

DNA による金属イオンの集積

2年3組 芝籐あす香 2年3組 松下 紗也

2年3組 山本 希美 2年4組 岡原 菜央

指導者 大野 成子

1 課題設定の理由

金属イオンには人の体に必要な物もあるが、その一方で重金属のように、条件によっては人体に悪影響を及ぼすものや公害の原因になっている物も多くある。私たちは工学的な処置ではなく、身近にある物を利用して、金属イオンを集積し、削減させたいと思った。

先行研究から、DNA ビーズを使用することで金属イオンを集積出来ることが明らかになっている。そこで、DNA ビーズではなく、宇和島市の特産品であるみかんのうち、廃棄される事の多い皮の部分から抽出した DNA を代用しても、金属イオンの集積が出来るのではないかと考え、本研究を行った。

2 仮説

DNA がプラスの電荷を持った有機化合物や金属イオンと強く相互作用することが分かっている。これは、DNA の基本骨格にはマイナスの電荷を持ったリン酸基が含まれているためアニオン性高分子としての性質を有していることと、4つの核酸塩基部分に金属イオンを配位する部位が多数存在するためである (図1)。

DNA ビーズを使用することで金属イオンを集積出来ることから、みかんの皮(廃棄物)から抽出した DNA を代用しても、金属イオンを集積出来るのではないかと考えた。

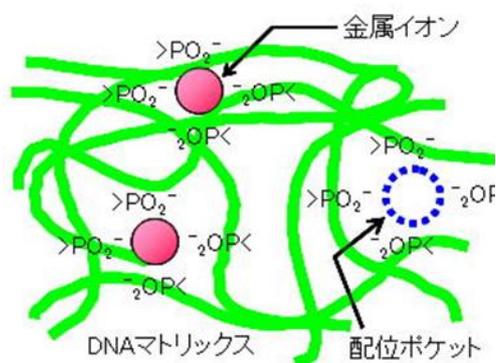


図1 DNA のモデル

3 実験・研究の方法

(1) DNA の抽出(図2・3)

乳鉢に抽出に使う試料を入れ、細くなるまですり潰す。そこに、細胞間の結合を破壊するため、中性洗剤と食塩を水に溶かした溶液を加える。それらを茶こしでこして、冷蔵庫で冷やしておいたエタノールを静かに加え、しばらく待つ(5~10分程度)。その後、浮遊しているもののみを割り箸、ガラス棒などを使って、ろ紙に取り出す。今回は、試料としてバナナとミカンの皮を用いた。



図2 DNA 抽出の薬品



図3 DNA 抽出の様子(ミカンの皮)

(2) 検量線の作成(図4)

ビーカーに塩化銅(II)CuCl₂ 0.10 g、蒸留水 10 mL を入れ、溶液を調製する。その溶液を 5 ppm、10 ppm、20 ppm、50 ppm、100 ppm になるよう調製する。調製した溶液をそれぞれ島津製作所の島津紫外可視分光高度計を用いて、吸光度を測定した。

(3) 金属イオンの集積(図5)

ビーカーに塩化銅(II)CuCl₂ 0.10 g、蒸留水 10 mL を入れ、100 ppm 溶液を調製する。その溶液に DNA を入れて固めたゼラチンを添加して、1 時間後、2 時間後、24 時間後の金属イオン濃度をそれぞれの吸光度と検量線から求めることにより、DNA と金属イオンとの相互作用を評価した。



図4 紫外可視分光高度計



図5 金属イオンの集積

4 結果と考察

(1) 実験-(2) 検量線の作成

測定した吸光度と濃度の関係は次のようになった。(表1・図6)

