

遺伝子を活用する能力を向上させるための高等学校 「生物基礎」における遺伝子実験の試み

井上陽子*, **, 谷口泰史***

(平成29年6月13日受付, 平成29年12月4日受理)

A Model Lesson for the Development of Genetic Literacy with New Laboratory Work in Upper Secondary School “Seibutsu-Kiso” (Basic Biology)

INOUE Yoko *, **, TANIGUCHI Yasushi ***

To improve the genetic literacy of upper secondary school students enrolled in “Seibutsu-Kiso” (Basic Biology in the new National Course of Study), a model lesson with new laboratory work was performed. In the course of the lesson, the students isolated DNA from their own oral mucosa cells and cells derived from the tail fins of zebrafish. The *Sox2* gene from the two DNAs was then amplified by PCR, using the same primer set. Using agarose gel electrophoresis, the students observed two DNA fragments from human and zebrafish, and noticed that the human DNA fragment was of a different size from the zebrafish one. The students could visually understand the conservation and diversity shown by comparing the nucleotide sequences of the *Sox2* genes between the two species. Therefore, the lesson we enacted improved the students’ ability to recognize gene structures, and resulted in developing their genetic literacy.

Key Words : conservation and diversity, genetic literacy, laboratory work, *Seibutsu-Kiso*, *SOX2* gene

I はじめに

平成21年3月に告示された高等学校学習指導要領において、教科「理科」の中に「生物基礎」などの「基礎」を付した科目が設定された。これら「基礎」を付した科目の目標は、「日常生活や社会との関連をはかりながら（中略）、（物理学、化学、生物学および地学の）基本的な概念や原理・法則を理解させ、科学的な見方や考え方を養う。」とされている⁽¹⁾。したがって、「基礎」を付した科目では、生徒が日常体験するさまざまな事象を素材とした授業の実践が望ましいと考えられる。すなわち「生物基礎」は”Science for All”の科目として設定されており⁽²⁾、また、現代社会においては、親子鑑定、病気の診断、災害による犠牲者の身元確認、作物の品種鑑定など、DNAのもつ情報の解析が必須条件となっている事項も多い。そのため、「生物基礎」において、何らかの形でDNAの構造や機能に関わる実験を生徒に体験させ、最低限の「遺伝子リテラシー」を身に付けさせることが必要であると思われる。ここで、「遺伝子リテラシー」とは、

遺伝子を活用する能力のことを意味し、実験を通して効果的に学んでいこうとすることと定義する。しかし、「遺伝子」の性質や機能に関する実験や探究学習の具体例は、高等学校学習指導要領解説理科編⁽³⁾には記載されていない。また、5社の「生物基礎」の教科書（第一学習社、平成28年度用、実教出版、改訂版平成29年度用、啓林館、改訂版平成29年度用、東京書籍、改訂版平成29年度用、数研出版、改訂版平成29年度用）を調べてみると、「DNAの抽出実験」や「DNA模型の作製」が掲載されている程度であり、DNAの機能そのものに関する実験は含まれていない。倉林と武村⁽⁴⁾⁽⁵⁾及び武村⁽⁶⁾は、DNAの分子においては肉眼で見えないことから、生徒自身が分子に対して誤った理解や認識を持ちやすいことを指摘しているが、高野ら⁽⁷⁾は肉眼で見えない分子を可視化し、具体的に分子を比較する実験が可能になれば、生徒がDNAや遺伝子などの分子の物性を正しく理解し、分子生物学の教育に大きなメリットがあると報告している。

高等学校で手軽にできる分子生物学の実験は、多い

* 兵庫教育大学大学院連合学校教育学研究科学生 (Doctoral program student of the Joint Graduate School in Science of School Education, Hyogo University of Teacher Education)

** 東海大学医学部分子生命科学客員研究員 (Visiting Researcher in Department of Molecular Life Sciences, Basic Molecular Science and Molecular Medicine, Tokai University School of Medicine)

*** 東海大学医学部分子生命科学 (Department of Molecular Life Sciences, Basic Molecular Science and Molecular Medicine, Tokai University School of Medicine)

とは言い難いのが現状ではあるが、その中でも実験の準備や機器などの利便性からキットを用いた実験は行われつつある⁽⁸⁾⁽⁹⁾。たとえば、バイオラッド社からは、「Biotechnology Explorer キット」として、「バクテリアの遺伝子組換えキット」や制限酵素処理と電気泳動を組み合わせた「DNA 分析キット」などが販売されており、貝沼ら⁽¹⁰⁾、熊木ら⁽¹¹⁾、小川⁽¹²⁾などは、このキットを使用した生徒実験を実践し、実験により生徒の学習意欲を引き出すことが可能になったと報告している。一方、伊藤と大高⁽¹³⁾は、バイオラッド社のキットを用いた遺伝子組換え実験を体験した高校生の理解状況を調査し、実験全体の意味を理解していない生徒が4、5割いたこと、また、各実験操作の意味を理解せずに実験を行っていた生徒も多かったことを指摘している。したがって、キットを用いての生徒実験の有効性については、さらに多くの実践例を集めて解析する必要があるが、それぞれの実験キットは、高価（たとえば、pGLO バクテリア遺伝子組換えキットは、4人／グループ×8グループ用1キットが15,000円）であり、また、実験に際しては、キット以外に必要な機器もあるため、高等学校で容易に実施できる状況にはない。

斎藤⁽¹⁴⁾は、PCR法を取り入れた実験の授業実践後の生徒によるアンケート結果から、生徒の興味が最も高かった実験は、生徒の毛髪からのDNAの抽出とPCR法による*ras* 遺伝子の増幅であったことを報告している。また、池内⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾は、高校の生物の教科書にはヒトに関する遺伝や遺伝子については、ほとんど記述がないことを指摘し、教科書に記述がなくても「ヒトの遺伝」を授業で取り入れている高校では、生徒は生物学に対して強い関心を持つとともに、学習意欲も高いことを報告している。これらの報告は、高校生が「ヒトの遺伝」や「自分の遺伝子」について強い興味や関心を抱いていることを示しており、「遺伝子の構造や機能」に関する生徒実験を行うときには、「ヒトの遺伝子」を扱うとより効果的ではないかと推測される。ヒトの遺伝子を用いた生徒実験としては、アセトアルデヒド脱水素酵素の遺伝子多型⁽¹⁷⁾や耳垢の性質（表現型）⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾に関する遺伝子多型を調べることが報告されているが、これらはいずれも生徒の個人情報情報を明らかにする可能性があり、一般化は困難である。また、これらの遺伝子の解析は同一種内の多様性を検討する教材としては有効であるが、学習指導要領に示されている「共通性と多様性の視点」、言い換えれば、「生物は多様でありながらも共通性をもっている」こと、「現存している生物は起源を共有している」こと⁽³⁾などの進化の視点を取り入れた教材としては不十分である。したがって、生徒自身の遺伝子を扱いつつも異種の生物の同じ機能を持った遺伝子に着目し、「同じ機能を持った遺伝子でもその塩基配列は、同じところもあれば、違うところ

もある」ということを検証できる実験の開発を試みることにした。

筆者らは当初、生物種が違って動物に広く保存されているβ-アクチン（細胞骨格の成分）の遺伝子を対象に、種間での実験を試みたが、ヒトではβ-アクチンの遺伝子の他に、筋肉を構成するα、γ-アクチンや偽遺伝子も検出されてしまったため、教材としては適切でないことが判明した。したがって、扱う遺伝子は、①生物種が違って保存されていること、②基本的な遺伝子構造（保存されている遺伝子の塩基配列を示す）が生物種によってあまり差がないこと、③PCRで増幅しやすいこと、④PCRで目的とする領域以外に類似した配列が増幅されてこないことなどを基礎的な条件とし、さらに、偽遺伝子が検出されないようにイントロンが存在しないこと、ヒトの疾患が検出されないことなどを考慮した結果、転写調節因子の遺伝子を実験対象として用いることが有効であろうとの結論に達した。また、生徒の興味・関心を引き出し、生活との関わりの中で、将来、再生医療の面で期待が持てる人工多能性幹細胞（iPS細胞）などとも関連付けた話題提供も可能なことから、iPS細胞作製に関わる遺伝子を対象にすることを考えた。

