

❖ 目次概略 ❖

概説 遺伝子工学 —誕生から今日まで、そして未来へ

第Ⅰ部 遺伝子・DNAの基礎

1章 遺伝子工学で使われる生物

2章 DNA：化学構造，複製，構造変化

3章 遺伝子の発現

第Ⅱ部 基本の酵素からクローニングまで

4章 制限酵素，DNAメチラーゼ，DNAリガーゼ

5章 核酸の合成，分解，修飾酵素

6章 プラスミド，ファージ，トランスポゾン

7章 ベクター

8章 タンパク質産生制御系

9章 組換えDNAの作製と細胞への導入

10章 DNAクローニング

第Ⅲ部 核酸の取り扱いと構造機能解析

11章 核酸の取り扱いと分離

12章 塩基配列の検出と解読

13章 PCRによるDNAの増幅

14章 遺伝子発現と遺伝子産物の解析

第Ⅳ部 遺伝子工学の応用と安全性の確保

15章 遺伝子工学技術の応用

16章 遺伝子操作における安全性確保：カルタヘナ法

❖ 目 次 ❖

第2版の序	3
初版の序	5

概説 遺伝子工学 —誕生から今日まで, そして未来へ 16

1. 遺伝子工学とは	16
2. 最初の遺伝子工学実験とその意義	17
3. 遺伝子工学を発展させたエポック	17
4. 遺伝子工学はどのように活かされているか	19
5. 遺伝子工学の将来	20

第 I 部 遺伝子・DNA の基礎

1章 遺伝子工学で使われる生物 21

1. 遺伝子工学で生物を用いる目的	21
2. 原核生物と真核生物	22
① 原核生物 ② 真核生物	
3. ゲノムと遺伝子	25
① 遺伝子 ② ゲノム ③ ゲノムサイズと遺伝子数	
4. 大腸菌	26
① 特徴 ② 遺伝子型 ③ 培養 ④ 滅菌	
5. 遺伝子工学に登場する真核生物	30
① 酵母 ② 培養動物細胞 ③ 多細胞動物個体 ④ 植物	
6. 遺伝子工学に利用される動物ウイルス	31
① ウイルスとは ② ウイルスは厳密には生物とはいえない ③ 使用される主なウイルス	
章末問題	32

2章 DNA：化学構造, 複製, 構造変化 33

1. DNA の構造	33
① 遺伝子の実体はDNA ② DNAはヌクレオチドが連結した分子 ③ 細胞のDNAは二本鎖として存在する	
2. DNA の構造変化	38
① 一本鎖と二本鎖の間の変換 ② 切断, 剪断	
3. DNA の複製	40
① DNA合成反応の原則 ② 細胞内で起こるDNA複製: レプリコンの複製 ③ DNAポリメラーゼ ④ 試験管内DNA合成	
4. DNA のメチル化	44
① メチル化部位 ② 原核生物でのメチル化 ③ 真核生物でのメチル化	
5. DNA の損傷と修復	45
① DNAの損傷 ② 損傷DNAの修復	

6. DNAの組換え	47
① 相同組換え ② 非相同組換え	

章末問題	48
------	----

3章 遺伝子の発現 49

1. RNA	49
① RNAとは ② RNA機能の多様性 ③ 遺伝子発現制御能をもつncRNA ④ RNAのそれ以外の機能	
2. 転写機構	51
① RNA合成：RNAポリメラーゼ ② 転写開始 ③ 転写終結まで	
3. 原核生物の転写制御	53
① ポリシストロニック転写とオペロン ② ラクトースオペロンの構造と制御機構 ③ 遺伝子工学で汎用される大腸菌の転写制御因子	
4. 真核生物の転写制御	55
① エンハンサーと転写制御因子 ② 制御のメカニズム	
5. クロマチンとエピジェネティクス	57
① ナクレオソームとヒストン ② クロマチンの修飾とエピジェネティクス	
6. 転写後のできごと：RNAの加工と成熟	58
① mRNAの末端修飾 ② スプライシング ③ その他の加工	
7. アミノ酸，ペプチド，タンパク質	60
① アミノ酸 ② ペプチド結合 ③ タンパク質	
8. 翻訳	62
① コドンとtRNA ② 翻訳機構	
9. 真核細胞で翻訳されたポリペプチドの運命	65
① 翻訳後のタンパク質の移動 ② タンパク質の分解	

