

平成 28 年度第 1 回専門委員会実験指導委員会資料

1. DNA 抽出実験について (生物実験書 18)

DNA 抽出実験は生物基礎の範囲であるが、各教科書会社での実験処理の違いに注目してみた。具体的には、DNA の複製抽出液を入れる前後に、加熱処理をするかしないかということについてである。

今回は、加熱の有無による DNA 抽出の違いを実際に行い、比較してみたい。

東京書籍

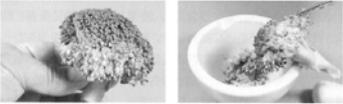
第一学習社

観察実験 3 DNAの抽出

目的
身のまわりの材料を使って、生物がDNAをもつことを確認する。

準備
ブロッコリー60g、塩化ナトリウム(食塩でも可)10g、エタノール30mL、蒸留水200mL、家庭用食器洗剤1mL、はさみ、ガラス棒、茶こし、50mLビーカー、乳鉢、乳棒

方法
①蒸留水200mLに塩化ナトリウム10gと家庭用食器洗剤1mLを加えてよくかき混ぜてDNA抽出液とする。
②ブロッコリーの表面の花芽をはさみで乳鉢に切り落とす。



▲使用するブロッコリーの量 ▲花芽をはさみで切り落とす

③花芽を乳棒でペースト状になるまでよくすりつぶす。
④乳鉢に30mLのDNA抽出液を注ぎ、穏やかにかき混ぜる。その後、茶こして固形物を除き、50mLビーカーに移す。
⑤ガラス棒を使い、冷やしたエタノール30mLをビーカーの側壁に伝わらせてゆっくり注ぐ。
⑥下層のDNA抽出液の表面から、上層のエタノール層に浮上する白い繊維状のものをガラス棒で絡め取る。

注意
●刃物などで手を切らないようにする。

目的 遺伝子の本体であるDNAを抽出し、その存在を確認する。

準備 材料：魚(タラなど)の精巢0.2g、ブロッコリー(茎を除く)2g
器具：乳鉢、乳棒、ガーゼ、ろうと、ビーカー、ピンセット
薬品：抽出用溶液(台所用合成洗剤を食塩水で10倍に希釈したもの)、エタノール、氷、食塩水(重量% 15%)、ヘマトキシリン溶液(市販のもの)を水で2~3倍に希釈したもの)

方法 (1) 精巢とブロッコリーをそれぞれ乳鉢にとり、すばやくすりつぶす。
(2) 精巢には抽出用溶液を20mL、ブロッコリーには10mL加え、粘性が出るまで軽く混ぜる。
(3) (2)の液を10分間静置し、それぞれ4重にしたガーゼでビーカーにろ過する。
(4) ろ液に氷冷したエタノールを静かに入れる。繊維状のDNAが現れる。精製する場合は、DNAをピンセットで別のビーカーに移し、30mLの食塩水を加えて溶かし、(3)、(4)の操作をくり返す。
(5) 得られたDNAをろ紙にとって乾燥させる。これをヘマトキシリン溶液に約5分浸し、水で洗う。



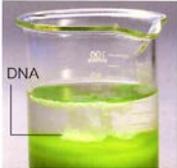
実 教

啓林館

目的▶ 食品や植物などからDNAを抽出し、観察する。

準備▶ 材料：冷凍したブロッコリー 50g
薬品：12%塩化ナトリウム水溶液、台所用中性洗剤(12%塩化ナトリウム水溶液で10倍に希釈しておく)、99.5%エタノール、氷
器具：乳鉢、乳棒、ビーカー、加熱・湯せん器具、ガーゼ、はさみ、菜さじ(大・小)、ろうと、ろ紙

方法▶ ①冷凍したブロッコリーの花芽をはさみで切り落とし、乳鉢ですりつぶす。
②①を菜さじ(大)でビーカーに移し、台所用中性洗剤30mLを加え、ゆっくりとかき混ぜながら、100℃で5分間湯せんする。
③ビーカーが手で触れる程度にまで冷えたら、②の溶液を、4枚ほど重ねたガーゼでろ過し、固形物を取り除く。
④ろ液を氷でよく冷やし、冷やした99.5%エタノール30mLを静かにビーカーの壁に伝わらせ、ろ液の上の層になるように注ぐ。
⑤しばらく放置し、白い繊維状の物質(DNA)が現れたら、菜さじ(小)でゆっくり巻き取り、観察する。



準備▶ 0.1%[質量%]プロテイナーゼK(マイクロチューブに入れて直前まで水冷)、細胞溶解液、0.6%[質量%]塩化ナトリウム水溶液、95%[体積%]エタノール(直前まで冷凍庫に保存)、1mL駒込ピペット、試験管、1.5mLマイクロチューブ、ミネラルウォーター(小さい紙コップに3mL入れておく)、恒温水槽(50℃に設定)、温度計

