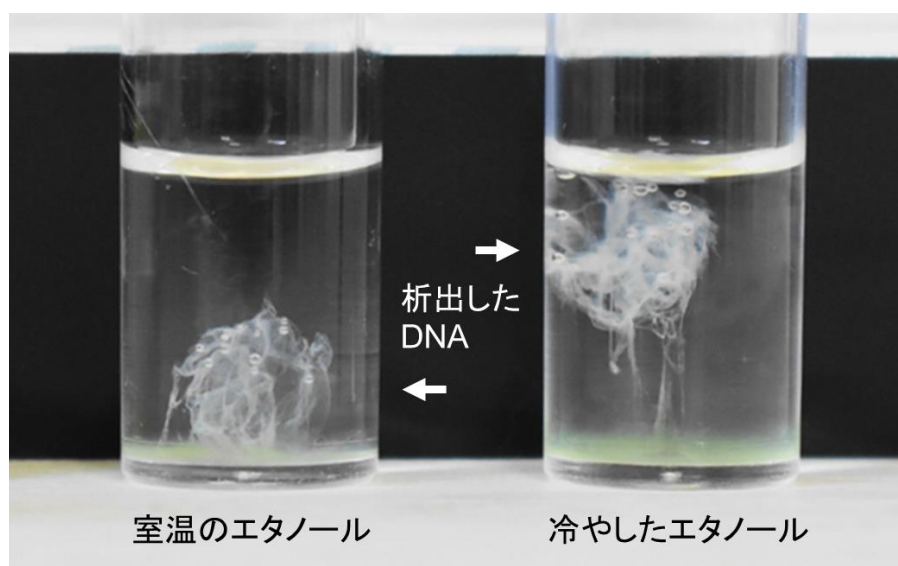


自由研究レポート例（ハットンログ）

DNA 抽出実験に冷やしたエタノールを使用することで DNA 析出量は増えるのか？



〇〇中学〇年〇組 〇〇〇〇

2021年6月18日

DNA 抽出実験に冷やしたエタノールを使用することで DNA 析出量は増えるのか？

〇〇中学〇年〇組 〇〇〇〇
2021 年 6 月 18 日

【背景と目的】

日常で DNA という言葉をよく耳にするが、実際に DNA を見る機会はほとんどない。そこで、(株)学研ステイフルから市販されている「自由研究おたすけキット DNA を調べよう」(以下、DNA 抽出キットと表記することがある)を購入し、DNA を調べてみることにした。この DNA 抽出キットでは、ブロッコリーから DNA を抽出して観察することができる。DNA 抽出キットの標準的な実験方法では、実験の最後の行程としてブロッコリーの DNA 抽出液を室温のエタノールに滴下して DNA を析出させる。これは、塩による DNA の電荷の中和 (DNA が集まりやすくさせる) と DNA がエタノールに溶けにくい性質を利用して、水 (DNA 抽出液) に溶けていた DNA がエタノールにより水から追い出されて集まり、析出する現象である⁽¹⁾。

多くの個体では、温度が低いほど溶解度が小さくなる^(2,3)。このことを考慮すると、DNA 析出時に冷やしたエタノールを使用して温度を下げれば DNA の溶解度が下がり、DNA の析出量が増加する可能性がある。実際に、DNA 抽出実験に冷やしたエタノールを使用している文献が複数あり^(4,5)、冷やしたエタノールは DNA の析出量を増やす目的で使用されていると推測された。

そこで本研究では、DNA 抽出実験に冷やしたエタノールを使用することで DNA 析出量が増加するのか検証することを目的とした。

【材料と方法】

・材料

ブロッコリーはスーパーで購入したものをを使用した。

・室温のエタノールを使用した DNA 抽出方法

ブロッコリーからの DNA 抽出は、「自由研究おたすけキット DNA を調べよう」(DNA 抽出キット) (学研ステイフル) を使用して行い、商品の標準的な実験方法に準じて行った (図 1)。なお、標準的な実験方法では室温 (約 25℃) で

保管されたエタノールを使用して DNA の析出を行った。

・冷やしたエタノールを使用した DNA 抽出方法

冷やしたエタノールは、2 mL のエタノールを DNA 抽出キットに付属の試験管に入れ、冷蔵庫の冷凍室（ -20°C 前後）で一晩冷やすことで準備した。室温のエタノールの代わりに冷やしたエタノールを使用した以外は、DNA 抽出キットの標準的な実験方法に準じて行った（図 1）。

