

# 高等学校における DNA 簡易抽出実験に関する教材開発

Development of teaching material for  
DNA extraction method practicable at high school

伊左治錦司\*・松本省吾\*\*

ISAJI Kinji\*, MATSUMOTO Shogo\*\*

キーワード： DNA 簡易抽出，ブロッコリー，鶏レバー，ヒト口腔粘膜細胞

## I. はじめに

ヒトをはじめとする様々な動植物や微生物のゲノム解読など、近年、DNAの研究の進展はめざましく、遺伝子組み換え食品、遺伝子治療、DNA鑑定などのバイオテクノロジーは今や、学問や研究の世界だけでなく一般の生活にも急速に浸透してきている。しかしながら、これらの原理や技術については、メディア上で様々な専門用語や略語が飛び交い、難解な印象が先立ち正しい理解と判断を妨げている面がある。このような状況の中では、まずDNAを少しでも身近に感じることが大切だと考え、DNA研究の第一歩である「DNA抽出」の高等学校理科(生物分野)への導入に取り組むことにした。

高等学校の生物においては、メンデルの法則から最先端の組み換えDNA技術に至るまでの一連の流れを歴史的に振り返り、これらの技術の将来を考えさせるカリキュラムが組まれている。しかし、この分野は容易にできる実験も少なく、かつ自分自身の目で確認できない内容を含んだものが多いため、多くの生徒にとっては学習後も難解な印象だけが残り、DNAに対する正しい理解を養うには至っていない。平成15年度より始まった新教育課程用の教科書には、DNAをはじめとした分子生物学分野の記載が格段に増えていることから、DNA簡易抽出のようなDNAをより平易にかつ身近なものとして実感させられる教材・実験の開発は重要であると考えられる。

従来から行われているフェノール・クロロフォルム法に代表される生物材料からのDNA抽出法は、危険な薬品や遠心分離器といった特別な器具が必要であり、高校の授業で行うことはほとんど不可能であった。しかし最近、鶏のレバーやブロッコリーなどからのDNA簡易抽出法が開発され(森田, 1997)、多くの先生方により、様々な材料で検討、実践が行われている。

岐阜県でも青少年のための科学の祭典岐阜大会(2003年7月)において、「キッチンでできる!食物からのDNA・遺伝子抽出実験」と題して小中学生向けの実験講座(ブロッコリーからDNAを抽出 25名参加)が行われた(江口ら2003)。実験後のアンケートでは、「食べ物にはDNA・遺伝子が入っていることを知っていましたか」という質問に対しては、「よく知っていた」(3)、「少し知っていた」(8)をあわせても半数以下にとどまり、「あまり知らなかった」(5)、「全然知らなかった」(9)が半数を超えるという状況があった。対象はまだ遺伝子についてほとんど学んだことのない小中学生であることから、これらの数字も驚くには至らないが、DNAの認知度の低さを表している。また、19名の児童、生徒が感想として「楽しかった」あるいは「やや楽しかった」と答えていることは、実験自身のインパクトの強さを物語っており、後述する高校生対象の実験後のアンケートでも、初めて目にするDNAにほとんどの生徒が新鮮な驚きを感じていることを考えると、このような実験を高等学校の授業に取り入れることは大変有意義であると考えられる。

本実践研究では、多方面で行われるようになってきたブロッコリーや鶏のレバーからのDNA抽出実験を実際の高校現場での授業に取り入れ実践する中で、問題点について検証してみた。あわせて、ヒトの組織からのDNA抽出実験

\* 岐阜大学大学院教育学研究科(東濃高校教諭) Graduate School Pedagogy Graduate Course

\*\* 岐阜大学教育学部 Department of Biology

についても検討し、実践してみた。

## Ⅱ．ブロッコリーおよび鶏レバーからの DNA 抽出実験の検討と授業実践

### 1．DNA 抽出実験方法の検討

DNA の簡易抽出実験の材料は、植物ではブロッコリー以外にタマネギ(斉藤2002)や納豆菌(横山2001)を用いた方法が開発されており、動物では魚の精巢を使ったものなども有名である(数件出版生物教科書)がいくつか試した中では、析出する DNA 量や観察のしやすさ、材料の入手しやすさなどから、ブロッコリーと鶏レバーが最も優れていた。

ブロッコリーからの DNA 抽出法は、社団法人 農林水産先端技術産業振興センターのパンフレット「知っていますか、遺伝子組み換え農作物 入門プログラム」に記されているものを若干改良したものであり、鶏レバーからの DNA 抽出法は森田(1997)の方法を同じく若干改良したものである。

それぞれの実験手順の概略を以下に示す。

#### (1) ブロッコリーからの DNA 抽出法

水100ml に食塩12g と中性洗剤一搾り(約 1 ml)を加え、DNA 抽出液を作る(中性洗剤は細胞膜や核膜の脂質を破壊する。また、食塩は DNA とタンパク質の結合を切ると考えられている)。

