

研究主題

高等学校生物「遺伝子とその働き」 における観察・実験に関する研究

— 遺伝子を扱う教材・教具の開発と活用方法の構築を通して —

【研究担当者】熊谷 篤

【この研究に対する問い合わせ先】

TEL: 0198-27-2742 FAX: 0198-27-3562

E-mail: kagaku-r@center.iwate-ed.jp

1. はじめに

遺伝子

を取り巻く
状況の変化

○学校教育…2002年に遺伝子実験が可能に
〈様々な教育的効果〉
・知識・理解の向上
・知的好奇心の向上
・感動

○社会的な関心…遺伝情報への価値の高まり
〈遺伝子リテラシー教育の重要性〉
・遺伝子検査ビジネスの始まり
・科学技術イノベーション総合戦略
(技術開発)

↓ ↓ ↓ ところが・・・

○学校教育が追いついていないため科学的・倫理的問題を国民一人一人が解釈・解決できる状況とは考えにくい。*1 【厚生労働省, 2016】

理由

遺伝子実験の実施を妨げる3つの「無い」*2
● 器材 ● 予算 ● 経験

実態調査から県内でも同様の状態が続いている。

そこで!

本研究の目的: 教員が遺伝子分野の観察・実験を行いやすい環境を整える

注目

第一学習社「高校生物」に掲載されている「PCR法を用いるイネの品種判別実験」に注目し、教科書では取り扱われていない岩手県産品種を導入し、生徒が実験結果を考察することでより興味・関心を引き出すことができると考え、実験実施のための教材・教具を開発しました。

