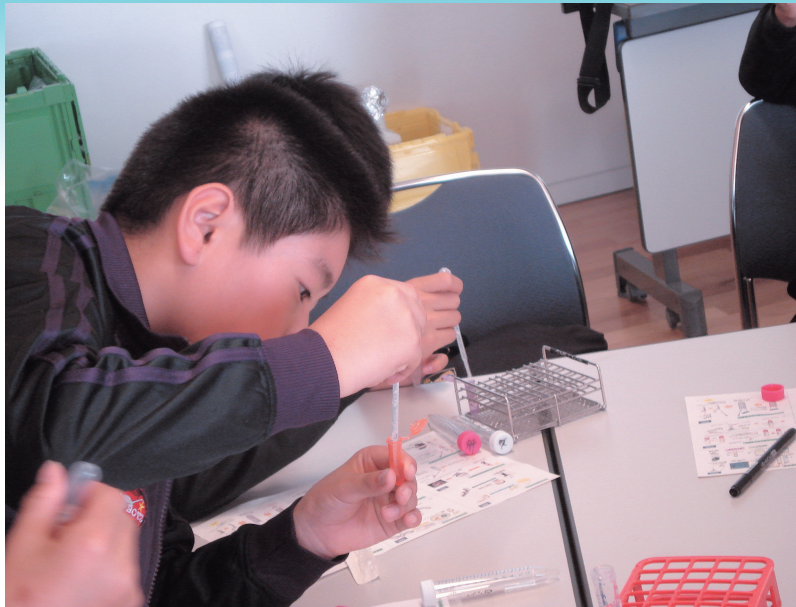


遺伝子を取りだそう —バナナと人の遺伝子—

本教材は宇宙とのつながりを軸として科学を身近に感じてもらうために作った科学教材です。本教材の利用による事故等については一切責任を持ちかねますので、本教材の利用は、経験のある指導者の指導の下に行ってください。



●教材提供●
日本宇宙少年団
呉やまと分団 遠藤貴士氏

2012年4月1日 発行

目標とねらい

地球上の全ての生物は遺伝子を持ち、親から子供へと引き継がれていきます。実験ではバナナおよび人の口の中の細胞から DNA を取り出します。DNA 抽出実験を通じて生命の不思議を体験します。

| | | | |
|--------|---|------|-------|
| 対象学年 | 小学校高学年以上 | 所要時間 | 2～3時間 |
| 指導者の資質 | 化学や分子生物学の知識と経験が3年以上ある方のサポートを受けることが望ましい。 | | |

1 材料や工具の用意

※ 本項ではバナナおよび人から DNA を取り出す実験について解説していますが、内容をバナナのみあるいは人のみからの抽出実験にすることにより、材料コストと時間を短縮できます。バナナの代わりに、ブロッコリーなどの野菜も材料に使うことができます。遺伝子抽出キットを用いなくても、洗剤等を代用で使うこともできます。

●工作に使う材料

| | |
|--|--|
| <p>【部品類】</p> <p><input type="checkbox"/> 遺伝子抽出キット（バイオ・ラッド・ラボラトリーズ（株）、Gene in a Bottle キット / バイオ教育キット、定価 19,000 円 / 36 人分 / 1 種サンプル分、キット内容：セルライ</p> | <p>シスバッファー、プロテアーゼ粉末、プラスチック製スポイト、プラスチックチューブ、マイクロチューブ、ハート型ペンダント容器、瞬間接着剤</p> <p><input type="checkbox"/> バナナ（2本で50人分程度可能）</p> |
|--|--|

□エタノール（濃度 95%以上）、蒸留水

【工具など】

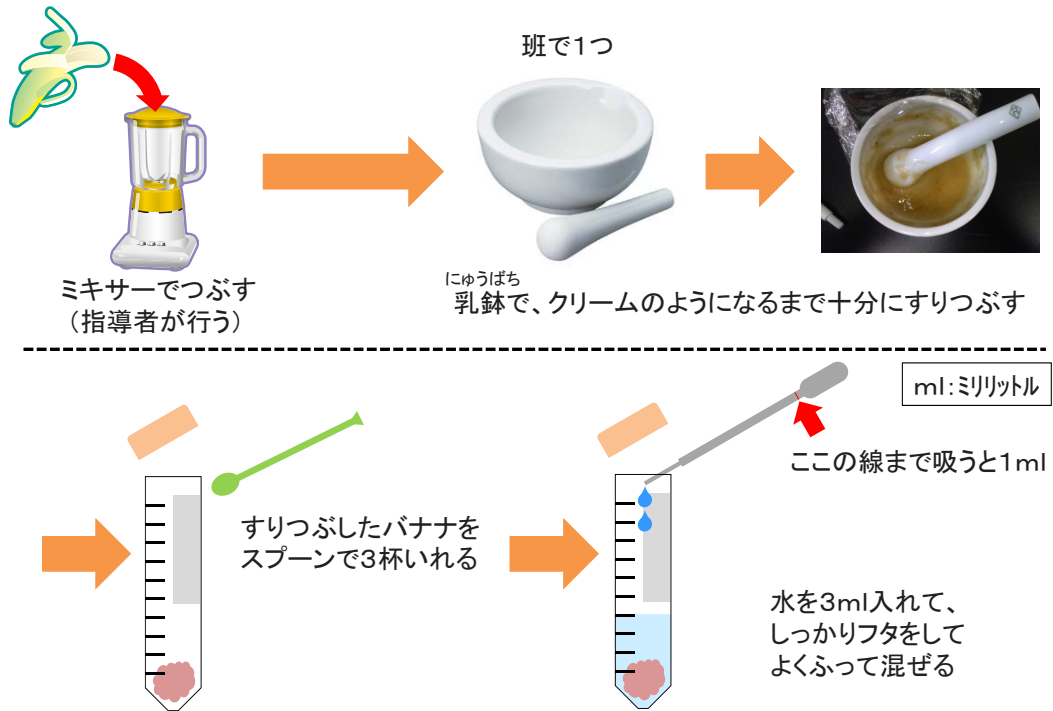
- ミキサー、乳鉢、ガーゼ、ロート、小型スプーン
- 試験管立て、紙コップ、15ml プラスチックチューブ（フタ付き）
- 恒温水槽またはドライバス（プラスチックチューブを 50℃に加温できるもの）

