

# 改訂 バイオ試薬調製 ポケットマニュアル

## CONTENTS

欲しい試薬がすぐにつくれる  
基本操作と注意・ポイント

## I部 溶液・試薬データ編

### 第1章 基本溶液

#### 1. 酸とアルカリ

塩酸（塩化水素）	16	水酸化カリウム	19
酢酸	17	希アンモニア水	20
水酸化ナトリウム	18		

#### 2. 塩溶液

塩化ナトリウム	21	酢酸カリウム	26
塩化カリウム	22	塩化カルシウム	27
塩化マグネシウム	23	酢酸カルシウム	28
酢酸マグネシウム	24	酢酸アンモニウム	29
酢酸ナトリウム	25	硫酸マグネシウム	30

#### 3. 緩衝液（バッファー）

トリス塩酸バッファー	31	リン酸バッファー	36
トリス酢酸バッファー	33	酢酸ナトリウムバッファー	38
HEPES バッファー	34	クエン酸ナトリウム バッファー	39
MOPS バッファー	35		

#### 4. その他

EDTA	40	シヨ糖	48
EGTA	42	サルコシル	49
SDS	44		
非イオン性界面活性剤	46		
Brij 58, Nonidet P-40, Triton			
X-100, Tween 20, Tween 80			

## 第2章 遺伝子工学実験

### 1. 保存溶解溶液

TE	50	TEN	52
T <sub>50</sub> E <sub>1</sub>	51	DEPC水	53

### 2. 核酸の抽出

アルカリ溶解法：溶液Ⅰ	54	リゾチーム	57
アルカリ溶解法：溶液Ⅱ	55	STET/STETL	58
アルカリ溶解法：溶液Ⅲ	56	TNM	59

### 3. 核酸の精製と検出

水飽和フェノール	60	DNA沈殿用PEG	68
トリス・フェノール	62	プロナーゼ	69
CIA (クロロホルム・イソ アミルアルコール)	64	プロテナーゼK	70
フェノール・クロロホルム	65	DNaseフリーRNase	71
70%エタノール	66	TE飽和ブタノール	72
エチジウムブロマイド*	67	ジエチルエーテル	73

## 第3章 核酸解析実験

### 1. 制限酵素反応液

Lowバッファー	74	KClバッファー	77
Mediumバッファー	75	Sal I バッファー	78
Highバッファー	76	Tバッファー	79

### 2. 制限酵素以外の酵素反応液

ヌクレオチド (dNTP を 中心に)	80	その他の酵素の反応液	89
T4ポリヌクレオチド キナーゼ	82	T4DNAポリメラーゼ, M-MuLV逆転写酵素, ターミ ナルトランスフェラーゼ (TdT), DNase I, S1ヌクレアーゼ, マイクロコッカルヌクレアーゼ, Bal31ヌクレアーゼ, Mung Beanヌクレアーゼ, RNase H	
アルカリホスファターゼ	83		
T4 DNAリガーゼ	84		
BigDye <sup>®</sup> 希釈バッファー	85		
クレーノフラグメント	86		
PCR	87		

### 3. ハイブリダイゼーション

---

SSC	90	サザンプロットング溶液	93
SSPE	91	サザンハイブリダイゼーション	
脱イオンホルムアミド	92	溶液	96

## 第4章 タンパク質実験

### 1. 抽出溶液

---

細胞溶解液 (RIPA バッファー)	98	タンパク質抽出液	100
-----------------------	----	----------	-----

### 2. 安定化剤

---

ATP (タンパク質用)	102	70%グリセロール	107
DTT	103	BSA (ウシ血清 アルブミン)	108
プロテアーゼインヒビター	104	アジ化ナトリウム	109
アプロチニン, ロイペプチン, E-64, ペプスタチン A, PMSF, <i>p</i> -APMSF, AEBSF, アンチパイン, キモスタチン, Bestatin			

### 3. 免疫学的実験

---

ウエスタンプロットング 溶液	110	ブロッキング溶液	113
タンパク質転写溶液	111	免疫沈降反応結合液	115
		抗体除去バッファー	117

### 4. その他

---

グルタチオン	118	TCA	121
硫酸アンモニウム	119	尿素	122
イミダゾール	120		

## 第5章 電気泳動

### 1. 電気泳動バッファー

---

TAE	123	SDS-PAGE 泳動バッファー	126
TBE	124		

## 2. 核酸用ゲル・試薬

アガロースゲル	127	通常ゲル用ローディング	
アクリルアミド溶液	129	バッファー	135
ポリアクリルアミドゲル	131	変性ゲル用ローディング	
尿素ゲル	133	バッファー	136

## 3. タンパク質用ゲル・試薬

SDS ポリアクリル		CBB 染色液	141
アミドゲル	138	脱色液	142
SDS サンプルバッファー	140	アミドブラック	143

## 4. その他、共通に使用されるもの

SYBR <sup>®</sup> Green/Gold		過硫酸アンモニウム	
染色液	144	(APS)	145

# 第6章 大腸菌実験

## 1. 培地

LB 培地	146	M9 培地	150
SOB 培地/SOC 培地	147	富栄養培地	152
NZYM 培地	149	酵母用培地	154

## 2. 培地添加物

寒天培地	156	IPTG	159
抗生物質 (大腸菌実験用)	157	X-gal	160
アンピシリン, カナマイシン, ストレプトマイシン, クロラムフェニコール, テトラサイクリン			