ブロッコリー 1 房分のつぼみの先だけをはさみで切り落とし(5~10g 程度)、すり鉢に入れ粒が見えなくなるまですりこぎですりつぶす。

すりつぶしたブロッコリーに DNA 抽出液を50ml 程度加え、10分程度静置しておく。

タンパク質を変性させるために、ビーカーに移し、5分ほど湯煎する(省略化)。別のビーカーに茶こしをのせ、湯煎したものを(湯煎しなかった場合は静置しておいたもの)をこす。

ビーカーを氷水に入れてよく冷やす。

ビーカーの液の2倍量程度の冷やしたエタノールを、割り箸を伝わらせながら静かに注ぐ。

高塩濃度下では DNA はエタノールに溶けないという性質があり、2つの層の間にふわふわした白いもの(DNA)が現れる(図1)。



図1 析出した DNA

#### (2) 鶏レバーからの DNA 抽出法

ニワトリのレバー 1 塊(20g 程度)を1搾りの中性洗剤(約 1 ml)および等量の氷(20g 程度)とともにミキサーでよくすりつぶす。

すりつぶしたものをビーカーに20ml 程度とり、2 mol/l 食塩水20ml を加えかき混ぜた後、タンパク質が白っぽく凝固するまで複数回に分けて計5分ほど電子レンジで加熱する。

ビーカーに2枚重ねのガーゼを広げ、加熱したものをこす。

氷水でよく冷やした後、2倍量の冷やしたエタノールを注ぐ。

析出した粗 DNA をピンセットでつまみ、別のビーカーに入れる。

食塩水を20ml 程度加え、よく溶かす。

再び計5分ほど電子レンジで加熱した後、ひだ折にしたろ紙でろ過し氷水で冷却する。

ビーカーの液の2倍量の冷やしたエタノールを割り箸を伝わらせながら静かに注ぐ。

境界面に DNA が析出する。

いくつかの改良点と注意すべき点を以下に示す。

#### (1) ブロッコリーからの DNA 抽出法について

- ・DNA 抽出液を加え10分静置後、湯煎による加熱操作を加えた。加熱操作を行うことによって、タンパク質(ヒス



- ・他の動物のDNAも抽出してみたい。
- ・自分のDNAも見てみたいと思いました。他の植物でもとれるのだろうか。
- ・実験はとても忙しかったけど、スムーズにできた。
- ・レバーの方が大量にDNAがとれたが、白いもやもや状のものという点では、どちらも同じだった。

かなり時間に追われる実験ではあったが、生徒は動物にも植物にも同じようにDNAが含まれていることをつかめたようである。しかしながら、TTという授業形態がとれない場合は、実験内容を削減しないと時間内に行うことは困難と思われた。

また、多くの生徒が「自分自身のDNAも見てみたい」と答えており、「次はヒト」を対象にやってみたいと感じたようである。中には、得られたDNAについて、どのくらいの量なのか、本当にDNAなのかという疑問を持った生徒もいたようである。この点については、3.DNAの純度と電気泳動で述べる。

実験後の自己評価では、「実験は楽しくできたか」という質問に対しては、18名中14名の生徒が5段階評価で「5」、残り4名が「4」であった。「内容が理解できたか」という質問に対しては9名が「5」、6名が「4」、3名が「3」と理解度についてはおおむね良好であった

(2) 授業実践2(資料2の実験プリントを用いた授業実践)

資料1の実験プリントを大幅に削減し、1時間の授業の中でできるものに工夫したのが資料2の実験プリントである。

資料2では、生徒が実際に取り組むのはブロッコリーのDNA抽出だけにして、鶏レバーのDNA抽出は実験の様子を撮影したビデオを視聴させた。ビデオは10分間に編集したもので、ブロッコリーのDNA抽出の待ち時間を利用した。以下は、生徒の感想と反省の抜粋である。

- ・初めて見たDNAに感動した。
- ・実験はうまくできた。でも、あまりDNAという感じはしなかった。
- ・洗剤やエタノールでDNAが抽出できるなんて驚いた。
- ・今日はビデオを見たり、実際にDNAを取り出すことができて楽しかった。どんなものにも本当にDNAはあるんだって知ることができました。鶏より、ブロッコリーのDNAの方が透明できれいでした。

実験後の自己評価では、9割以上の生徒が楽しくできた、かつ理解できたと答えているが、実験の難易度を考えると、高校3年生の生物で扱うよりも、1年生や2年生の遺伝あるいは遺伝子の分野の導入で扱うのも良いという印象を受けた。

資料2

-- DNAの抽出・観察

遺伝子の存在を確認するためにDNAを抽出し観察する実験のプリントの一例です。ここでは鶏レバーとブロッコリーを用いてDNAを抽出し観察する実験を行います。

ブロッコリー、半粒鶏卵、洗剤、ビール、水、氷、塩、エタノール、砂糖、水、氷、塩、水、氷、塩、水、氷、塩

本実験には遺伝子の抽出と観察のための材料としてブロッコリーと鶏レバーを用います。ブロッコリーはDNAの抽出に適した材料であり、鶏レバーはDNAの抽出に適した材料です。また、洗剤やエタノールを用いてDNAを抽出し観察します。

