

# CONTENTS

カラー口絵	9
-------	---

## 第1部 管理編

<b>1-1 生命科学研究に必要なRI取り扱いの基礎知識</b>	
古嶋昭博・島崎達也・白石善興・岡田誠治	12
Ⅰ. RIの安全取り扱い(1限目)	12
Ⅱ. 放射線の人体へ与える影響(2限目)	14
Ⅲ. 法令(3限目)	14
Ⅳ. 放射線障害予防規程(4限目)	16
<b>Column</b> 2005年改正障害防止法令の主要点—規制対象下限値以下のRIの管理区域外使用— <sup>o</sup>	15
<b>Column</b> 管理室とのコミュニケーション	17
<b>Column</b> こちらRI管理室! 白石善興	18
<b>1-2 安全管理と使用の実際</b> 島崎達也・古嶋昭博・白石善興・岡田誠治	20
Ⅰ. ラジオアイソトープ(RI)の安全管理のために	20
Ⅱ. ラジオアイソトープの使用の実際	24
Ⅲ. 放射線実験上の諸注意と基礎知識	30
<b>1-3 一般実験室における少量非密封RIの取り扱いの実際</b>	
高椋光博・白石善興・島崎達也・岡田誠治	32
Ⅰ. 一般実験室使用のための法的根拠と手続き	32
Ⅱ. RI取り扱いの実際	33

## 第2部 基礎編

<b>2-1 核酸のRI標識法</b> 日吉真照・鈴伸也・岡田誠治	38
Ⅰ. RIによる核酸の標識法(プローブの作製)	38
Ⅱ. Non-RI法(DIG法)による核酸標識	43
<b>Column</b> スピнкаラムによるプローブの精製と比活性の簡易測定	42
<b>Column</b> 核酸標識に使われるRI	45
<b>2-2 ペプチド・タンパク質のRI標識法</b> 渡辺道雄	46
Ⅰ. 標識アミノ酸	46

Ⅱ. $^{35}\text{S}$ メチオニンを用いた <i>in vitro</i> translation 法によるタンパク質標識	47
Ⅲ. $^{125}\text{I}$ によるペプチド・タンパク質の直接標識	48
Ⅳ. 間接標識法によるペプチド・タンパク質の $^{125}\text{I}$ 標識	49
Ⅴ. 蛍光物質によるペプチド・タンパク質の標識	50
Ⅵ. RI 標識タンパク質の応用例：レセプターアッセイ	51
<b>2-3 細胞の RI 標識法</b> 桑原一彦	54
Ⅰ. Biosynthetic labeling と免疫沈降による分子量の決定	54
Ⅱ. $^{125}\text{I}$ を用いた細胞表面標識	56
Ⅲ. Non-RI による細胞表面標識	57
Ⅳ. Non-RI による免疫沈降物の標識	58

## 第3部 応用編

<b>3-1 細胞傷害活性と細胞増殖測定法</b> 上野貴将	62
Ⅰ. 細胞傷害活性の測定	62
Ⅱ. T細胞の増殖応答の測定	65
<b>Column</b> RIを用いた細胞内薬物動態解析 —AIDS治療薬を例に— 中田浩智	68
<b>3-2 タンパク質リン酸化研究—<math>^{32}\text{P}</math>を用いた酵素活性測定法と細胞内でのタンパク質リン酸化の検出法—</b> 山本秀幸	70
Ⅰ. 液体シンチレーションカウンターを用いたリン酸化酵素の活性測定法	70
Ⅱ. フィルムの感光作用を利用したリン酸化酵素の活性測定法	73
Ⅲ. リン酸化特異抗体を用いた研究法	74
<b>Column</b> タンパク質リン酸化研究におけるRI活用のひと工夫 桑原一彦	76
<b>3-3 放射性ATPと二次元電気泳動法を用いた <i>in vitro</i> キナーゼアッセイ</b> 入江厚	78
<b>Column</b> 網羅的プロテオミクス解析の限界と新規前処理法の必要性 佐藤孝明	83
<b>3-4 ゲルシフトアッセイ</b> 奥野豊	85
Ⅰ. ゲルシフトアッセイ	85
Ⅱ. 他の実験法との比較	90
<b>Column</b> コンピュータソフトウェアを用いた転写因子結合部位の検索法	90
<b>Column</b> 二本鎖オリゴヌクレオチドプローブは平滑末端にしなければならない	91
<b>3-5 RI標識DNAプローブを用いた <i>in situ</i> ハイブリダイゼーション法</b> 池田啓子	92
Ⅰ. プローブの準備：プローブのデザイン	92
Ⅱ. DNAオリゴヌクレオチドプローブの作製	93
Ⅲ. 新鮮凍結切片の作製	94
Ⅳ. <i>in situ</i> ハイブリダイゼーション	95