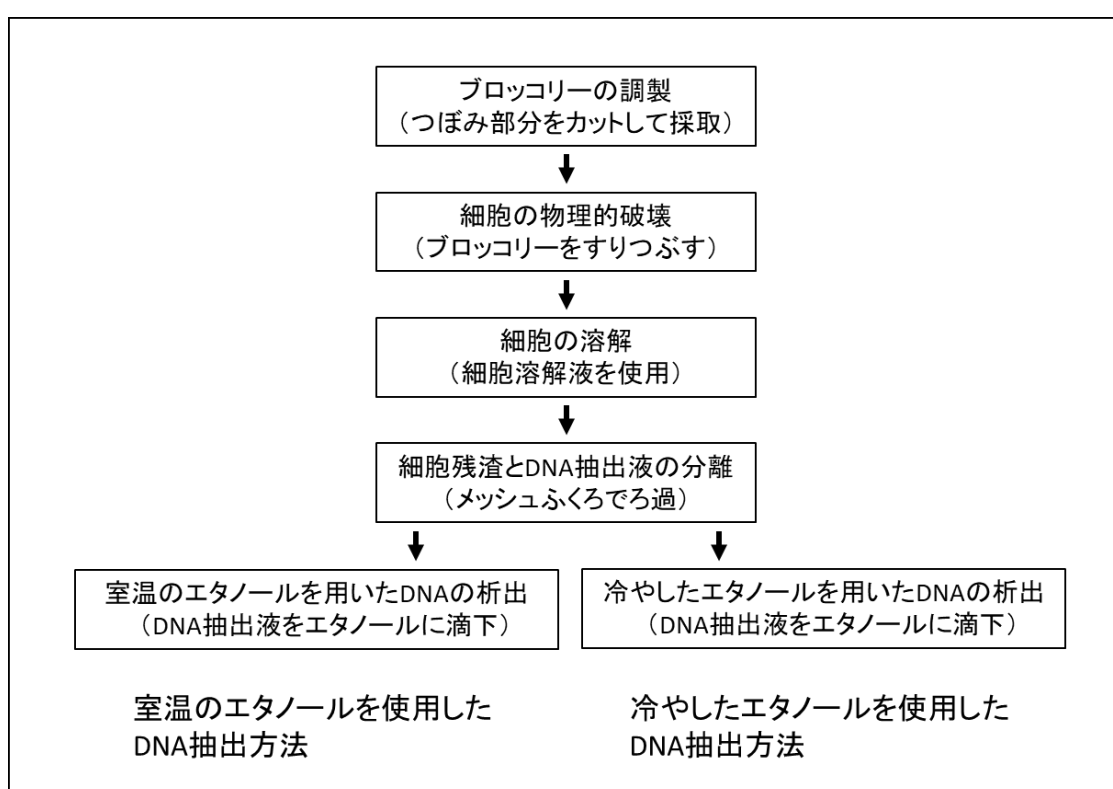


図 1. ブロッコリーからの DNA 抽出の概略

【結果】

室温のエタノールを使用した DNA 抽出方法と冷やしたエタノールを使用した DNA 抽出方法により、ブロッコリーから DNA 抽出を行った。それぞれの DNA 抽出方法によって析出した DNA の様子を図 2 に示す。目視で観察した結果、冷やしたエタノールを使用した DNA 抽出方法のほうが室温のエタノールを使用した DNA 抽出方法よりも DNA の析出量が多かった。

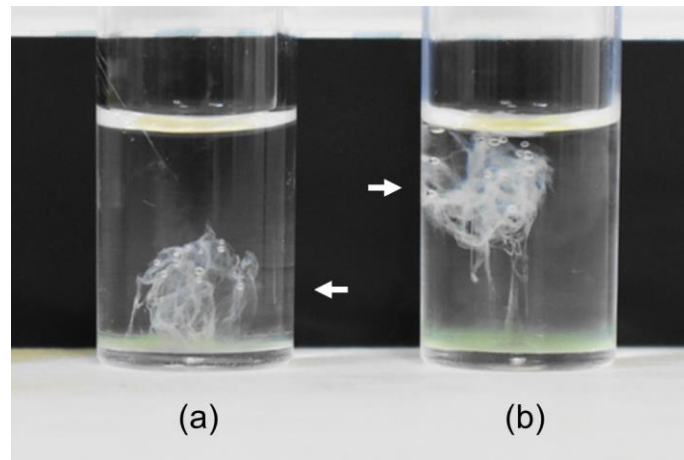


図 2. エタノールで析出したブロッコリーの DNA
室温のエタノールを使用した DNA 抽出方法 (a)と、冷やしたエタノールを使用
した DNA 抽出方法 (b)により析出した DNA (図中の白い矢印で示す)。

【考察】

冷やしたエタノールを DNA 抽出に使用した場合、室温のエタノールを使用した場合よりも析出する DNA 量が多くなった。この結果から、DNA 析出時に冷たいエタノールを使用して温度を下げたことにより、DNA の溶解度が小さくなり、DNA の析出量が増加したことが示唆された。DNA の析出量の増加は、DNA 抽出の効率化につながると考えられた。

ただし、本研究の実験には精度の問題が 2 つあり、得られた結果の解釈には議論の余地があった。1 つ目の問題としては、本研究の実験では抽出 DNA 溶液をスポイトで 3 滴エタノールに滴下して DNA の析出を行ったため、3 滴の液量 (DNA の総量) は操作によって変化する可能性があった。もう 1 つの問題としては、析出した DNA 量は目視で判定を行ったが、目視では DNA 量の比較が正確でない可能性があった。そのため、本研究の実験結果は信頼性に欠け、参考程度とすることが妥当と考えられた。実験の結果が正しいことを証明するには、実験の精度向上が必要と考えられた。

本研究では、DNA 抽出実験に冷やしたエタノールを使用することで DNA 析出量が増えるのか検証を試みたが、実験の精度が不十分であるため結果には議論の余地があった。そのため、抽出 DNA 溶液の滴下量の精度向上と DNA 量の定量を行うという実験方法の改善を行い、再検証することが望まれる。家庭での精度の高い実験は設備的に困難であるため、さらなる研究のためには本格的な研究設備を備えた実験室での実験が必要である。

【参考文献】

1. ”エタノール沈殿”. Wikipedia. <https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%82%A8%E3%82%BF%E3%83%8E%E3%83%BC%E3%83%AB%E6%B2%88%E6%AE%BF>, (参照 2021-06-18).
2. ”溶解度”. Wikipedia. <https://ja.wikipedia.org/wiki/%E6%BA%B6%E8%A7%A3%E5%BA%A6>, (参照 2021-06-18).
3. Fieser LF, Williamson KL. フィーザー/ウィリアムソン有機化学実験. 第 8 版 丸善出版 2000.
4. 馬場典子, 片山隆志, 香西武, 米澤義彦. 中学校理科第 2 分野における DNA 抽出実験の再検討. 生物教育 2013 53(4): 168-175.
5. 伊左治錦司, 松本省吾. 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 2005 7: 69-78.