【材料】ブロッコリー、半粒鶏卵、洗剤、ビール、水、氷、塩、エタノール、砂糖、水、氷、塩、水、氷、塩

【手順】1. ブロッコリーを洗い、水で洗います。2. ブロッコリーを小さく切ります。3. 鶏レバーを洗い、水で洗います。4. 洗剤、ビール、水、氷、塩、エタノールをそれぞれ用意します。5. ブロッコリーと鶏レバーをそれぞれ別々の容器に入れ、洗剤、ビール、水、氷、塩を加えます。6. エタノールを加えます。7. 観察します。

1. 鶏レバーとブロッコリーのDNAはどのように抽出されましたか。

2. なぜ、材料としてブロッコリーと鶏レバーを選んだのでしょうか。

3. 鶏レバーとブロッコリーのDNAはどのように抽出されましたか。

【感想】観察は面白かったです。

今日の授業が自分の理解が深まったと感じました。観察の順序がわかりました。

1) 実験は楽しかったです。 2) 実験の内容は理解できました。 3) 実験の結果は面白かったです。

自分の理解が深まったと感じました。観察の順序がわかりました。

1) 楽しかった。 2) 理解できた。 3) 面白かった。

3 . DNA 純度測定と電気泳動

前述の生徒の感想に、「あの中にはどれくらいのDNAが入っているのだろうか」とか、「あまりDNAという感じはしなかった」とあるように、簡易法で抽出されたDNAが本当にDNAなのだろうか、DNAだとしたらどのくらいの純度なのか、という疑問があった。そのような疑問に対処するために、追加実験として、DNAをいくつかの染色液で染めてみるなどの方法が考えられる。例えば、得られた沈殿を再び水にとかして紙などにプロットし、酢酸カーミン等で染色した後、脱色するなどの方法がある(森田2003)。しかし実際に行ってみると操作が煩雑で、しかも結果がわ

かりにくかった。そこで、これらの実験は  
 演示あるいは発展実験にとどめることとし  
 た。

一方、私は以前、森田（1997）の方法に  
 よる鶏レバーからの DNA 抽出やブロッコ  
 リーからの DNA 抽出実験において、「得ら  
 れた DNA については染色などによって確  
 認することはできるが、実際どれくらいの  
 純度で抽出できているかはわからない」と  
 という話を聞いた。DNA の抽出の後には第 2  
 段階として DNA 解析があり、得られた  
 DNA の純度が解析に影響する。そこで、教  
 員側のバックグラウンドとして、得られた  
 DNA を研究室レベルで解析し、純度を知っ  
 ておくことが必要だと考え、ブロッコリー  
 から簡易抽出法（実験プリントの方法）お  
 よび研究室レベルの抽出法である CTAB  
 法（資料 3 に示す）で得られた DNA につ  
 いて以下の（1）～（3）に示す 3 つの実験  
 を行い比較した。

（1）DNA 純度の測定

DNA の濃度や純度を測定するためには、  
 一般に紫外線分光光度計による吸光度の測定が行われる。DNA 溶液は波長 260nm の紫外線をよく吸収する性質があり、吸光度は DNA 量に比例するので、吸光度から DNA 溶液の濃度を計算できる。また、OD260 / OD280Ratio を計算することによっておよその純度を推定できる。一般には OD260 / OD280Ratio が 1.8 の場合がタンパク質の混在が少ない純粋な DNA 溶液である。

CTAB 法および簡易法それぞれの手法で得られた DNA をピペットで集め、沈殿・乾燥させた後、TE バッファー（10mM Tris-HCl pH7.5, 1mM EDTA）に溶解し希釈したものを紫外線分光光度計で、波長 200nm ~ 350nm まで連続的に吸光度を測定した（図 2）

の簡易抽出法によるものと  
 の CTAB 法によるものいずれ  
 も 260nm に吸収極大が見られ、  
 DNA 溶液特有の波形を示して  
 いる。溶液の濃度についても両  
 者とも一般的な核酸分析に必要  
 十分な量であった。

