

## 2.2 遺伝子工学の基礎1 ～プロトプラストの作成と細胞融合～（生物分野）

### (1) 研究開発の課題（概要）

本校生物のSSHでは動物を扱う内容が多かった。生徒の興味関心を新たな方向に向けるため、昨年度より、「植物を用いた遺伝子工学の基礎」を実施している。植物のプロトプラストは酵素処理で容易に作成することができ、光学顕微鏡で観察しながら異種細胞間での細胞融合を行うことができる。今年度は、実習の後に、岐阜大学応用生物科学部・福井博一教授に、植物育種や細胞工学の最先端の話題を講義していただいた。さらにワークショップとして岐阜大学で組織培養の実験をお願いし、その結果についてのまとめの講義を福井先生にしていただいた。

### (2) 研究開発の経緯

今回は一連の実習として、

- ① 生徒実験「プロトプラスト作成と細胞融合」（本校）
- ② 福井先生の特別講義（本校）
- ③ ワークショップ「組織培養」（岐阜大学）

という流れを計画した。4月に打ち合わせに伺った際、福井教授のご好意で、さらに、

- ④ 特別講義 第2回（本校）

が加わり、非常に充実した内容になった。

### (3) 仮説（ねらい、目標）

- ・植物細胞のプロトプラストを作り、異種細胞間での細胞融合を観察する。
- ・実験操作を通じて、器具の扱いや各操作の目的および原理への理解を深める。
- ・講義を通じて、植物のバイオテクノロジーについての知見を得る。
- ・実験・観察・レポート作成を通して、主体的に探究する態度を身に付けさせる。

### (4) 研究の方法・内容

ア 対象生徒 3年理系生物選択者 全員（男子7名・女子35名）

#### イ 実施日程

(7) 生徒実験	1組	6月2日(前処理)・3日(実験)	生物実験室
	2組	5月24日(前処理)・25日(実験)	生物実験室
(イ) 特別講義(第1回)		6月11日	視聴覚教室
(ウ) ワークショップ		7月17日	岐阜大学
(エ) 特別講義(第2回)		9月22日	視聴覚教室

#### ウ 実施内容

##### (7) 生徒実験

赤と黄のバラの花弁を酵素液(ペクチナーゼ、セルラーゼを含む)で約24時間処理し、プロトプラストを作成した。赤バラと黄バラのプロトプラストを観察し、それぞれの色素が細胞内のどの部分に存在しているかを確認した。両プロトプラストを混合し、ポリエチレングリコールを作用させて細胞が融合する過程を観察した。



細胞融合したプロトプラスト

##### (イ) 特別講義(第1回)

「植物のバイオテクノロジー」という題で、講義をしていただいた。

現在、園芸・農業分野においてバイオテクノロジーは欠くことのできない技術である。この基本技術として、組織培養・細胞培養・細胞融合・遺伝子組換えなどがある。これらは、育種・大量増殖・遺伝子資源の保存という3つの柱で成り立っている。植物培養の歴史は、ザックスの植物の成長に必要な元素の研究にさかのぼる。

組織培養についていえば、1900年代初頭から探索が始まり、培地の開発が続いた。

1990年以降は遺伝子組換えなどの新技術が開発されて今にいたる。この中の1つ、プロトプラストの細胞融合は簡単に行えるが、細胞融合で新しい植物の育成は難しい。これはどちらの遺伝子が発現するか不明なため、特に類縁関係の遠い細胞融合植物は実用的ではなかった。

遺伝子組換えは、目的とする遺伝子を見つけ、それを他の植物の DNA に導入する方法である。園芸分野では特に、「青いバラ」作出のための研究が有名である。赤バラはシアニジンという赤い色素をもち、花の青いデルフィニウムはデルフィニジンという青い色素をもつ。この2つの色素は特定の位置に水酸基が1つあるかないかの違いである。シアニジンをデルフィニジンへと変化させるのに必要な酵素を作ることができれば、青バラも可能である。酵素合成に必要な遺伝子をパンジーから取り出し、バラの DNA に導入、青色色素合成を可能にし、青いバラ(実際には藤色)を作出した。



福井先生の講義

#### (ウ) ワークショップ

組織培養実験を岐阜大学で行わせていただくというワークショップを計画したところ、27名の希望者があった。内容についてはワークショップの項を参照。

#### (エ) 特別講義(第2回)

ワークショップでは、さまざまなホルモン濃度の培地で、トルコキキョウの組織培養を行った。特別講義第2回では、2ヶ月間培養した植物を取り出し、葉・茎・カルス・根の数を調べ、結果をまとめた。その結果より、植物の成長に与えるオーキシンとサイトカイニンの濃度の影響を考察、福井先生のまとめを伺い、一連の実習のまとめとした。



根や茎の数を数える生徒

#### (5) 検証(成果と反省)

##### ア 事業内容全体の評価

今回、岐阜大学応用生物科学部・福井博一教授の全面的な協力で、本実習を計画することができた。生徒はまず、特別講義1で植物のバイオテクノロジーに関して系統だった知識を学んだ。次に実験と特別講義2を通じて、生物の教科書に既に記載されている事実を確認した。さらに大学で実習をさせていただくことで知的好奇心や、研究に対する姿勢も学ぶことができた。全体をひとつの流れとしてとらえても、まとまりがあり、非常に有意義であったと考えている。