5社の「生物基礎」の教科書（第一学習社、平成28年度用、実教出版、改訂版平成29年度用、啓林館、改訂版平成29年度用、東京書籍、改訂版平成29年度用、数研出版、改訂版平成29年度用）において、遺伝子の発現について調べてみると、いずれも発展としてiPS細胞の記述が見られた。その中でも「ヒトの皮膚細胞に転写にかかわる4種類の遺伝子を人為的に発現させることで（後略）」（改訂版「生物基礎」、平成29年度用、啓林館）などiPS細胞作製に関わる遺伝子が「4種類存在する」と記載されている教科書は3社あった。そこで、授業の中で発展的な話題やさまざまな疾患の新しい治療法の例として生徒に考えさせる際には、iPS細胞作製に関する遺伝子を扱うと、発展的な話題についても生徒は身近に感じ、理解しやすいのではないと思われる。さらに明白で解りやすい実験結果が得られること等を考慮に入れ、*Sox2*^(注1) 遺伝子を扱うことが有効であると考えた。

動物界に属する生物に広く保存されている*Sox2* (*Sry related HMG box 2*) 遺伝子は動物の初期発生に重要な機能を持つ転写調節因子をコードする遺伝子で、iPS細胞作製時には、細胞の初期化を誘導する。ヒトおよびゼブラフィッシュの*SOX2*は、イントロンのない遺伝子であるため、cDNAとゲノムDNAで増幅されたPCR断片の長さが同じになる。したがって、cDNA配列を基に設計されたプライマーによって増幅が期待されるcDNA領域が、ゲノムDNAを鋳型としたPCRでそのまま増幅される。*Sox2* 遺伝子の塩基配列は生物種間で相同性のある部位と異なる部位が存在するので⁽²⁰⁾⁽²¹⁾、相同性のある塩基配列

の部位にプライマーを設計すれば、1対のプライマーで異なる生物種のDNAを増幅することができる。Sox2遺伝子には偽遺伝子が存在しないので、配列が類似したDNAがPCRで増幅される可能性は低い。さらに、Sox2遺伝子は、細胞の分化に関係する転写調節因子であるため、タンパク質に翻訳されるが、設計するプライマーの位置を選択することによって、表現型として現れる疾患を露見させることなしにDNAを増幅することが可能である。言い換えれば、生徒のプライバシーや個人差を明らかにすることはできない。

以上のことに基づいて、筆者らはヒト (*Homo sapiens*) とゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) のSOX2遺伝子の塩基配列に同じ部分と異なる部分が存在することを実験によって確認し、その結果から両遺伝子の塩基配列を予測させるという授業を開発した。さらに筆者らは、開発プログラムに従って授業実践を行い、生徒の「遺伝子の共通性と多様性」についての理解度を分析したので報告する。

II 目的

「生物基礎」では、「生物についての共通性と多様性の視点を身につけさせる」ことが目的の一つとされているが⁽¹⁾、「学習指導要領解説」では、「共通性」については「生物と遺伝子」の大項目で、また「多様性」については「生物の多様性と生態系」の大項目で学習するように指示されている⁽³⁾。しかし、生徒にとっては異なる大項目あるいは単元で、別々に学習した内容を結びつけて考えることは容易ではないことが報告されており⁽²²⁾⁽²³⁾、一つの大項目の中で、「共通性と多様性」を学習させることが必要であると考えられる。

本研究は、「生物基礎」の発展的な学習として、生徒に異なる生物におけるDNA配列の「共通性」と「多様性」を遺伝子レベルで以下の①～③の視点から実感できるようにするために行った。①種が異なっても同じ遺伝子が保存されていることが確認できる、②同じ遺伝子の間で大部分の塩基配列は同じであるが、一部異なる場所が存在することを認識できる、③分子レベルでDNAの大きさの比較ができる。これら、①～③の視点でDNAが認識できることを目的とした授業案を作成し、その有効性を検討した。

III 予備実験

1. 方法

ヒトとゼブラフィッシュを材料として、それぞれのDNAについて、SOX2およびsox2遺伝子の特定の領域を同じプライマーを用いてPCRで増幅後、電気泳動を行うことでDNA断片の大きさなどを比較検証した。

授業実践に先立ち、高等学校で、PCRにより増幅可能なDNAの抽出がキットを用いなくてもできるかどうか

を確認するために、DNAの抽出方法、PCRおよび電気泳動についての予備実験を行った。なお、この予備実験は、東海大学医学部にて、東海大学動物実験指針⁽²⁴⁾に基づいて行った。

(1) DNAの抽出

実験に用いたDNAは、ヒト口腔粘膜細胞およびゼブラフィッシュの尾びれの細胞を用い、東洋紡の実験プロトコル中のアルカリ溶解法⁽²⁵⁾に記載された方法によって抽出した。詳細は参考資料①に示した。ヒトの口腔粘膜細胞は、純水2mLを口を含み、歯でクチュクチュと頬を噛むようにしてそぎ落とした。これをマイクロチューブに移し所定の手順によってDNAを抽出した。ゼブラフィッシュはアミノ安息香酸エチルメタンスルホン酸を用いて麻酔後、尾びれの一部を切り取り、DNA抽出に用いた。DNAの抽出方法は、ヒトの口腔粘膜細胞と同様である。尾びれの一部を切り取る方法では1か月程で、尾びれは元通り再生される。これは、動物の愛護及び管理に関する法律の一部を改正する法律（平成17年法律第68号）⁽²⁶⁾に則った、動物実験に関する理念3R^(注2)の内、Refinement（科学上の利用に必要な限度において、できる限り動物に苦痛を与えない方法によって、行わなければならないこと）に準拠した方法と考えられる。

なお、この方法で抽出したDNA（以下、それぞれの「粗抽出DNA」という）には少量のタンパク質が混在している可能性があるため、ヒトゲノムDNAは、ヒトの血液由来培養細胞からQIAGEN社のカラム（QIAamp DNA Blood Maxi-kit）を用いて抽出したDNAを、また、ゼブラフィッシュの尾びれ細胞からのDNAは、「バイオ実験イラストレイテッド②遺伝子解析の基礎」中のプロテナーゼKおよびフェノール・クロロホルムを用いた方法⁽²⁷⁾によって抽出したDNA（以下、それぞれの「高純度DNA」という）を対照群として用いた（詳細は参考資料②参照）。ヒトの高純度DNA抽出に用いた血液由来培養細胞B細胞（BOLETH BO）は、DSファーマバイオメディカル社から商品として販売されている細胞株を用いたものであり、この細胞を実験に使用する倫理上の問題はないと考えられる。

(2) PCR

前述の粗抽出DNAと高純度DNAを鋳型として、PCR装置（ThermoGen Quick Bath QB-0225A）を用いてSOX2遺伝子相当部分を増幅した。

反応液の組成は、純水2.4 μL、2× Buffer 10.0 μL、2mM dNTPs 4.0 μL、Fプライマー（10 μM）0.6 μL、Rプライマー（10 μM）0.6 μL、DNAポリメラーゼ（KOD FX Neo、東洋紡）0.4 μLの計18.0 μLとし、これにテンプレートDNAまたは純水（ネガティブコントロール）を2.0 μL加えて、反

応を行った。

プライマーの配列は、ヒトとゼブラフィッシュの *SOX2* 遺伝子の共通の塩基配列に基づいて、Forward (F) プライマー: 5'-ATGGATGGTTGTCTATTAAGTTGTTTC-3', Reverse (R) プライマー: 5'-CAGTACAACCTCCATGACCAGCTCGCAG-3' とした (参考資料③参照)。なお、プライマーはファスマック社 (神奈川県厚木市) に依頼して作製した。また、反応条件は 94°C, 2 分 → [98°C, 10 秒 → 64°C, 30 秒, 68°C, 90 秒] × 30 回 → 68°C, 7 分とした。

(3) 電気泳動

電気泳動は、Mupid-2plus (ADVANCE 社) を用いて行った。電気泳動用バッファー (0.5 × TBE 溶液) を所定の位置まで泳動槽に注ぎ入れ、1% アガロースゲルを泳動槽に設置した。よく混合した PCR 産物 6μL 及び 10 × Loading buffer 2 μL をアガロースゲルの穴に注入し、100V で約 30 分泳動を行った。

(4) 泳動結果の確認

DNA 染色液 (インビトロジェン社製, SYBR Safe DNA gel stain in 0.5 × TBE) を入れたタッパウェアに電気泳動後のアガロースゲルを浸漬し、これをアルミホイルで遮光して、約 15 分振盪を行った。その後、ゲルをタッパウェアから取り出し、青色 LED トランスイルミネーター (スーパー LED ビューワー: 主励起光 500 nm, オリエンタルインスツルメンツ社製) 上に置き、付属のオレンジフィルターの从上からデジタルカメラにより写真撮影を行った。

