

生物教育教材としてのDNAの抽出

加 藤 良 一¹⁾ 平 方 慶 太²⁾
長 田 隼 人²⁾ 鈴 木 隆³⁾

最も簡便なDNAの抽出法を提唱し、その方法を用いて、野菜、キノコ、果物、肉類、魚類の食品材料から、実際にそれぞれDNAを抽出してみた。結果は、ホウレン草、大葉、長ネギ、生シイタケ、ブナシメジ、豚の挽肉、サンマを材料とすれば、それぞれDNAが多量に抽出でき、これらを生物教育の教材として提示した。

キーワード：食品材料，生物教育，DNAの抽出

1. 緒 言

我々の身近な生活の中で、遺伝子組換えの植物や食品、遺伝子診断、遺伝子治療、DNA鑑定による犯罪捜査や親子の認定など、遺伝子やDNAに関わる情報や事柄が多く知られるようになってきた。これらの動向から、小学生や中学生をその対象として、生物材料からDNAを抽出しそれを視覚的に確認させる生物実験は、今までいくつか報告されている¹⁾²⁾³⁾。

本研究では、最も簡便なDNAの抽出法を提案し、その方法を用いて、スーパーマーケットなどで容易に入手可能な食品の材料から、実際にDNAを抽出してみた。それによって、何を材料とすれば効果的にDNAの抽出ができ、それを小学生や中学生に提示できるのかを明らかにした。そして、これらを生物教育の一教材として提示する。

2. 実験の方法

(1) 材 料

① 野 菜

ブロッコリー（つぼみの部分）、ホウレン草（中央部の小さい葉の部分）、カイワレ大根（茎の部分）、タマネギ、大葉、ニンジン、ジャガイモ、キュウリ、クレソン（葉の部分）、長ネギ（白い部分）、春菊（葉脈を除いた葉の部分）をそれぞれ実験材料とした。

② キノコ（担子菌類の子実体）

生シイタケ、ブナシメジ、エリンギ、エノキタケの傘の部分それぞれ実験材料とした。

③ 果 物

イチゴ、バナナ、リンゴの食する部分をそれぞれ実験材料とした。

④ 肉 類

豚の挽肉、鶏のレバーをそれぞれ実験材料とした。

⑤ 魚 類

イカ（わた＝肝臓の部分）、メバチマグロ（身＝筋肉の部分）、サンマ（身＝筋肉の部分）、ニジマス（身＝筋肉の部分）をそれぞれ実験材料とした。

(2) DNAの抽出

① 抽出の手順

1%台所洗剤（ライオン㈱、チャミーグリーン）及び3MNaClを含む粉碎液を調整し、冷蔵庫に入れて保存し、それを予め約4℃に冷却しておく。また、100%エチルアルコールも、冷蔵庫に入れておいて、予め約4℃に冷却しておく。さらに、乳鉢と乳棒又は台所用下ろし金を氷上に置いておき、それらも予め冷やしておく。上記(1)の材料をそれぞれ8g（材料によってはその限りではない）その冷えた乳鉢に入れ、石英砂2g（材料によっては加えない）も加えて、その乳棒で完全に磨り潰す（図1）。又は、上記(1)の材料をそれぞれ8g、その冷えた台所用下ろし金で磨り下ろす（図2）。その後、それらに冷却した粉碎液を10ml（材料によってはその限りではない）加えてかき混ぜる。そして、それらは氷上に10分間置いて、調整され