また OD260 / OD280Ratio は  
 が 1.98, が 1.955 であった。

（2）DNA の電気泳動

DNA 分子は負に帯電しており、アガロースゲル（一般に 1000  
 塩基以上のヌクレオチド鎖）や  
 ポリアクリルアミドゲル（1000

資料 3

CTAB 法によるブロッコリー DNA の抽出プロトコル

1. ブロッコリーの蕾（50mg）を電子天秤で量り、乳鉢に入れ、液体窒素で凍結させる。乳鉢ですりつぶし、葉さじの細い方で粉上になった葉を集め、1.5ml チューブに入れる。
2. CTAB 抽出液（※1）800 $\mu$ l を加える。（チューブの蓋をパラフィルムで覆う。）
3. 10 分おきに cup and down 操作しながら、60℃（オープン）にて 30 分放置後、2 分間常置置く。
4. クロロホルム/イソアミルアルコール（24:1）溶液（上乗品類・下段）を 500 $\mu$ l 加え、チューブの蓋をパラフィルムで覆いよく混合する。（ミキサーで 5 分）
5. 遠心分離、15000rpm、4℃、5 分。
6. 水層（上の層）をピペットマンで吸い、新しい 1.5ml チューブに移し、イソプロパノール 400 $\mu$ l 加え、よく混合（ミキサーで 5 分）する。  
 （ここで白い糸状のものが見えることがある。これが DNA。）
7. 固和し、室温で 20 分間放置する。
8. 遠心分離、10000rpm、3 分。（DNA が下に沈殿する。）
9. 上清を完全に除く。（底の白いかたまりを吸わないように。）
10. 10mM 酢酸アンモニウム / 75% エタノール 800 $\mu$ l 加える。
11. 転倒混和し、室温で 30 分間放置。
12. 遠心分離 16000rpm、3 分
13. 上清を完全に除く。
14. ⑦ 75% エタノールを 800 $\mu$ l 加える。
15. 転倒混和し、室温で 30 分間放置。
16. 遠心分離、15000rpm、3 分
17. 5 分間減圧乾燥
18. ⑤ 10T-1E を 100 $\mu$ l 加え、沈殿を溶かす。
19. 4℃にて保存する。

※1 CTAB 抽出液組成  
 100mM Tris-HCl (pH8.0)  
 1.4M NaCl  
 20mM EDTA  
 2% CTAB  
 1% ボリビニルピロリドン

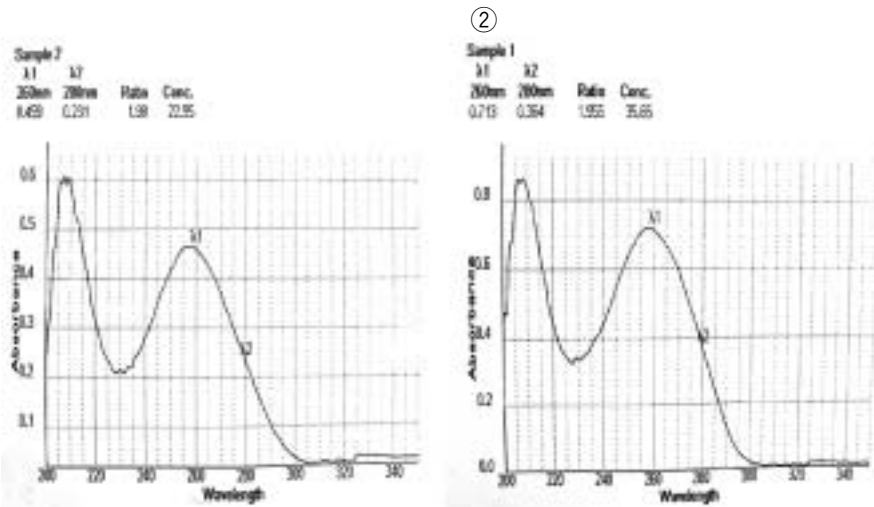


図 2 DNA 溶液の吸光度測定。①は資料 1 の実験プリントに沿って抽出した  
 ブロッコリー DNA, ②は CTAB 法で抽出したブロッコリー DNA

塩基以下のヌクレオチド鎖)を用いた電気泳動によって分子量を推定することができる。

簡易法で抽出したブロッコリー DNA と鶏レバー DNA をピペットで集め、沈殿・乾燥させた後、TE バッファーに溶解したものを 1%アガロースゲルで100V 20分間電気泳動した(図3)。ブロッコリー・鶏レバー DNA とともに20kb 以上の高分子のところにバンドが得られ、鶏レバーでは泳動像がスメア状に広がった。これは、抽出の過程で切断され、様々な分子量のものが含まれるためと思われる。高校生に説明するときには、「電気泳動で移動し、エチジウムブロマイドによる染色後、紫外線照射により蛍光を発しているのだから、得られた産物は DNA である」と示すことができる。

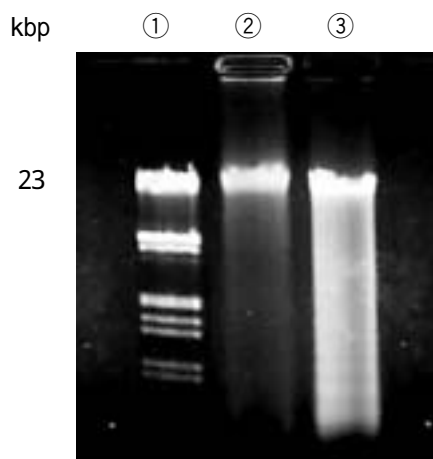


図3 抽出した DNA の電気泳動写真。  
①サイズマーカー、②簡易法で抽出したブロッコリー DNA、③簡易法で抽出した鶏レバー DNA

### (3) PCR (Polymerase Chain Reaction) 法による DNA 増幅

PCR 法は微量な DNA を増幅させる技術であり、核酸分析には欠かせない実験手法の1つである。簡易法によって得られた DNA のリボゾーム DNA の ITS(Internal Transcribed Spacer)領域を一般的な PCR 法によって増幅した。