・品種判別実験の概要

①いもち病耐性遺伝子 Pii

②コシヒカリ由来の塩基配列

二つの遺伝子の有無から品種判別を行う実験である。教科書では、ひとめぼれ、あきたこまち、コシヒカリが用いられている。

プライマー I

ひとめぼれ、あきたこまちが持っている、いもち病耐性遺伝子 Pii 領域(1610bp*)を増幅する。

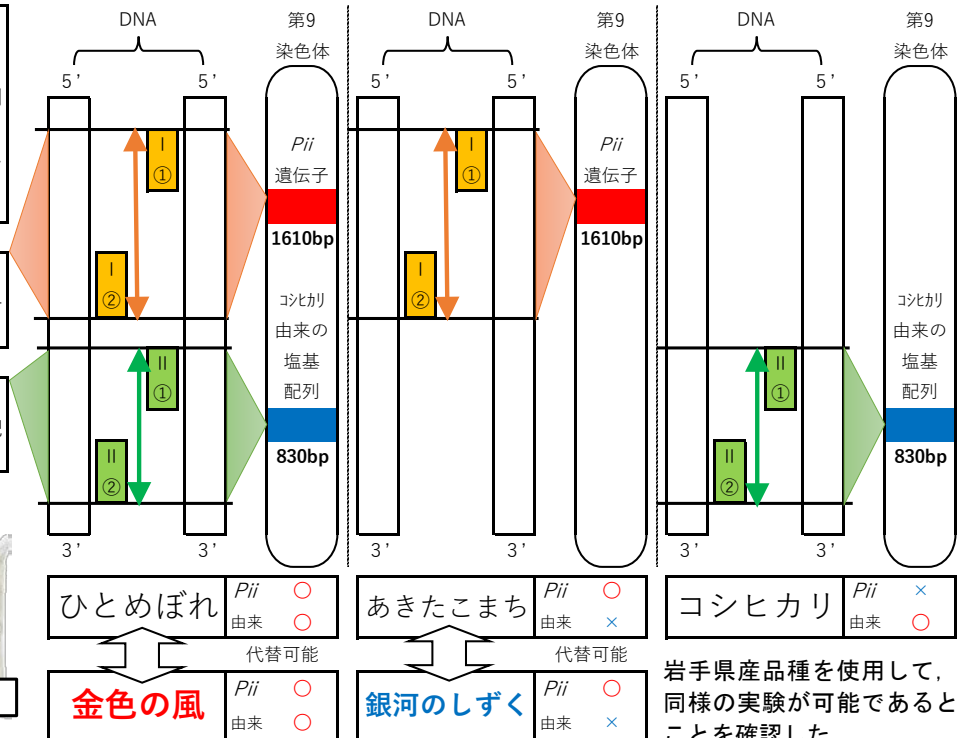
プライマー II

ひとめぼれ、コシヒカリが持っている、コシヒカリ由来の塩基配列(830bp)を増幅する。

*bp(base pair)は、塩基対の数である。



出典: 岩手県農業研究センター



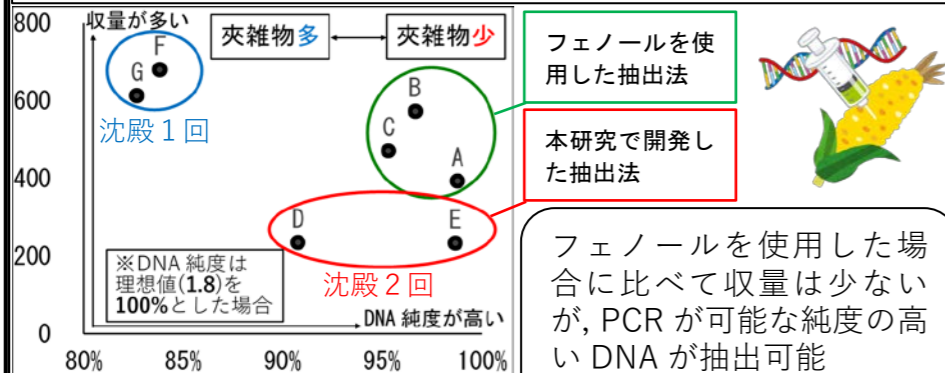
岩手県産品種を使用して、同様の実験が可能であることを確認した。

2. 開発した教材・教具

安全な DNA 抽出法開発と DNA 染色試薬の選定

・安全な DNA 抽出方法

抽出に必要な劇物のフェノールを使用せず、エタノール沈殿を2回行って夾雑物を除去する DNA 抽出方法を開発しました。



・発がん性のない DNA 染色液

教員の実験準備や安全管理の負担を軽減するために、エチジウムブロマイドのような発がん性がなく、生徒が安全に使用できる DNA 染色液を選定しました。

| | SAFELOOK™ プレググリーン | ViewaBlue® Stain |
|------|-------------------|------------------|
| 染色像 | | |
| 発がん性 | 無 | 無 |
| 結果確認 | 強力なUVライトか490nmLED | 可視光(特別な装置不要) |
| 観察 | 泳動後すぐ観察可能 | 染色・脱色が必要 |
| 扱い易さ | 生徒が扱える | 後日でも観察可能 |

※背景色の違いは、染色液及び光源の違いによる影響

高価なサーマルサイクラーを使わない PCR 法

・PCR の原点である人力サーマルサイクラーに注目

高価な器具であるサーマルサイクラーを使用せずに、より短時間で実験を行うことが可能となりました。また、PCR の原点である人力による温度制御を生徒に体験させることで、原理を深く学ぶことができます。

