 渡邊珠緒, 大森勝之	102
5 網羅的な発現をみる マイクロアレイとの比較を例に	鈴木孝昌	111
6 内在性コントロール遺伝子の設定	萩原圭佑	122

II 章 マイクロRNA発現解析

7 マイクロRNA (miRNA) のcDNA合成	北條浩彦	129
8 新規バイオマーカーを探す 加齢老化と関連するmiRNAを例に	高橋理貴, 北條浩彦	134

CONTENTS

- 9 分泌型 miRNA を捉える** 血清・血漿に存在する miRNA を例に … 北野敦史, 大井久美子 141
- 10 miRNA 生合成経路をみる** MCPIP1 が miRNA 生合成に与える影響を例に … 鈴木 洋, 宮園浩平 149

III章 遺伝子多型のタイピング

- 11 3アレル性のタイピングを検出する** 炎症関連遺伝子の SNP を例に … 村松正明, 池田仁子 161
- 12 SNP ハプロタイプを判定する** ハンチング遺伝子を例に … 高橋理貴, 北條浩彦 167

IV章 遺伝子量解析

- 13 コピー数多型を検出する** CYP2D6 の遺伝子多型を例に … 勝本 博 175
- 14 エピジェネティックな状態を知る** がんと DNA メチル化を例に … 山下 聰 180
- 15 ウィルス感染症を診断する** ウィルスゲノムの定性的検査と定量的検査 … 清水則夫, 渡邊 健, 外丸靖浩 192
- 16 薬剤耐性インフルエンザウイルスを迅速に判定する**
CycleavePCR 法による H274Y 変異検出を例に … 斎藤孔良, 鈴木康司, 近藤大貴, 日比野亮信, 斎藤玲子 203

次世代編

—デジタル PCR がわかる—

- 1 デジタル PCR の原理と応用** … 北條浩彦 214
- 2 微量サンプルから正確なコピー数を計測する** 乳がん感受性 CNV 解析を例に … 末広 寛 222
- ◆ 索引 … 230