

遺伝子の転写と翻訳の科学的概念形成を図る生物教材の開発と授業実践 —無細胞蛋白質合成システムとルシフェラーゼを用いて—

畦 浩二・鈴木賢一¹・福田康朗²

分子生物学におけるセントラルドグマ（遺伝子の転写と翻訳）を科学的に理解するための生物教材を開発し、授業実践を通してその有効性を検証した。新たに開発された無細胞蛋白質合成システムを用いた分子生物学的実験は、危険な薬品を含まず、実験に際して高価な機器や遺伝子組換えの申請をする必要もない。このシステムを使うことで細胞内でおこる遺伝子発現を試験管内で再現することが可能となる。試験管内で酵素ルシフェラーゼを合成させ、ホタルの発光現象を再現した実験では、生徒は興味・関心をもって実験に臨むと同時に、得られた結果をもとに遺伝子の転写と翻訳の上下関係を帰納的に考察することができた。このシステムを使った分子生物学的実験は生徒の科学的思考力を高めるうえで、大変効果的であると考えられる。

1 はじめに

2003年4月に、ヒトゲノム配列の解読が宣言され、その結果から予想される遺伝子数は、約2万5千種類前後と考えられている。この数は、当初予想されていた10万種類よりもはるかに少なく、ヒトは数少ない遺伝子を巧妙に使って複雑な「生物体」をつくっていることが明らかとなった。我々ヒトの生命活動を支える遺伝子のセット（ゲノム）、すなわちゲノム情報を基盤にした生命科学は、21世紀の科学の主流の一つである。生体内における遺伝子の構造とその発現のしくみを科学的に理解することは、将来の生命科学を担う研究者を育成するうえでも大変重要といえる。

文部科学省の高等学校学習指導要領（2003年）によると、「生命現象と物質」の大単元の指導目標は、「・・・生命を維持する共通の原理を理解させ、生物現象を分子レベルでとらえる・・・」となっている。しかし、平成18年度用の生物Ⅱの教科書を数社調べたところ、遺伝子に関連した実験を取り上げているのは、「大腸菌の遺伝子導入」（実教出版）があるだけで、それも高価な機器が必要であるため実施する際に難点がある。そこで、今回、高校現場で「遺伝子の転写と翻訳」という分子生物学におけるセントラルドグマを科学的に理解するための生物教材を開発し、授業実践を行ったので報告する。

2 無細胞蛋白質合成システムについて

今回授業で使用した「無細胞蛋白質合成システム」は、プロメガ社から市販されている物である。これは、小麦胚芽由来の細胞を丸ごとすりつぶして得た「細胞抽出物」にタンパク質合成に必要なアミノ酸、RNAの分解を阻害する物質、ファージ由来のRNA合成酵素を加えたも

ので、このシステム中には遺伝子の転写と翻訳に必要なものがすべて含まれている。従って、「無細胞蛋白質合成システム」を使うことによって、生きた細胞内でおこる生命現象を試験管（マイクロチューブ）内で実験的に再現することが可能となる。また、危険な薬品を含まないため安全であり、遺伝子組換えの申請をする必要がない利点もある。

3 試験管内でおこる発光現象について

無細胞蛋白質合成システム中にルシフェラーゼ遺伝子の相補鎖DNAを入れると、このDNAを鋳型にしてホタルのルシフェラーゼmRNAが転写される。次にmRNAは翻訳されて、試験管内のリボソームによりルシフェラーゼ蛋白質が合成される（図1）。このルシフェラーゼ蛋白質は、ルシフェリン（基質）を酸化する酵素として働くので、試験管に基質であるルシフェリンを加えると酵素ルシフェラーゼが基質ルシフェリンを酸化する。その際、ATPが加水分解され、その一部のエネルギーが光として放出される（図2）。この生化学反応はホタルの発光現象と全く同じ反応である。従って、生命現象を目視できるため視覚的効果がとても高い。

