

～DNAの抽出実験～

1 実験の操作手順と意味

●準備するもの

材料：冷凍したブロッコリーの蕾の部分 30g

器具：乳鉢、乳棒、茶こし、ピーカー、ガラス棒、割りばし、シャーレ、ろ紙、ドライヤー

薬品：抽出用の溶液（塩化ナトリウム 4.0g を水 50mL に溶かし、中性洗剤を 2 滴加えたもの）

氷冷したエタノール、酢酸カーミン液、熱湯

●実験の手順

手順	操作	操作の意味
①	抽出用の溶液を作成する。	★1～2mol/L の NaCl 水溶液が、DNA をよく溶かす。溶かすとは、ヒストンから分離させることである。 ★ <u>中性洗剤は、細胞膜や核膜を破壊する。</u>
②	冷凍したブロッコリーを乳鉢に入れて、乳棒で約 5 分の間粉碎する。粉碎の程度は、蕾が確認できないくらいである。	★ <u>常温では DNA 分解酵素がはたらくので、ブロッコリーを冷凍しておく</u> とよい。また、手順⑥までの操作を 15 分以内に行う。
③	乳鉢に抽出液を加えて、乳棒で静かにかき混ぜる。	★ <u>静かにかき混ぜないと、DNA が切断されてしまう。</u>
④	乳鉢のなかの粉碎液を、茶こしでろ過しながらピーカーに移す。	★ろ液の中に DNA が含まれているので、他の固体の物質をろ過で取り除く。
⑤	ガラス棒を使って、④のろ液にろ液と同量程度の冷エタノールを静かに注ぐ。	★ <u>DNA は冷えたエタノールに難溶である。</u> ★ <u>エタノールは水よりも比重が軽い</u> ため、静かに注ぐと水の層の上にエタノールの層ができる。
⑥	ろ液の層とエタノールの層の境界に析出した DNA を割りばしで静かにかき取り、シャーレ上のろ紙の上にのせる。	
⑦	ろ紙をドライヤーで乾かしたあと、酢酸カーミン液を DNA に滴下する。約 3 分の間染色したのちに、ろ紙に直接かからないように熱湯を注ぎ、ろ紙を静かにゆらして脱色する。	★酢酸カーミン液で染まれば、DNA であることを示すことができる。 ★DNA に直接熱湯をかけると、DNA の構造が壊れてしまう。

※操作③のあとにタンパク質分解酵素を加えると、なお効率がよくなる。