

授業実践

手軽にできる DNA抽出実験

埼玉県立川越女子高等学校教諭 森田 保久

はじめに

平成15年度から新教育課程が始まる。新しい生物 I では、DNAのごく基本的な部分まで扱うこととなった。

DNA関連の授業では、とかくモデル的な話が多く、実際の物質としてのDNAに直接触れる機会が少ない。

しかし、今までDNAを抽出しようとしても、遠心分離器が必要であったり、クロロホルムなどあまり扱いたくない薬品が必要であったり、白子(精巢)などすぐに手に入るとは限らない材料が必要であったりと、とかく敷居が高いものであった。

そこで、1時間の中で実験可能で、特殊な機材・薬品・材料を必要としない安全でお手軽なDNA抽出方法を紹介したい。この方法はその気になれば、家庭の台所でも実施可能であり、実際に夏休みの自由研究などで小学生が実験している場合もある。

[準備するもの]

1. 材料：凍らせた鳥のレバー
一般にレバーとして購入すると、心臓もついてくるので予め取り除いておく。後で使いやすいように、一匹分(50g前後)ごとに、ラップなどで包んで凍らせておく。
2. 薬品・器具
ミキサー(あるいは、おろし金、乳鉢・乳棒)、ガーゼ、ピーカー、ろ紙、漏斗、葉さじ、ミニ葉さじ、ガスバーナー、三脚、石綿金網、試験管ばさみ、2mol/l食塩水、エタノール(95%以上)、氷

[方法]

1. 湯煎の準備をする。500mlのピーカーに200mlの湯を沸かしておく。湯が沸いてから実験を始める。
100mlのピーカーを湯煎するときに、ちょうど良い量である。



2. 凍らせたトリのレバー100g、水200ml、台所用中性洗剤を1押し、をミキサーに入れ2分間連続運転で粉碎する(このときの温度は氷温ぐらいが望ましいので、必要であれば水を入れておく)。
ミキサーで細胞を物理的に破碎するとともに、中性洗剤で細胞膜、核膜を溶かすことを期待している。>
3. 各班に30ml程度ずつ配る(あとで食塩水を加えるので100mlのピーカーがちょうど良い)。
4. 食塩水を等量(それまでの全量に対して)加えて、軽く混ぜる(食塩の終濃度が1~2mol/lの間に収まるようにする。等量よりも多めでもかまわないが、少ないのはダメ)。

食塩水を加えると急に粘性があがる。
食塩水は、DNAとタンパク質の結合を切ると考えられる。>
※ここまでの過程では、DNaseのはたらきにより、DNAが壊されていく。手早く行うこと。目安としては、5分程度。



5. ピーカーに移した後、100℃で5分湯煎する。
タンパク質が凝固し、レバーの色が赤色から白色に変化するまで加熱する(加熱によって、タンパク質を変性・沈殿させる。DNAは、この温度では二本鎖が離れて、一本鎖になるが、冷やせば元に戻る)。

しかし、壊れやすい状態ではあるので、優しく扱うこと。

6. 手で触れるようになったら、四枚重ねのガーゼ（あるいはさらし1枚）で濾過する。

30ml程度絞る。固形物がガーゼを通り抜けることもあるが、あまり気にしなくてもよい。あまりにも固形物が出るようなら20mlぐらいで止めても良い。本当は、熱いうちに絞った方がいいのだが、やけどしないようにしてほしい。写真のように薬さじをうまく使って、ねじるようにすると、熱いうちでも触らずに絞ることができる。

7. ろ液を良く冷やして、冷エタノールを静かに入れ、ミニ薬さじを逆さにして、静かにかき混ぜる。

エタノールは予め氷冷しておく。加える量は、溶液の3倍体積程度。入れすぎても全く問題ない。

DNAは繊維状になるので薬さじに巻き付いてくる。この段階では多くの不純物が含まれている。

※すべて巻き取った後、もう一度かき混ぜてみる。塩溶液とエタノールが接触していないと沈殿しないので、底の方にまだ溶けたままのDNAが残っていることが多い。DNAは、エタノールには溶けないので、沈殿してくる。温度が低いほど溶解度が下がる