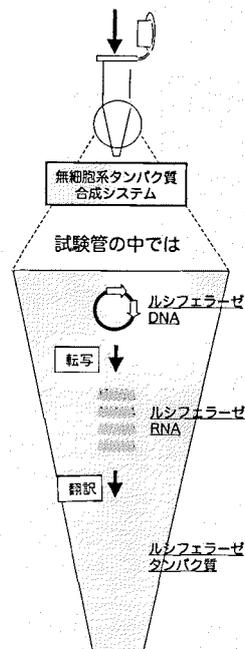


図1.
試験管内の転写と翻訳のしくみ

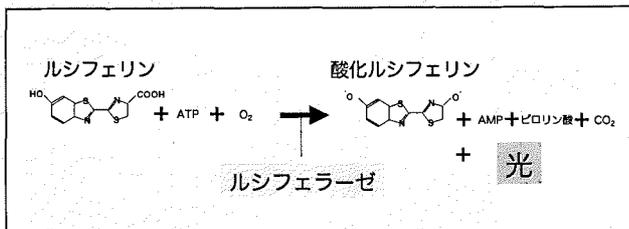


図2. 発光現象の化学反応

4 調査方法

無細胞蛋白質合成システムを取り入れた授業での学習効果を分析するために、授業実践およびアンケート調査を実施した。授業実践は、2006年10月3日（火）と5日（木）に行った。対象学年は高校3年生32名（男子16名と女子16名）で生物選択者である。一班6名～7名の合計五班で行った。調査方法として、授業実践直後に、授業の内容や生徒の感想などについて4段階評定尺度法および自由記述により調査を行った。

5 授業実践の内容

実践した授業は、生物Ⅱ“遺伝情報とその発現”の単元で行った。実践授業は、第一次と第二次の2回に分けて行った（表1）。第一次の授業は2006年10月3日（火）に、30分程度の時間をとり、マイクロピペットの使い

表1. 授業展開と授業内容

	授業内容
第一次導入	○ホタルの発光現象から遺伝子の転写と翻訳を考えることを告げる。
展開1	○無細胞蛋白質合成システムについて説明する。 ○7本のマイクロチューブにA液～E液をワークシートにしたがって、マイクロピペットを使って入れさせる。 ○マイクロチューブは2時間程度、室温（約25℃）におき化学反応をすすめさせる。 ○反応後はチューブを冷凍庫（約-20℃）に保存する。
第二次展開2	○前次のマイクロチューブ中に、基質となるルシフェリンを加えたときの発光の有無を、各自に理由とともに予想させる。 ○実験結果の予想を班ごとに討論させて、意見を集約させる。 ○前次に反応させたマイクロチューブに基質となるルシフェリンを加えさせる。
終結	(暗幕を閉める) ○実験結果（発光の有無）をワークシートに記入させる。 (暗幕を開ける) ○考察を行わせる。

表2. 7本のチューブに加えた6種類の溶液

チューブ	1	2	3	4	5	6	7
無細胞蛋白質合成システム (A液)	15μ						
ルシフェラーゼ DNA (B液)	-	10μ	-	10μ	-	10μ	-
ルシフェラーゼ mRNA (C液)	-	-	10μ	-	10μ	-	10μ
DNA分解酵素 (D液)	-	-	-	2μ	2μ	-	-
RNA分解酵素 (E液)	-	-	-	-	-	2μ	2μ
ルシフェリン (F液)	150μ						

方を15分程度練習した後、各班ごとに7本のマイクロチューブにA液～E液をワークシートにしたがって混入する操作までを行った（表2）。その後、それぞれのマイクロチューブは室温（約25℃）で2時間放置したままにして生化学反応をさせた後、家庭用の冷凍庫（温度約-20℃）に保管した。第二次の10月5日（木）は、1コマ50分を授業に使った。前次に準備したマイクロチューブに基質となるルシフェリンを加える前に、予めチューブごとで起こる発光現象の有無を生徒各自に予想させた。その際、発光が起こらないと予想されるマイクロチューブについては、その理由を文章で表現させた。その後、班ごとに予想される実験結果を討論させ、予想結果を班ごとに集約させた。その後、F液の基質ルシフェリンを7本のチューブに加えさせた（表2）。