2. 結果

デジタルカメラで撮影した泳動像を解析した結果、ゼブラフィッシュは 900 bp 相当、ヒトは 1100 bp 相当の PCR 産物が検出された (図 1)。すなわち、ゼブラフィッシュの *sox2* 遺伝子領域は、ヒト *SOX2* 遺伝子領域よりも 200 bp ほど小さいことが示された。また、このプライマーによって増幅される領域には、ヒト特異的な配列が存在することがわかった。さらに、ヒトおよびゼブラフィッシュの粗抽出 DNA は、それぞれの高純度 DNA と同様な結果が得られた (図 1) ことから、アルカリ溶解法によって得られた粗抽出 DNA を用いて生徒実験を行うことに支障はないことが判明した。

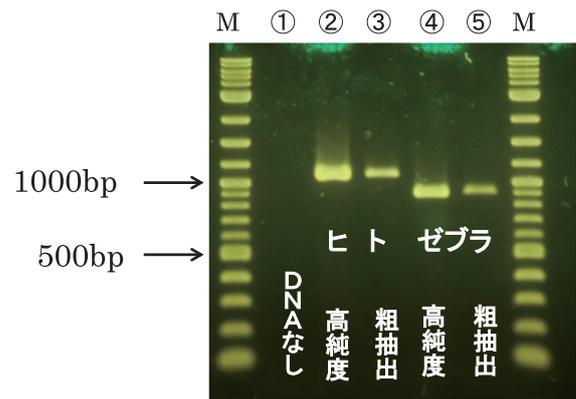


図 1 PCR 後の電気泳動結果

それぞれのレーンについては、以下のサンプルを添加した。

M: 2log DNA ラダーマーカー

①: 対照実験 (DNA 無し)

②: ヒト高純度 DNA

③: ヒト粗抽出 DNA

④: ゼブラフィッシュ高純度 DNA

⑤: ゼブラフィッシュ粗抽出 DNA

図中の高純度は高純度 DNA を、粗抽出は粗抽出 DNA を示す。また、ヒトはヒトの DNA を、ゼブラはゼブラフィッシュの DNA を示す。DNA なしは、対照実験を意味する。

IV 授業実践

1. 授業実践の時期・対象等

本授業実践は、2013 年 12 月 13 日～19 日に神奈川県立 S 高等学校で、「生物基礎」を履修している普通科の 1 年生 68 名を対象に「生物基礎」の発展的な学習に位置付けて実施した。

(1) 「生物基礎」における「遺伝子とその働き」の授業計画

表 1 に示す内容と配当時間で「生物基礎」の「遺伝子とはたらき」について学習した後に実験を行った。なお、表 1 中の遺伝子の発現とその調節の項では、だ腺染色体上のパフの位置が発生段階によって変化することから、その時期に必要な遺伝子だけが転写され、他の遺伝子は休止状態になっていることを説明した。その理由として、遺伝子のはたらき方が、ピラミッド状になっており、調節遺伝子やそこからできる調節タンパク質 (転写調節因子) が関与していることを解説した。まず、上流の遺伝子 A (調節遺伝子 A) がはたらいてタンパク質 A (調節タンパク質 A) を合成すると、タンパク質 A がそのすぐ下流にある遺伝子 B (調節遺伝子 B) にはたらきかけることにより、遺伝子 B はタンパク質 B (調節タンパク質 B) を合成する。さらに、タンパク質 B がその下流にある遺伝子 C 及び遺伝子 D にそれぞれ異なったはたらきかけをすると、遺伝子 C はタンパク質 C を、また、遺伝子 D は

タンパク質 D を合成する。このようにして、1つの遺伝子は別の遺伝子から合成されるタンパク質（調節タンパク質）によって発現が制御されていることを具体的に説明した。

実験授業においては、表2に加えて実験1日目には、Sox2 遺伝子についての概要とそれがどのような現象に機能しているか、ヒトでは疾患とどのような関連があるかなどを、実験2日目には、DNA抽出の際の各ステップで添加する試薬の意味や反応のしくみについて、またPCRの原理に付随してTaqポリメラーゼがタンパク質より成る酵素でありながらも、好熱性細菌由来の酵素であるため、高温でもその活性を失わないしくみについて補足説明した。さらに、電気泳動に関しては、3日目に、その原理と解釈のしかたに加え、泳動後のアガロースゲルの染色についても解説し、より安全性の高いDNAの染色液であるサイバーグリーンを使う意味やDNAのバンドが肉眼で見えるしくみについて説明した。

本実験は表1に示した授業計画の「DNAの構造」及び「ゲノムと遺伝子」の項と関連性が高いと考える。高等学校学習指導要領解説理科編理数編⁽³⁾の「生物基礎」の内容とその範囲、程度の(1)の(7)の項においては、DNAを遺伝物質としていることが生物の共通性の例示の1つとして挙げられていることから、哺乳類と魚類では進化上離れているものの、遺伝子はDNAという共通の物質でできていることが実験を実施することで検証できる。しかし、本実験は表1に示した授業計画を発展させた学習として実施したため、種間のDNA配列の保存性はPCR反応と、また、DNA配列の多様性は電気泳動の原理と関連付けて、表2のスケジュールの下で説明した。具体的

表1 「生物基礎」における「遺伝子とその働き」の授業計画

学習内容	時間(10)
1. 遺伝情報とDNA	
・遺伝子の本体、バクテリオファージの実験	1
・肺炎双球菌の実験	1
・DNAの構造	1
・ゲノムと遺伝子	1
2. 遺伝情報の分配	
・DNAの複製	1
・細胞分裂、DNA量の変化	1
3. 遺伝情報とタンパク質の合成	
・生物とタンパク質、タンパク質の構造、アミノ酸の基本構造	1
・RNA、RNAの種類、タンパク質の構造(復習)	1
DNAの遺伝情報とアミノ酸	
・セントラルドグマ、コドンとアミノ酸	1
・遺伝子の発現とその調節、だ腺染色体とパフ、細胞の種類と遺伝子の発現	1

表2 実験授業の実施スケジュール

時程	授業内容
1日目 1コマ	実験概要の説明, ピペットマンの使用説明 事前アンケート
2日目 2コマ	DNAの粗抽出, PCRへのセット, PCRの原理の説明, PCRのビデオ鑑賞
3日目 2コマ	電気泳動結果の観察・考察 電気泳動の原理の説明, グループ討論
4日目 1コマ	まとめ, 事後アンケート

表中にある授業の1コマは50分を示す

には、PCR反応では、プライマー（増幅させたいDNAの塩基配列の両端部分と結合することができる塩基配列を持ったDNA断片）が存在して初めて、目的の遺伝子領域のDNAを増幅することができることを、逆に言えば、プライマーが存在しても目的とするDNAが増幅されなければ、プライマーのDNA配列と相補的な配列を持つDNAが存在しないことを、また、電気泳動では、アガロースゲルの中を移動する分子の速度は分子量に比例するため、小さい分子ほど移動距離が大きく、大きい分子ほど移動距離が小さいことを解説した。表1に示した授業計画の中では、本実験についての説明は行っていないが、表2に示した1日目には、本実験についての概要のみ説明を行った。

実験の前には、マイクロピペットを扱う練習として、色のついた食紅溶液を用いて500μLから順次採取量を減らして溶液を測り取る練習を行い、最終的に2μLが確実に測り取れるようにした。この場合、生徒2人を1組にして、測り取った液量を互いに目で確認しながら行わせた。なお、実験では生徒自身のゲノムDNAを用いるため、予め保護者に説明し同意を得た上で実施した。

(2) 実験を行う授業の実施計画

実験は、表2に示すように、4回に分けて行い、生徒4～5名を1班とし、理科の実習助手1名と実験補助員1名が生徒のサポートに当たった。

(3) 評価の方法

理解度については、授業前後で確認テストとアンケートを行い、これらを用いて評価した。その中で、①種が異なっても同じ遺伝子が保存されていることが確認できること、②同じ遺伝子の間で大部分の塩基配列は同じであるが、一部異なる場所が存在することを認識できること、③分子レベルでDNAの大きさの比較ができることについては、以下のような観点から評価を行った。①については、電気泳動後に確認されたバンドが同じプライマーによって増幅されたDNA断片であることを理解できるかどうかで判断した。②については、ヒトとゼブラフィッシュのSOX2遺伝子に注目したとき、両者のDNA