CTAB 法および簡易法それぞれの手法で得られた DNA を100ng/μl になるように TE バッファーで希釈したもの10 μl を鋳型とし、プライマー Forward (5' GGAAGTAAAAGTCTAACAAGG 3') と Reverse (5' TCCTCCGCTTATTGTATGC 3') をそれぞれ50 μM, dNTP10 mM, TaqDNA Polymerase 0.5 μl (2.5U) を含む反応液50 μl を使い、95 3分の熱変性の後、95 1分、55 1分、72 1分を30サイクル行い、最後に72 7分の PCR 反応を行った後、増幅産物を 3%アガロースゲル電気泳動に供した(図4)。CTAB 法、簡易法で抽出した DNA とともに増幅 DNA 断片が見られた。この実験からも、簡易法で得られた DNA が、一般的な核酸分析に用いることのできる純度であることが示された。

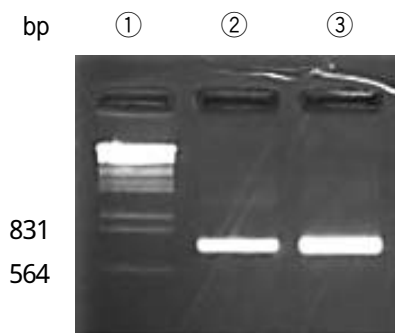


図4 抽出した DNA を鋳型として行った PCR 反応後の電気泳動写真。  
①サイズマーカー、②CTAB 法で抽出したブロッコリー DNA、③簡易法で抽出したブロッコリー DNA

## Ⅲ. ヒト口腔粘膜細胞からの DNA 簡易抽出実験の検討とその実践

### 1. 実験方法の検討

ブロッコリーや鶏レバーの DNA 抽出実験に取り組んだほとんどの生徒が「ヒトの遺伝子も抽出してみたい」と感想で書いている。この要求に応えるべく、ヒトの DNA 抽出に関して検討してみた。

#### (1) BIO RAD 社のキットを用いた実験

ヒトの口腔粘膜細胞からの DNA 抽出に関しては、BIO RAD 社から「Gene in a Bottle」というキットが発売されている。このキットはおおよそ次のような手順で DNA を抽出、沈殿・可視化した後、自分の DNA 入りペンダントを作るものである。

##### <実験手順>

小さなブラシで口腔粘膜細胞を念入りに掻き取り、マイクロチューブに入った 1 ml のセルライシスバッファー(界面活性剤および pH 緩衝液を含む)に懸濁する。

プロテアーゼ K (タンパク質分解酵素) を 1 滴加え、転倒混和した後、50 °C で10分間インキュベートする。

チューブのふたを開け、5 M NaCl を 2 滴加え、転倒混和する。

透明な観察用チューブに内容物を移し、冷やしたアルコールを静かに加え、5 分間静置しておく。

DNA が析出してくるので、これをピペットで集め、ペンダント容器に入れペンダントを作成する。

## (2) 改良したオリジナルの実験

BIO RAD 社のキットを使った授業実践も行ったが、50分の授業時間ではやや時間が足りなかったことと、キット自体が高価で何クラス分も大量に用意することは経費がかかるので、一部を簡素化し、薬品なども手に入れやすいものにしてオリジナルの実験を考案した。実験手順は次の通りである。

### <実験手順>

綿棒を2本用いて、口腔粘膜細胞を念入りに採取する。

1 ml の DNA 抽出液 ( ) の入ったマイクロチューブに、採取した細胞を懸濁する。

DNA 抽出液...蒸留水10ml + SDS (ドデシル硫酸ナトリウム) 0.1g + アイネスタプレット 2錠 (メニコン製コンタクトレンズ洗浄剤、主成分はタンパク質分解酵素)

マイクロチューブのキャップを閉め、穏やかに5回転倒混和した後、37℃で15分インキュベートする。

ピペットを用いて、5 M NaCl を2滴加え、キャップを閉め、穏やかに5回転倒混和する。

観察用チューブに内容物を移し、冷やしたアルコールを、非常に穏やかに加え、析出してきた DNA を観察する。

ピペットを用いて、750 μl ~ 1 ml のアルコールとともに、析出した DNA を、ねじ蓋付きチューブに移し、自分で保管する。

BIO RAD 社のキットを使った方法と比較すると、最初から抽出液にタンパク質分解酵素を加えることにより手順を1段階減らしたこと、pH 緩衝液は特に加えなかったこと、そして高校の現場でも比較的手に入れやすくしかも安価な薬品のみを用いたことの3点が改良点である。この方法で抽出した DNA の様子を図5の写真に示した。ブロッコリーや鶏レバーから抽出した DNA と比較すると、量は少ないながらも同じような白いもやもやは十分目視に耐えうるものであったので、生徒実験としても行える程度になったと考えている。