□冷凍庫または氷浴（エタノールを冷却するため）

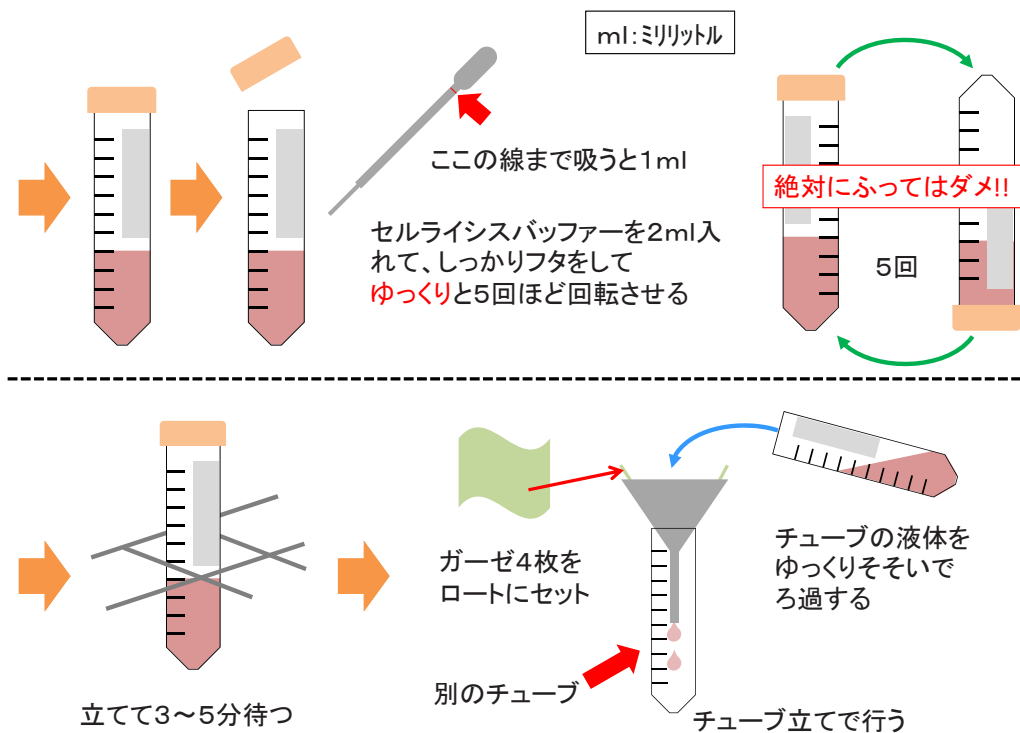
- 試薬等を小分けにするポリボトル等
- タイマー（壁時計等でも可能）
- 雑巾や紙タオル等、ポリ袋等（ゴミ入れ）
- 油性マジック等（他の人と間違えないように容器に自分の名前等を書かせる）