の塩基配列は同じかどうかを選択肢 (① 同じ, ② 違う, ③ 同じところもあれば違うところもある, ④ わからない) から選択させ, その理由や根拠について記述させることで調べた。③については, ②の検証課題に用いた質問において, ヒトとゼブラフィッシュの DNA 断片の大きさの違い (同じはたらきをする遺伝子でも塩基対の数が異なること) が説明できるかどうかで判定した。

2. 実験の方法

予備実験の結果より, ヒトおよびゼブラフィッシュの DNA は, 粗抽出の DNA でも PCR で増幅可能であったことから, アルカリ溶解法を用いて DNA を粗抽出した。その後, PCR で DNA を増幅し, アガロースゲル電気泳動によって, 増幅した DNA 断片の大きさを比較した。生徒は各自, 生徒自身の口腔粘膜細胞より DNA 抽出を行い, ゼブラフィッシュの DNA は各班で 1 サンプルずつ尾びれの細胞より抽出した。PCR については, 予め授業者が反応液を混ぜ合わせた PCR チューブを生徒の人数分とゼブラフィッシュのサンプル数分用意し, 生徒は抽出した DNA を PCR チューブに入れた後, 混合するだけにした。電気泳動では, アガロースゲルは, PCR と同様に, 授業者が予め作製し, 生徒は PCR 後のサンプルをローディングバッファーと混合後, ゲルの穴に添加するだけで行えるように準備した。

3. 授業実践の結果

(1) DNA の抽出と電気泳動

実験を行った 68 名の生徒のうち, 64 名の生徒が PCR によって増幅された自分自身の DNA を確認できた。また, ゼブラフィッシュの DNA はすべての班で確認できた。

(2) 実験内容に対する生徒の理解度

同じプライマーを用いた異種生物間での DNA の増幅実験に対する生徒の理解度を授業前後に実施したアンケート (参考資料④) から, 次の質問の回答によって分析した。

問: ヒトとゼブラフィッシュで SOX2 遺伝子に注目したとき, 両者の DNA の配列情報は同じかどうか, 該当する番号に○をつけ, その理由や根拠についても記述せよ。

① 同じ ② 違う ③ 同じところもあれば違うところもある ④ わからない

実験前には「わからない」と回答した生徒が 56% (38 人) と最も多かったのに対し, 実験後は同様に回答した生徒が 12% (8 人) に減少した。一方, 実験前には「同じところもあれば違うところもある」と回答した生徒は 30% (21 人) であったが, 実験後は 85% (58 人) まで増加した (図 2)。

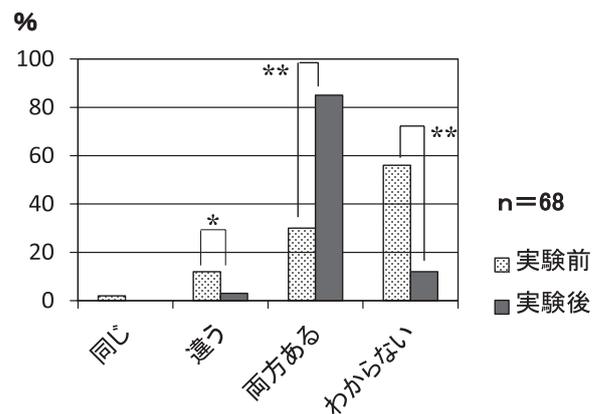


図 2 ヒトとゼブラフィッシュの SOX2 遺伝子の塩基配列の違いについての生徒のアンケート結果

「同じところもあれば違うところもある」という回答項目は「両方ある」という記述で示した。z 検定による両側検定を行い, * は 5% で, また, ** は 1% で有意性を示した。

表 3 実験前と後での生徒の回答の変化

実験前	「違う」	「違う」	「同じところもあれば違うところもある」		「わからない」	
	共通性のみ説明	多様性のみ説明	共通性のみ説明	多様性のみ説明	両方ともに説明	判定不能
	1	8	4	3	12	2
	1	8	21			38

実験後	「違う」	「違う」	「同じところもあれば違うところもある」		「わからない」	
	共通性のみ説明	多様性のみ説明	共通性のみ説明	多様性のみ説明	両方ともに説明	判定不能
	0	2	0	5	49	4
	0	2	58			8

表中にある「両方ともに説明」という項目は, 「共通性と多様性両方ともに説明」という記述で示した。

図 2 については, 実験の前と後で 2 群の母比率の差を検定したところ, 「違う」, 「両方ある」, 「わからない」という回答はともに有意な差が認められた。

表 3 および図 3 は, 生徒の実験前後の考え方の変化を分析したものである。実験前に「同じ」と考えていた生徒は実験後には, 「同じところもあれば違うところもある」に変わり, 記述式説明についても「同じところ」, 「違うところ」ともに説明できていた。また, 実験前に「違う」と考えていた生徒 8 人のうち, 7 人が実験後は「同じところもあれば違うところもある」に変わり, 記述式説明においても「同じところ」, 「違うところ」ともに説明できていた。実験前に「同じところもあれば違うところもある」とすでに正解が得られていた生徒は 21 人いたが, その中で「同じところ」, 「違うところ」ともに説明できた生徒は 12 人であった。しかし, 実験後は 21 人全員が「同じところ」, 「違うところ」ともに説明できるようになった。

実験前に「わからない」と回答した生徒は最も多く 38 人であったが、そのうちの 20 人が実験後は「同じところもあれば違うところもある」と回答し、説明についても「同じところ」、「違うところ」ともに説明することができた。したがって、正解に相当する「同じところもあれば違うところもある」と実験後に回答した生徒のうち、「同じところ」と「違うところ」ともに説明できた生徒の割合は全体の 72% (49 人) であった (表 3 及び図 3)。

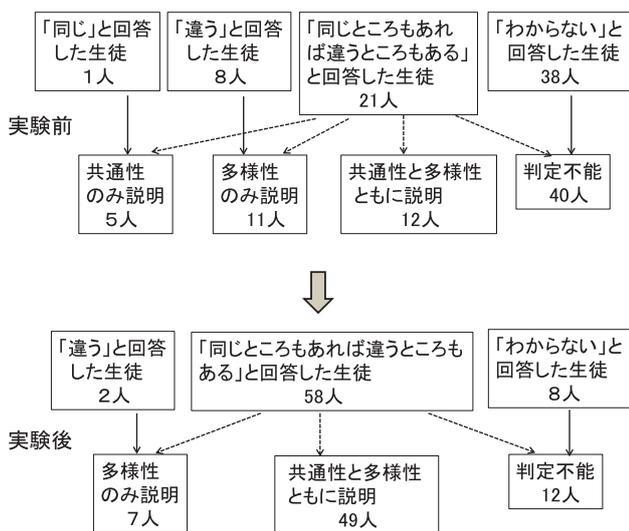


図 3 授業実践による 生徒のアンケート結果：実験前と後での記述式回答の変化 (n = 68)

一方、実験後に「同じところもあれば違うところもある」と回答した生徒のうち、多様性のみ説明か判定不能であった生徒及び「違う」と回答し、多様性のみ説明した生徒は全体の 16% (11 人) であったことから、「同じところ」についての理解が生徒には難しかったのではないかと推測される。これは、PCR で DNA が増幅されるときプライマーの役割が理解できていないことが原因と考えられる。PCR は装置内で反応が進行するので、進行する反応がブラックボックス化されており、生徒自身で DNA の増幅や反応の進行を確認することができない。「電気泳動によって増幅された DNA のバンドが目視確認できた」ということは、抽出したヒトとゼブラフィッシュの DNA にプライマーと同じ配列が含まれていたことを生徒によっては、実感しにくかったのではないかと推測される。

ヒトとゼブラフィッシュの塩基配列の異同についての記述のうち、代表的なものを表 4 に示した。実験前の生徒の記述については、組織や器官、生態レベルなどマクロな視点からの回答及び生物は共通の祖先を持ちながらも進化しているという「生物基礎」での学習を反映した回答になっていた。一方、実験後の記述では、DNA の大きさなどミクロな視点での考え方へと質的な変化が生じたことが認められた (表 4)。