1) 地域教育文化学部生活総合学科

2) 教育学研究科理科教育専修

3) 地域教育文化学部地域教育学科

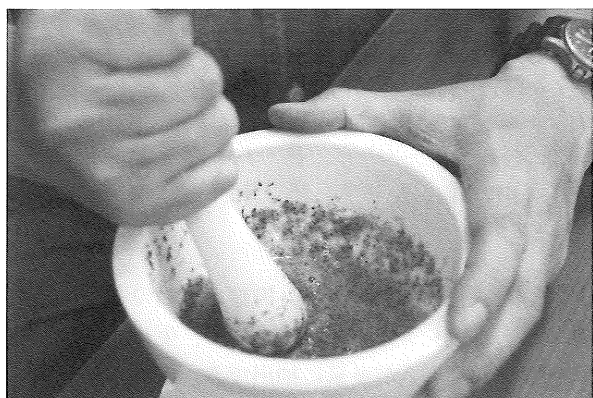


図1 ホウレン草を乳鉢と乳棒で磨り潰している様子

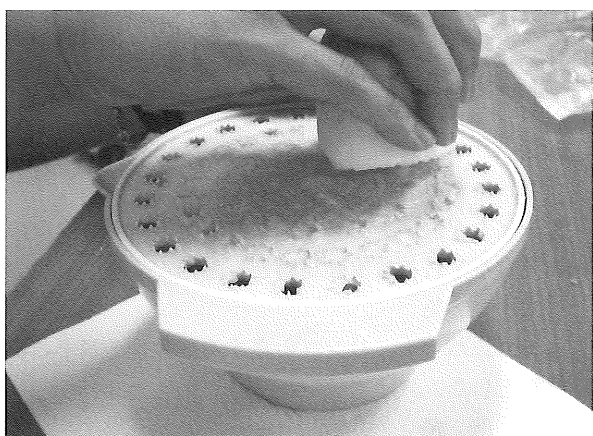


図2 ジャガイモを下ろし金で磨り下ろしている様子

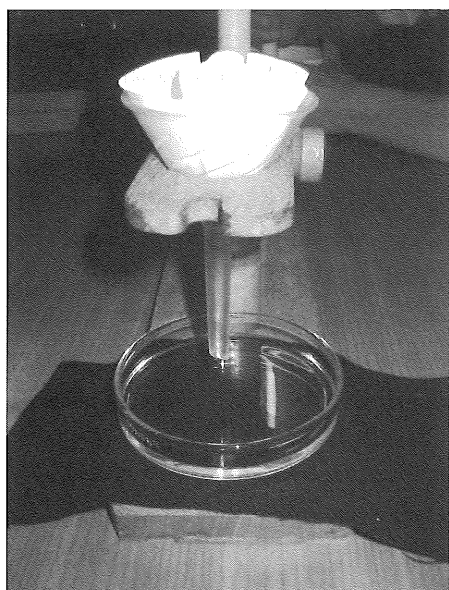


図3 抽出器具の様子

ロートの中に濾紙又は2重のガーゼを置いてそれらをセットし、濾液が落ちる箇所にシャーレを置く。そのシャーレには、冷却した100%エチルアルコールを入れる。

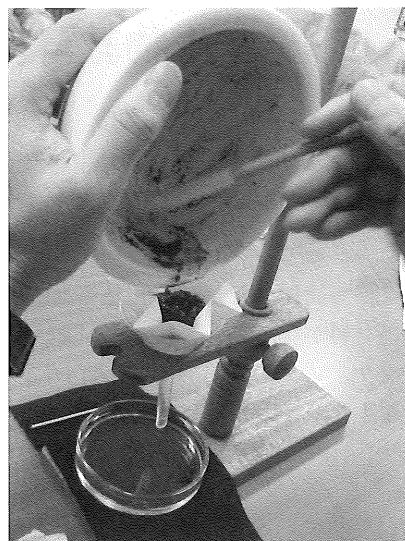


図4 懸濁液を濾紙で濾過している様子
この材料はホウレン草である



図5 DNAが白く濁り沈殿している様子
この材料はブナシメジである



図6 抽出したDNAを楊枝で摘み上げている様子
この材料は大葉である

た懸濁液は冷却される。次に、図3のように、ロートの中に濾紙又は2重のガーゼを置いてそれらをセットし、濾液が落ちる箇所にはシャーレを置く。そのシャーレには、冷却した100%エチルアルコールを入れる。そして、その冷却した懸濁液を、その濾紙又は2重のガーゼで濾過する(図4)。濾液が落下して、それが100%エチルアルコールに入った箇所できく濁り沈殿すれば(図5)、それがDNAであり、それを楊枝で摘み上げ確認することができる(図6)。

② 抽出の原理

1%台所洗剤(界面活性剤)によって、材料に含まれていた脂質は乳化し不溶化となる⁴⁾。また、1%台所洗剤は材料の脂質で構成されている細胞膜を破壊し、細胞内からDNAを溶出させる⁴⁾。3MNaClは、材料に含まれるタンパク質を凝固し沈殿させる⁴⁾。結果的に、材料に含まれていた脂質とタンパク質は濾紙又はガーゼでトラップされ、濾液に含まれるDNAはエチルアルコールに溶けないのでそこで溶出する⁴⁾。また、正確に記載すれば、このDNA画分にはRNAも含まれていることになる⁴⁾。

③ 抽出法の工夫

生物材料からDNAを抽出してそれを視覚的に確認させる今までの実験例¹⁾²⁾³⁾や、遺伝子操作などのその専門的な実験のためにDNAを正確に抽出する方法⁴⁾等を参考にしながら、本研究では、上記①の抽出手順を考えてここに提唱した。具体的には、小学生や中学生が実際に抽出操作を行うので、その手順を出来るだけ簡略化した。また、結果的に抽出したDNAを目視して確認させることが目的なので、その抽出器具の規模は最小限となるようにした(図3)。

