

## 18 DNA抽出

**目的** DNAを動植物の組織から抽出することで、遺伝子の本体であるDNAを実際に眼にする事を目的とする。

### 準備

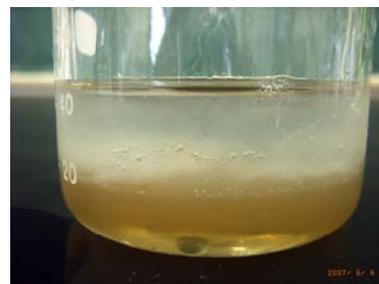
**材料** バナナ（ブロッコリー、タマネギ、レバー 等もOK）

**器具** スプーン、ろ紙、シャーレ（ろ紙が入る大きさがよい）、ビーカー（100mL×3）、ガーゼ又はロート

**薬品** 10%食塩水、食器洗い用洗剤（濃縮タイプが良い）、95%エタノール（冷蔵庫等で冷やした方がよい）、

### 方法

1. 各班に 100mL ビーカーにバナナ約 1 / 4 とコンタクトレンズ洗浄保存液を 2,3 滴入れて、スプーン等を使っていねいに潰します。
2. そのビーカーに、食塩水を約 30mL を入れて混ぜます（トロトロにならない場合は食塩水を足します）。
3. 作ったバナナ液を、ろ紙でろ過します（ガーゼを二重又は四重にして絞っても良い）。
4. ろ液に食器用洗剤を 3mL ほど入れて、ゆっくりと 1,2 回かき回します。
5. 冷やしておいたエタノール約 30mL をガラス棒などを使って、ろ液の中に注ぎます。ろ液の層とエタノールの層ができるように、なるべく静かに注ぎます。
6. ガラス棒で、エタノールとろ液の層の所をゆっくりとかき回します。
7. 境界層面に、白いもやもやが現れてくるはずですが、それが、DNA です。
8. DNA をガラス棒で絡め取って、ろ紙の上に取り出します。大変折れやすいものなので、丁寧に処理すること。
9. DNA であることを確認するため、取り出した白い物体とろ紙の両方に酢酸オルセイン染色液をかけてみます。ろ紙をシャーレに入れてから染色液をかけてください。手に持つて行うのは避けてください。
10. 数分後、シャーレに水を入れ、染色液をかけたろ紙を静かに水で洗います。
11. 2,3 回洗ったら、机の上に置き、洗う前の染色具合と比べましょう。



### 結果と考察

(1) 観察結果 取り出した白い物体の様子

・液体中に析出したときの様子

・ろ紙の上に取り出した様子

においは？・・・

・水で洗った後の様子（白い物質の色の変化とろ紙の色の違い）  
ろ紙の色は・・・

白い物体の色は・・・

### 2. 考察

(1) この実験で取り出した白い物体は、DNA であるといえるか。その理由はなにか。

ヒント・・・ろ紙はセルロースが主成分。セルロースは酢酸オルセイン染色液では染色しづらい

(2) 白い物体がDNA であることを確かめるための方法として、他にどのような方法があるだろうか。

### 実験の反省と感想

クラス \_\_\_\_\_ 番号 \_\_\_\_\_ 氏名 \_\_\_\_\_

## ◆◇◆ DNA抽出について ◆◇◆

### 1 実験について

DNAに関する内容は生物Ⅰの遺伝の後に記述があるが、詳しくは、主に生物Ⅱで履修する内容である。しかし近年、遺伝子やDNAは一般教養の内容であり、生物Ⅰで実験を行う意義は大きいと思われる。

### 2 実験の準備

#### (1) 材料について

今回はバナナを材料にしたが、調査した結果では、一番使用されているのはブロッコリーである。どちらも、同程度の金額で購入できる物である。ブロッコリーは、芽の部分を切り取らなければならないが、バナナは皮をむくだけなので、準備が幾分簡単である。

