

高大連携による生命科学教材の開発とその実践的研究

畦 浩二 鈴木 賢一 林 靖弘 山本 卓
坂本 尚昭

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になると考えられる。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である。

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20年度用の生物Ⅱの教科書のうち、第一学習社(田中隆荘他 2007)、啓林館(本田次郎他 2004)、実教出版(石原勝敏他 2007)、東京書籍(石川 純他 2003)を調べたところ、遺伝子工学の生徒用実験として、四社とも共通して「プロトプラストの作成とその融合」を取り上げている。この実験は取り扱いが容易ではあるが、生物現象を直接分子レベルで取り扱ってはいない。遺伝子工学の分野は、日進月歩発展しているにもかかわらず、適切な生物教材が開発されていないため、講義中心の授業に陥りがちな分野である。

筆者らは、ホタルの発光現象をつかさどるルシフェラーゼを、無細胞蛋白質合成システムを使ってマイクロチューブ内で合成させ、ホタルの発光現象を再現させる授業実践をすでに試みた(畦他 2007)。その結果、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。この蛋白質合成システムを使った分子生物学的な実験は、今後高校現場で幅広く活用されることが期待される。しかし、ルシ

フェラーゼを合成させて発光の有無の観察する際は、暗い部屋で確認する必要があるなど難点もあった。そこで、今回は、明るい部屋でも形質発現の有無が確認しやすい、オワンクラゲがもつGFPタンパク質(蛍光タンパク質)に注目した。そして、高校現場で「遺伝子の転写と翻訳」というセントラルドグマを科学的に理解するための新たな生物教材の開発をめざすと同時に、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、プロメガ社製のものである。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 試験管内でおこる蛍光現象について

無細胞蛋白質合成システム中にGFP cDNAを入れると、このcDNAを鋳型にしてオワンクラゲのGFPの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GFP蛋白質が合成される(図1)。このGFPタンパク質に励起光(波長480nm)を照射すると緑色の蛍光(波長508nm)を発する

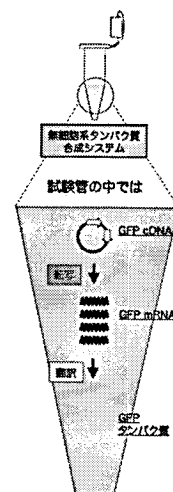


図1 転写と翻訳

(図2)。この生化学反応はオワンクラゲの発光現象と全く同じ反応である。従って、生命現象を直接目視できるため、視覚的効果がとても高い。

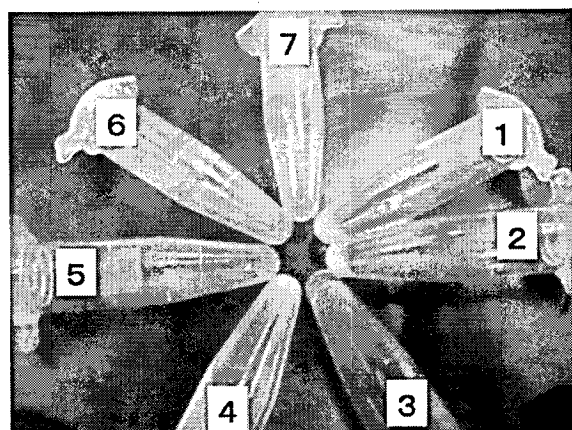


図2. 蛍光を発したマイクロチューブ1, 2, 4.

