



DNAを抽出する実験

目的

- 動物の細胞からDNAを抽出し、DNAの性状を実際に見る。
- DNAを抽出する操作から、タンパク質の変性、DNAのアルコール沈殿を知る。

実験の原理

細胞内にはDNA以外のさまざまな物質が含まれている。その中からDNAだけをとりだすのがこの実験である。

主な不純物として、RNA（リボ核酸）、タンパク質が存在する。これらの不純物とDNAの性質の違いを利用してDNAだけを取り出す。

- 1) DNAは1～2 mol/lの食塩水によく溶けるが低温のエタノールにはほとんど溶けない。
- 2) RNAは1～2 mol/lの食塩水にはほとんど溶けない。
- 3) 水に溶けているタンパク質は高温で固まり（変性）水に溶けなくなる。

水に溶けなくなったもの（沈殿）はろ過すれば取り除くことができる。

器具

ミキサー / 全体で
ビーカー 100 × 4、300 × 1 / 試験管ばさみ / TPXビーカー 500 × 1 / ガラス棒 × 2 / ピンセット / ガーゼ / ロート台 / ロート / ろ紙 / 各班で

材料、薬品

鳥のレバー 150g / 界面活性剤（SDSが1%程度になるように薄めた台所用洗剤）200ml / 全体で

3mol/l 塩化ナトリウム 30ml（プラスチックチューブ）
1.5mol/l 塩化ナトリウム 20ml（プラスチックチューブ）
冷エタノール 50ml・30ml 各1（プラスチックチューブ・必用なときにそのつど配る）
/ 各班で

方法

- 1) 300mlのビーカーにお湯をふっとうさせておく（250ml）。TPXビーカーにクラッシュアイスを準備する。
- 2) 凍っている鳥レバー 150gと界面活性剤 200ml、氷 50gをミキサーに入れ2分間連続運転する。レバーの粉碎液はガーゼでろ過し、100mlのビーカーに約30mlずつ入れる。（ここまでは先生が教卓で行う）

界面活性剤は細胞膜などの膜を破壊する働きがある。DNase（DNAを分解する酵素で細胞内にたくさん存在する）によりDNAがこわれるのを防ぐため低温下で行い、5分以内に4)の湯せんまで持って行く。

- 3) 2)のレバー粉碎液30mlをのいったビーカーを教卓から持って行き、3molの食塩水をほぼ同量（30ml）静かに加え、ゆっくりとガラス棒でかき混ぜる。食塩水を加えると粘性が大きくなる。（DNAが切れないようにこれ以後の操作はていねいに行う）

DNAは1～2mol/lの食塩水によく溶ける。DNAは細胞の核内でヒストンと呼ばれるタンパク質としっかり結合している。食塩はDNAとタンパク質の結合を切る働きがある。この濃度の食塩水にはRNAはほとんど溶けない。

- 4) 100mlのビーカーを300mlビーカーの熱湯に浸し、試験管ばさみで100mlビーカーのはじをはさみ、（やけどに注意し、軍手の上から使い捨ての手袋をして操作する。このときアルコールランプは消しておくこと）5分間湯せんする。ゆっくりとガラス棒でかき混ぜる（このときは手袋を外して操作する）。

熱によってタンパク質を変性させ沈殿させる。

- 5) 湯せんが終わったら100mlのビーカーをTPXビーカーのクラッシュアイスで氷冷する。
- 6) さわれるぐらいまで冷えたら、ガーゼを四枚重ねにして別の100mlのビーカーにのせろ過する。沈殿が多いので軽く絞り20ml以上ろ液をとる（手にはDNaseがついているので使い捨ての手袋をした方がよい）

7) ろ液を氷冷した後、冷エタノール 50ml をゆっくりと加える。ガラス棒でゆっくりとかき混ぜるとドロツとした沈殿が生じる。これが不純物を含んだ DNA (粗 DNA) である。

DNA は低温のエタノールにはほとんど溶けないので DNA の沈殿が生じる。この操作をアルコール沈殿と呼ぶ。

8) DNA の沈殿をピンセットとガラス棒で別の 100 ml のビーカーに移す。この DNA にはまだ多くの不純物が含まれているので粗 DNA と呼ぶ。このときエタノールが出来るだけ入らないようにする。

9) 食塩水約 20ml を加えガラス棒でゆっくりとかき混ぜ粗 DNA を溶かす。

10) 5 分間ゆっくりとかき混ぜながら湯せんする。

11) 出来るだけ熱いうちにろ紙を使ってろ過をする。ろ液を受けるビーカーは、クラッシュアイスを入れた TPX ビーカーの中に入れ氷冷しながらろ過する。全部をろ過するには時間がかかるので 2/3 ぐらいろ過すればよい。

12) 冷エタノールを 50ml 静かに加えゆっくりとかき混ぜる。生じる白っぽい沈殿をていねいに巻き取る。これが DNA である。