章末問題	66
------	----

第Ⅱ部 基本の酵素からクローニングまで

4章 制限酵素，DNAメチラーゼ，DNAリガーゼ 67

1. 細菌がもつ自己防衛手段：制限と修飾	67
① 現象の発見 ② 制限と修飾の実体	
2. 遺伝子工学における制限酵素発見の意義	69
3. 制限酵素の種類	69
① I～Ⅲ型酵素 ② 制限酵素の分布	
4. Ⅱ型制限酵素のDNA認識配列と切断末端	70
① 認識配列と切断部位 ② 粘着末端と平滑末端 ③ 切断地図 ④ 制限酵素の反応性とスター活性	
5. DNAメチラーゼと制限酵素の切断特性	72
① 制限修飾系でのメチル化 ② 大腸菌で増やしたDNAの制限酵素処理での注意	
6. ホーミングエンドヌクレアーゼ	72
7. 粘着末端を利用したDNAの連結	74
① DNAの付着と連結 ② DNAリガーゼ反応の実際 ③ 同一粘着末端をもたないDNA末端の連結方法	

章末問題	76
------	----

5章 核酸の合成, 分解, 修飾酵素 **77**

- 1. DNA合成酵素 77
 - ① 通常のDNA合成用DNAポリメラーゼ ② クレノー断片 ③ 特殊な用途で使われるDNA合成酵素
- 2. 核酸分解酵素 81
 - ① 多様な核酸分解酵素 ② DNAに働くエンドヌクレアーゼ
 - ③ DNAに働くエキソヌクレアーゼ ④ 一本鎖を特異的/優先的に分解するヌクレアーゼ
 - ⑤ RNAを分解する酵素: リボヌクレアーゼ (RNase)
- 3. DNAの平滑末端化 86
- 4. 末端リン酸基の脱着 86
 - ① リン酸基の脱着 ② リン酸基脱着反応を遺伝子操作の中で応用する
- 5. 組換えDNAからのRNA調製 88
- 章末問題** 89

6章 プラスミド, ファージ, トランスポゾン **90**

- A. プラスミド
 - 1. プラスミドの基本的な特徴 90
 - ① プラスミドの複製とコピー数 ② 不和合性
 - 2. 大腸菌のプラスミド 92
 - ① ColE1 ② R因子 ③ F因子
 - 3. その他のプラスミド 96
 - ① Tiプラスミド ② 他の細菌プラスミド ③ 出芽酵母のプラスミド
- B. 大腸菌のファージ
 - 4. ファージの種類と増殖 97
 - ① ファージとは ② ファージに特徴的な性質 ③ ファージの検出, 定量: プラークアッセイ
 - 5. λファージ 99
 - ① 増殖: 溶菌サイクル ② 溶原化サイクル
 - 6. 一本鎖ファージ: M13 102
 - ① 概要と増殖 ② 利便性
- C. トランスポゾン
 - 7. 概要 103
 - 8. DNAトランスポゾン 104
 - 9. レトロトランスポゾン 104
 - 章末問題** 105

7章 ベクター — DNAの導入, 増幅, 発現, 組込みのツール **106**

- A. ベクターの基本
 - 1. 遺伝子組換え実験におけるベクター 106
 - ① ベクターとは ② ベクターの種類と条件 ③ クローニング
 - 2. 選択マーカー 108
 - ① マーカーの意義 ② 検出方法によるマーカーの分類 ③ 汎用性の高いマーカー: GFP
 - 3. ベクターの能力にかかわる機能性配列 109
 - ① マルチクローニング部位 ② 制御配列

B. 原核生物のベクター	
4. 主な選択マーカー	110
① 抗生物質に対する耐性遺伝子：薬剤耐性遺伝子	② lacZ 遺伝子と青白選択
③ 致死マーカー	
5. DNA 導入・増幅用の大腸菌プラスミドベクター	114
① プラスミドベクターかファージベクターか？	② プラスミドベクター用菌株
③ 古典的サブクロニング用ベクター	④ 多用途汎用ベクター
⑤ 特定の目的で使用されるベクター	
6. 遺伝子発現用の大腸菌プラスミドベクター	116
① 遺伝子発現の基本戦略	② 大腸菌内での発現の方策
7. 大腸菌以外の細菌用プラスミドベクター	117
8. 大腸菌用ファージベクター	117
① λ ファージ系クローニングベクター	② 発現可能な λ ファージクローニングベクター
③ M13 ファージベクター	
9. 混成プラスミドベクター	118
10. 巨大DNAクローニング用ベクター	119
C. 真核生物のベクターとマーカー	
11. 真核細胞中での発現制御系	120
① 真核細胞内で働くプロモーター	② 転写後シグナルと翻訳シグナル
12. 真核細胞で利用されるマーカー	121
① 薬剤耐性遺伝子	② 代謝欠陥を補う遺伝子
③ 致死遺伝子	④ レポーター遺伝子
13. 酵母・真菌のベクター	123
① ベクターのタイプ	② マーカー遺伝子
14. 動物細胞用ウイルスベクター	125
① レトロウイルスベクター	② アデノウイルスベクター
③ その他の動物ウイルス	
章末問題	128