2 バナナからDNAを取り出す

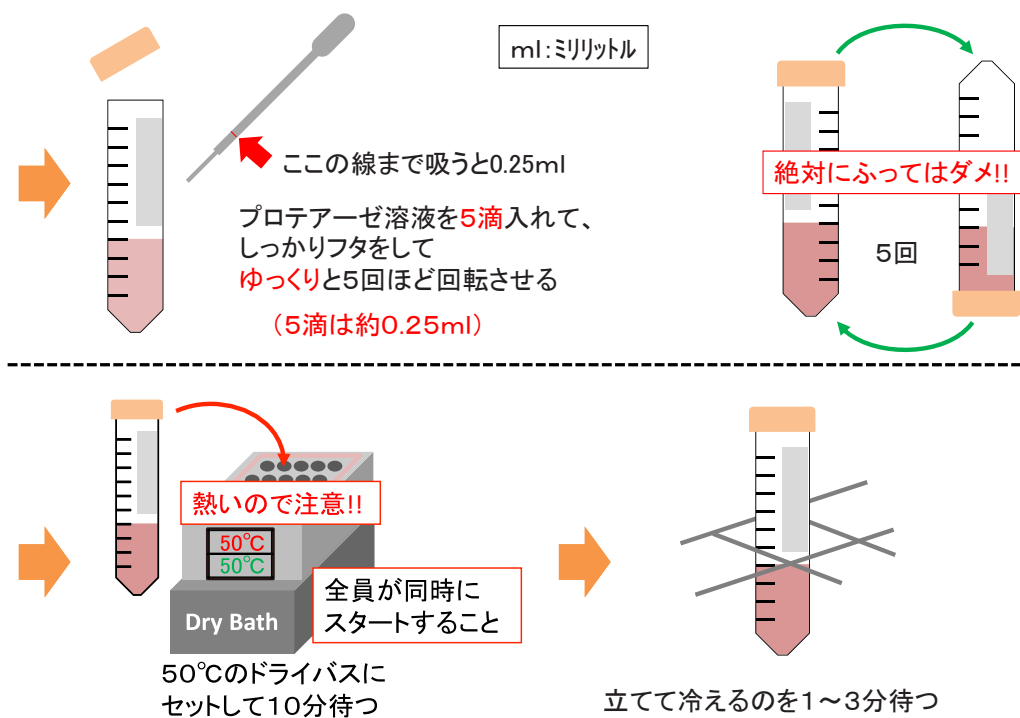
- ①バナナをミキサーでつぶす（10～20秒程度）、次に乳鉢でクリーム状になるまで十分にすりつぶす。多少、大きな固まりがあっても問題ない。
- ②すりつぶしたバナナを小型スプーンでプラスチックチューブに入れる（1ml程度）。次に、キット付属のスポイトで蒸留水を3ml入れ、フタを閉めてよく振って混ぜる。



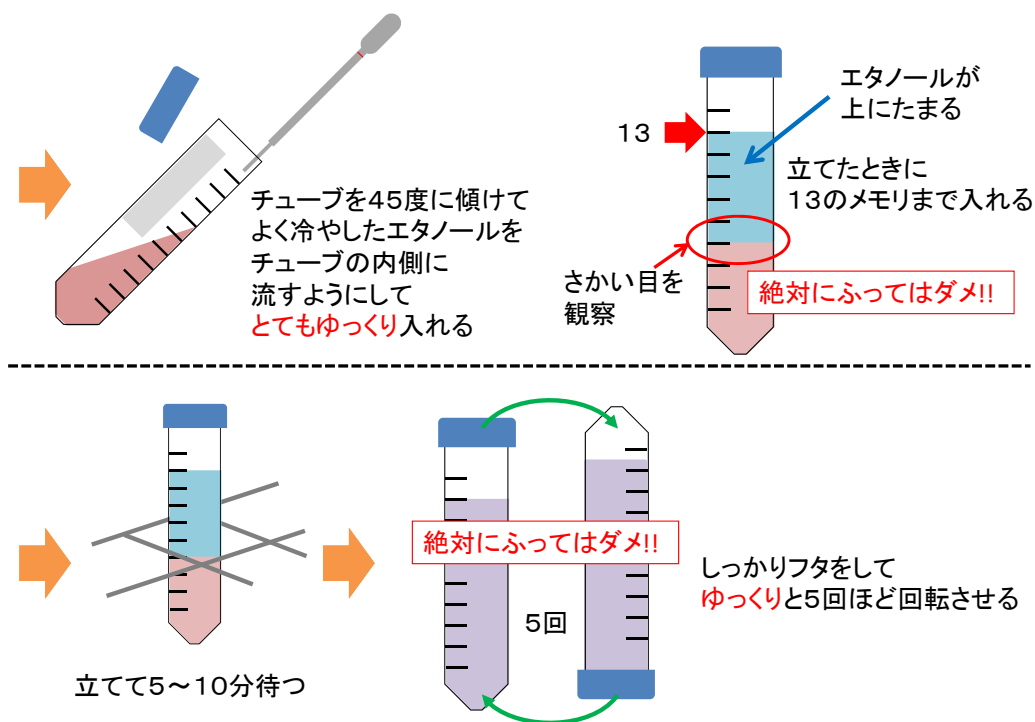
- ③セルライシスバッファを 2ml 入れてフタを閉め、ゆっくりと 5 回程度上下に回転させて混ぜる。絶対に激しく振ってはいけない。
- ④ 試験管立てにプラスチックチューブを立てて、3～5 分間待ち、ロートを使いガーゼでろ過する。