図5 オリジナルの方法で抽出したヒト DNA

## 2. 授業実践

授業は3年生の理科系選択者の生物の授業で、DNA 分野の導入として行った。授業で用いたプリントは資料4に示す。授業は45分間で、前時にブロッコリーと鶏レバーの DNA 抽出実験を行い (鶏レバーについてはビデオで実験の様子を見たクラスもある)、その発展として行ったものである。

最初の10分間を前時の復習および実験手順の説明に割いたが、BIO RAD 社のキットを用いて行ったクラスでは、実験がやや延長し、全体で65分を費やした。キットの説明書には50分の授業で実施可能とあるが、実際は困難であることがわかった。オリジナルの手法で行ったクラスでは、残りの35分で考察記入までを行うことができた。BIO RAD 社のキットを用いた方法と比較して、たった1段階の実験手順の省略ではあったが、ずいぶん余裕が生じた。

実験の最後には、抽出した DNA について、保存方法 (エタノール中に静かに保存すれば何十年も保存可能であること) や、この DNA から何がわかるのか (DNA 指紋、親子鑑定、犯罪捜査、遺伝子診断など) について簡単に解説した。

以下は、実験後の生徒の感想である。

- ・自分の口の中からあんなに DNA がとれるとは思わなかった。レバーの DNA と似ていた。ヒトも動物も植物もみんな DNA は同じということがわかった。
- ・口腔上皮以外 (ヒトの髪の毛など) でも DNA を取り出してみたかった。
- ・小さいもやもやが大量にあり、自分の目で DNA を確認することができました。この DNA で自分の情報がほとんどわかるなんて驚きました。

資料4

### 実験 口腔粘膜からのDNAの抽出・観察

目的

自分の身の廻りにDNAを知りたい。

準備

1. マイクロチューブ、新法ピペット、試験管、DNA抽出液、95%エタノール、NaCl飽和水溶液、観察用チューブ(透明)、PCR用試薬、PCR用反応管、PCR用反応管キャップ、PCR用反応管ボックス、PCR用反応管ボックスキャップ、PCR用反応管ボックスキャップ

方法

1. マイクロチューブ(反応管)のふたを脱帽し、PCR用反応管ボックスから1つ取り、新法ピペットで自分の唾液を注入する。
2. 口腔上皮細胞を採取する。まず歯ブラシの背側を用いて、右頬の内側を軽く歯ブラシの背側で磨き、唾液を吐き出す。
3. 歯ブラシの背側をPCR用反応管のふたのマイクログラフに入れたら、唾液を吸い取るようにして磨き、PCR用反応管のふたのマイクログラフの口の部分に印刷されているようにして磨いたDNA抽出液を振り、PCR用反応管のふたのマイクログラフの口の部分に印刷されているようにして磨いたら、PCR用反応管のふたのマイクログラフの口の部分をPCR用反応管の内側に押し出す。
4. 歯ブラシの背側を脱帽し、PCR用反応管のふたのマイクログラフの内側に押し出す。
5. マイクロチューブのマイクログラフを開け、歯ブラシの背側をPCR用反応管の内側に押し出す。
6. マイクロチューブのふたを脱帽し、PCR用反応管の内側に押し出す。
7. 新法ピペットを用いて、NaCl飽和水溶液を注入し、マイクログラフを開け、PCR用反応管の内側に押し出す。
8. 観察用チューブに自分の唾液を注入し、マイクログラフの内側を観察用チューブに押し出す。
9. 新法ピペットを、PCR用反応管のふたのマイクログラフの口の部分に印刷されているようにして磨いたら、PCR用反応管のふたのマイクログラフの口の部分をPCR用反応管の内側に押し出す。
10. PCR用反応管のふたを脱帽し、PCR用反応管の内側に押し出す。
11. PCR用反応管のふたを脱帽し、PCR用反応管の内側に押し出す。
12. PCR用反応管のふたを脱帽し、PCR用反応管の内側に押し出す。



実行説明

① マイクロチューブのふたを脱帽し、PCR用反応管ボックスから1つ取り、新法ピペットで自分の唾液を注入する。② 口腔上皮細胞を採取する。まず歯ブラシの背側を用いて、右頬の内側を軽く歯ブラシの背側で磨き、唾液を吐き出す。③ 歯ブラシの背側をPCR用反応管のふたのマイクログラフに入れたら、唾液を吸い取るようにして磨き、PCR用反応管のふたのマイクログラフの口の部分に印刷されているようにして磨いたDNA抽出液を振り、PCR用反応管のふたのマイクログラフの口の部分に印刷されているようにして磨いたら、PCR用反応管のふたのマイクログラフの口の部分をPCR用反応管の内側に押し出す。④ 歯ブラシの背側を脱帽し、PCR用反応管のふたのマイクログラフの内側に押し出す。⑤ マイクロチューブのマイクログラフを開け、歯ブラシの背側をPCR用反応管の内側に押し出す。⑥ マイクロチューブのふたを脱帽し、PCR用反応管の内側に押し出す。⑦ 新法ピペットを用いて、NaCl飽和水溶液を注入し、マイクログラフを開け、PCR用反応管の内側に押し出す。⑧ 観察用チューブに自分の唾液を注入し、マイクログラフの内側を観察用チューブに押し出す。⑨ 新法ピペットを、PCR用反応管のふたのマイクログラフの口の部分に印刷されているようにして磨いたら、PCR用反応管のふたのマイクログラフの口の部分をPCR用反応管の内側に押し出す。⑩ PCR用反応管のふたを脱帽し、PCR用反応管の内側に押し出す。⑪ PCR用反応管のふたを脱帽し、PCR用反応管の内側に押し出す。⑫ PCR用反応管のふたを脱帽し、PCR用反応管の内側に押し出す。

