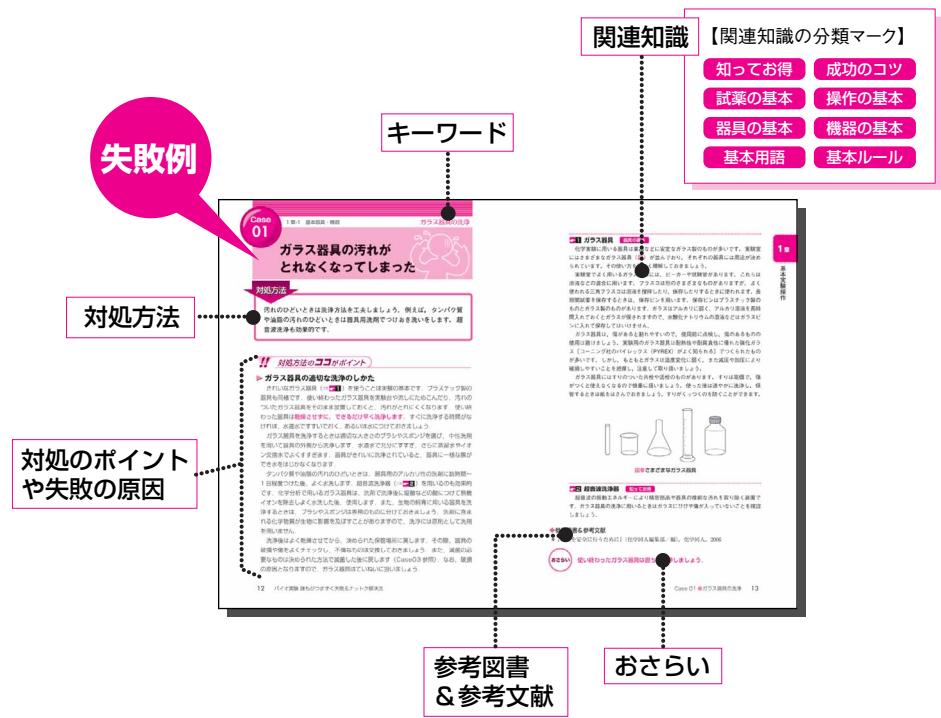


本書の構成

本書では、バイオ実験で起こりがちな“ささいなミス”から“危険を伴う失敗”まで、よくある失敗例を取り上げ、対処方法とそのポイント、関連する基礎知識を解説。ケーススタディー形式で、失敗への対応力と実験の基礎力が効率よく身に付きます。



目次概略

1章 基本実験操作	11
2章 材料の調製—微生物、細胞・組織、動物	81
3章 材料の調製—DNA, RNA, タンパク質	145
4章 実験環境	185



序 3

本書の構成 4

1章 基本実験操作

1. 基本器具・機器

- Case 01 ガラス器具の汚れがとれなくなってしまった** ガラス器具の洗浄 ◆ 12
- Case 02 固体の試薬を直接メスフラスコに入れてしまった** 体積計 ◆ 14
- Case 03 ガラスピベットをオートクレーブ滅菌してしまった** 器具の滅菌 ◆ 16
- Case 04 ポリエチレン製ピベットを使ってクロロホルムを分注したら、ピベットが溶けてしまった** プラスチック器具 ◆ 18
- Case 05 遠心分離の際、遠心管がこわれ、溶液がこぼれてしまった** 遠心分離機 ◆ 20
- Case 06 オートクレーブをかけたら、噴き出した** オートクレーブ ◆ 23

2. 分光光度計

- Case 07 吸光度を測定しようとしたら、値が安定しなかった** 分光光度計の使用法 ◆ 25
- Case 08 吸光度がばらつき、検量線が直線にならなかった** 吸光度と検量線 ◆ 27

3. 電気泳動 (PAGE)

Case 09 SDS-PAGEでバンドが乱れてしまった	SDS-PAGEバンドの乱れ ◆ 29
Case 10 SDS-PAGEで巨大なバンドやテーリング（縦スジ）がみられた	SDS-PAGEの試料調製 ◆ 31
Case 11 CBB染色が上手くいかなかった	ゲル染色 ◆ 33

4. 電気泳動 (アガロース)

Case 12 エチジウムプロマイド染色したゲルにUV照射しながら バンドを切り出していたらバンドが消えてしまった	ゲルの切り出し ◆ 36
Case 13 高濃度のアガロースゲルをつくろうとしたが、加熱しても溶けなかつた	アガロースの性質 ◆ 41
Case 14 アガロースゲルを蒸留水で作製してしまった	アガロースゲルの作製 ◆ 43

5. プロッティング

Case 15 ウエスタンブロッティングで、 バックグラウンドノイズが高くなってしまった	シグナルノイズ比の向上 ◆ 44
Case 16 ウエスタンブロッティングでタンパク質が転写されなかつた	プロッティング効率 ◆ 46