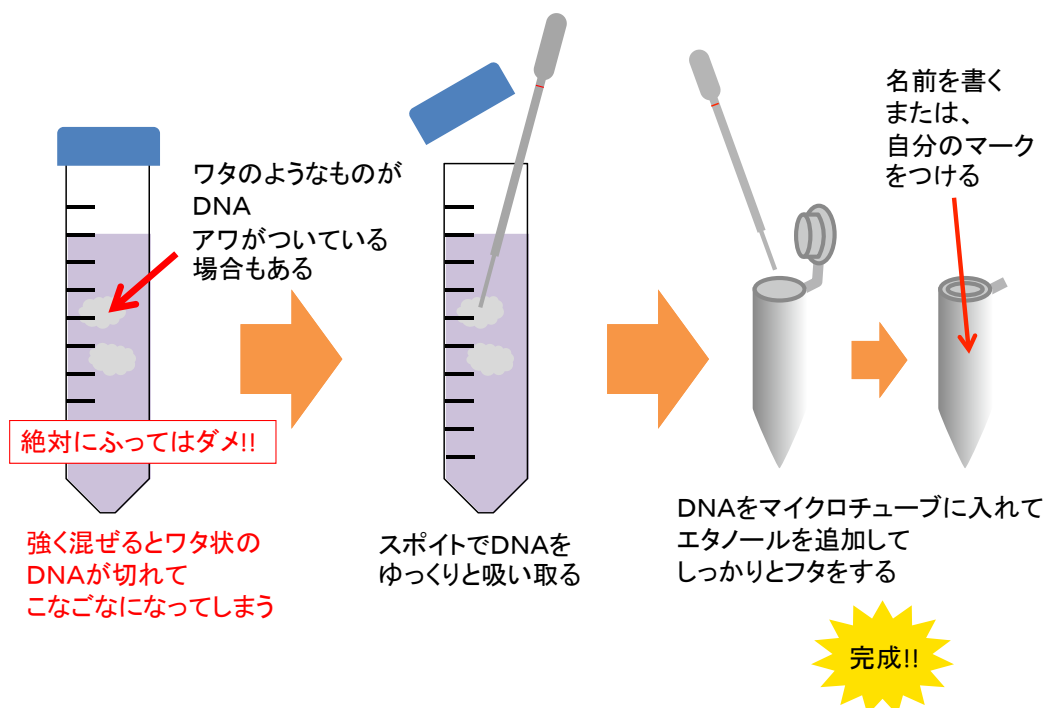
- ⑤プロテアーゼ溶液（キット付属のプロテアーゼ粉末を水に溶かしたもの、溶解後は冷蔵庫あるいは氷浴中で保存）を、キット付属のスピイトで5滴または0.25ml入れ、ゆっくと5回程度上下に回転させて混ぜる。絶対に激しく振ってはいけない。
- ⑥50℃に調節したドライバスまたは恒温水槽にプラスチックチューブをセットし、10分間程度待つ。次に、試験管立てに移動させて冷えるまで1～3分程度待つ。



- ⑦プラスチックチューブを45度程度に傾けて、よく冷やしたエタノールをゆっくりとチューブの内側に流すように13mlの目盛りまで入れる。エタノールと水の境目に白いワタ状のDNAが析出してくる。
- ⑧試験管立てに立てて5～10分程度待つ。その後、ゆっくりと5回程度上下に回転させて、DNAの固まりを大きくする。絶対に激しく振ってはいけない。

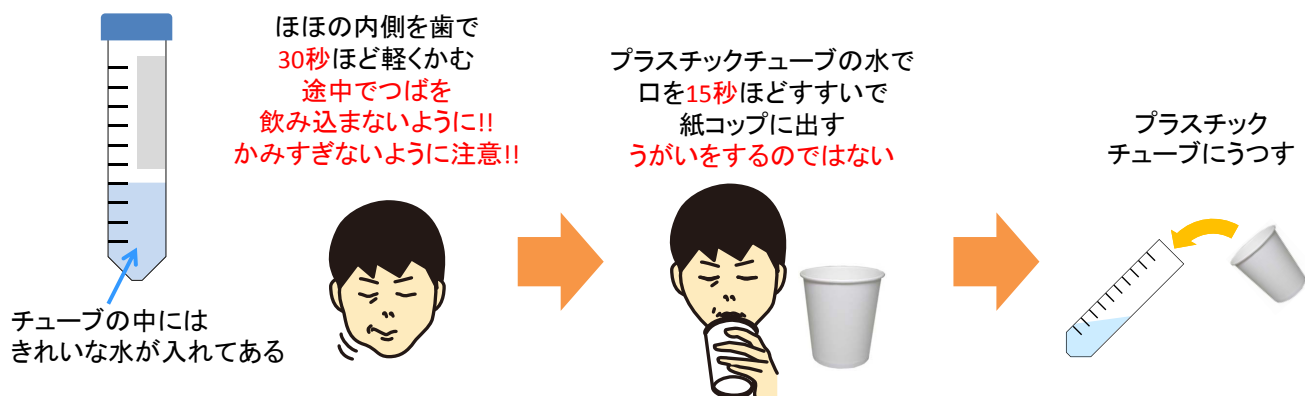


- ⑨ワタ状のDNAをキット付属のスポイトでゆっくりと吸取り、マイクロチューブに移す。できるだけDNAのみをマイクロチューブに移し、エタノールを8分目程度まで追加しておく。エタノール濃度が高い方が、保存性が良い。マイクロチューブには名前あるいは人と区別できる印等を付けさせる。(実験スタート前にさせておく方が良い)