【細胞溶解液の調製】
① 緩衝液原液のpHの調整：トリスヒドロキシメチルアミノメタン(Tris)12.11gを80mLの蒸留水に溶かし、塩酸を加えてpH8に調整。放冷後、全体の体積を100mLにする。
② 10%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)原液の調製：SDS 5.0gを蒸留水に溶かし、全体の体積を50mLにする。
③ ①を5mLと②を10mL取り、全体の体積が100mLになるよう蒸留水で希釈する。

方法▶ ① 口を閉じ、ほおの内側を上下の歯で軽くはさんでこすり、口腔上皮細胞をはがす。
② ミネラルウォーターを口に含んで口の中をゆすぎ、その水をいったん紙コップに移した後に、試験管にすべて入れる。
③ ②に細胞溶解液を2mL入れ、試験管をゆっくり振って混ぜ合わせる。
④ ③にプロテイナーゼKを0.2mL入れ、試験管をゆっくり振って混ぜ合わせる。
⑤ ④の試験管をプロテイナーゼKが最もよくはたらく50℃の恒温水槽に10分間入れ、プロテイナーゼKによるタンパク質の分解反応を進める。
⑥ ⑤の試験管に塩化ナトリウム水溶液を0.1mL入れ、試験管をゆっくり振って混ぜ合わせる。
⑦ ⑥の試験管を斜めに傾けて持ち、駒込ピペットを用いてよく冷やしたエタノール約5mLを試験管の内壁を伝うようにゆっくり加える。
⑧ 試験管を傾ける角度をゆっくりと変化させ、試料とエタノールの境界面を少し波立たせる。また、試験管を少し回転させ、試料がエタノールと接触するようにする。

すべての生物は DNA をもっている。実際に、生物から DNA を抽出してみよう。

準備 ブロッコリー、15%食塩水、中性洗剤、エタノール、乳鉢、乳棒、茶こし(またはガーゼ)、ビーカー、ガラス棒

方法 ① 15%食塩水 25mL に中性洗剤を 1 滴加え、DNA 抽出液とする。

② ブロッコリーの花芽部分を約 15g 切り取り、乳鉢に入れ、乳棒ですりつぶす。

③ ②に①を入れて、乳棒で静かに約 3 分間混ぜる。

④ 茶こし(またはガーゼ)を用いて③をろ過し、ろ液をビーカーにとる。

⑤ ろ液に、ろ液と同量のあらかじめ冷やしておいたエタノールを、ガラス棒を用いて静かに注ぐ。

⑥ ろ液とエタノールの境界面に析出した繊維状の物質(DNA)をガラス棒などで巻き取る。

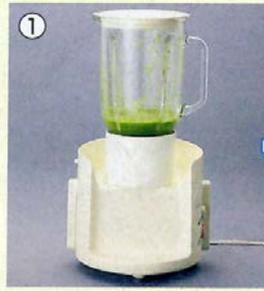


図 I ブロッコリーの花芽をすりつぶす

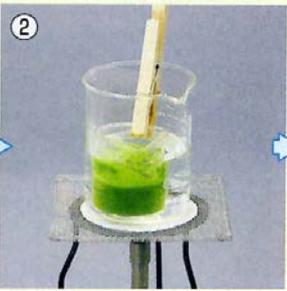


図 II 抽出された DNA

ミニラボ DNA の抽出実験



① 凍らせたブロッコリーの芽に水と中性洗剤 1 滴を加え、5 分間ミキサーで粉碎する。



② 等量の食塩水*1を混ぜ、100℃で 5 分間湯煎する。湯煎後ガーゼでろ過する。

●熱を加えるもの (3/7社)

100℃で5分湯せんする (実教, 浜島書店生物図表)

50℃で10分(プロテイナーゼ K をはたらかせる) 啓林館

●熱を加えないもの (4/7)

第一, 東書, 数研, 実験書 2009 (本県制作)

2. ペーパークラフトによる, 生物模型の制作

模型を制作することで、見えない大きさのものの認識を確かなものにししたり、数種類を制作し比較することによって、違いを議論したり、理解することができると考えられる材料を見つけたので報告する。

・頭骨の比較による, ヒトの脳の進化を理解する。

ヒト, ゴリラ, チンパンジー, オランウータンの頭骨模型 【BRH (JT 生命誌研究館)】

・バクテリオファージ模型

(SOIL-SHOP 生物教材製作所 <http://www.k4.dion.ne.jp/~soilshop>)

・DNA 二重らせん模型 (いろいろなところから出てます)

実際に制作して, 検討してみたい。

3. 実験指導委員会の活動計画とホームページの利用について

高教研生物部会のホームページが、今年度より使用できることになり、各専門委員会のページを充実させていく方向で活動を積極化させていきたい。

【 生物部会の HP アドレス： <http://www.biology.koukyouken.ibk.ed.jp/> 】

現在の活動状況等を考え合わせて次のことを提案したい。

- ① 各回の専門委員会資料を掲載する。
- ② 出席者の確認方法を確立する（実験指導メーリングリスト を作る）
- ③ 全国大会で作成した生物実験書をさらに充実していく方向で活動を行う。
（バージョンアップ ， 新実験の掲載 新課程への対応 等）