ろ液の色は、ブロッコリーは緑色、バナナは薄茶色になる。レバーの液も、レバーの色そのままだが、臭いがきつい。また、後始末も大変であり、あまりおすすめしない（使用している実験は多い）。

#### (2) コンタクトレンズ洗浄保存液について

この洗浄保存液は、タンパク質分解酵素を含む物を使用する。DNA分解酵素が細胞内に含まれているので、タンパク質分解酵素を入れた方が収率は上昇するはずである。この酵素を手軽に入手するのに、今回はこれを使用して見た。理科の薬品として入手するのでもできるが、今回使用する量と購入できる最小量との開きが大きく、値段的に見てもこの方が安い。ただ、分解酵素をどの位含むのかは表示がないので、使用量と効果は実験して確かめる必要がある。

他に酵素の働きを抑える方法としては、カルシウムイオンと取り除くため、クエン酸ナトリウムを混ぜる。食塩水を入れた後、80℃以上に沸騰させる（DNAは80℃では分解しないため）などがある。

タンパク質分解酵素を入れない実験も見られる。その方がより手軽だが、手早く実験をしないとDNAの収量が落ちるようだ。

#### (3) キットについて

中村理科やケニスからもDNA抽出のキットが発売されている。約2万円と高価であるが、確実に成功するし、中村が販売しているものは、抽出したDNAをペンダントにする金具までついているので、イベントなどには有効かもしれない。

### 3 実験の手順および説明

手順は平易なもので特に記すことはないが、いくつか注意点を箇条書きにしてみた。

- ・細胞を遊離させる（押しつぶし、食塩水）→膜を破壊しDNAを取り出す（界面活性剤）→ろ過→エタノール投入（DNA析出）
- ・DNAは濃い食塩水に溶けるので、食塩水を入れる量と材料の量の関係は考えて行う方がよい。
- ・界面活性剤を多く含む濃縮系の台所用洗剤を使用して、細胞膜系を破壊する。
- ・DNAaseのはたらきを阻害するため、コンタクトレンズ洗浄保存液を入れる。
- ・エタノールを静かに入れないと、DNA以外の成分が、下層の水から上がってきて、DNAに付着し、DNAが汚れてしまう。
- ・DNAがエタノールに溶ける量を減らすため、エタノールを冷やす（冷やさなくてもDNAは析出した）。
- ・液を入れる順番は、厳密ではなく、一緒に入れても良いものも多い。

- ・使用する液の量や濃度は材料の量と相談して適宜増減して問題ない。
- ・DNAを取り出すときは、シャーレにろ紙を入れ、その上に取り出すのがよいだろう。染色後はそのシャーレごと水洗できる。
- ・酢酸オルセインは、セルロースに対して染色が弱いので色が落ちる。DNAの方は、タンパク質がDNAのまわりに多いので、こちらも色が落ちるが、色落ちの差は出る場合が多い。まわりのタンパク質が多すぎてDNAまで染色液がかかっている場合も考えられるので、染色液の色の付き方を事前に調べておくと良い。

### 4 実験の結果および考察

取り出したものがDNAと反応であることを確認する方法は、意外と無い。

DNAと反応するシッフ試薬を作成して使用方法があるが、作成は比較的面倒。また、比較対象として適当なものを準備する必要がある。反応したので、DNAという言い方もできるが。

染色液で染色して発色の様子を比較するのが、生徒も細胞分裂などで経験があるので、最もわかりやすいのではないかと考えている。



バナナをつぶしたもの



ガーゼで漉す



下が水、上がアルコール



DNAが析出した様子

#### 参考資料

高等学校 生物Ⅰ 教授資料 2007 第一学習社.  
ニューステージ新訂生物図表 2008 浜島書店.  
スクエア最新図説生物 2008 第一学習社.  
フォトサイエンス生物図録 2007 数研出版.  
増補三訂版サイエンスビュー生物総合資料 2007 実教出版.  
NEW PHOTOGRAPHIC 生物図説 2007 秀文堂.  
見つめる生物フェアブル EYE 2007 とうほう