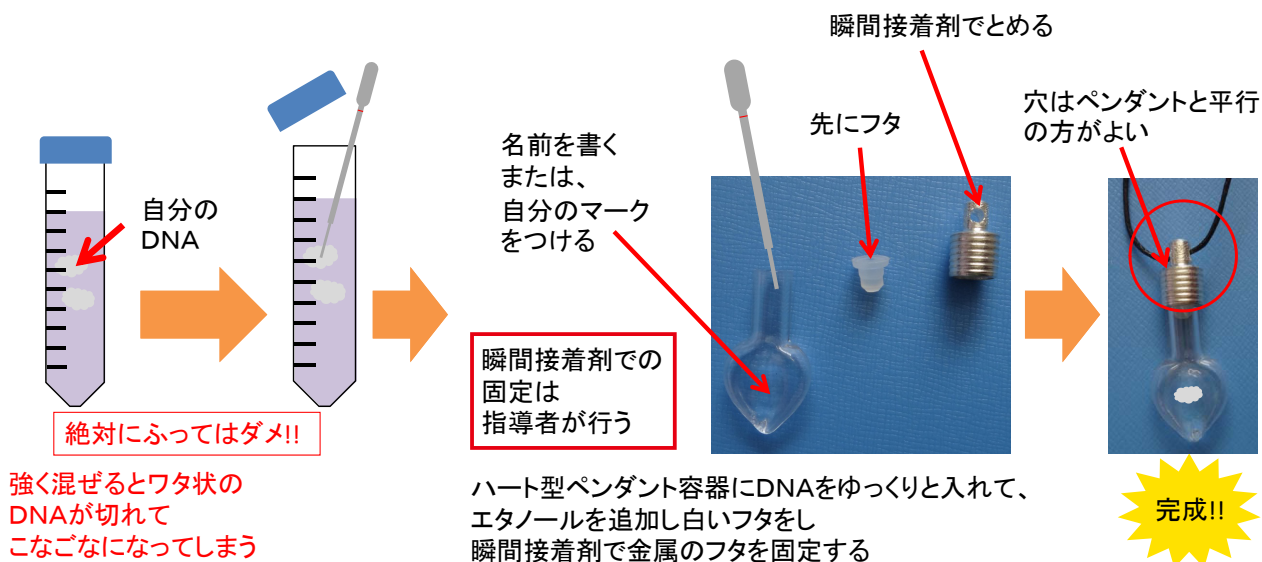


3 人からDNAを取り出す

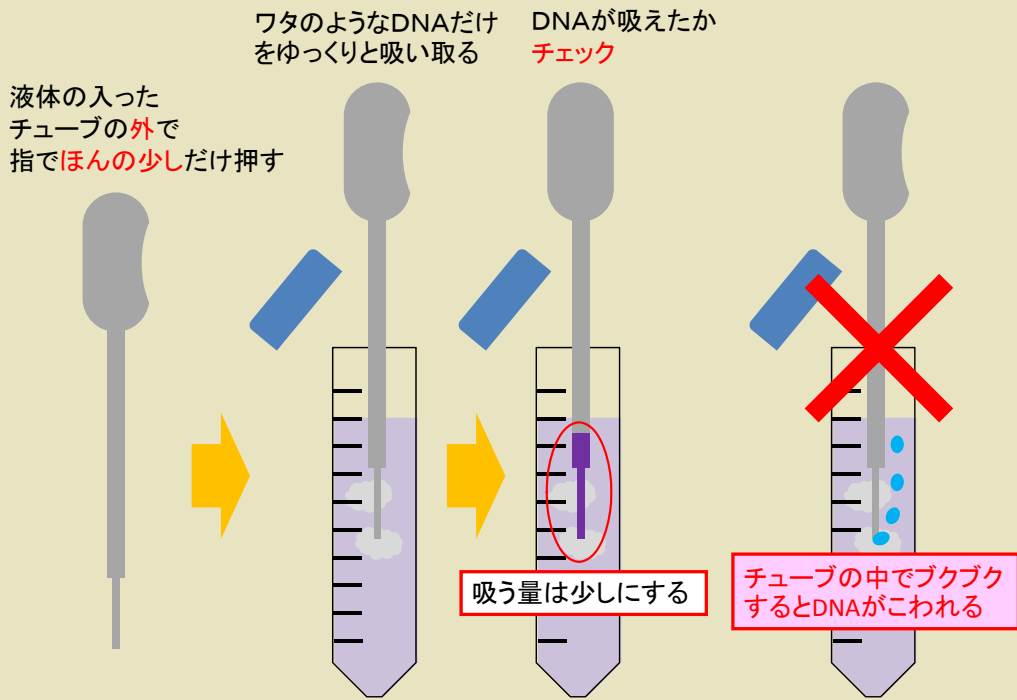
- ① ほぼの内側を 30 秒程度、軽くかむ（途中でつばを飲み込まないように）。次に、蒸留水 3ml を口に含み、15 秒程度すすいで（うがいをするのではない）紙コップに出す。紙コップの端を少しつぶしてプラスチックチューブに移す。