表 4 実験前と後での生徒による記述式回答の変化

実験前
<p><u>「同じ」と回答した理由</u></p> <ul style="list-style-type: none"> 同じ遺伝子の特定の DNA なら種を越えても共通であると思う <p><u>「違う」と回答した理由</u></p> <ul style="list-style-type: none"> 同じ遺伝子とはいえ生きている環境や生態が違うので、ヒトと魚が同じような DNA をもっているとは思えない DNA はそれぞれ違うと思うから共通なところはないと思う <p><u>「同じところもあれば違うところもある」と回答した理由</u></p> <ul style="list-style-type: none"> 元は同じものだったから共通なところと多様なところがあるのは必然だ DNA に共通なところがないと鳥類や魚類といった種をつくることができない。また、多様なところがないとヒトの顔もみな、同じになってしまうし、魚の種類 (マグロ、サバなど) などがなくなってしまうから
実験後
<p><u>「違う」と回答した理由</u></p> <ul style="list-style-type: none"> 電気泳動で進んだ距離がヒトとゼブラフィッシュで違ったことから DNA の大きさが違う <p><u>「同じところもあれば違うところもある」と回答した理由</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ヒトとゼブラフィッシュの DNA を同じ塩基配列のプライマーで増やしたら両方とも増加したので、ヒトとゼブラフィッシュの DNA では、共通な塩基配列がある。また、電気泳動で両方の DNA の長さを調べると、長さが違っていったことから両方の DNA は共通な部分を持ちながらも異なる部分 (多様なところ) がある

V 考察

1. 「生物基礎」における DNA の扱い

現行の学習指導要領において、「生物基礎」では「生物が共通性を保ちながら進化し多様化してきたこと、その共通性は起源の共有に由来することを扱うこと」が記載されており⁽¹⁾、その中でも共通性を中心に認識させることとある。また、「生物の多様性と生態系に関する探究活動」の項では、生物の多様性と生態系に関する学習活動と関連させながら、実験や観察を行いその内容を理解し、生物学的に探究する方法を習得させることになっている。すなわち、具体的な学習としては、「共通性」については「生物と遺伝子」の単元で、「多様性」については「生物の多様性と生態系」で扱うように指示されている⁽³⁾。

「生物基礎」においては、生物の遺伝情報の担い手としての DNA について、その構造やはたらきに関する学習が一つの柱となっているので、DNA を素材にした「生物の共通性と多様性」を見据えた視点で理解していく姿勢が必要であると筆者らは考えている。したがって、「遺伝子

とそれはたらき」の単元において、「生物の共通性と多様性」を理解させるための実験教材を用いて、「生物の共通性」だけでなく「生物の多様性」についても何らかの方法で示唆することができれば、生徒にとっては深い学びにつながるものと思われる。

本研究で実践した実験教材は、ヒトとゼブラフィッシュのゲノム DNA を用いて、DNA 分析の基礎的技術である PCR と電気泳動の 2 つの操作から、生物種間で保存されている遺伝子の塩基配列の比較を行うものである。

それにより、同じはたらきをする遺伝子であっても、その塩基配列の中には、異なる部分も存在することが、DNA レベルでの「生物が共通性を保ちながら進化し多様化してきた」ことの示唆にもつながり、分子の視点で遺伝子や DNA を実感することにつながるのではないかと考えられる。

2. 実験から分子の視点を認識する

今回の高校 1 年生を対象とした授業実践では、68 名中 64 名の生徒が DNA の抽出、PCR および電気泳動といった DNA を素材とした基礎的な分析技術について、増幅した自分自身の DNA のバンドを確認できた。このことから、高校 1 年生でも、本実験は実施可能であると判断される。

生徒の感想からは、「実験の結果、DNA の二重らせんが見えるのかと思ったら、そうではないことがわかった」や「DNA のバンドが光って見えることに驚いた」などの記述が確認された。このことは、実際の DNA を分子レベルで見たときに、どのように見えるのか、また、見えた現象をどのように解釈するのが実験を行うことにより、分子の視点で認識するきっかけになったものと推察される。

馬場ら⁽²⁸⁾は、中学生の DNA 抽出実験での質問紙調査結果から、抽出物に対する生徒の記述について、「(一部省略)らせん状でできていることは確認できなかったので実際に見てみたい」、「らせんの構造をしていると思っていたので、白い膜が出てきて驚いた」などがあったことを報告している。馬場らは、これらのことから生徒の中に実験によって確認できたものとは異なった DNA のイメージができていることを指摘し、構造を学習する前に DNA は肉眼では見えない小さい分子であることを学習させた方がよいのではないかと述べている。また、武村⁽⁶⁾は大学の教職課程で生物学を専門としない学科の学生に対して同様の調査を行ったところ、「抽出されてくる DNA は二重らせん構造をしているものだと思っていた」、「二重らせん構造ではないので実感できなかった」などの回答が得られたことを報告している。筆者らの実験でも生徒の同様な感想が得られたことから、DNA や遺伝子を分子の視点で正しく理解させるためには、分子の大きさを体験できる別の実験が必要であると考えられる。また、

前述のように、ヒトとゼブラフィッシュの DNA の間で、「共通している部分(同じ配列のプライマーで、DNA が増幅される)と、異なっている部分(増幅された DNA のサイズが異なる)がある」ことに気づくことができなかった生徒も 10 名存在した。このことは、講義の中で、実験方法の説明に加えて PCR のビデオを見せたものの、生徒によってはプライマーを元にしてヌクレオチド鎖が伸張することが理解できていなかったことを示唆している。したがって、DNA の増幅反応における「プライマー」の役割については、教科書の「DNA の複製」の項に記述されている内容に加えて、「DNA が複製を開始するためには、DNA の塩基配列と相補的な塩基配列をもつ RNA が DNA に結合する」ことについても、丁寧に説明する必要があると考えられる。

3. 実験手法の簡素化とそのメリット

多くの生徒を対象に授業ベースで実験を行うためには、実験手法の簡素化やコストダウンなどについて考慮する必要がある。多くの先行研究では、PCR 用の DNA 抽出にさまざまなキットが使用されている。しかし、キットは、手軽に高品質の DNA 抽出が可能ではあるが、限られた予算の中で多人数の生徒を対象とする際にはコストが高くなることが課題である。本実験で用いた方法は、簡便な方法で PCR により増幅可能な DNA が抽出できるので、普通の高校でも実施可能な実験と考えられる。また、市販されている実験キットには、組成が明示されていない試薬が存在するなど、反応の詳細がブラックボックス化されている場合があるため、実験の各ステップの持つ意味が理解しにくいこともある。本実験で用いた方法は、実験の原理を理解し、操作の各ステップの意味を確認することもメリットである。

授業では、1 班 5 人の生徒を想定した場合、DNA を含まない対照区と本実験で示したゼブラフィッシュ及び各生徒の粗抽出 DNA を用いた PCR と電気泳動を行えば、生徒自身の DNA を確認することができるし、ヒトと他の生物との DNA サイズも比較できる。また、サーマルサイクラーがない場合でも、杉村ら⁽²⁹⁾は手動による PCR で、カイコの雌雄判別が可能 DNA を増幅できることを報告しているので、さらに 2 時間程度の連続授業が追加できれば、PCR 装置がなくても、本実験を組み入れた授業実践は可能であると思われる。

4. ヒトの DNA を用いた実験と SOX2 遺伝子及び転写調節因子

生徒自身の DNA を用いて実験を行なうことは、斎藤⁽¹⁴⁾、伊佐治と松本⁽¹⁷⁾によって報告されているが、生徒自身の DNA を用いた実験には、生徒の個人情報保護の視点から、十分な配慮が必要なことも指摘されている⁽³⁰⁾⁽³¹⁾。一方

で、実験に生徒自身の DNA を用いることによって生徒の興味・関心が高まることも報告されている⁽¹⁴⁾⁽¹⁷⁾。筆者らも生徒から「自分のことが解るとおもしろい」という言葉を聞き、ヒトの遺伝子を素材とすることは授業の理解を深めるために重要であると考え、生徒の個人情報の保護に十分に配慮した上で今回の授業実践を行った。

今回実験に用いたヒトの *SOX2* 遺伝子では、眼球の発達異常を起こす変異が報告されている⁽³²⁾⁽³³⁾⁽³⁴⁾が、重篤な変異が生じた際には胚発生が進行しないものと考えられる。したがって、高校生年齢まで成長した生徒の中には、*SOX2* 遺伝子疾患の生徒はいないと判断される。そのため、ヒトの *SOX2* 遺伝子では、生徒のプライバシーが露見されることなく、また、種間での配列情報が比較できることから、高等学校で行う「ヒトの遺伝子」を用いた実験の素材としては、有効であると考えられる。