6 授業に関する調査結果

(1) 生徒各自の実験結果に対する予想

基質ルシフェリンを加える前に、各自に発光現象の有

表3. 各班の予想結果と予想される結果とは反対の結果を予想した生徒数（生徒総数は32名）

チューブ	各班の予想結果*	予想される結果と反対の予想をした生徒数					合計(名)
		1班	2班	3班	4班	5班	
1	発光無し	0	0	0	1	0	1
2	発光有り	0	2	0	0	0	2
3	発光有り	1	3	0	0	0	4
4	発光無し	0	0	0	1	0	1
5	発光有り	0	2	0	0	0	2
6	発光無し	1	0	4	0	3	8
7	発光無し	0	0	0	0	0	0

*：予想結果は五班とも同じであった。

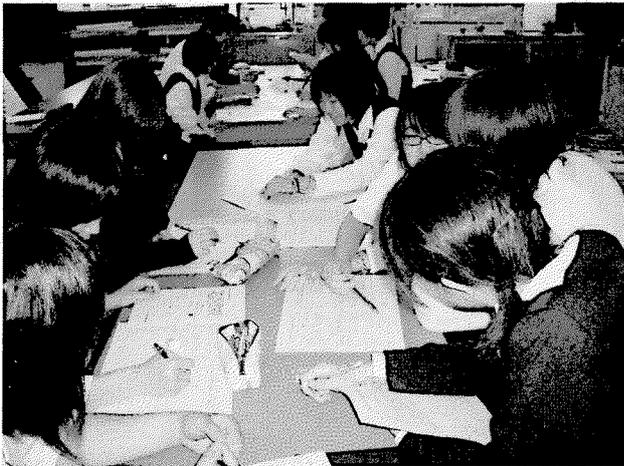


図3. 班ごとの討論の様子

無を7本のチューブごとに予想してもらった結果、延べ18名が誤った解答をした(表3)。特に誤りの多かったチューブは、チューブ6であった。このチューブには、無細胞蛋白質合成システムとルシフェラーゼDNAとRNA分解酵素が入っている。RNA分解酵素が作用すると、RNAが分解されるために遺伝子の翻訳が起こらず、結果的には発光現象はおきないはずである。しかし、生徒の中にはDNAがありさえすれば最終的にタンパク質合成が起こると誤って考えてしまい、遺伝情報の転写と翻訳の上下関係が正しく理解できていないことが分かる。講義中心の知識を一方向的に教え込む授業では陥りやすい弊害の一端である。

(2) 班ごとの実験結果に対する予想

実験結果に対する各自の予想が終了した時点で、班ごとに予想結果を討論させた(図3)。この目的は、他の人との議論を通して、他の人の意見を知ると同時に自己の意見の修正を行う営みによって、自分自身の知識・理解を深めることがねらいであった。この議論によって、

表4. 各班の予想結果と実験結果

項目	各班の予想結果	実験結果*				
		1班	2班	3班	4班	5班
チューブ1	発光無し	○	○	○	○	○
チューブ2	発光有り	○	○	○	○	○
チューブ3	発光有り	○	○	○	○	○
チューブ4	発光無し	×	×	○	○	×
チューブ5	発光有り	○	○	○	○	○
チューブ6	発光無し	○	○	○	○	×
チューブ7	発光無し	○	○	○	○	○

* : ○は実験結果が予想結果と一致した。
×は実験結果が予想結果とは反した。



図4. 生徒実験の様子

前述の誤った判断をした延べ18名も自己の考えの間違いに気がつき、最終的には五つの班ともすべて同じ予想結果に辿りつくことができた(表4)。

(3) 実際の実験結果

各班ごとの予想結果と実験結果が表4に示してある。今回の実験に使用した試料の混入割合で発光する光の強さは、暗幕を閉めた生物教室内でも十分に観察することができる光の強さであった。チューブが発光したときは、生徒は皆大きな歓声をあげた。しかし、予想に反してチューブ4で三班、またチューブ6では一班、それぞれ発光が観察された。これらのチューブはそれぞれ、注入するDNA分解酵素とRNA分解酵素の液量とともに $2\mu\text{l}$ と少なく、マイクロピペットの操作に生徒が十分慣れていないことが、実験結果が予想結果とは異った大きな原因と考えられる。それ以外のチューブでは、予想通りの結果が得られ、二班では、完全に予想結果と実験結果とが一致した。