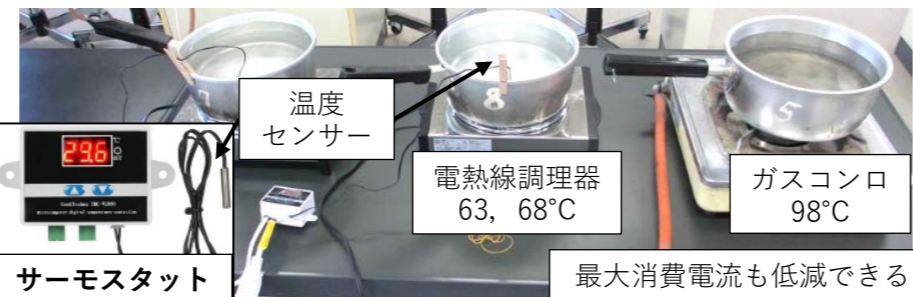


人力サーマルサイクラーを用いることで、実験時間を短縮できる。

さらに！
高速反応が可能な DNA 合成酵素 SapphireAmp® Fast PCR Master Mix を利用することで更なる時間短縮が可能

従来の方法 約 110 分
開発した方法 約 30 分
80 分も短縮

〈人力サーマルサイクラーを安価に行う方法〉

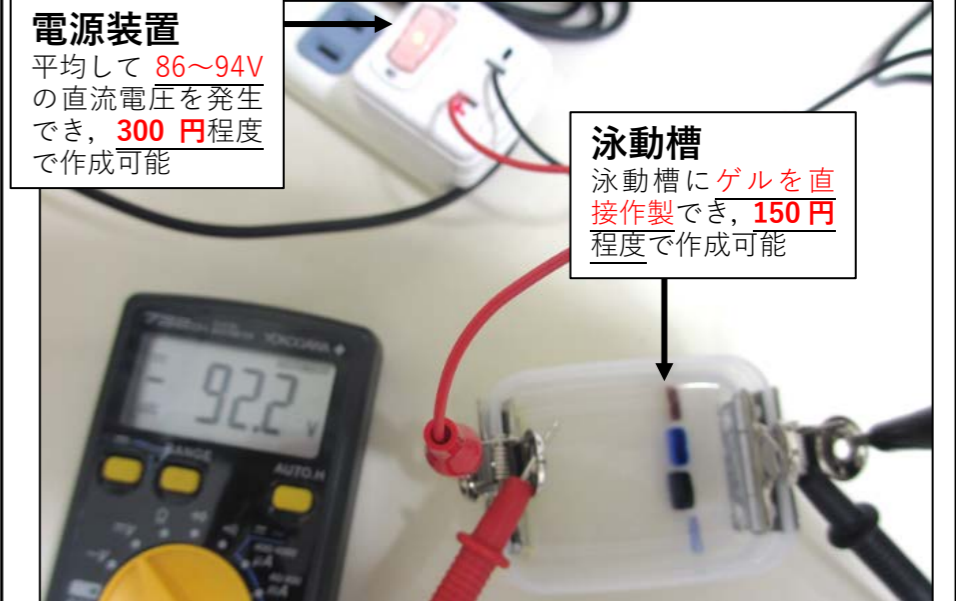


最大消費電流も低減できる

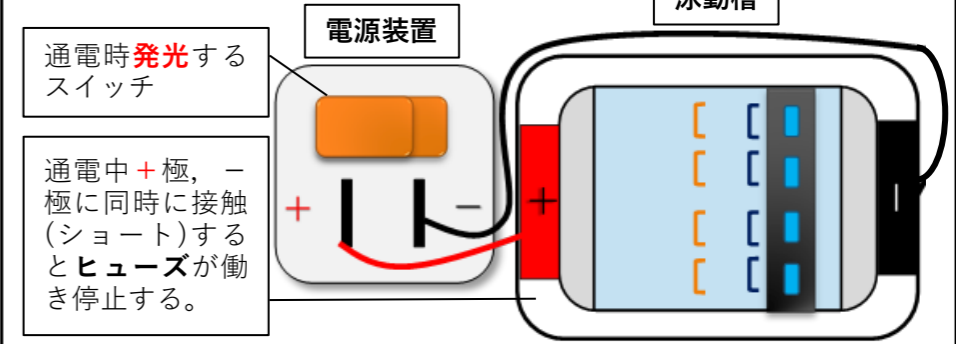
安価に自作できる電気泳動装置

・本研究で作成した電気泳動装置の概要

安価な材料で作成できるため、多くの生徒に電気泳動を体験させることができます。



・電気泳動装置の模式図

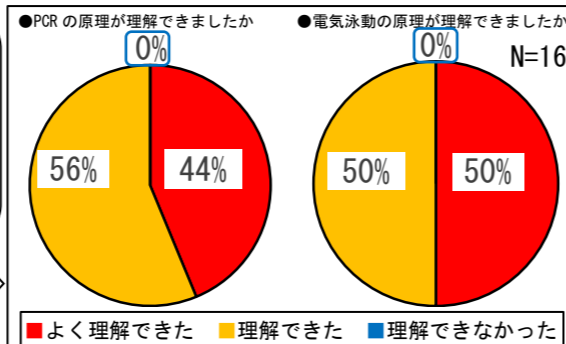


開発した教材・教具による効果

品種判別実験の体験から得られる効果

- ・PCR や電気泳動に対する興味や関心が高まる。
- ・生徒が実験器具に触れるため実感が高まる。
- ・品種判別の過程から遺伝子を扱う技術への有用性に関する理解が深まる。

授業実践後の生徒向けアンケートの結果



本研究で行った授業実践を体験した生徒の感想

- ・人力サーマルサイクラーを使って機械の行う操作を行うことが楽しかった。
- ・自分たちの身近にある米についての新たな発見があり、今後の見方が変わってくると思う。
- ・米自体の種類とかは知っていたけど、遺伝子について全然分からなかったので、今回の授業の実験で深く知ることができたので良かったです。少し遺伝子について興味がわいてきたので、また、今回のような事を違うもので調べたいと思いました。
- ・自分の手を使い実験することで理解が深まった。
- ・初めて体験することが多く、とても楽しかったです。実際に体験してみることで実験の作用なども詳しく分かった。

PCR 法を実際に体験することにより、生徒の興味・関心につながる事が示唆されました。

3. 実験解説書

・見やすく、分かりやすい実験解説書

実験器具の使い方や注意事項を図解で提示

やってみよう！ 遺伝子実験（実験手順）

◇マイクロピペットの使い方の練習

試薬の調整やPCRなどの遺伝子実験にマイクロピペットは必ず必要になります。自分で試薬調整を行うだけでなく、生徒に行わせる実験もありますので、使い方を覚えておくことをお勧めします。

【操作】

(1)目盛り調節ダイヤルを回してセットする【図22】。

| | | |
|--------|-------|-------|
| P20 | P200 | P1000 |
| 1 | 1 | 0 |
| 2 | 2 | 7 |
| 5 | 5 | 5 |
| 12.5μL | 125μL | 750μL |