8章 タンパク質産生制御系 129

1. 発現ベクター	129
2. 大腸菌でタンパク質をつくる場合のポイント	130
① コドンの使用頻度に注意する	② 不溶化防止策をとる
③ 発現させるタイミングを工夫する	
3. 融合タンパク質の作製	131
① β-ガラクトシダーゼ (β-gal) 融合タンパク質	② タグ付きタンパク質とその精製
③ ファージディスプレイ	
4. T7 RNA ポリメラーゼによる発現系	134
① pET ベクター	② 発現制御系：pET システム
5. 真核生物でのタンパク質発現	134
① ピキア発現系	② バキュロウイルス発現系
③ テトラサイクリンによる発現制御系 (Tet システム)	
6. 遺伝子工学で使われるタンパク質分解酵素	137
章末問題	137

9章 組換え DNA の作製と細胞への導入 138

A. 組換え DNA の作製	
1. 伝統的なサブクロニング	138
① サブクロニングとは	② DNA リガーゼによるベクターと DNA 断片の連結
2. 新しい組換え DNA 構築法	139
① TOPO クローニング	② LIC 法
③ ゲートウェイクローニング	④ <i>in vitro</i> 反応だけで組換え体をつくる汎用性の高い方法
⑤ IVEC (<i>in Vivo E. coli Cloning</i>)	

B. DNA構築に関連する技術	
3. オリゴヌクレオチド	143
4. 部位特異的変異DNAの作製	144
① トランスフォーマー法 ② 制限酵素Dpn Iを使う方法	
5. cDNAの合成	145
① 真核生物 mRNAの調製 ② cDNAの合成	
C. 細胞へのDNA導入	
6. DNA導入の一般的方法	147
7. 原核生物(大腸菌)へのDNA導入	147
① 形質転換とコンピテント細胞 ② ファージ感染 ③ 目的クローンの決定	
8. 動物細胞へのDNA導入	148
① 化学物質を使ってDNA導入を促進する: トランスフェクション ② 物理的方法	
③ ウイルスベクターを用いる方法 ④ 細胞に入ったDNAの運命	
9. 植物細胞: TiプラスミドDNAに基づく方法	149
章末問題	151

10章 DNAクローニング —ライブラリーの作製とクローンの単離 152

A. 伝統的なクローニング法	
1. 伝統的なDNAクローニングの概要	152
2. DNAライブラリー: クローニングの材料	152
① ファージベクターを使うか, プラスミドベクターを使うか	
② λファージを使ったDNAライブラリーの作製 ③ プラスミドを使ったDNAライブラリーの作製	
3. ゲノミックライブラリーの作製	155
① ライブラリー作製の要点: DNAサイズを揃える	
② ハイブリダイゼーションによるクローンの選択	
B. cDNAクローニング	
4. cDNAライブラリーの作製	157
① ライブラリー作製の要点 ② 特異的クローン濃縮のためのサブトラクション	
③ ディファレンシャルディスプレイ	
5. cDNAクローンの選択	159
① 結合性に基づく発現クローニング ② 機能性クローニング	
C. ゲノム情報とPCRを活用したクローニング	162
章末問題	162

第Ⅲ部 核酸の取り扱いと構造機能解析

11章 核酸の取り扱いと分離 163

1. 核酸の物理化学的性質	163
① DNAの性質 ② RNAの性質	
2. DNAの調製	164
① 細胞からのゲノムDNAの抽出 ② 細菌からのプラスミド抽出 ③ DNAの精製 ④ 核酸の濃度測定	
3. RNAの扱い	167
4. 核酸の濃縮	167
① 核酸のエタノール沈殿 ② その他の濃縮法	