濃度 (ppm)	吸光度 (Abs)
5	0.056
10	0.117
20	0.234
50	0.565
100	1.148

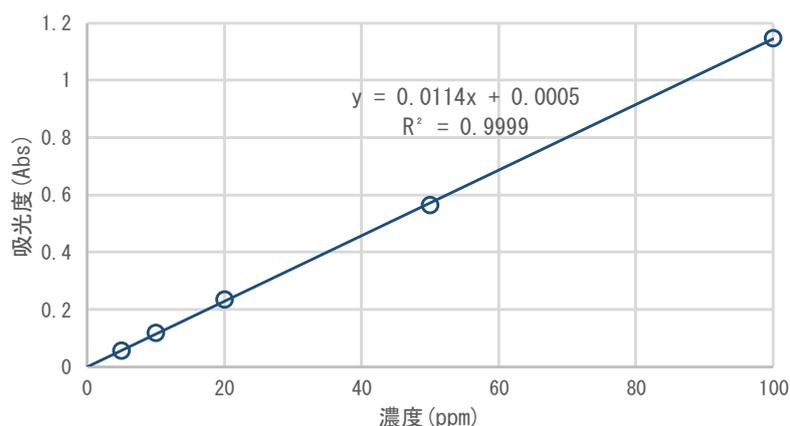


図6 塩化銅(II)CuCl₂の検量線

(2) 実験-(3) 金属イオンの集積(表2・表3・図7・図8)

環境中に存在する有害物質の中にはダイオキシンやPCBのような有機物質だけでなく、鉛Pb、銅Cu、銀Ag、水銀Hgなどに代表される重金属イオンもある。今回はそのうち銅Cuを含む塩化銅(II)CuCl₂水溶液を用いた。

また、DNA を溶液に加えると浮遊して、正確なデータをとる事が出来なかった。DNA を材料として利用することが困難な事柄として DNA が水溶性の高分子であるため、水中で使うことができず不溶化させる必要があるということがあげられる。そこで、ゼラチンを用いて DNA を固めた物を溶液に加え、実験を行った。

さらに、浮遊した DNA やゼラチンの影響も考えるため、対照実験として DNA のみを塩化銅(II)CuCl₂水溶液に入れたものと、ゼラチンのみを塩化銅(II)CuCl₂水溶液に入れたものを用意した。測定結果は以下の通りである。

表 2 時間ごとの濃度変化 (バナナから抽出したもの)

	1 時間後		2 時間後		2 4 時間後	
	吸光度 (Abs)	濃度 (ppm)	吸光度 (Abs)	濃度 (ppm)	吸光度 (Abs)	濃度 (ppm)
CuCl ₂ 水溶液+DNA	0.053	59.693	1.374	108.202	1.374	108.202
蒸留水+DNA	-0.309		0.086		0.086	
蒸留水+ゼラチン	-0.319		0.054		0.054	

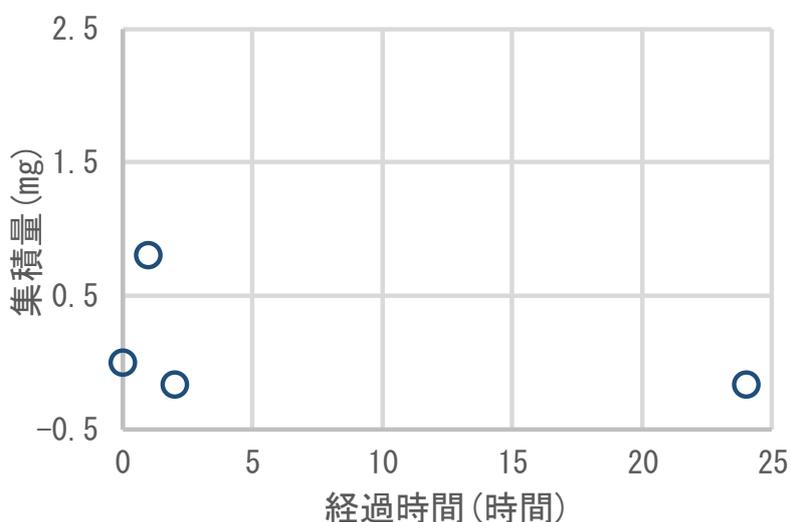


図 7 塩化銅(II)CuCl₂の集積(バナナ)

最初に、基礎研究のため DNA の抽出しやすいバナナ 10g を用いて 5.00 g の DNA を得た。DNA 1 g あたり最大で 0.806 mg の集積が確認できた。このことから、ゼラチンを用いても集積が行えることが言える。また、集積量が負の値を示していることから DNA に対してゼラチンの量が少なかったため浮遊したのではないかと考えられる。

表 3 時間ごとの濃度変化 (ミカンの皮から抽出したもの)