7 生物教材としての評価

遺伝子の転写と翻訳については、講義形式による知識・理解が中心となり、手頃な実験も開発されておらず、生徒には理解しにくい側面が強い内容である。今回の無細胞蛋白質合成システムを使った発光現象は、目に見える形でタンパク質の存在が確認でき、実験の組合せによって転写と翻訳の上下関係が理解できる利点がある。そのため生徒に大変好評な実験であり(図4)、教材としての分かりやすさや興味深さに関しては、ほとんどすべての生徒が肯定的に回答した。同時に、遺伝子の転写と翻訳を理解する生物教材として大変有効であるとの高い評価を得た。更に、今回の分子生物学的実験を通して科学的思考力を高めることができると答えた生徒は全員であった(表5)。また、生徒の自由記述には、“遺伝子の転写と翻訳を頭だけで知識として理解するだけでなく、

表5. 授業後の生徒アンケートの結果。表中の数字は生徒数を表している。(生徒総数は32名)

アンケート項目	自己評価			
	肯定的		否定的	
	1	2	3	4
(1) 遺伝子の転写と翻訳の原理は理解できましたか。	2	1	0	0
(2) 形質発現までの過程を順序だてて理解できましたか。	2	3	9	0
(3) 個々の実験操作の意味と目的は理解できましたか。	2	7	5	0
(4) 実験結果から考察を適切に行うことができましたか。	1	8	12	2
(5) この実験は科学的思考力を高めることができると感じますか。	3	2	0	0
(6) 実験内容は分かりやすかったですか。	2	7	5	0
(7) 実験内容は興味深かったですか。	2	9	3	0

目に見える形ではっきりと理解することができたことがとてもよかった”や“チューブ同士を比較することで、遺伝情報の転写と翻訳がわかることと、予想通りチューブが光ったときは感動した”などがあった。これらの感想は、授業者側が授業を行う際に予め意図していたことと完全に合致しており、これらのことから今回の分子生物学的実験は生物教材として大変有効であると考えられる。また、生徒は“発光現象以外の転写や翻訳を学びたい”とか“他の生物の発光のしくみを調べてみたい”とか回答し、遺伝子に対する学習の拡がりや深まりが認められた。

今回の分子生物学的実験は、生徒の“科学する心”を強く刺激したように思われる。このような実験が高校現場でできるだけ多く実践されることは、事物・現象についての知識・理解を単に深めるだけではなく、生徒の科学的な知を獲得し創造していくうえでとても大切であると考えられる。

8 今後の課題

生徒が今回の実験で指摘した課題は、“マイクロピペットの取り扱い方や μl の単位などを予め習熟しておくべきであった”や“各酵素のはたらきについて予めよく学習しておくべきであった”などがあった。これらは、生徒実体をよく把握している授業者側の対応によって十分改善できる課題である。

現在この実験を行ううえでの最大のネックは、無細胞蛋白質合成システムを作製するうえで不可欠な小麦胚芽抽出物(プロメガ社製)がかなり高価なことである。

9 謝辞

今回の授業実践を行うに際して、小麦胚芽抽出物(プロメガ社製)を快く提供して下さったAPRO(株式会社アプロサイエンス)に対して、感謝申し上げます。

文献

- 1) 高等学校学習指導要領. 文部科学省. 2003年12月発行.
- 2) 第一学習社 高等学校 生物Ⅱ. 田中隆荘 他22名(著). 2003年3月20日検定済.
- 3) 啓林館 高等学校 生物Ⅱ. 太田次郎 他15名(著). 2004年2月20日検定済.
- 4) 実教出版 新版 生物Ⅱ. 石原勝俊 他11名(編). 2003年3月20日検定済.
- 5) 数研出版 高等学校 生物Ⅱ. 川島誠一郎 他11名(著). 2003年3月20日検定済.
- 6) 東京書籍 生物Ⅱ. 石川 統 他13名(著). 2003年3月20日検定済.

所属

- 1: 広島大学理学研究科生物科学専攻
- 2: 株式会社アプロサイエンス