結果と考察

1. 得られたDNAはどのくらい見えたか。

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

観察と検査 (観察点、質問なども合わせて記入してください。)

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

自己評価

今日の実験の振り返り(良かった点、反省点、感想など)を記入してください。1) 実験は楽しかったです。できた。5-4-3-2-1。できなかった。2) 実験の内容は理解できました。できた。5-4-3-2-1。できなかった。3) 実験はできてよかった。よかった。5-4-3-2-1。できなかった。

2年( )組( ) 3番( )

・自分の DNA を初めて見てびっくりした。DNA には色が付いていると思っていたので、白くてびっくりした。DNA は大事に取っておきたいと思います。  
・たくさんの DNA がとれて良かったです。今まで、DNA とはどのようなものかというのを知りたかったので、知ることができて良かったです。もう一人の私に会いたみたいでおもしろかったです。

最初の感想にもあるように、DNA はすべての生物に含まれ、基本的には同じものだということ、当初のねらいが達成されたと思っている。

また、実験後に行ったアンケートによると、実験の成功率はどちらの実験でもおよそ5割であった(DNA の沈殿を目視することができて成功と判断した)。実験の成功・失敗は、口腔上皮細胞の採取にかかっており、上手に大量に採取できた生徒はまず成功するが、懸濁液がほとんど濁らないようでは失敗するようであった。口の中をあまり強く擦りすぎて、出血するようではいけないが、徹底的に採取するようになかなか指示する必要があると感じた。また、実験は楽しく行えたかという質問に対しては、9割以上の生徒が楽しくできたことと答えた。成功・失敗に関係なく、エッペンドルフチューブなど、普段使わない容器を用いたり、実験操作がそこそこ複雑であったりしたことが、興味関心を増すことに働いたようである。

IV. まとめ

自然科学の基本的な手法は実験と観察である。遺伝子や DNA について学ぶのなら、まずは DNA 研究の最初の段階となる DNA の抽出こそが、その第一段階であるという考えのもと、今回の研究および実践を行った。そのことを念頭に置き、いくつかの観点からまとめた。

DNA 簡易抽出法の実験レベル

DNA の抽出というと、難しそうだというのがほとんどの生徒の第一印象であろう。しかし「こんなに簡単に DNA が見られるのには驚いた」という実験後の生徒の感想からもわかるように、予想以上に簡潔な方法で実験ができることは、DNA を学び始める場合の最初のハードルを低くするという意味でも有効であることがわかった。特にブロッコ



リーや鶏レバーを用いた方法では、短時間（一般的な研究手法だと DNA 抽出は 2～3 時間はかかる）に、しかも簡単な実験手順でも見られるということで、授業や講習会に導入するには最適の実験であることが確認された。また、今回開発したヒト口腔粘膜細胞からの DNA 抽出については、方法自体の簡単さ（実験机にほとんど座ったままで行えるという点では、鶏レバーなどよりもはるかに易しい）に加えて、自分自身を材料にできるという点では、生徒の興味関心をより強く引き出せるという観点からも是非導入したい実験の一つとなった。

一方、抽出方法の生化学的な背景に関しては、いくら実験手順が簡単であっても高校生の学習範囲を超えた内容を多々含んでいる（例えば、どの実験でも用いている DNA のエタノール沈殿など）。これらの内容のうちの一部については実験の考察に含めてみたり、発展内容として紹介したりしたが、実験の技術内容にばかりこだわりすぎると、実験本来の目的を見失いかねないので、実験方法の生化学的な技術背景の説明は最小限にとどめられるべきだと考える。すなわち、DNA 簡易抽出実験は、DNA の化学的な性質を理解することを重視するのではなく、“まず DNA を見てみよう” というような、導入実験であると割り切るべきある。

### 簡易抽出法で得られた DNA について

今回の実践のために行ったいくつかの予備実験の最大の目的は、簡易抽出法で得られた DNA の純度を様々な角度から検証してみることであった。

結論から言うと、得られた DNA の純度は、研究室レベルでの抽出操作（CTAB 法など）で得られたものに比べ遜色ないものであった。

得られた DNA の純度は非常に高いものであるという事実は、生徒に実験の背景を紹介するときに大きな武器となる。「簡単な方法だから DNA の純度もあまり高くないよ」と言う場合と「簡単な方法だけど、得られた DNA は様々な解析にも耐えうる純度のものだよ」と言う場合では、後者の方が圧倒的に生徒の興味、関心を喚起するのに役立つ。