6. 試薬調製

Case 17 試薬を正確に分取・秤量できなかつた	試薬の保存・分取・秤量 ◆ 48
Case 18 バッファー調製の際、実験書どおりに混ぜたのに、pHが合わなかつた	pH調整 ◆ 51
Case 19 Tween20の化学名がわからず試薬棚を探してしまつた	化学名と慣用名 ◆ 54
Case 20 試薬を調製しようとしたが、試薬が溶解しなかつた	試薬の溶解 ◆ 56
Case 21 タンパク質を水に溶かそうとしたら固まりになつてしまつた	タンパク質の溶解（溶媒和）◆ 58
Case 22 界面活性剤を水に溶解させようとしたら泡だらけになつてしまつた	界面活性剤の性質 ◆ 62

7. PCR

Case 23 電気泳動でPCR産物の増幅確認を行つたら、非特異的なバンドが生じていた	PCRの反応条件 ◆ 66
Case 24 10 kbpのDNAをターゲットにしたPCRを行つたが、 増幅産物が得られなかつた	長いDNAのPCR ◆ 68
Case 25 試料から抽出したDNAを用いてPCRを行つたが増幅されなかつた	抽出DNAのPCR増幅 ◆ 70
Case 26 PCRのネガティブコントロールが増えてしまつた	コンタミネーション ◆ 73

8. キット

Case 27 キットの凍結乾燥品を希釈しすぎてしまつた	溶液の濃度調整 ◆ 75
Case 28 キットのプロトコールに従つたが上手くいかなかつた	キットの推奨プロトコール ◆ 77
Case 29 欲しい試薬やキットが見つからない、選び方がわからない	キットの選び方 ◆ 79

2章 材料の調製—微生物、細胞・組織、動物

1. 微生物

Case 30 クリーンベンチでの植え継ぎで最近コンタミが多い	クリーンベンチ ◆ 82
Case 31 組換え大腸菌のコロニーを冷蔵庫に3カ月放置してしまつた	コロニーの保存 ◆ 84
Case 32 土壤から微生物のDNAを抽出しようとしたが、DNAを回収できなかつた	微生物のDNA抽出 ◆ 87
Case 33 微生物を培養するために寒天培地を用意したが、固まらなかつた	寒天培地 ◆ 88
Case 34 植えたはずの微生物が生えてこなかつた	微生物の植菌操作 ◆ 89
Case 35 原理を熟知しているのに酵素をうまく精製できなかつた	微生物酵素の精製 ◆ 92
Case 36 カビが胞子を形成しなかつた	カビ胞子の形成 ◆ 95

2. 細胞

Case 37 細胞培養していたらカビが生えてしまつた	細胞培養とカビ ◆ 101
Case 38 接着細胞を植え継ぎしようとしたら、細胞が容器からはがれなかつた	接着細胞の剥離 ◆ 104

Case 39 接着細胞が容器からはがれて死んでしまった	接着細胞の培養 ◆ 106
Case 40 培養細胞が増えなかった/増えすぎた	培養細胞の維持 ◆ 108
Case 41 細胞数の計測値がばらついた	細胞数の計測 ◆ 110
Case 42 細胞の植え継ぎの際、フタを開けた容器の上に手をかざしてしまった	動物細胞の植え継ぎ ◆ 112

3. 病理組織

Case 43 パラフィン切片からのDNA抽出がうまくいかなかった	病理組織からのDNA抽出 ◆ 115
Case 44 パラフィン包埋組織から抽出したDNAを使ったら、うまくPCRで增幅できなかった	病理組織のPCR ◆ 117
Case 45 切片にて組織内のどこが目的の部分なのか判別できなくなった	組織の分離 ◆ 119
Case 46 パラフィン切片からのRNA抽出がうまくいかず、PCRがかからなかった	病理組織からのRNA抽出 ◆ 123
Case 47 凍結標本からRNAを抽出したが、壊れてしまった	凍結組織からのRNA抽出 ◆ 126
Case 48 パラフィン切片の保存が上手くできていなかった	切片の管理 ◆ 128
Case 49 厚い切片を切ったら、パラフィンブロックが壊れてしまった	切片の厚さ ◆ 130
Case 50 免疫組織染色で切片が染まらなかった	免疫染色 ◆ 132
Case 51 脱パラフィン、または染色中に組織がはがれた	操作中の組織の消失 ◆ 134

4. 動物

Case 52 実験動物がいなくなった/死んでしまった	飼育管理① ◆ 136
Case 53 実験動物のえさの与え方がわからなかった	飼育管理② ◆ 139
Case 54 実験中に麻酔が切れてしまった	動物の麻酔 ◆ 141