V. オートラジオグラフィー	97
VI. 現像	97
VII. シグナルの評価	98
<b>3-6 酸化ストレス研究—<sup>35</sup>Sを用いたタンパク質翻訳後修飾 S-グルタチオン化の評価法—</b> 岡本竜哉・澤 智裕・赤池孝章	99
I. [ <sup>35</sup> S]GSHのHPLCによる精製	100
II. [ <sup>35</sup> S]GSHの溶媒抽出法による精製	101
III. タンパク質-[ <sup>35</sup> S]GSHアダクトのオートラジオグラフィーによる検出	102
IV. プロテオーム解析への応用	103
<b>3-7 シナプス可塑性研究</b> 飯島崇利・松田恵子・柚崎通介	106
I. 神経スライス培養系を用いた刺激依存的なタンパク質合成の検出	106
II. RI標識脂肪酸転移によるタンパク質の代謝標識法	109
<b>Column</b> どうして普通の実験室でRIを使ってはいけないの？	113
<b>3-8 チャネル研究—<sup>125</sup>Iを用いたクロライドチャネルCFTRのチャネル活性評価法—</b> 橋本泰明・甲斐広文・沖米田 司	114
I. <sup>125</sup> Iを用いたフラックスアッセイ法	116
II. 他の実験法との比較（特にNon-RI法との比較）	119
<b>Column</b> 簡易評価法	118
<b>Column</b> パルスチェイス法	119
<b>3-9 酵母研究—<i>in vivo</i>パルス標識によるRNAの細胞内動態解析法—</b> 水城史貴・萬年太郎・谷 時雄	121
I. <i>in vivo</i> パルス標識によるタンパク質翻訳活性の解析	121
II. リボソームRNA前駆体の生体内プロセッシング過程の <i>in vivo</i> パルス標識による解析	124
<b>3-10 逆転写酵素活性測定法—<sup>32</sup>Pを用いた免疫不全ウイルス（HIV）のウイルス学的研究技術—</b> 長谷彩希・草川 茂・武部 豊	127
I. 逆転写酵素の活性測定	127
II. 実験例	129
<b>3-11 マウス個体を用いた研究—アイソトープを用いたタンパク質の体内動態評価法—</b> 安楽 誠・末永綾香・小田切優樹	132
I. RIによるガラクトシル化アルブミン（Gal-Alb）の標識法（標識体の作製）	132
II. マウスにおける標識ガラクトシル化アルブミン（Gal-Alb）の体内動態解析	134
III. Non-RIによるアルブミンの標識法	136
<b>3-12 PET（positron emission tomography）の生命科学への応用</b> 古嶋昭博・富吉勝美	138
I. PETイメージング	138
II. PET薬剤	141

<b>Column</b> 実験動物用X線CT 田部井俊明 .....	146
<b>Column</b> 環境同位体を用いた地下水循環プロセスの研究 嶋田 純 .....	148

## 第4部 RI機器の使用法

### 4-1 RI測定器の使用法とデータ解析法 —総論—

白石善興・島崎達也・古嶋昭博 .....	152
I. 放射線測定器の種類 .....	152
II. 測定器の使用法 .....	153
III. データ解析 .....	156
<b>Column</b> 機器類の使用後の注意点 .....	157
<b>Column</b> 検出器の測定時間と誤差の計算法 .....	159

### 4-2 液体シンチレーションカウンターの原理と使用法

蕪木宏行 .....	160
I. 液体シンチレーションカウンターの原理 .....	160
II. サンプル調製 .....	162
III. 液体シンチレーション測定上の問題と解決 .....	166

### 4-3 ガンマカウンターの原理と使用法 八須賀 淳 .....

I. ガンマカウンターとは .....	170
II. 利用法 .....	171
III. その他の利用法 .....	172

### 4-4 オートラジオグラフィー (RIによるイメージング) 法 洞 尚文 .....

I. イメージングプレートの原理と特徴 .....	174
II. 露出, 読取, 解析 .....	177
III. Non-RI法との比較 .....	178
<b>Column</b> BAS-MSとBAS-SRの違いは? / $^3\text{H}$ 検出用IP, BAS-TRについて .....	176

### 付 録 RI関連ウェブサイト .....

索 引 .....	182
-----------	-----