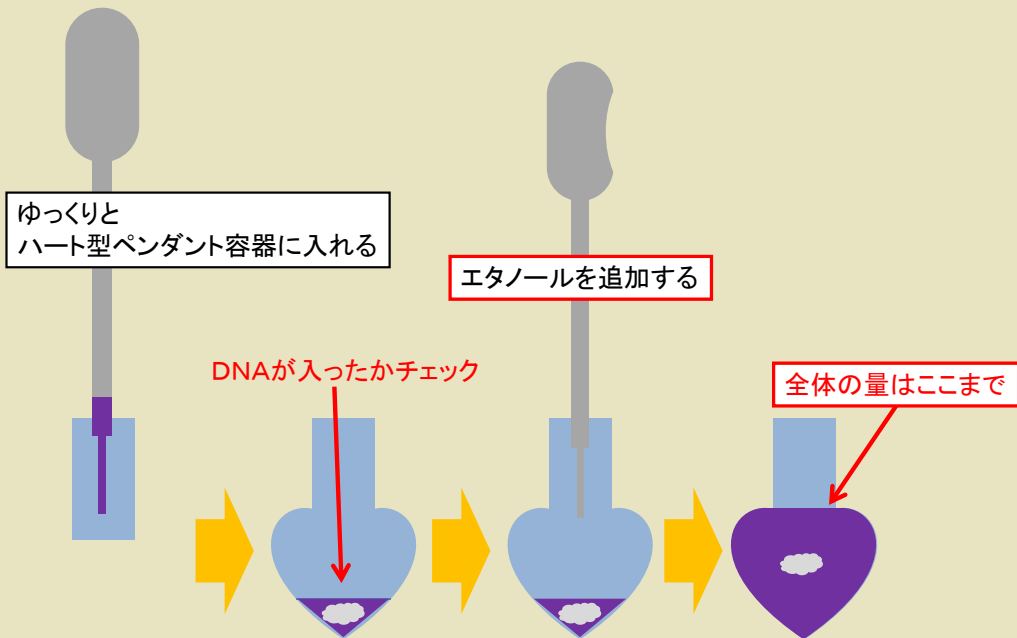
- ② セルライシスバッファーを 2ml 入れてフタを閉め、ゆっくりと 5 回程度上下に回転させて混ぜる。絶対に激しく振ってはいけない（バナナの場合と同様）。
- ③ プロテアーゼ溶液（キット付属のプロテアーゼ粉末を水に溶かしたもの、溶解後は冷蔵庫あるいは氷浴中で保存）を、キット付属のスポイトで 5 滴または 0.25 ml 入れ、ゆっくりと 5 回程度上下に回転させて混ぜる。絶対に激しく振ってはいけない（バナナの場合と同様）。
- ④ 50℃に調節したドライバスまたは恒温水槽にプラスチックチューブをセットし、10 分程度待つ。次に、試験管立てに移動させて冷えるまで 1～3 分程度待つ（バナナの場合と同様）。
- ⑤ プラスチックチューブを 45 度程度に傾けて、よく冷やしたエタノールをゆっくりとチューブの内側に流すように 13ml の目盛りまで入れる。エタノールと水の境目に白いワタ状の DNA が析出してくる（バナナの場合と同様）。
- ⑥ 試験管立てに立てて 5～10 分程度待つ。その後、ゆっくりと 5 回程度上下に回転させて、DNA の固まりを大きくする。絶対に激しく振ってはいけない（バナナの場合と同様）。
- ⑦ ワタ状の DNA をキット付属のスポイトでゆっくりと吸い取り、ハート型ペンダント容器に移す。できるだけ DNA のみをペンダント容器に移し、エタノールをペンダント容器の首のところまで追加しておく。エタノール濃度が高い方が、保存性が良い。ペンダントには名前あるいは人と区別できる印等を付けさせる（実験スタート前にさせておく方がよい）。
- ⑧ DNA を移し終わったら、白いキャップをした後、金属製キャップを瞬間接着剤で固定する。



補足資料 DNAの吸い取り方



DNAのペンダント容器への入れ方



補足資料 実験内容の理解をより深めるために

遺伝子抽出キット「Gene in a Bottle キット」には解説資料の入った CD-ROM が付属しています。指導者用テキスト、学生・生徒用テキスト基本編、学生・生徒用テキスト発展編などが入っており、指導者も DNA や実験内容についてより理解を深めることができます。

身の回りのものを使って抽出も可能

市販の遺伝子抽出キットを用いなくても、身の回りの洗剤等を用いることにより同様の抽出実験が可能です。インターネット等で検索すると色々な方法が紹介されています。しかしながら、消耗品類も遺伝子抽出キットに付属しているような研究現場で実際に利用されている器具（チューブ類は基本的には使い捨ての消耗品です）を使うことで、子供にほんもの体験をさせることができます。

- ・セルライシスバッファー代用品：台所用洗剤の 2% 程度希釈液。
- ・プロテアーゼ処理の代用：90℃程度で 10 分間程度湯せんする操作で代用できます。キットでは塩化ナトリウム（食塩）が添加されているため、湯せん前にプラスチックチューブ 1 本当たり塩化ナトリウム量が 0.2 ～ 0.5g 程度になるように塩化ナトリウム溶液を加えておきます。

市販の抽出キット

遺伝子抽出キット（バイオ・ラッド ラボラトリーズ(株)、Gene in a Bottle キット／バイオ教育キットは、定価 19,000 円と比較的高価ですが、人数や試料種が多い場合はキット内容物を別のメーカー等から個別に購入することにより安価にできます。