生徒実験で DNA の純度や濃度を測定することは難しいが、実験の終わりや場合によっては始めの説明の時に、得られる DNA の純度について触れておくことが大切となる。

### 実験の位置づけ

高等学校の授業に導入するのであれば、何年次にどの科目で行うかということも重要になってくる。今回の実践では、この点について比較検討したわけではないので、取り組んでゆく中で考えたことをまとめておく。

DNA 簡易抽出実験の最大の目的は「DNA を見る」ということであり、導入実験としての性格が強いということは、前述の通りである。故に対象を高校 3 年生の理系生物選択者とした今回の実践授業も、生物 の遺伝子分野の導入実験として行った。しかし、実験内容の遺伝子分野への導入的色合いを強くすればするほど、3 年生で行うよりも、もっと早い時期に行う方がよいと考えるようになった。授業に組み込んで行うなら、多くの高等学校が 3 年生で履修させる生物 で行うよりも、1 年生なら理科総合 B の「遺伝の仕組み」の分野（遺伝子の本体としての DNA という記述はここに出てくる）で、2 年生なら生物 の遺伝の分野（DNA の簡易抽出実験が紹介されている教科書もいくつかある）で行うことが望ましいと考える。確かに、より深く追求できる生物 で行えば、実験の生化学的な背景にもある程度はふれることができるし、その後の授業にもつなげやすい。しかし、生物 の選択者数の少なさを考慮すれば、より履修生徒の多い理科総合 B でこの実験を行った方が、社会のより多くの人々に遺伝子を身近に感じてほしいという、より大きなねらいを達成できるのではないかと考える。

### 今後の課題

より適切な材料探し、より簡易かつ安全でわかりやすい実験方法の検討、得られた DNA の確認のためのより簡便な実験の開発などが今後の課題となるが、これらは実践の繰り返しによって解決されていくと思う。

授業では得られた DNA から何がわかるのかということについても簡単に解説をした。故に多くの生徒が DNA 分析に興味を持ち、何人かの生徒はそれにも取り組んでみたいと思うようになったようである。最初にも述べたが、今回の実験は DNA（遺伝子）研究への誘いとしての性格が強い。「DNA の抽出」は DNA 研究の第一歩である。これに続くものとして第二に「DNA の増幅・解析」（PCR 法に代表される遺伝子増幅法や DNA シークエンスに関わる技術）、そして最終的には「DNA の応用」（組み換え DNA 技術や遺伝子診断など）へと結びつけていける教材や実験の開発が必

要になってくると考える。

一方で、少なからずある「DNAは難しい」、「DNAは何となく怖い」という一般社会でのイメージを払拭するために、まずDNAを身近に感じるという目的で「光る大腸菌を作ろう」(組み換えDNA実験キットを使った実験)とか「遺伝子鑑定に挑戦」(PCR法による遺伝子の増幅)などの授業や体験講座が様々なところですでに行われている。しかし、DNAの基礎について一通り学んだ者が取り組むのならばまだしも、DNAの何たるやさえ全くわからない人に対してこれらの実験を行うことは、一種の手品の感覚でのおもしろささえあれ、DNAや遺伝子の正しい理解を養うには至らないと考える。私は、DNAの基本は、それが生命の設計図でありすべての生物がそのすべての細胞に持っているということだと考えている。まずはすべての生物がDNAを持っていることの証として、それを取り出し比べてみるという実験を行うことは意義のあることだと今回の実践を通してより強く感じるようになった。高等学校だけでなく、小学校や中学校等、教育の場でこのような実験にふれる機会を増やしていくことはもとより、大学や高校の市民公開講座などで取り入れていくことによって、DNAに対する正しい理解を広めていくことが今後の最大の課題となるだろう。

## V. 謝辞

実践授業に関してご協力頂きました岐阜県立東濃高等学校の先生方に深く感謝いたします。

## VI. 参考文献・参考資料

- ・江口隆寛,佐伯恵美子(2003): 青少年のための科学の祭典岐阜大会 in ソーラーアーク実験解説集 (p34~p35: キッチンでできる! 食物からのDNA・遺伝子抽出実験) 青少年のための科学の祭典実行委員会編集
- ・斎藤(2002): Web ページ 10分でできるタマネギのDNA抽出実験  
(<http://asaitou-web.hp.infoseek.co.jp/r2002/0726/index.html>)
- ・横山玲子(2001): Web ページ 納豆菌からDNA抽出  
(<http://www2.tokai.or.jp/seed/seed/seibutsu6.htm>)
- ・高等学校教科書 生物 平成16年度用 数件出版 (p135: 観察・実験 DNAの抽出)
- ・「知っていますか、遺伝子組み換え農作物入門プログラム」(社団法人農林水産先端技術産業振興センター)
- ・森田保久(1997): Web ページ DNA抽出実験  
(<http://homepage3.nifty.com/ymorita/DNAext.htm>)
- ・森田保久(2003): Web ページ DNA確認実験  
(<http://http://homepage3.nifty.com/ymorita/DNAexc.htm>)