

DNAによる水溶液濃度の可逆的調節

茨城県立水戸第一高等学校 生物部 宮部



緒言

【DNAの化学的な性質】

- リン酸同士の負電荷の反発によってリン酸と糖の骨格を外側にした二重螺旋の構造をとる。
- T_m 値に近くなると塩基間の水素結合が切れ、二本鎖が一本鎖に解離する。50%のDNAが解離する温度を T_m 値という。 T_m 値はDNAの塩基の数、溶液の塩濃度、pHの影響を受ける。
- 260 nmの紫外線を持異的に吸収する。変性した1本鎖DNAは変性する前より吸光度が大きくなる。
- 両端のリン酸とヒドロキシ基が遊離の形になることで極性を持つ。
- 水溶液中で負の電荷を帯びる。



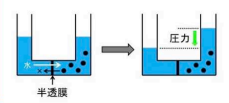
おおよその T_m 値
 $= 4 \times (G, C \text{ の数 })$
 $+ 2 \times (A, T \text{ の数 })$

【溶媒の浸透と浸透圧】

半透膜を挟んで液面の高さが同じ、濃度の異なる溶液があるとき、濃度の低い溶液へ溶媒が浸透するが、圧を加えると浸透が阻止される。この圧を溶液の浸透圧という。

ファンツホッフの法則

$\pi = cRT$
浸透圧は絶対温度と溶液のモル濃度に比例する。



実験の目的

DNAは他の分子にない特異な性質をいくつも持っている。そこで、それらの性質を利用した実験を行いたいと考えた。今回着目したのは、DNAの変性である。DNAは温度変化によって変性し、分子数が変わるので、これを利用して浸透圧を変化させ、水溶液の濃度を可逆的に変化させる実験を行った。

実験の戦略

図1のように、DNA溶液を加熱するとDNAが変性して2分子になるので、DNA溶液のモル濃度は上昇する。すると、拡散の法則によってもう一方の水溶液からDNA溶液へ水が移動する。その結果、溶媒の減った水溶液の濃度が上昇する。DNA溶液を冷却してDNAを再生させれば、逆の操作をすることもできる。
*このとき半透膜の孔は、濃度を調節したい水溶液の溶質より小さいものでなくてはならない。
また、DNAは短く変性しやすいものが望ましい。

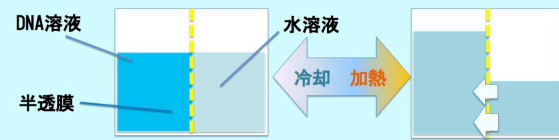
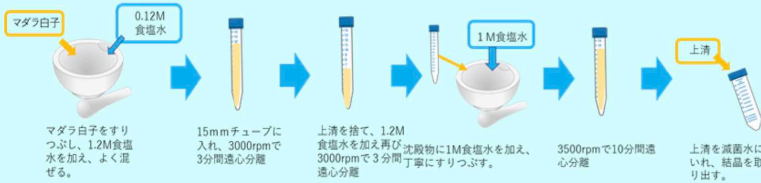


図1 DNAの変性による溶液の浸透

実験

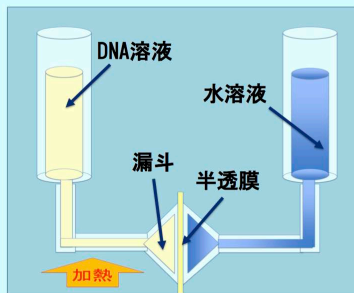
材料 ・ マダラの白子からのDNAの抽出



- スピリリナからのフィコシアニンの抽出
- 半透膜 (VISKING SEAMLESS CELLULOSE TUBING)

使用した半透膜: 分子量10000以上の分子を遮る
フィコシアニン: 分子量約45000

実験



DNA溶液 ……60ml
フィコシアニン水溶液 ……30ml
温度…20℃ → 80℃ → 20℃
(透析1) (透析2)
透析1は4.5 hr、透析2は0/Nで行った

フィコシアニン
高分子で水溶性がある色素で、分子がセルロース膜の孔を通らない。
DNAは、超音波洗浄機によるせん断を60分行った。

表1 フィコシアニン溶液の吸光度変化(615nm)

	20℃	80℃	20℃
1回目	0.3208	0.4471	0.3202
2回目	0.3210	0.4422	0.3203
平均	0.3209	0.4447	0.3203

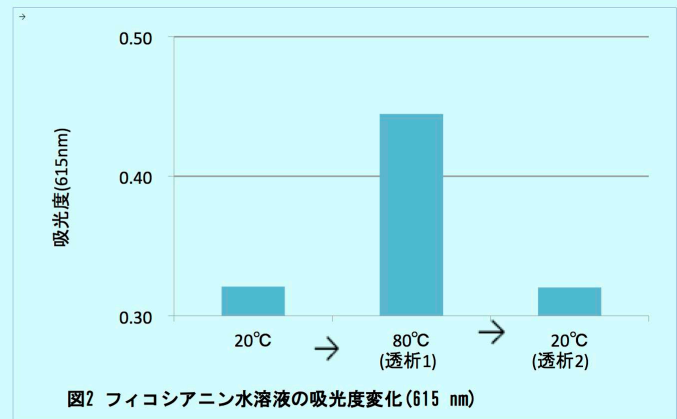


図2 フィコシアニン水溶液の吸光度変化(615 nm)

DNA溶液を加熱してDNAを変性させるとフィコシアニン水溶液の吸光度は上昇し、DNA溶液を冷却してDNAを再生させると変性前に近い値に戻った。これからのことから、DNAが変性し、水の浸透によってフィコシアニン水溶液の濃度が変化したと考えられる。

考察と今後の計画

- 今回の実験では、DNAの変性によって水溶液の濃度を変化させることができた。DNAは変性と再生を繰り返すことができるので、何度でも水溶液の濃度を温度変化だけで操作することができる。この実験は、水溶液の濃縮の新しい手段として活用することができるだろう。
- 今回使用したDNAは、超音波洗浄機によって60分間のせん断を行ったが、この方法ではDNA分子の正確な長さを知ることができず、どれだけDNAが解離できるか調べるができなかった。そのため、温度変化を大きくしてできるだけDNAが解離しやすいように実験することにした。濃度の変化を大きくするためにも、今後はDNAの長さが分かり、かつ効率的なせん断を行いたい。方法としては、制限酵素の活用や、超音波振動子と電気泳動、または、塩基配列を指定できる人口のDNAをPCR法によって増幅させることなどを考えている。
- 実験では4.5 hrかけて透析を行ったが、今後はできる限り短い時間で透析を行えるように工夫したい。フィックの第一法則から、液体の浸透の速度は移動できる面積に比例するので、単位時間当たりに移動する水の量を多くするためには水が移動できる面積を大きくする必要がある。よって、半透膜を挟む漏斗をより大きいものにする事で半透膜の面積を大きくすれば、透析にかかる時間を減らすことができると考えられる。

フィックの第一法則

$$J = -D \frac{dC}{dx}$$

- J は拡散束または流量 (単位時間当たりに単位面積を通過する量)
- D は拡散係数
- c は濃度
- x は位置