ので良く沈殿する。ろ液を冷やすとともに、加えるエタノールも冷えていることが望ましい。

8. 巻き取ったものを別のビーカーに入れ、ついてきたエタノールを良く切る。薬さじでDNAをうまく押さえながらビーカーを傾けていくとエタノールだけ捨てられる。

※エタノールを捨てる時、新しいビーカーに受けると良い。万が一、DNAも捨ててしまったときに、元に戻すことができる。エタノールが残っていると、食塩水を加えてもDNAはうまく溶けない。

9. 食塩水を20~30ml程度加えてよく溶かす。

薬さじで突つつくようにしてよく溶かすこと。

10. 再び湯煎する（3分間）。

湯煎しながらかき混ぜるのだが、優しくかき混ぜること。

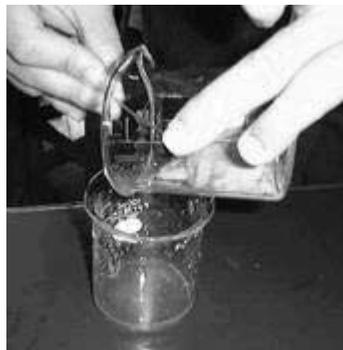
11. 濾過する

熱いうちにろ過した方が粘性が低いので濾過しやすい。ろ紙の目が詰まって濾過しにくくなるので、ろ紙はひだ折りにして、なるべく表面積を広げておく。また、全部濾過するのを待たなくても、ある程度たまったところで、残りは他のビーカーに受けておいて先を続ける。極端に言えば、1滴あればDNAらしきものを見ることはできる。

12. ろ液を良く冷やしてから、冷エタノールを静かに入れ、ミニ薬さじを逆さにしたもので静かにかき混ぜる。

濾過しながら冷やすと良い。

加えるエタノールは、塩溶液の3倍体積。入れすぎても問題ない。



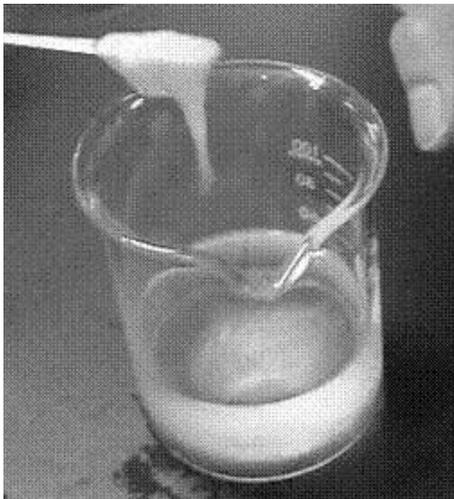
ろ液とエタノールの境界面に白い雲のような沈殿が見えるはずである。ゆっくりとかき混ぜると、透明から白色のDNAが巻き付いてくる。

量が少ない場合は、できるだけ静かにエタノールを注いで、しばらくそのまま待つてみる。

ピーカーを静かにゆらして境界線に注目してみると、少量のDNAができている場合がある。

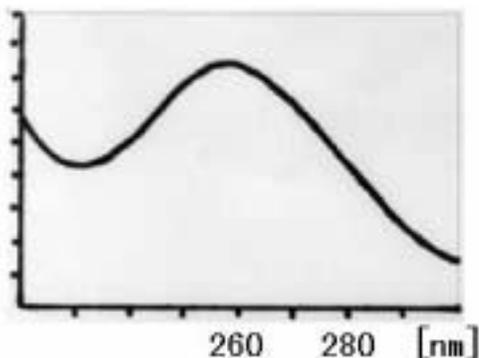
揺らしながら混ぜていくと沈殿が増えることもある。

エタノール沈殿させると気泡が生じる。かき混ぜないで、そのまま放置しておく、気泡によって上昇してくるくこの気泡は食塩水に溶けていた気体が、エタノールには溶けないので出てくるらしい。