参考例

- 15ml プラスチックチューブ：アズワン(株)、遠心管（キャップは青のみ）（品番 2-8006-01）、17,100 円／ 500 本
- 15ml プラスチックチューブ：アズワン(株)、遠心管（キャップは 5 色）（品番 2-8006-04）、22,700 円／ 500 本
- マイクロチューブ：アズワン(株)、マイクロチューブ（2ml、透明）（品番 2-8087-01）、1,900 円／ 500 本
- マイクロチューブ：アズワン(株)、マイクロチューブ（1.5ml、透明）（品番 1-7521-01）、980 円／ 500 本
- マイクロチューブ：アズワン(株)、マイクロチューブスタンダード（1.5ml、6 色）（品番 1-4506-01 ～ 06）、2,850 ～ 3,690 円／ 1,000 本 ※ 色はミックスではありません、色により品番と価格が異なります。
- プラスチック製スポイト：アズワン(株)、ピペット（1ml）（品番 1-4654-03）、10,600 円／ 1,000 本
- ハート型ペンダント容器：バイオ・ラッド・ラボラトリーズ(株)、Gene in a Bottle キットネックレスモジュール、5,000 円／ 18 個 ※ ハート型ペンダント容器は見栄えはしませんがマイクロチューブ等でも代用は可能です。
- セルライシスバッファー：Gene in a Bottle キットではトリス塩酸バッファー（50mM、pH8.0）ドデシル硫酸ナトリウムが 1% 入っています。

自分で調合する場合

- ・ 和光純薬工業(株)、1M Tris-HCl (pH8.0)（コード：312-90061）、5,000 円／ 100ml、蒸留水で 20 倍に希釈すると 50mM (0.05M) のトリス塩酸バッファーとなります。新しい蒸留水を用いれば希釈しても pH はほとんど変化しません。
- ・ 和光純薬工業(株)、ドデシル硫酸ナトリウム（生化学用）（コード：197-07142）、2,200 円／ 25g
- プロテアーゼ粉末：Gene in a Bottle キットではプロテアーゼと塩化ナトリウムの混合物が入っています。

自分で調合する場合

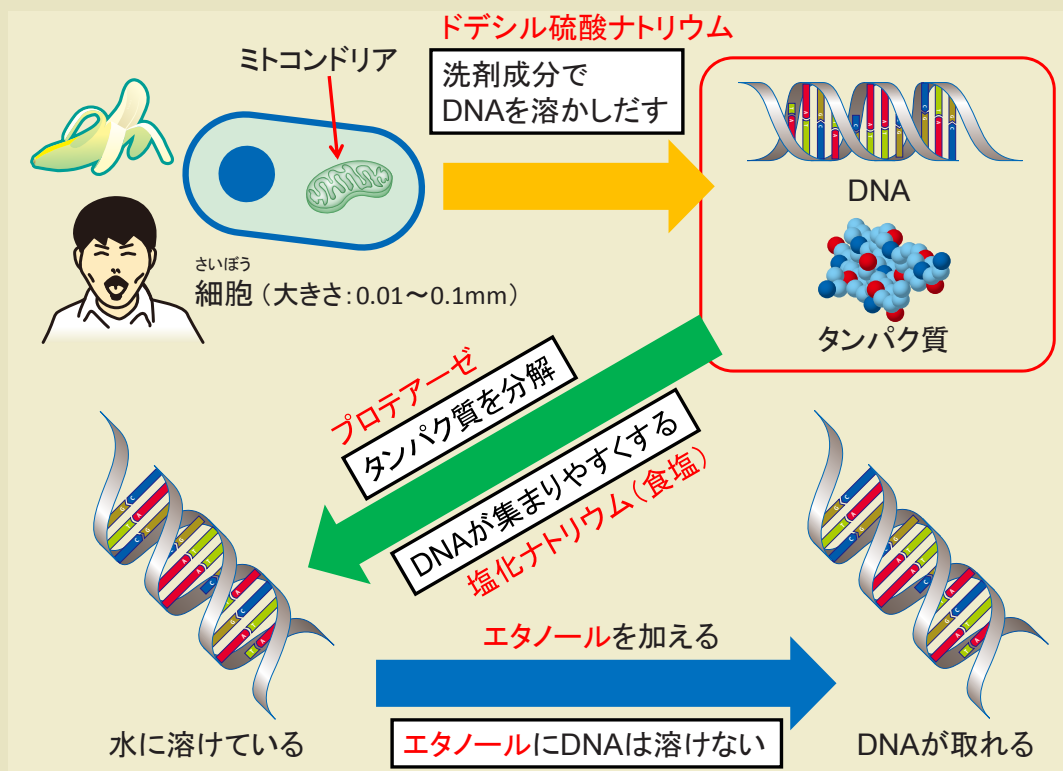
- ・和光純薬工業(株)、プロティナーゼ K (コード：164-14004)、6,000 円／25mg、プラスチックチューブ 1 本当たり 0.1 ～ 0.5 mg 程度必要。
- ・和光純薬工業(株)、塩化ナトリウム (コード：198-01675)、750 円／500g、食塩でも代用できます。プラスチックチューブ 1 本当たり 0.2 ～ 0.5g 程度必要。

○参考資料

1. 伊左治錦司 他、“高等学校における DNA 簡易抽出実験に関する教材開発”、岐阜大学教育学部研究報告 教育実践研究、第7巻、p69-78 (2005)
<http://www.ed.gifu-u.ac.jp/~koho/info/jissen/pdf/0706.pdf>
2. Web 資料：みんなのバイオ学園 (財団法人バイオインダストリー協会)
<http://www.jba.or.jp/top/bioschool/index.html> (トップページ)
http://www.jba.or.jp/top/bioschool/club/clu_02.html (DNA 抽出実験)
3. Web 資料：森田保久の高校生物関係の部屋 (個人)
<http://homepage3.nifty.com/ymorita/hisa1.htm>