Sox2 遺伝子によりできるタンパク質は、転写調節因子の1つであることから、「生物基礎」の教科書（第一学習社、平成28年度用、実教出版、改訂版平成29年度用、啓林館、改訂版平成29年度用、東京書籍、改訂版平成29年度用、数研出版、改訂版平成29年度用）には、どのように記述されているかを調べてみた。高等学校の教科書には、転写調節因子は調節タンパク質と記載されているが、調べた5社の教科書のうち、図4のように、2社の教科書（啓

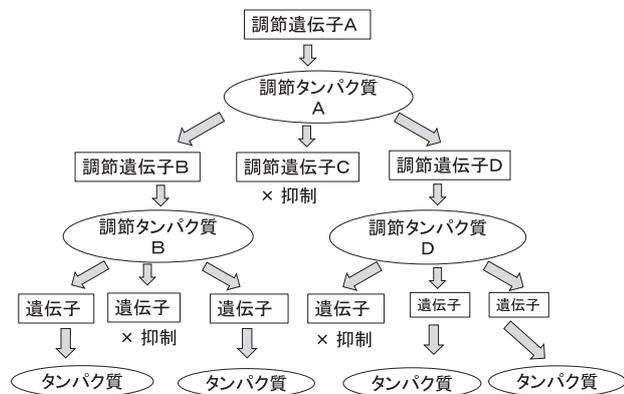


図4 調節タンパク質による遺伝子の発現調節
図は改訂版「生物基礎」啓林館 平成29年度用を改良した。

林館、改訂版平成29年度用、第一学習社、平成28年度用)で発展として、調節タンパク質の記載が認められた。また、1社（東京書籍、改訂版平成29年度用）の教科書には、「分化した細胞での遺伝子の発現」の図示の方法が調節タンパク質をコードする調節遺伝子をイメージさせるような記載方法であった（図5）。これら調節タンパク質や調節遺伝子のイメージの記載によって、「細胞が同じ遺伝子を持っていながらも特定の形やたらきを持つのは、すべての遺伝子が発現するからではなく、それぞれ異なる遺伝子を発現するからである」という現象が生じる理由を明確に説明することができる。それゆえ、調節遺伝

子（転写調節因子）について説明することは、生徒に正しく遺伝子発現の現象を理解させることができるのではないと思われる。

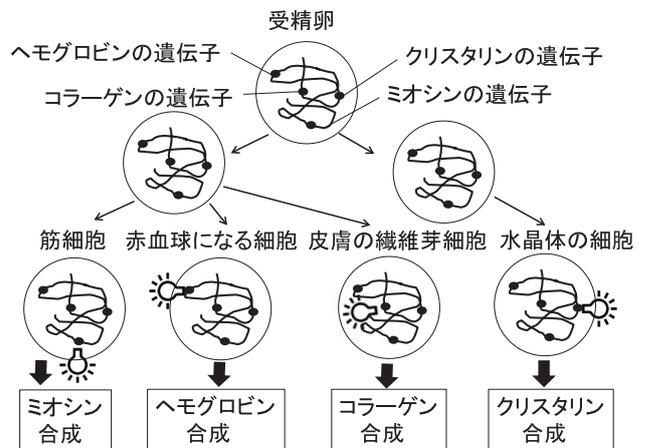


図5 分化した細胞での遺伝子の発現
図は、改訂「生物基礎」東京書籍 29年度用を改良した。

5. 遺伝子実験を実施する意義

本論文中のヒトとゼブラフィッシュの *SOX2* 遺伝子の解析実験において、主に生徒が手を動かすのは、DNAの抽出、PCR、電気泳動に関するピペット操作の部分である。特に、分子生物学の実験では、マイクロピペットは欠かせない器具であるが、多くの生徒は初めて使用するものと思われる。それゆえ、生徒にとってマイクロピペットは新鮮なイメージの器具であり、分子を扱う際には微量の液量を測り取る必要性を体験により、実感できるのではないかと推測される。本実験実施後の生徒の感想の中には、「マイクロピペットなど新しい機器が使えたことがよかった」（生徒の記述をそのまま引用）という内容も存在した。また、本実験は「自分のDNAを見て見たい」という生徒からの要望により開発したことから、生徒は興味や関心を持って、主体的に実験に取り組んだ結果、分子の視点で考察する過程を認識することができたのではないかと考えている。齋藤⁽¹⁴⁾や池内⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾の報告と同様に、筆者らも生徒自身の遺伝子を扱った実験を体験することによって生徒の興味・関心の度合いが高まると、効果的な学びが達成できるのではないかとと思われる。

次期学習指導要領に向けたこれまでの審議のまとめでは、現行学習指導要領の成果と課題として、「高等学校については、観察・実験や探究的な活動が十分に取入れられておらず、知識・理解を偏重した指導となっている」⁽³⁵⁾などの指摘がある。また、同審議のまとめの中の理科における教育のイメージ（高等学校）では、「基礎」(basic science)を付した科目は『観察・実験』や『探究活動』を充実させることにより、科学的な探究の過程を通じて、中学校で身に付けた資質・能力をさらに高める。（中略）日常生活や他教科（数学、情報、保健体育、地理など）との関連を図

る。」⁽³⁵⁾ など理科における実験の必要性や日常生活との関連性が強調されていることが示唆された。また、「理数探究基礎(仮称)」(生徒が探究の過程全体を自ら遂行できるようにすることを目指し、その基礎を学ぶ)と、「理数探究(仮称)」(「理数探究基礎」で学んだことを活用しつつ実際に探究を進める)の2つの科目が新設されることにより、実験や探究活動のより一層の充実が図られていることがわかる。このような観点からも、実験結果のデータのみを示すだけでなく、生徒自身が手を動かして実際に体験してみることが重要であると考えられる。

VI おわりに

本実験は、異種の生物のDNAを同じプライマーセットで増幅することにより、同じ遺伝子が種間で保存されていること、また保存された塩基配列の中に種間で異なる情報が含まれていることを分子の視点で検証できる教材であると筆者らは考えている。分子を可視化することで生徒はDNAについて正しく認識し実感できるため、「Science for All」と位置付けられた「生物基礎」⁽²⁾の発展的な生徒実験として十分使用可能であり、「遺伝子リテラシー教育」において学習効果が期待できるものと示唆される。

今後 Sox2 遺伝子以外のDNAについても検討を加え、進化を見据えた分子生物学の実験を模索していきたいと考えている。

一謝 辞一

本研究を実施するにあたり、実験開発にご協力頂いた東海大学伊勢原研究推進部生命科学統合支援センターの佐藤忠之氏、林英樹氏、田中政之氏、統計処理についてご助言を下さった東海大学理学部数理学科(教育支援センター次長)の山本義郎教授、論文についてのご助言を頂いた元鳴門教育大学の米澤義彦教授、白百合女子大学の貫麻美准教授に深謝致します。また、上越教育大学の小林辰至教授、日本大学生物資源科学部の内山寛教授、千葉大学理学研究科の小笠原道生准教授、長浜バイオ大学元学長の三輪正直先生、同大学の宇佐美昭二教授、黒田智先生、畠山茂昭先生に本研究を実施するに当たりお世話になりました。さらに、東海大学大磯病院の整形外科医である三谷玄弥講師、同病院理学療法士の筒井稔久氏、同病院図書室司書の木山良子氏をはじめとする医療スタッフの皆様方には、論文執筆に当たり、さまざまなご配慮を頂きました。深く感謝の意を表します。

なお、本研究は22年度科学研究費補助金 奨励研究(課題番号:22925001)、24年度同研究費補助金(課題番号:24925001)及び25年度同研究費補助金(課題番号:25925001)の支援を受けて実施したものである。

一注一

- 1 遺伝子のアルファベット表記については、遺伝子シンボルと命名に関する国際規約に基づきヒトの遺伝子はすべて大文字で、また、その他の生物の遺伝子は動物種ごとに決まっている。したがって、動物一般について意味するときは、Sox2 遺伝子と表記し、ヒトでは、SOX2 遺伝子、ゼブラフィッシュでは、sox2 遺伝子と小文字で表記し、いずれの場合も斜体とした。ただし、ヒトとゼブラフィッシュの両者を併記する場合は、SOX2 (大文字)とした。
- 2 動物実験等に関する理念である3Rとは、Refinement(科学上の利用に必要な限度において、できる限り動物に苦痛を与えない方法によってしなければならないこと)、Replacement(科学上の利用の目的を達することができる範囲においてできる限り動物を供する方法に代わり得るものを利用すること)、Reduction(科学上の利用の目的を達することができる範囲において、できる限りその利用に供される動物の数を少なくすること)を示す。