[抽出物について]

この抽出物はDNAが中心であり、タンパク質があまり残っていないことは確認している（下図は吸収スペクトル。吸収極大は核酸：260nm，タンパク質280nm）。しかし、RNAを除く操作はしていない



いので、残っているものと思われる。ただ、「巻き取れる」ことはDNAの特徴の一つなので、高校生に見せるには十分だと考えている。

[確認実験]

正直に言って、良い確認実験が無いのが現状である。最も簡単なものを紹介するが、DNAであるという保証にはならない。

抽出したDNAをろ紙の上に乗せ、エタノールを取り除く。極少量の水で溶かし、この溶液を別のろ紙につける（字や絵をかくとおもしろい）。よく乾かした後で、酢酸カーミンなどの核を染める染色液に漬ける。数分経った後、水でよく洗う。溶液をつけたところがよく染まる。



[別法]

1. ミキサーがない場合

凍らせたニワトリのレバーをおろし金ですり下ろす。一匹分（50g前後）の半分ぐらいをすり下ろす。すりおろしたものを乳鉢に入れ、水を等量ぐらい加え、洗剤を数滴たらしで全力で2分間すりつぶす。あとは、同様に進める。

2. 材料をブロッコリーにする場合

ブロッコリーはレバーに比べて、臭くないことと、抵抗感が少ないので好まれるが、値段的にも高いことと扱いが少し難しいのが欠点である。

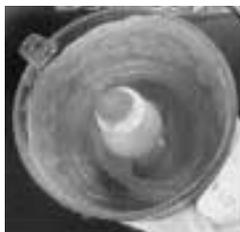
(1)冷凍する

ブロッコリーの芽の部分だけを使う。あらかじめ芽の部分だけを切り取ってから冷凍すると良い。（ただし、おろし金を使う場合は、丸のままの方が良い。）



(2) 破碎する

ブロッコリーの場合は、できるだけ濃くする。破碎するときに加える水も最小限に押さえる。このため、ミキサーよりもフードプロセッサーの方が望ましい。



(3) 食塩を加える

できるだけ濃い状態を保ちたいので、ブロッコリーの場合は、食塩水ではなく食塩を直接加える。食塩の終濃度が1～2 mol/lの間に収まるようにする。後は、手順通りである。

[おわりに]

可能ならば、レバーとブロッコリーの両方を同時にやると良いと思う。動物と植物の両方から、同じようなDNAが出てくる方がおもしろい。

マルチメディア周期表

価格（税別）

- | | | | |
|--------------------|---------|-------------|--------------|
| ◆教師用(CD-ROMとマニュアル) | 12,000円 | ◆スクールパック21本 | 160,000円 |
| ◆生徒用(CD-ROMのみ) | 9,000円 | ◆ | 41本 295,000円 |

化学で学習する「無機物質」に関する写真・ビデオ・アニメーションなどを収録したマルチメディアデータベースです。簡単なマウス操作ひとつで様々な単体・化合物の性質、反応の写真やビデオ、CGを見ることができます。

マルチメディア周期表の4大機能

- 1 周期表メニュー（データベース）**
 - 周期表と無機物質のマルチメディアデータベース。
 - リンクされた情報を興味・関心にそって、自由に探索できます。
- 2 実験シミュレーション**
 - 「中和滴定」「気体の発生と捕集」「金属イオンの分離」の実験シミュレーション。
 - 様々な条件で繰り返し実験できます。
- 3 検索メニュー**
 - 「五十音」「化学式」「項目別」の3つの索引。
 - キーボードを使わずに、マウスだけで情報を検索できます。
- 4 履歴編集メニュー**
 - 検索したデータの履歴を編集し、保存することができます。
 - 研究発表のプレゼンテーションにも利用できます。