##### イ 研究開発実施上の問題点及び今後の研究開発の方向

ホルモン濃度を変えた培地を数百本作るということは、高校では困難である。今回は大学にすべてお願いしてしまったが、工夫したい。特別講義2は時間不足であったため、生徒の考察の厚みが不足した。来年度は、葉・茎などの数を調べるところまでは授業で行うなど、一考したい。

## 2.3 遺伝子工学の基礎2 ～DNAと電気泳動～（生物分野）

### (1) 研究開発の課題（概要）

本校で実施する特別研究は、生徒の身近な自然や生物に対して興味と関心を持てるように、直接手で触れられる、小さくても顕微鏡を使って目に見える生物を教材として扱うようにしてきた。

教科書にも PCR、制限酵素、DNA リガーゼなどが扱われている。そこで本校でも何を行っているかなるべく理解できるように実習を工夫し、DNA の多型を制限酵素で切れる塩基配列が有るか無いかを電気泳動を使って区別する実習を昨年から実施している。今年はさらに生徒が身近に感じるように DNA を米から採取し、PCR で増やす作業も実習に加えて計画した。

7月2日（金）に生徒が日頃食べているお米を、生徒全員から、精製水の入ったマイクロチューブに数粒ずつを回収した。本校には PCR 装置がないので中部大学の川本善之准教授に協力していただき、生徒の中から希望者を募り生徒自身の手で DNA の抽出、増幅を行なった。この増幅した DNA を特別研究で扱うサンプルとした。

第1回は初めて扱うピペットマン、電気泳動装置に慣れるために、ピペットマンの操作練習、サンプル（DNA）の準備、ゲルへのアプライの練習を1時間行った。第2回は、準備した DNA を電気泳動で分離し、染色液で DNA を染色、脱色を行い、DNA の多型を区別した。

### (2) 仮説（ねらい、目標）

目に直接見えない DNA を増やし、DNA の多型を区別できることを日頃食べているお米を使って実習で体験することにより、これからさらに大学で学ぶ生徒たちが遺伝子への関心を高めることをこの研究のねらいとした。

### (3) 研究の方法・内容

#### ア 対象生徒

3 学年理系生物選択者 42名（男子7名、女子35名）

#### イ 実施日程等

第1回	1組	日時	7月14日（水）	2限
		場所	本校生物実験室	
	2組	日時	7月13日（火）	1限
		場所	本校生物実験室	
第2回	1組	日時	7月20日（火）	2限
		場所	本校生物実験室	
	2組	日時	7月14日（水）	2限
		場所	本校生物実験室	

#### ウ 実施内容

本校の SSH の特別研究は、生徒の身近な自然や生物に対して興味と関心を持てるように、直接手で触れる、小さくても顕微鏡を使って目に見える生物を教材として扱うようにしてきた。

生物学が進み、図説だけでなく教科書にも DNA、PCR、制限酵素、DNA リガーゼなどが扱われている。そこで本校でも、DNA の多型を電気泳動を使って区別する実習を計画した。そして DNA の多型の区別から食べているお米の品種を推定する実習を計画した。

本校には PCR 装置がないので、中部大学の川本善之准教授に教員の指導と DNA の増幅も協力していただいた。実習に使う DNA サンプルをお米からとるため、7月2日に生徒各自の家から食べているお米を回収し、7月3日（土）に DNA の抽出、増幅をワークショップ形式で行った。



ピペットマンを操作する生徒

第1回の実習は、初めて扱うピペットマンの操作の練習として、2段押しの操作、1段目を使い液体を吸い取り、2段目を使い押し出す練習を行った。その後、翌日行う電気泳動の練習のためゲルへアプライの練習を行った。

第2回の実習は、班に一つずつのゲルを渡し、使用するセルの割り振りを決めさせ、サンプルをアプライさせた。電気泳動で DNA を分離する間に、実習のねらい、電気泳動後の DNA の染色、脱色の操作方法を説明した。

DNA を染色することの基本的な危険性を説明し理解させ、ゴム手袋を使い慎重に操作させた。電気泳動の結果は染色液に安全性のより高いミュージッドブルーを使った。残念ながら6個のゲルでバンドが観察されたものは数個であった。念のため、協力していただいた中部大学の川本善之准教授にエチジウムブロマイドを使って同じように電気泳動を行ってもらいと多くのサンプルでバンドが観察でき品種の決定が行えた。

#### (4) 検証（成果と反省）

生徒の実習を行っている態度等を見ると、本当に実験を楽しんで行っていることがよくわかった。また、生徒の感想を見ると、「本当に実験らしい実験を行った気がする」、「電気泳動のしくみが本を読んでもわからなかったが、実習を行ったらそのしくみが理解できた気がする」などこの実習を非常に肯定的にとらえていた。したがって、生徒たちの生物への関心をより高めるために、この実習は非常によいものと考えられる。



ゲルにアプライする生徒

昨年の反省から、電気泳動装置を1台増やしたので、班に一つのゲルを渡し、各班で DNA マーカーと各自のサンプルをどのセルに入れるかを計画させることができた。また効率よくゲルへのアプライ等ができ、実習をうまく運ぶことができた。

電気泳動の結果をエチジウムブロマイドとミュージッドブルーで目で見るには相当の DNA 量の違いがあることがよくわかった。すべての装置を高校で持ち、すべての薬品を自由に高校で扱えるわけではないので、予備実験をして計画を立てることが難しい実習であった。今年はこの経験を生かし、より身近なものを使い、より生徒の印象に残る特別研究を計画、実行したい。



電気泳動の結果を観察する生徒たち