3章 材料の調製 —DNA, RNA, タンパク質

1. タンパク質

Case 55 ELISAで値が以前に比べ大幅に変わってしまった	抗体の力価と保存 ◆ 146
Case 56 抗体をマイクロプレートやマイクロビーズに吸着させたら活性が低下してしまった	抗体の疎水吸着 ◆ 149

Case 57 抗体をアフィニティー精製カラムで精製したが回収率が低かった	抗体の精製 ◆ 151
Case 58 抗体に標識したら活性が著しく低下してしまった	抗体の標識 ◆ 153
Case 59 細胞表面を選択的にタグ標識して抽出したが、アフィニティー精製物に夾雑がみられた	細胞表面のビオチン化 ◆ 156
Case 60 タンパク質間相互作用検出で共免疫沈降がうまくいかなかった	タンパク質間相互作用 ◆ 159
Case 61 タンパク質の定量を行ったが、値が極端に低い/高い/ばらついた	タンパク質の定量 ◆ 166

2. 核酸 (DNA・RNA)

Case 62 DNAを蒸留水中に保存してしまった	DNAの保存 ◆ 168
Case 63 DNA溶液の凍結融解を繰り返してしまった	DNAの凍結融解 ◆ 170
Case 64 PCR産物のシークエンシングを行ったが、配列を決定できなかった	シークエンシング ◆ 172
Case 65 エタノール沈殿したが、沈殿が全く見えなかった	エタノール沈殿 ◆ 175
Case 66 DNA検体をガラス器具で扱ってしまった	DNAの取り扱い ◆ 178
Case 67 RNAを滅菌していない蒸留水に溶かしてしまった	RNAの溶解 ◆ 179
Case 68 滅菌水に溶解したRNA溶液を冷蔵庫に保存してしまった	RNAの保存 ◆ 181

4章 実験環境

1. 試薬管理

Case 69 分液ロートを振っていたら、中身が噴出した	有機溶媒の取り扱い ◆ 186
Case 70 ビンを倒して、塩酸を大量にこぼしてしまった	劇物の取り扱い ◆ 188
Case 71 反対側の実験台の人のRIで被曝してしまった?	RI実験① ◆ 190
Case 72 RI実験中にホットをこぼしてしまった	RI実験② ◆ 192
Case 73 ニンヒドリン反応をしようとしたら、指紋まで染まってしまった	検出試薬の取り扱い ◆ 194
Case 74 生物試料をドライアイスとともに海外に輸送しようとしたが送れなかった	生物由来物質の輸送 ◆ 196

1章



基本実験操作

2. 実験室管理

Case 75	ゴミ箱に注射針が入っていて、けがをした	実験廃棄物 ◆ 198
Case 76	停電でフリーザーの試料が溶解してしまった	試料の保存 ◆ 200
Case 77	ガスバーナーの火で天井のセンサーが作動してしまった	実験と火災 ◆ 202
Case 78	使い残しの試薬を水に流したら流しの色が変わってしまった	試薬の危険有害性と安全管理 ◆ 204
Case 79	実験機器が故障してしまった	機器の管理 ◆ 207

3. データ管理

Case 80	過去に行った実験データと検体が結びつかなくなった	実験データの管理 ◆ 213
Case 81	効率が悪く、実験が進まなかった	実験効率 ◆ 216
Case 82	しまったはずのサンプルが見つからなかった	サンプル管理 ◆ 218
Case 83	得られたデータを信用してもらえなかった	測定データの信用性 ◆ 221
Case 84	インターネットに出ていた実験方法を採用したら失敗した	インターネットの情報 ◆ 223
Case 85	パソコンに保存していた実験データがなくなってしまった	PC保存データ ◆ 225

付録 バイオ実験お役立ち書籍+α 227

索引 232
執筆者一覧 237

Column

- ① エチジウムプロマイドの廃棄方法 38
- ② 定量的思考のすすめ 65
- ③ 「実験室」と「現場」のコミュニケーションの大切さ 97
- ④ 失敗は成功のもと～未利用バイオマスを宝に換える新規酵素の発見から学ぶ～ 99
- ⑤ 組織像をよく見よう 122
- ⑥ 研究は何より材料づくりが大切。生き物に愛情を！感謝を！ 144
- ⑦ 架橋剤によるタンパク質の解析 162
- ⑧ ラベル転移法によるタンパク質-タンパク質の相互作用検出 164
- ⑨ 遺伝子リテラシー教育 183
- ⑩ RI実験の心構え 209
- ⑪ 遺伝子組換え実験を行う心構え 211

- Case 01～06 1. 基本器具・機器 12
- Case 07～08 2. 分光光度計 25
- Case 09～11 3. 電気泳動 (PAGE) 29
- Case 12～14 4. 電気泳動 (アガロース) 36
- Case 15～16 5. ブロッティング 44
- Case 17～22 6. 試薬調製 48
- Case 23～26 7. PCR 66
- Case 27～29 8. キット 75