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、2007年10月29日(月)と31日(水)に行った。対象学年は高校3年生17名(理系3名と文系14名)で生物選択者である。このクラスの特徴は理系志望者が3名と極端に少なく、文系志望者が圧倒的に多いことである。一班4名~5名の合計4班で行った。アンケート調査は授業直後に行い、授業の内容、生徒の興味・関心や理解度などについて4段階評定尺度法および自由記述により調査した。同時に、ワークシートの回収も行い、生徒の授業の理解度を調べる資料とした。

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2007年11月29日(月)に50分授業のうち、最初の約15分間は、カイコの遺伝子を組換え技術により作製したクラゲの蛍光タンパク質を含む光る繭の実物と光る糸を吐き出すカイコの映像(約3分)を視聴させた。その後、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までの操作を行わせた(表2)。その後、それぞれのマイクロチューブは室温(約25℃)で約2時間放置してタンパク質合成をさせた後、家庭用の冷凍庫(温度約-20℃)に保管した。

第二次の授業は11月30日(水)に行った。マイクロチューブに青色LED(波長488nm)で励起光を照射する前に、予めマイクロチューブごとで起こると予想される蛍光現象の有無を生徒各自に予想させた。その

表1. 授業展開と授業内容

授業内容	
第一次導入	○オワンクラゲの発光遺伝子の転写と翻訳を考慮することを告げる。
展開1	○カイコの遺伝子を組み換えて作出したクラゲの蛍光タンパク質を含む光る繭の実物と光る糸を吐き出すカイコの映像を視聴させる。 ○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に、青色LEDの励起光を照射する前に蛍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LEDの光を照射させる。 (暗幕を閉める)
終結	○実験結果(蛍光の有無)をワークシートに記入させる。 ○考察を行わせる。

際、蛍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後、班ごとに青色LEDの励起光を照射させて、その結果をワークシートに記入させた(表2)。

表2. 7本のチューブに加えた5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)	15μl	15μl	15μl	15μl	15μl	15μl	15μl
ルシフェラーゼDNA(B液)	-	10μl	-	10μl	-	10μl	-
ルシフェラーゼmRNA(C液)	-	-	10μl	-	10μl	-	10μl
DNA分解酵素(D液)	-	-	-	2μl	2μl	-	-
RNA分解酵素(E液)	-	-	-	-	-	2μl	2μl
LEDの光	照射	照射	照射	照射	照射	照射	照射

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

青色LEDの励起光を照射する前に、各自に蛍光現象の有無を7本のチューブごとに予想してもらったが、述べ17名の生徒が誤った回答をした(表3)。特

に誤りの多かったチューブは、チューブ5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GFPタンパク質を合成するためのmRNAの他にDNA分解酵素が入っている。GFPタンパク質を合成するためのmRNAがあると翻訳が起こり、結果的にGFPタンパク質が合成されるので蛍光現象がおきるはずである。しかし生徒の中には遺伝子に固守するあまりに、DNAがなくなれば形質発現が起こらないと短絡的に判断してしまいがちであることが分かる。チューブ3や6で、それぞれ4名の生徒が誤って回答したのも同様な理由によると考えられる。これらの生徒は、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。講義中心の授業で陥りやすい弊害の一端である。



図3. 生徒実験の様子

表3. 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17名)

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

トの操作などの基本的な技能を事前に習得しておくことが必要不可欠といえる。

表4. 予想結果と各班の実験結果

項目	予想結果	実験結果*			
		1班	2班	3班	4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に反した。

(2) 実際の実験結果

生徒は興味を持って真剣に実験に取り組むことができた(図3)。班ごとの実験結果が表4に示してある。蛍光の強さは、明るい生物教室内でも十分に観察することができ、今回の実験に使用した試料の混入割合でよいことも確認できた。青色LEDの励起光を照射して、予想していたマイクロチューブが緑色の蛍光を発したときは、生徒は皆大きな歓声をあげて喜んだ。しかし、予想に反してチューブ5では四班とも、蛍光が観察できなかった。この理由は不明であるが、筆者らが予備的に行ったチューブ5では蛍光は予想通り観察され、GFPタンパク質がきちんと合成できていることが確認できた。従って、生徒がマイクロピペットの操作に十分慣れていないことやマイクロチューブ内に加えた液体がうまく混ざり合わないために反応が進行しなかったのではないかと推察される。