3. 結果および考察

(1) 野菜

ホウレン草、大葉又は長ネギを材料にすると、DNAがそれぞれ多く抽出でき、楊枝で摘み上げることもできた(表1)。ただし、ホウレン草の場合では、その葉緑素の緑色の中にDNA画分が白く見えた。ブロッコリーを材料にすると、ホウレン草、大葉又は長ネギの場合と比較して、少量ではあったが、DNAが抽出できた(表1)。これら以外の材料では、濾液が落下するエチルアルコールの箇所できく濁るか、その

表1 野菜、キノコ、果物、肉類、魚類の材料から、DNAを抽出する方法とその結果

| 材料 | 使用部位 | 使用量 | 粉碎器具 | 石英砂2g | 粉碎液量 | 濾過器具 | DNA抽出の結果 | DNA抽出量 |
|-------------|--------|-----|-------|-------|------|------|----------------------|--------|
| ①野菜 | | | | | | | | |
| ブロッコリー | つぼみ | 17g | 乳鉢/乳棒 | なし | 20ml | 濾紙 | 緑色の沈殿が見られた | ○ |
| ホウレン草 | 小さい葉 | 8g | 乳鉢/乳棒 | なし | 10ml | 濾紙 | 緑色の中に白い沈殿がはっきり見えた | ◎ |
| カイワレ大根 | 茎 | 8g | 乳鉢/乳棒 | なし | 10ml | 濾紙 | 白い沈殿が見られない | × |
| タマネギ | | 8g | 下ろし金 | なし | 10ml | 濾紙 | 白い沈殿が見られない | × |
| 大葉 | | 8g | 乳鉢/乳棒 | なし | 10ml | 濾紙 | 緑色にならずに白い沈殿がはっきり見えた | ◎ |
| ニンジン | | 8g | 下ろし金 | なし | 10ml | 濾紙 | カロチンの色は付くが白い沈殿は見られない | × |
| ジャガイモ | | 8g | 下ろし金 | なし | 10ml | 濾紙 | 白くはなるが沈殿は得られない | × |
| キュウリ | | 8g | 下ろし金 | なし | 10ml | 濾紙 | 緑色になるが沈殿は得られない | × |
| クレソン | 葉 | 8g | 乳鉢/乳棒 | 加える | 10ml | 濾紙 | 緑色になるが沈殿は得られない | × |
| 長ネギ | 白い部分 | 8g | 乳鉢/乳棒 | なし | 10ml | 濾紙 | 白よりも透明に近い沈殿が多く得られた | ◎ |
| 春菊 | 葉 | 8g | 乳鉢/乳棒 | なし | 10ml | 濾紙 | 透明に近い沈殿がわずかに見られた | × |
| ②キノコ | | | | | | | | |
| 生シイタケ | 傘 | 8g | 乳鉢/乳棒 | 加える | 10ml | 濾紙 | 白い沈殿がはっきり見えた | ◎ |
| ブナシメジ | 傘 | 8g | 乳鉢/乳棒 | 加える | 15ml | 濾紙 | 白い沈殿がはっきり見えた | ◎ |
| エリンギ | 傘 | 8g | 乳鉢/乳棒 | 加える | 15ml | 濾紙 | 白い沈殿が見えた | ○ |
| エノキタケ | 傘 | 8g | 乳鉢/乳棒 | 加える | 15ml | 濾紙 | 懸濁液が全く濾過できなかった | × |
| ③果物 | | | | | | | | |
| イチゴ | 食する部分 | 8g | 乳鉢/乳棒 | なし | 10ml | 濾紙 | 白よりも透明に近い沈殿が見られた | ○ |
| バナナ | 食する部分 | 8g | 乳鉢/乳棒 | なし | 10ml | 濾紙 | 白よりも透明に近い沈殿が少し得られた | ○ |
| リンゴ | 食する部分 | 8g | 下ろし金 | なし | 10ml | 濾紙 | 白い沈殿が見られない | × |
| ④肉類 | | | | | | | | |
| 豚の挽肉 | | 8g | 乳鉢/乳棒 | なし | 20ml | ガーゼ | 白い沈殿が多く得られた | ◎ |
| 鶏のレバー | | 8g | 乳鉢/乳棒 | 加える | 10ml | ガーゼ | 懸濁液が全く濾過できなかった | × |
| ⑤魚類 | | | | | | | | |
| イカ | わた(肝臓) | 8g | 乳鉢/乳棒 | なし | 20ml | 濾紙 | 懸濁液が全く濾過できなかった | × |
| 目鉢マグロ | 身(筋肉) | 8g | 乳鉢/乳棒 | 加える | 20ml | 濾紙 | 白い沈殿が少し得られた | ○ |
| サンマ | 身(筋肉) | 8g | 乳鉢/乳棒 | 加える | 20ml | 濾紙 | 白い沈殿が多く得られた | ◎ |
| ニジマス | 身(筋肉) | 8g | 乳鉢/乳棒 | 加える | 20ml | ガーゼ | 白い沈殿が少し得られた | ○ |