	1 時間後		2 時間後		2 4 時間後	
	吸光度 (Abs)	濃度 (ppm)	吸光度 (Abs)	濃度 (ppm)	吸光度 (Abs)	濃度 (ppm)
CuCl ₂ 水溶液+DNA	0.667	113.65	0.745	53.085	0.761	54.006
蒸留水+DNA	-0.309		0.086		0.086	
蒸留水+ゼラチン	-0.319		0.054		0.054	

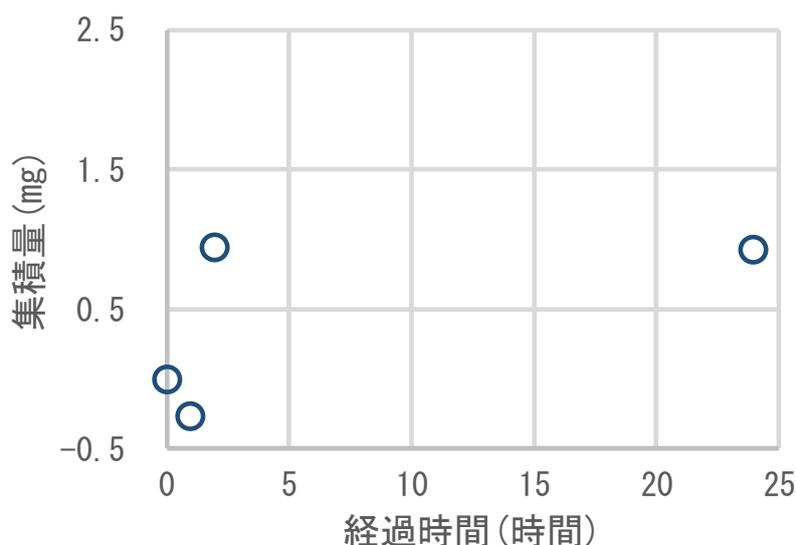


図8 塩化銅(Ⅱ) CuCl_2 の集積(ミカンの皮)

次に、ミカンの皮 10g を用いた。バナナのと看よりも抽出量が少なく、1.50 g の DNA を得た。DNA 1 g あたり最大で 0.938 mg の集積が確認できた。しかし、1 時間後では、集積量が負の値を示していることから DNA またはゼラチンが微量に浮遊していたと考えられる。

塩化銅は、2 時間～24 時間で集積量は一定になる。DNA を入れた溶液の値が下がったことから、DNA により金属イオンの集積ができた。DNA による集積量には限界があり、溶液の値が 2 時間後以降変化していないことから、集積にかかる時間は 2 時間であるといえる。

5 まとめと今後の課題

DNA により 2 時間で金属イオンの集積ができることが明らかになったが、抽出した物質に DNA がどの程度含まれているか確認していなかった。今後の課題としてジフェニルアミン溶液を用いて DNA 量を量る必要がある。また、DNA を魚の白子や動物の物、ほかの果物の皮など廃棄されてしまうものを再利用にしたり、金属イオンの種類を増やしたりして集積量の違いを調べたい。また、集積後の DNA から金属イオンを取り出すために DNA を燃焼させ、酸化銅を得てからそれをメタノールで還元し、取り出した銅を再利用することも考えたい。その他の DNA から金属イオンを取り出す方法や再利用法を検討していきたい。

参考文献

- 岡山理科大学 理学部 化学科 生体高分子研究室
<http://www.chem.ous.ac.jp/~biopoly/naiyou/naiyou3/naiyou3.html>
- 藤澤(2015)「DNA 担持磁性体の創製とその金属イオンの集積能」『平成 26 年度 岡山理科大学 理学部 化学科 卒業研究』
- 山田ら(2003)「汚染物質除去材としての DNA」『J-STAGE 2003 年 52 巻 3 号 P. 134-137』
- 山田ら(2011)「DNA-無機ハイブリッドビーズによる重金属イオンの集積」『第 60 回高分子討論会』
- 山田ら (2009)「DNA フィルター」『バルカー技術誌 Winter 2009 No.16』
<http://www.valqua.co.jp/wp-content/uploads/pdf/technical/16/vtn016-03.pdf>