分子生物学的な実験を行う際には、マイクロピペッ

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内容である。今回の無細胞蛋白質合成システムを使った蛍光現象は、目に見える形で形質発現が観察できる利点がある。同時に、実験の組合せによって転写と翻訳の上下関係を考察できる利点もある。そのため生徒に大変好評な実験であり、教材としての分かりやすさや興味深さに関しては、ほとんどの生徒が肯定的に回答し、生物教材としての有効性を支持した(表5)。しかしながら、今回授業をしたクラスでは、「遺伝子の転写と翻訳の原理」や「形質発現までの過程」を順序だてて理解できたと肯定的に回答した生徒が、授業者の予想に反して少なかった。この原因については、別項で解析を行う。

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15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。	5	4	2	4
(2) 形質発現までの過程を順序だてて理解できましたか。	4	5	3	3
(3) 個々の実験操作の意味と目的は理解できましたか。	4	8	3	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。	3	5	5	2
(5) この実験は科学的思考力を高めることができますか。	1	10	4	0
(6) 実験内容は分かりやすかったですか。	10	2	3	0
(7) 実験内容は興味深かったですか。	11	3	1	0

生徒の実験後の自由記述には、“生体内で起こっていることをマイクロチューブ内で見られるのがすごいと思った”や“ほんの少しの量でも形質発現に大きく影響することがわかった”などの記述もあり、今回の実験主題の一端は十分に達成できたといえる。また、生徒は“発光現象以外の転写や翻訳を学びたい”や“他の生物の発光のしくみを調べてみたい”とも回答し、遺伝子に対する学習の掘がりと深まりが認められた。

8 今後の課題

当校では、生物選択者は文系志望者と理系志望者を区別することなく授業を受けている。昨年度に授業実践したクラスは、理系志望者が圧倒的に多く、表6に示したようにアンケート項目(1) 遺伝子の転写と翻訳の原理やアンケート項目(2) 形質発現までの過程の理解に関しては、ほぼ全員が肯定的な回答をしたことがわかる。それに反して、今年度は、それらの項目に肯定的に回答した生徒が少なくなった。この減少の原因としては、①授業と実験の間が、約1カ月以上も開いてしまったこと、②文系志望者によくある傾向として、入試に直接関係のない内容(生徒が勝手にそう思っている)に対しては内的な動機付けが低下すること、③逆に、理系志望者は進路選択に直接結びつく内容に対して興味・関心を強く抱くことなどが考えられる。文系志望者の授業後のアンケートには、“DNAやRNAについてもっときちんと理解しておくべきであった”や“形質発現までの順序などを予め復習しておけばよかった”などの反省点が述べられていた。目的を持った実験を行うためには、当然のことながら実験内容に関しての基本的な知識・理解を習得しておく

表6. 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：2006年度実施)

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。	21	10	1	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。	23	9	0	0
(3) 個々の実験操作の意味と目的は理解できましたか。	27	5	0	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。	18	12	2	0
(5) この実験は科学的思考力を高めることができますか。	32	0	0	0
(6) 実験内容は分かりやすかったですか。	27	5	0	0
(7) 実験内容は興味深かったですか。	29	3	0	0

ことが求められる。

授業者側としては、分子生物学的な実験を行う際には、①マイクロピペットの操作やマイクロチューブ内の液どうしをよく混合させるなどの基本的技能を予めよく習得させておくこと、②一年間のカリキュラム全体を見通したうえでの授業実践の明確な位置づけが求められる。

謝 辞

カイコの蛍光菌及び映像を貸与して頂いた、広島県産業技術研究所の富田正浩研究員にお礼申し上げます。

引用文献

- 1) 高等学校学習指導要領。文部科学省。2003年12月発行。
- 2) 畦 浩二・鈴木賢一・福田康朗。2007年3月。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—。広島大学附属福山中・高等学校中等教育研究紀要47巻：153-156。
- 3) 第一学習社 高等学校 改訂 生物Ⅱ。田中隆荘 他19名(著)。2007年3月7日検定済。
- 4) 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。
- 5) 実教出版 新版 生物Ⅱ。石原勝俊 他13名(編)。2007年3月7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。