DNA抽出量: ◎は多く得られた、○は少し得られた、×は得られなかった

箇所が全く変化しないかで、楊枝で摘み上げられるほどDNAは抽出できなかった（表1）。

(2) キノコ

生シイタケ及びブナシメジを材料にすると、DNAがそれぞれ多く抽出でき、楊枝で摘み上げることもできた（表1）。ただし、生シイタケの場合は、その懸濁液の粘性が少し高く濾液が落下しにくかった。エリンギを材料にすると、少量ではあったが、DNAが抽出できた（表1）。エノキタケの場合は、その懸濁液の粘性が高すぎて濾液が全く落下せず、DNAが抽出できなかった（表1）。

キノコの傘のヒダの部位は、担子器が密集しており、そこで生殖細胞である孢子が形成される。すなわち、孢子は遺伝子であるDNAが多量に含まれているので、キノコの傘の部位は、DNA抽出の材料として適していると考えられる。

(3) 果 物

イチゴを材料にすると、少し透明な白い沈殿が得られ、少量ではあったがDNAを楊枝で摘み上げることもできた（表1）。バナナを材料とすると、その懸濁液の粘性が少し高く濾液が落下しにくかったが、透明に近い白い沈殿が見られ、少量のDNAが抽出できた（表1）。リンゴの場合は、濾液が落下するエチルアルコールの箇所が全く変化せずに、DNAは抽出できなかった（表1）。

(4) 肉 類

豚の挽肉を材料にすると、DNAが多く抽出でき、楊枝で摘み上げることもできた（表1）。鶏のレバーの場合は、その懸濁液の粘性が高すぎて、懸濁液が全く濾過できなかった（表1）。

(5) 魚 類

サンマを材料にすると、白い沈殿が多く得られ、DNAを楊枝で摘み上げることもできた（表1）。メバチマグロ及びニジマスを材料にすると、少量ではあったが、それぞれDNAが抽出できた（表1）。イカの場合は、その懸濁液の粘性が高すぎたのか、又はそこに含まれる脂肪の量が多すぎたためか、懸濁液が全く濾過できなかった（表1）。

本実験とほぼ同様にしてDNAを抽出させたこれまでの例¹⁾²⁾³⁾には、キノコを材料とした報告は全くなかった。この点でも、上記(2)のように、これを材料とした本研究は新規性があると思われる。また、野菜の材料からDNAを抽出させたこれまでの例では、ブロッコリー及びタマネギを材料にすると、DNAが多く抽出できたと報告している¹⁾³⁾。しかし、本実験では、それ

らの材料では必ずしも多量にDNAは得られなかった（表1）。この結果の相違は、抽出法の僅かな違いによると思われる。

上記(1)～(5)の結果からDNAを多量に抽出できる食品を選び出して、それらを材料に本実験を小学生や中学生に提示すれば、我々が口にするこれらの食品には全て遺伝子が含まれていること、すなわち、本を正せばこれらの食品は遺伝子を持つ生命体であること、そして、我々人間はこれらの命を食べて（犠牲にして）生きていることなどを、改めて児童や生徒に認識させることができる。

なお、本研究は、山形大学大学院教育学研究科の大学院1年生を対象とした授業科目「生物学実験指導論」の中で、生物教育の教材開発として学生たちと一緒に行ったものである。

4. まとめ

最も簡便なDNAの抽出法を提唱し、その方法を用いて、スーパーマーケットなどで容易に入手可能な野菜、キノコ、果物、肉類、魚類の食品材料から、実際にそれぞれDNAを抽出してみた。結果は、ホウレン草、大葉、長ネギ、生シイタケ、ブナシメジ、豚の挽肉、サンマを材料とすれば、それぞれDNAが多量に抽出できた。よって、これらを材料とした本実験が、小学生や中学生を対象とした生物教育の教材として提示できた。

引用文献

- 1) 森屋 一, 斎藤隆政, 山川 宏, 鈴木恵子, 興座功子, 「生物の科学 遺伝」別冊10号, 147頁～150頁, (1998)
- 2) 「DNA・遺伝子ってなに?」, 42頁～43頁, 夏緑著, 榊童心社, (2005)
- 3) 中村宗一郎, 「生物の科学 遺伝」別冊18号, 149頁～150頁, (2005)
- 4) 「バイオ実験イラストレイテッド ②遺伝子解析の基礎」, 117頁～128頁, 中山広樹・西方敬人著, 榊秀潤社, (1995)