5. ゲル電気泳動による核酸の分離	169
① 通常ゲル（中性ゲル）による電気泳動	
② 変性ゲルによる電気泳動	
③ ゲルの素材と形状	
④ 特別な目的のための電気泳動	
6. 超遠心分離機による核酸の分離	172
章末問題	173

12章 塩基配列の検出と解読 174

1. 核酸のハイブリダイゼーション	174
① ハイブリダイゼーションとは	
② T_m に影響を与える要因	
③ ハイブリダイゼーションの実施条件	
2. プローブの作製：DNAの標識	177
① 放射性同位体（RI）とは	
② DNAをRI標識する方法（A）：DNA合成による方法	
③ DNAをRI標識する方法（B）：末端のリン酸基標識による方法	
④ RIを画像として検出する：オートラジオグラフィ	
3. ハイブリダイゼーションによる核酸の検出法	180
① サザンブロットング	
② ノーザンブロットング	
③ <i>in situ</i> ハイブリダイゼーションとFISH	
4. ジデオキシ法によるシーケンシング	182
① 原理	
② 一本鎖DNA鋳型の準備	
③ 反応、電気泳動、検出	
④ 現在までに改良された点（昔のものから順に）	
⑤ DNAシーケンサー	
5. 次世代シーケンサー：NGS	186
[A] 第二世代シーケンサー	
① PCR増幅と均一DNA集団の形成	
② 反応系	
[B] 新しいタイプのNGS	
① 第三世代シーケンサー	
② 第四世代シーケンサー	
[C] NGSを使う	
① NGSを使用するまでの操作フロー：ライブラリー作製	
② NGSの応用	
章末問題	191

13章 PCRによるDNAの増幅 192

1. PCRの原理と概要	192
2. 材料と反応条件	193
① プライマーの設計	
② 耐熱性酵素の選択	
③ 反応液とサイクルプログラム	
④ ホットスタートPCR	
⑤ 修飾温度サイクル	
3. 遺伝子工学におけるPCRの利用	198
① DNAの検出、増幅、シーケンシング	
② RNAの検出	
③ PCR産物をサブクローニングに使用する	
④ 塩基配列の付加や変異導入のための利用	
⑤ DNAの多型解析、変異解析への応用	
⑥ クロマチン結合タンパク質の検出	
4. リアルタイムPCR	201
① リアルタイムPCRとは	
② 蛍光の検出系	
③ リアルタイムPCRでDNAが定量できる原理	
5. デジタルPCR	203
① 原理	
② 概要と応用	
6. PCRによらないDNA増幅法	204
① ICAN法	
② LAMP法	
章末問題	205

14章 遺伝子発現と遺伝子産物の解析 206

1. 内在性遺伝子の発現状態を解析する	206
① RNAやタンパク質の構造決定や同定の戦略	
② 特定のRNAの検出・解析・同定	
③ RNAの網羅的解析	
④ タンパク質の検出・同定	
2. 細胞を使った遺伝子の発現機能解析	213
① 導入遺伝子の一時的発現と安定的発現	
② レポーターアッセイとその応用：転写系を利用した解析	

3. 試験管内反応による遺伝子発現の測定	217
① <i>in vitro</i> 転写 ② <i>in vitro</i> 翻訳	
4. 情報高分子間の相互作用解析	218
[A] タンパク質と核酸の相互作用の解析 ① <i>in vitro</i> 反応による方法 ② 細胞を使う方法	
[B] タンパク質同士の相互作用の解析 ① 細胞を使う方法 ② 細胞抽出液を使う方法	
③ 結合能を有するタグが付いているタンパク質を使う方法 ④ ファーウエスタン法	
⑤ 結合タンパク質を網羅的に検索するさまざまな方法	
5. クロマチンとエピゲノムの解析	222
① メチル化DNAの検出 ② タンパク質結合の解析 ③ クロマチン高次構造の解析	
章末問題	225