## 3. ファージ実験用試薬

SM バッファー	161	ファージ沈殿液	162
----------	-----	---------	-----

# 第7章 細胞実験

## 1. 生理的塩溶液

Earle 液	163	HBS	168
PBS (-)	165	生理食塩水/生理的食塩水	169
TBS	167	リンガー液	170

## 2. 培養液用添加物

グルタミン溶液	172	トリプシン溶液	178
炭酸水素ナトリウム	173	トリパンブルー	180
軟寒天培地	174	トランスフェクション 溶液	181
抗生物質（細胞培養用）	176		
ペニシリン G, ストレプトマイ シン, カナマイシン, ツニカマ イシン, アンフォテリシン B, G418			

## 3. 染色と観察

ギムザ染色液	183	エオシン溶液	187
パラホルムアルデヒド溶液	184	水溶性封入剤	188
ヘマトキシリン溶液	185		

## 4. 細胞解析用試薬

シクロヘキシミド*	189	ノコダゾール	192
チミジン	190	BrdU（プロモデオキシ ウリジン）	193
HAT 培地	191		

# Ⅱ部 基本操作編

## 第1章 基本溶液

1. 計量器具	202
1. 計量器具の特性	2. 計量器具の材質と洗浄
2. 濃度計算と確認	206
1. 濃度計算	3. 濃度の確認
2. 分光光度計の使い方： 手動操作の場合	
3. 秤量とメスアップ	208
1. 天秤	2. メスアップ
4. 試薬と水のグレード	210
1. 試薬	2. 水

<b>5. pH とバッファー</b> .....	212
1.pH	3.pHメーター
2.水溶液のpH	4.バッファー（緩衝液）
<b>6. 容器の材質と保存条件</b> .....	214
1.材質の選定	3.保存条件
2.保存容器の強度と安全性	
<b>7. 器具と試薬の滅菌</b> .....	216
1.瓶の滅菌	3.滅菌が必ずしも必要でないもの
2.溶液の滅菌	

## 第2章 遺伝子工学実験

<b>1. 核酸の保存と安定性</b> .....	218
1.DNA	2.RNA
<b>2. 核酸の沈殿・濃縮</b> .....	219
1.塩濃度	3.後処理
2.沈殿剤	
<b>3. 分光光度計による核酸の定量</b> .....	221
<b>4. DNA の断片化</b> .....	222
<b>5. RNA 実験のポイント</b> .....	223
1.細胞からのRNA抽出	3.物理化学的安定性の維持
2.二次的RNase汚染の防止	

## 第3章 核酸解析実験

<b>1. DNA の変性と T<sub>m</sub></b> .....	225
1.DNA の変性法	2.T <sub>m</sub> とは
<b>2. 核酸精製用ゲル濾過</b> .....	226
<b>3. 透析</b> .....	227
1.透析チューブの前処理	2.透析

## 第4章 タンパク質実験

1. タンパク質定量法 ..... 230
  1. 乾燥重量法
  2. ビウレット (Biuret) 法
  3. ローリー (Lowry) 法
  4. ピシニコニン酸 (Bicinchoninate) 法 (BCA 法)
  5. クーマシーブルー G 法 (Bradford 法)
  6. 紫外外部吸収法 (UV 法)
2. タンパク質の精製法 ..... 232
  1. 沈殿
  2. 膜分画
  3. 電気泳動
  4. 遠心分離
  5. クロマトグラフィー
3. 濃縮法 ..... 234
  1. 沈殿
  2. クロマトグラフィー
  3. 限外濾過
  4. 脱水
  5. 凍結乾燥

## 第5章 電気泳動

1. 分子量マーカーとその分離パターン ..... 236
  1. アガロースゲルによる DNA の分離
  2. ポリアクリルアミドゲルによる DNA の分離
  3. SDS-PAGE によるタンパク質の分離
2. ゲルからの試料の抽出 ..... 236
  1. DNA をアガロースゲルから
  2. DNA をポリアクリルアミドゲルから
  3. タンパク質をアクリルアミドゲルから
3. ゲル保存法 ..... 241

## 第6章 大腸菌実験

1. 培養プレート作製法 ..... 242
2. 代表的な大腸菌の遺伝型 ..... 244

3. プラスミドの導入	244
-------------	-----

## 第7章 細胞実験

1. 細胞の凍結保存	247
2. 細胞数の計測	248
1. 血球計算板による細胞測定法	
2. それ以外の細胞測定法	
3. 固定染色法	249
4. 培養容器の規格	250
5. 血清の準備	251
1. 血清の種類	
2. 保存	
3. 血清の非動化	
4. 血清のロットチェック	
5. マイコプラズマチェック	
● 付 録	257
1. ラジオアイソトープデータ	257
2. 遠心力	258
3. おもなバッファーの適用pH範囲	259
4. 硫安（硫酸アンモニウム）溶液の濃度	259
5. アミノ酸	261
6. 紫外部吸収とタンパク質濃度	261
7. 核酸とタンパク質の換算式	262
8. 酵素反応液	263
9. 大腸菌のペクター	265
● 索 引	267