一文 献一

- (1) 文部科学省『高等学校学習指導要領』pp.77-82, 2009
- (2) 田代直幸「新学習指導要領 生物領域における改訂～なぜこのような改訂となったかを理解するために～」『生物教育』51(特別号) pp.9-16, 2010
- (3) 文部科学省『高等学校学習指導要領解説 理科編 理数編』実教出版, pp.75-77, 85-86, 2009
- (4) 倉林真理緒, 武村政春「高校生物II『遺伝情報とその発現』分野で使用される教材に関するアンケート調査」『日本科学教育学会年会論文集』36, pp.338-339, 2012
- (5) 倉林真理緒, 武村政春「『複製』と『転写』の誤理解もしくは混同に関する考察:旧課程で学んだ大学生に対する質問紙調査の結果から」『生物教育』55(1), pp.40-47, 2014
- (6) 武村政春「“二重らせん”を教える必要はほんとうにあるのかーDNA教育に関する提言ー」『科学教育研究』38(1), pp.34-35, 2014
- (7) 高野雅子, 大島輝義, 奥田宏志, 山野井貴浩, 武村政春「DNAファイバー法を用いたDNA複製を目で見て学ぶ生徒実験の開発～SPPを利用した実践から見てきた課題～」『生物教育』51(3), pp.12-24, 2011
- (8) 佐藤由起夫「教室で行える組換えDNA実験キットの比較, 蔵出し生物実験」『生物の科学 遺伝』別冊18, pp.150-153, 2005
- (9) 笹川由紀, 小野道之「遺伝子リテラシー教育における高等学校等での教育目的遺伝子組換え実験の普及と

- 教材キットの有効性について』『科学教育研究』32 (3), pp.216-229, 2008
- (10) 貝沼喜兵, 斎藤淳一, 原田和雄, 小林興「中・高校生を対象とした組換え DNA 実験に対する生徒の理解度と体験学習の意義」『科学教育研究』27 (3), pp.212-222, 2003
- (11) 熊木徹, 山田智, 小林辰至『「遺伝子組換え技術の必要性」を考える』『科学技術科』の試み』『理科の教育』53 (4), pp.53-58, 2004
- (12) 小川博久「中学校選択理科における Biotechnology Explorer キットの活用」『BioRadiations』5, p.45, 2005
- (13) 伊藤哲章, 大高泉「遺伝子組換え実験における実験操作の意味の理解の実態—大学での体験講座における高校生のアンケートから」『理科教育学研究』51 (1), pp.1-11, 2010
- (14) 斎藤淳一「PCR 法をとりいれた教材開発—遺伝子語を体験的に理解する方法の試み」『東京学芸大附属高等学校大泉校舎研究紀要』19, pp.93-113, 1994
- (15) 池内達郎「高校の生物教科に『ヒトの遺伝』を」『生物の科学 遺伝』62 (6), pp.121-125, 2008
- (16) 池内達郎「特集 これからの遺伝学習 遺伝学習と“ヒトの遺伝”」『理科教室』5, pp.6-13, 2009
- (17) 伊佐治錦司, 松本省吾「遺伝子診断の教材化～ALDH2 (アルデヒド脱水素酵素 2) 遺伝子における SNP (一塩基多型) タイピング～」『岐阜大学教育学部研究報告 (自然科学)』30, pp.21-33, 2006
- (18) 林田真梨子, 小泉 (岩尾) 恭子, 村田成範, 木下健司「遺伝子診断教育のための簡便な耳垢遺伝子多型解析法」『BUNSEKI KAGAKU』59 (7), pp.613-617, 2010a
- (19) 林田真梨子, 大田智子, 増見恭子, 村田成範「遺伝子診断教育のための簡便な毛髪形態 (EDAR) 及び耳垢型 (ABCC11) 遺伝子多型解析法」『武庫川女子大紀要 (自然科学)』58, pp.43-47, 2010b
- (20) Wegner M. From head to toes: the multiple facets of Sox Proteins, *Nucleic acids Res*, Vol.27, pp.1409-1420, 1999
- (21) 宮城聡, 奥田晶彦, 岩間厚志「Sox2 遺伝子と幹細胞の自己複製機構」『千葉医学』82, pp.1-7, 2006
- (22) 佐藤康司「関連づけの成立と認知的能動性が学習に及ぼす影響」『教授学習心理学研究』2 (2), pp.49-58, 2006
- (23) 高山真記子, 大貫麻美『「生命の連続性」概念系形成に関する理解を深める言語活動と支援の在り方に関する一考察—単元『動物の生殖と発生』におけるコンセプトマップ法を用いた振り返り活動—』『理科教育学研究』55 (3), pp.363-369, 2014
- (24) 東海大学「東海大学動物実験指針」
http://www.u-tokai.ac.jp/effort/compliance/animal_experiments/guidance/guidance.html, アクセス 2017/09/27
- (25) 東洋紡「特集 材料別用途別 PCR プロトコール」
<http://lifescience.toyobo.co.jp/upload/upld99/feature/pcr99fe01.pdf>, 2016年6月22日アクセス
- (26) 環境省「動物愛護管理法の一部を改正する法律 (法律第 68 号)」
https://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/1_law/revise.html, アクセス 2017/09/27
- (27) 中山広樹, 西方敬人『バイオ実験イラストレイテッド 2 遺伝子解析の基礎』秀潤社, pp.117-120, 2002
- (28) 馬場典子, 片山隆志, 香西武, 米澤義彦「中学校理科第 2 分野における DNA 抽出実験の再検討」『生物教育』53 (4), pp.168-175, 2013
- (29) 杉村順夫, 尾山廣, 森本弘一「手動ポリメラーゼ連鎖反応によるカイコの雌雄判別」『生物教育』56 (1), pp.29-35, 2015
- (30) 文部科学省, 厚生労働省, 経済産業省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」
http://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/40_126.Pdf, 2005, アクセス 2016/03/27
- (31) 笹川由紀, 佐々義子, 大藤道衛, 小野道之「教育目的ヒトゲノム・遺伝子解析実験の普及と実施指針」『生物教育』49 (2), pp.90-107, 2009
- (32) Gene Cards データベース
<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=Sox2>, 2014年11月19日アクセス
- (33) Kelberman, D., de Castro, S.C.P., Huang, S., Crolla, J.A., Palmer, R., Gregory, J.W., Taylor, D., Cavallo, L., Faienza, M.F., Fischetto, R., Achermann, J.C., Martinez-Barbera, J.P., Rizzoti, K., Lovell-Badge, R., Robinson, I.C.A.F., Gerrelli, D., Dattani, M.T. SOX2 Plays a Critical Role in the Pituitary, Forebrain, and Eye during Human Embryonic Development. *J Clin Endocrinol Metab*, Vol.93 (5), pp.1865-1873, 2008
- (34) Hever, A. M., Williamson, K. A., van Heyningen, V. Developmental malformations of the eye: the role of PAX6, SOX2 and OTX2. *Clin. Genet*, Vol.69, pp.459-470, 2006
- (35) 文部科学省「資料 2-2 次期学習指導要領等に向けたこれまでの審議のまとめ (案) (第 2 部) (3)」
http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/chukyo/chukyo3/004/siryu/_icsFiles/afieldfile/2016/08/29/1376580_2_2_3.pdf, アクセス 2017/09/27

参考資料① 粗 DNA の抽出方法

ヒトゲノムからの粗 DNA の抽出は、アルカリ溶解法⁽²⁷⁾を以下のように改良して行った。

- ①紙コップに純水を 2mL 入れ, これを口に含み, 歯でクチュクチュと頬を噛むようにして口腔粘膜の細胞をそぎ落とした。口に含んだ液は紙コップにもどした。

- ② マイクロピペットで紙コップの液を 2mL のマイクロチューブに移した。卓上式遠心分離器で 3000 rpm, 5 分遠心分離を行った。
- ③ マイクロチューブを逆さにして上清を捨てさらに、キムタオルにチューブの口を押しつけて、残液をできるだけ除去した。
- ④ ③に 0.1 M NaOH 200 μ L を添加後、ボルテックスで混合した。
- ⑤ 大きめの鍋を用い、沸騰水中で 10 分間加熱した。その際、マイクロチューブの蓋が開かないように注意する。
- ⑥ マイクロチューブをボルテックスで混合後、遠心分離によりマイクロチューブの底に液を集めた。
- ⑦ 0.16 M Tris-HCl (pH 8.0) 200 μ L を入れた新しい 1.5 mL マイクロチューブに⑥の上清を 50 μ L 加えた。
- ⑧ ⑦をボルテックスで混合後、室温に 20 分程度放置した。
- ⑨ 卓上型遠心分離器で 12000 rpm, 10 分間遠心分離を行い、上清 2 μ L を PCR 用の DNA とした。