補足資料 DNAが取り出せる原理

- ①バナナをすり潰したり、ほぼの内側を軽くかんで水ですすぐことにより細胞をばらばらにして取り出すことができます。一般的に植物細胞は細胞壁と呼ばれる丈夫な壁があるため、細胞内のDNAを効率的に取り出すためにはすり潰すなどの操作が必要になります。バナナの果肉細胞は細胞壁が比較的に弱いので、簡単な処理でDNAが取り出せます。ほぼの内側の細胞（口腔粘膜上皮細胞）は動物細胞であり、植物と異なり細胞壁はなく薄い細胞膜に包まれているだけであるため、すり潰すなどの処理を行わなくてもDNAを取り出すことができます。
- ②セルライシスバッファーとは、細胞を溶かす緩衝液という意味の専門用語です。セルライシスバッファーにはドデシル硫酸ナトリウム（正式名称：ラウリル酸ナトリウム）が含まれています。この物質はいわゆる界面活性剤（陰イオン界面活性剤）で洗剤成分として歯磨きやシャンプー等に使われています。この洗剤の作用により細胞からDNAやタンパク質が溶かし出されます。なお、ドデシル硫酸ナトリウムは以前に発がん性を疑われたことがありましたが、各国の政府機関等での検査でその可能性は否定されています。
- ③セルライシスバッファー処理物ではDNAとタンパク質が混合した状態にあるため、タンパク質のみを分解するプロテアーゼ（タンパク質分解酵素）を加えて処理します。プロテアーゼは50℃付近で最も活発に作用するため、処理は50℃の恒温条件で行います。塩化ナトリウムは水に溶けているDNAを析出しやすくするために加えます。この作用は塩析と呼ばれ、塩化ナトリウムなどの溶液中ではDNAの溶解度が低下する原理を利用しています。
- ④DNAは水にはよく溶けますがエタノールには溶けません。そのためエタノール添加によりDNAがワタ状に析出します。実験ではよく冷やしたエタノールを加えますが、これは低温の方がDNAの水への溶解度が低下して析出しやすくなるためです。
- ⑤DNAは弱い結合で結びついたとても細くて長い物質のため、強く混ぜると簡単に切断してしまいます。切断して短くなるとワタ状にならず、スポイトなどで取り出すのが困難になります。



科学する心を 育てよう

- ①子供の年齢によっては、遺伝やDNAについてほとんど知識を持っていない場合がある。実験前に、遺伝やDNAについて講義や実演を行ってから実験を行うことにより、実験の意義を理解させるようにする。
- ②バナナと人のDNAを比較した時、どこが同じでどこが異なるのか理解させる。
- ③薬品を加えたときに起こった変化を観察させ、その意味を必要に応じて説明する。そのためには指導者は事前に、学習しておくことが望ましい。
- ④キット付属のスポイトはプラスチック製で使いにくい面もあるが、実験ではスポイトで正しく液量を計ってチューブに入れたり、少量のDNAを吸い取ったりする操作がある。スポイト等の器具の正しい使い方も説明しておく。
- ⑤専門的な研究用器具（マイクロピペットなど）を大学等から借りることができれば、それを使ってみせることにより、子供の科学への興味や関心をより向上させることができる。

安全対策

- ①今回のような人から取り出されたDNAは究極の個人情報を含んでいることから、実験を行うに当たっては、事前に実験内容について保護者および本人から下記の承諾を得ておくことが望ましい。
 - ・今回のDNA抽出実験では、得られるDNAの純度も低く、特殊な装置での解析は行わない。
 - ・人DNAが付着したチューブ等のゴミは適切に処分する。（薬品処理あるいは焼却処理など。困難であれば、大学等の機関に処分を依頼することも計画する）
 - ・他人のDNAと取り間違えないように、実験手順には配慮する。
 - ・人からのDNA抽出に抵抗を感じる子供には、鶏レバー等の代替材料を用意する。
- ②毒性は低い薬品を使うため、口に入れない、手に付いたまま目をこすらない等の注意を徹底する。
- ③エタノールはお酒の成分でもあるが、人により皮膚に付くと赤くなる場合があるため注意が必要。
- ④チューブを倒して内容物をこぼしたりしないように、1つの器具に集中しないように、試験管立てなどは余裕を持たせて準備する。使い終わった器具等は机の上から適宜撤去する。
- ⑤50℃に加熱する器具を用いるため、実験中は常時、指導者が近くで安全確認をする。
- ⑥瞬間接着剤でのキャップの固定は、指導者が行うことが望ましい。

キーワード 遺伝、遺伝子、DNA、染色体、ワトソン-クリック、2重らせん

教材提供 : 日本宇宙少年団呉やまと分団 遠藤貴士氏
発行 : 宇宙航空研究開発機構 宇宙教育センター

協力 : 財団法人日本宇宙少年団 YAC 財団法人日本宇宙フォーラム
©JAXA2012 無断転載を禁じます