第IV部 遺伝子工学の応用と安全性の確保

15章 遺伝子工学技術の応用	226
1. タンパク質工学	226
① タンパク質工学の利点 ② 応用例 ③ タンパク質の設計	
2. RNA工学とRNAi	228
① RNA工学とその利点 ② RNAによる遺伝子機能の抑制 ③ 遺伝子ノックダウン法	
④ RNAの結合性の利用 ⑤ RNAの触媒能の利用	
3. 細胞, 組織, 個体発生を操作する技術	230
① 細胞工学 ② 発生工学 ③ クローン動物 ④ 組織工学と再生医療 ⑤ iPS細胞	
4. ゲノム工学：遺伝子ターゲティングからゲノム編集まで	234
[A] 遺伝子ターゲティング 概要	
[B] ゲノム編集 ① 背景と概要 ② 初期に開発された方法	
③ 現在の中心的方法 CRISPR/Cas9：概要, 利点, 展開	
5. 医療と遺伝子工学	238
① 遺伝子治療という選択肢 ② 遺伝子治療の対象となる疾患, 遺伝子 ③ 遺伝子治療のアプローチ	
④ 遺伝子多型解析と遺伝子診断 ⑤ テーラーメイド医療	
6. 植物の生命工学, 遺伝子工学	241
① 植物を対象とする生命工学 ② 細胞への遺伝子導入 ③ 遺伝子組換え植物の作製例	
④ 植物に特有な問題	
7. 生命科学におけるビッグデータの出現	244
① シングルオミクスからトランスオミクスへ ② 生命情報とゲノム医療	
③ 生命科学研究のパラダイムシフト	
章末問題	246
16章 遺伝子操作における安全性確保：カルタヘナ法	247
1. 遺伝子組換え実験の自己規制	247
2. カルタヘナ法の成立	247
① その後の経過 ② カルタヘナ議定書	
3. 遺伝子組換え生物の使用と実験分類	248
① 遺伝子組換え生物等 (LMO) の使用形態と実験の申請 ② 機関承認実験と大臣確認実験	
③ 実験分類	
4. 実験の種類と拡散防止措置	252
① 実験の種類 ② 拡散防止措置	
5. 留意すること	254
章末問題	256

付 録	257
索 引	263

Column

- エキソソーム / 25
- 生物に必要な最少の遺伝子数は？ / 26
- ヒトのDNAの長さ / 38
- 修復遺伝子の欠陥は病気を起こす / 47
- RNAワールド仮説 / 53
- ゲノム刷り込み：ゲノムインプリンティング / 58
- 遺伝の暗号はコドンだけか？ / 62
- オートファジー / 66
- 制限修飾系は日本でも発見されていた / 68
- タンパク質スプライシング / 74
- 逆転写酵素：その発見から普遍性へ / 80
- ヘビ毒の正体は核酸分解酵素 / 85
- 抗生物質とペニシリン / 94
- エイズウイルスをベクターとして使う?! / 127
- 遺伝子工学の黎明期：日本では / 150
- 南西クローニング? / 161
- ヒトゲノム解読レースのもたらしたものの / 186
- 社会の中で使われているPCR / 201
- 転写速度を解析する「核run-onアッセイ」 / 209
- クローンヒツジ「ドリー」誕生の興奮とその顛末 / 232
- CRISPR/Casシステム：細菌の獲得免疫システム / 237
- トランスジェニック動物 / 237
- ヒトに関する遺伝子工学の諸問題 / 239
- 細胞移植実験は遺伝子組換え実験?! / 252
- ゲノム編集生物は遺伝子組換え生物か? / 253

章末問題について

各章の最後に章末問題を掲載しています。復習や自主学習にお役立てください。

- 解答は、問題の右上にある **QRコード** を読み込むことによって、お手持ちの端末でご覧いただけます。

※QRコードのご利用には「QRコードリーダー」が必要となります。お手数ですが、各端末に対応したアプリケーションをご用意ください。

※QRコードは株式会社デンソーウェーブの登録商標です。

- また、羊土社ホームページの**本書特典ページ**（下記参照）にも解答を掲載しております。

1 羊土社ホームページ (www.yodosha.co.jp/) にアクセス (URL入力または「羊土社」で検索)

2 羊土社ホームページのトップページ右上の **書籍・雑誌付録特典** (スマートフォンの場合は**付録特典**) をクリック

3 **コード入力欄**に下記をご入力ください

コード: - - ※すべて半角アルファベット小文字

4 **本書特典ページへのリンクが表示されます**

※ 羊土社会員にご登録いただきますと、2回目以降のご利用の際はコード入力は不要です

※ 羊土社会員の詳細につきましては、羊土社HPをご覧ください

※ 付録特典サービスは、予告なく休止または中止することがございます。本サービスの提供情報は羊土社HPをご参照ください