

DNAの性質を実感する実験の工夫

「らせん構造」を持つ「酸性物質」として捉える

○西野秀昭, 迫田ちさ

NISHINO Hideaki, SAKODA Chisa

福岡教育大学

【キーワード】 生物実験, DNA, らせん, 酸性, フォイルゲン反応

1 目的

DNAを植物や動物組織から抽出する実験方法は諸論文に詳しい。しかし、抽出したものがDNAの性質を有していることや、純度を確認する実験方法については報告が少なく、教科書でもほとんど触れられていない。本研究では、DNAを抽出する材料や方法・条件による純度の違いを、教育現場での実施を念頭に、DNAの特異的検出方法を中心にしてタンパク質や多糖の検出方法と組み合わせて検討し、DNAの性質を生徒が実感できる実験の工夫を行ったので報告する。

2 方法

(1) 材料: ブロッコリー、鶏レバー、鮭シラコは市販品を用いた。標準タンパク質はウシ血清アルブミンを、多糖は、植物デンプンとして糊デンプンを、動物デンプンとしてグリコーゲンを用いた。高純度精製DNA (Salmon sperm DNA, Stratagene 社) は分子生物学用を用いた。塩基性色素メチレンブルー、酸性色素エオシンYは細胞染色用を用いた。塩基性カラムは分子生物学用としてプラスミド精製に使われているPlasmid Mini Kit¹⁾ のものを用いた。

(2) 実験方法: タンパク質の検出ではLowry法を、多糖の検出ではヨウ素デンプン反応を、DNAの検出ではMupid-Blue、臭化エチジウム²⁾、フォイルゲン反応などを用いた。DNAの純度は紫外部吸光度の比(260/280nm)で確認した。臭化エチジウムでDNAを検出する際にラップの上に滴下して反応させた以外はいづれも、試料をADVANTEC No. 1 ろ紙の小片にしみ込ませて乾燥後に反応させた。

3 結果

タンパク質の検出限界 0.01~0.25mg/ml 付近、多糖の検出限界は、糊デンプンで 0.01~0.25mg/ml 付近、グリコーゲンが 0.25~0.50mg/ml 付近で、いずれの抽出法・条件でもタンパク質や多糖を検出できなかった。しかし、紫外部吸光度の比(260/280nm)を比べると、純粋なDNAに比べて材料や抽出方法・条件に

よって5~25%ほどの差が生じた。

フォイルゲン反応ではDNAで反応が確認されたが、タンパク質や多糖では確認されなかった。デンプンに臭化エチジウムを加えると、DNA同様に紫外線照射で蛍光を発した。タンパク質ではそのようなことは無かった。

メチレンブルーは塩基性カラムに吸着せず、素通りした。一方、エオシンYはカラムに吸着し、水で洗っても溶出しなかった。しかし塩基性緩衝液で溶出することができた。DNAもカラムに結合し、塩基性緩衝液で溶出された。

4 考察

DNAの純度は、ブロッコリーからでは紫外部吸光度の比が最も低く、検出できないセルロースやリグニンなどの混在が考えられた。純度が最も高くなるのは鮭シラコであった。フォイルゲン反応は高等学校でも実施可能なDNAの特異的検出法として利用できると考えられた。デンプンが臭化エチジウムで蛍光を発したのは、DNAと同様、らせん構造をしているからと考えられ、これを利用してDNAのらせん構造を実感できると考えられた。また、酸性色素エオシンYと同様な挙動をDNAが塩基性カラムで示したことからDNAが酸性を示す物質であることを実感できると考えられた。

5 まとめ

植物や動物組織から抽出したDNAの純度をタンパク質、多糖の混在とフォイルゲン反応や紫外部吸光度の比(260/280nm)から確認したところ、鮭シラコから最も純度が高いDNAが抽出された。らせん構造を持つデンプンも臭化エチジウム処理で蛍光を発することと関連させてDNAのらせん構造を、また塩基性カラムで酸性色素と同じ挙動をすることでDNAも酸性物質であることを示すことができた。

文献

- 1) QIAGEN Plasmid Mini Handbook March 1999.
- 2) Molecular Cloning A Laboratory Manual, 2nd ed, Sambrook et al. 1.23, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.