【図22】マイクロピペットの目盛りの読み方

※注意

故障の原因となるため、目盛り調節ダイヤルを回す際には、**容量の範囲を超えて回さない**ようにすること。

(2)親指でプッシュボタンとチップイジェクターボタン(p.7、【図10】参照)を押せるように、片手でハンドグリップを手のひら側の向きになるように握る【図23】。



【図23】マイクロピペットの握り方

③DNAを保護する緩衝液

緩衝液(Buffer)とは、少量の酸や塩基を加えても、希釈して濃度を変えても、その影響を緩和してpH(水素イオン指数)をほぼ一定に保つ働き(緩衝作用)をもつ水溶液のことです。遺伝子実験では、電気泳動や冷却による水溶液の変化からDNAを保護する目的で使用されます。

⑦ 0.5M EDTA (pH8.0)

EDTA(エチレンジアミン四酢酸)は、Ca²⁺、Mg²⁺等を除去するキレート剤で、金属イオン要求性のDNA分解酵素を不活性化し、DNAの分解を抑制します。

【表4】0.5M EDTA(pH8.0)の調整に必要な試薬

| 試薬もしくは溶液 | 1L作成 | 500mL | 200mL | 最終濃度 |
|-----------------------------------|---------|--------|--------|-------|
| EDTA (EDTA 2Na 2H ₂ O) | 186.1 g | 93.1 g | 37.2 g | 0.5 M |
| 固形化NaOH (pH調整用) | ±20 g | ±10 g | ±4 g | |
| 5N NaOH (pH調整用) | 適量 | 適量 | 適量 | 5M |
| 蒸留水 | 適量 | 適量 | 適量 | |

【調整方法】(1L作成時)

- (1)800 mLの超純水にEDTAの粉末をゆっくりに加えマグネチックスターラーで攪拌する。
- (2)固形化NaOHを少しずつ加え、EDTAを溶かす(pHの上昇に伴って溶ける)。
- (3)EDTAが溶けたら、水酸化ナトリウム溶液でpHを8.0にし、1Lまでメスアップする。
- (4)オートクレーブして常温保存する。(121℃、20分)



実験器具の自作方法や型紙を掲載

試薬の役割の説明や調整方法を掲載

授業展開案も掲載

組立手順

- ⑦+極側の足を長めに切り取り、残った側を+極側の端子に接触するように折り曲げる。
- ⑧切り取った足を図のようにフック状に折り曲げる。(ヒューズ用の配線として使用する)
※白丸は半田づけする場合
- ⑨右図のようにカッターで切り取りヒューズを押し込む場所を作る。
- ⑩切り取った部分にヒューズが入るか確認し、入らない場合はさらに深く切り取る。
- ⑪右図のように右側のコンセント穴から赤の配線を通し、切り離しておいたコンセント端子に配線をねじって巻きつける。
- ⑫右図のように巻き付けた後で配線を引張り、配線がほどけないことを確認する。

②人カサマールサイクラーを用いたPCR

② PCR 試薬の役割

| 試薬名 | 役割 | 調整方法 | 注意事項 |
|--------|-----------|------|-----------|
| PCR 試薬 | DNA 複製に必要 | 規定量 | DNA 複製に必要 |
| PCR 試薬 | DNA 複製に必要 | 規定量 | DNA 複製に必要 |

③ PCR 試薬の調整方法

④ PCR 試薬の調整方法

⑤ PCR 試薬の調整方法

やってみよう！ 遺伝子実験

PCR 法を用いる実験の解説書

ぜひご一読ください

・他にも自作できる実験器具や教員の負担を軽減する器具を掲載

人力遠心分離機

強力な回転が発生

ぶんぶんゴマの原理を応用

安価なマイクロピペット立て

ネット専用フック

便利なチューブ・チップ立て

氷冷しながら立てられる

複数種類を同時に立てられる

PCRの結果

明瞭なDNAの増幅を確認

4. おわりに

研究の詳細は、当センターWeb ページに掲載している研究報告書と実験解説書をご覧ください。

岩手県立総合教育センターWeb ページ : <http://www1.iwate-ed.jp/>

本研究の掲載ページ : <http://www1.iwate-ed.jp/kankou/kkenkyu/174cd/h30tyou.html>

【参考文献】

- * 1 厚生労働省 (2016), 『ゲノム医療等の実現・発展のための具体的方策について (意見とりまとめ)』
ゲノム情報を用いた医療等の実用化推進タスクフォース
- * 2 貝沼喜兵・大藤道衛・中島春紫・斉藤淳一・飯田秀利・原田和雄・小林興 (2005), 「科学教育研究」
『現職教員の中・高等学校生物教育に対する認識と展望—SPP 研究会参加者のアンケート調査より—』