ゼブラフィッシュは、0.1 mM 3-アミノ安息香酸エチルメタンスルホン酸を用いて麻酔後、尾びれの一部を 2~3 mm 程度切り取り、粗 DNA の抽出に用いた。切り取った尾びれからの DNA の抽出は、ヒトの④以降と同様の方法で行った。

参考資料② 高純度ゲノム DNA の抽出方法

ヒトゲノムの高純度 DNA は、スウェーデン人の血液由来細胞 (エプスタイン・バール・ウィルスにて形質転換したリンパ芽球様の細胞株, BOLETH 社) を培養し、回収後に QIAGEN 社のカラム (QIAamp DNA Blood Maxi-kit) を用いて抽出した。ゼブラフィッシュゲノムからの高純度 DNA の抽出は、「バイオ実験イラストレイテッド 2 遺伝子解析の基礎」⁽²⁷⁾ にしたがって、以下の方法で行った。

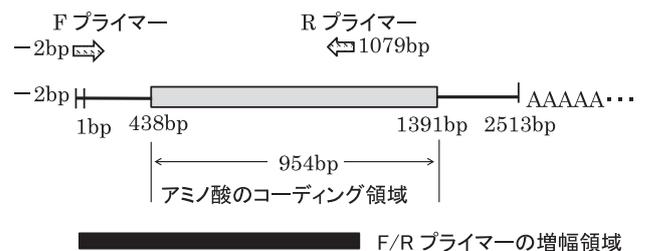
- ① ゼブラフィッシュを急速凍結後、2mL の Lysis buffer (10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 100 mM EDTA (pH 8.0), 0.5% SDS) を加え、最終濃度が 200 μ g/mL になるようタンパク質分解酵素 (Proteinase K, タカラバイオ社製) を添加した。
- ② これを 55 $^{\circ}$ C に加温し、組織を溶解した。
- ③ フェノールとクロロホルムの混合液にて除タンパク後、遠心分離によって水層と有機層を分離した。
- ④ 水層を分取し、最終濃度 20 μ g/mL になるように RNA 分解酵素 (RNase A, タカラバイオ社製) を添加し、37 $^{\circ}$ C で 1 時間処理した。
- ⑤ 3 M 酢酸ナトリウム溶液およびイソプロパノールを用いてゲノム DNA を沈殿させた。
- ⑥ 70% エタノールで洗浄後、Tris-EDTA (TE) 液 100 μ L に DNA を溶解した。

参考資料③ ヒトとゼブラフィッシュの SOX2 遺伝子の構造とプライマーの位置

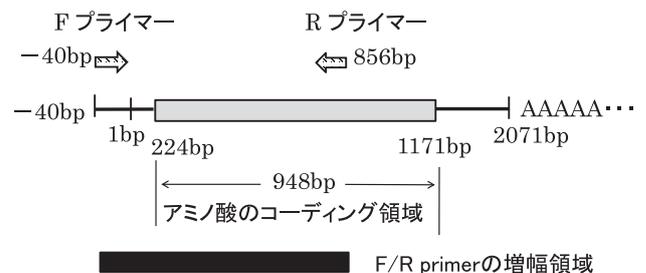
ヒトとゼブラフィッシュのプライマーの位置を右図に示した。

SOX2 遺伝子は、動物の初期発生に重要な機能を持つ転写因子をコードする遺伝子で広く動物に保存されている。人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の作製時に細胞の初期化を誘導する因子である。ヒト及びゼブラフィッシュの SOX2 遺伝子の SRY 決定領域 (性決定領域 Y-box2) には、イントロンが存在せず、各々が 2513 塩基対と 2071 塩基対からなる遺伝子である (資料 1)。Sox2 はイントロンのない遺伝子なので、cDNA とゲノム DNA で増幅された PCR 断片の長さが同じになる。従って、cDNA 配列を基に設定されたプライマーによって増幅が期待される cDNA 領域が、ゲノム DNA を鋳型とした PCR でそのまま増幅される。

(a) ヒト Gene ID:6657 NM:003106.3



(b) ゼブラフィッシュ Gene ID:378723 NM:213118.1



ヒトとゼブラフィッシュの SOX2 遺伝子の構造とプライマーの位置情報

各々の SOX2 遺伝子において、F/R プライマーで増幅される領域を黒い帯で示した。

参考資料④ 実験前後のアンケート

(実際の調査では実験前と実験後は別の用紙で実施した)

問 1 遺伝子とその技術に関する用語の中で、あなたが興味や関心がある項目、あるいは重要と思う項目についてすべて選んで○をつけて下さい。また、理由についても記述して下さい。(実験前と後で回答)

[選択肢]

クローン, 遺伝子, 遺伝子治療, 再生医療, 染色体地図, ゲノム, 形質発現, DNA, RNA, iPS 細胞, 遺伝子

組み換え, 変異, DNA 鑑定, 品種改良, 体細胞分裂, 減数分裂, 形質, セントラルドグマ, 出生前診断, ヒトの遺伝病, ES 細胞, 細胞融合, PCR, 電気泳動, 転写, 翻訳

問2 日常生活で遺伝子や DNA に関する知識は今後必要と思いますか。当てはまる番号に○をつけて下さい。(実験後に回答)

- ①とても必要 ②必要 ③どちらとも言えない
④あまり必要でない ⑤必要でない

問3 日常生活で遺伝子や DNA に関する知識は役に立つと思いますか。当てはまる番号に○をつけて下さい。(実験後に回答)

- ①とても役に立つ ②役に立つ ③どちらとも言えない
④あまり役に立たない ⑤役に立たない

問4 高校でも遺伝子や DNA に関する実験は必要だと思いますか。当てはまる番号に○をつけて下さい。また、理由についても記述して下さい。(実験後に回答)

- ①とても必要 ②必要 ③どちらとも言えない
④あまり必要でない ⑤必要でない

理由

問5 遺伝子や DNA などの分子生物学の学習では、授業で学ぶ内容が実感できますか。(実験前と後で回答)

- ①とても実感できる ②実感できる ③どちらとも言えない
④実感できない ⑤全く実感できない

問6 実際に実験を行なった後では、学習内容の理解が深まったと思いますか。(実験後に回答)

- ①すごく思う ②思う ③どちらとも言えない
④思わない ⑤全く思わない

問7 ヒトとゼブラフィッシュの DNA の配列情報について着目し、比較した場合、共通な部分と多様な部分があると思いますか。また、その根拠となる理由についても記述して下さい。(実験前と後で回答)

理由

問8 遺伝子解析技術の1つである PCR 法について、以下の文章は正しいと思いますか。(実験前と後で回答)

「PCR 法は DNA の塩基間の結合が温度によって異なる性質を利用している」

- ①正しい ②正しくない ③わからない

問9 PCR 法では、酵素が使われて DNA が増幅されますが、使われる酵素はどのような性質を持った酵素ですか、記述して下さい。(実験前と後で回答)

問10 電気泳動では、DNA の長さ(分子の大きさ)を調べることができると思いますか。(実験前と後で回答)

- ①思う ②思わない ③わからない

問11 電気泳動の結果から DNA の長さ(分子の大きさ)についてどのようなことが解りますか。(実験前と後で回答)

問12 遺伝子や DNA 解析の技術は私たちの日常生活に利用されていると思いますか。また、どのようなことに利用されていると思いますか。思いつくことを記述して下さい。(実験前と後で回答)

- ①とても広く利用されている ②利用されている
③どちらとも言えない ④あまり利用されていない
⑤ほとんど利用されていない

問13 電気泳動結果の DNA を観察するには、青色 LED を使って光を照射するなど、その原理には物理の知識も必要であることがわかりますか。(実験前と後で回答)

- ①とてもよくわかる ②わかる ③どちらとも言えない
④あまりわからない ⑤ほとんどわからない

感想 あなたの感想を自由に記述して下さい。