

サイエンス・アソシエーション・プロジェクト 事業実績報告書

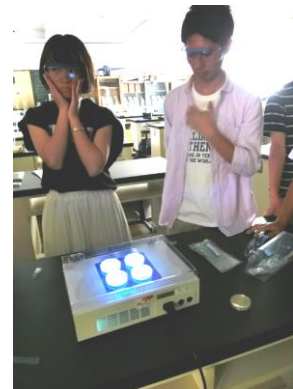
平成 28 年 6 月 23 日付け長野県指令第 279 号で補助金の交付決定のあった平成 28 年度サイエンス・アソシエーション・プロジェクト事業を以下のとおり実施しました。

- 1 企画名 「遺伝操作体験実習講座」
- 2 企画の分類 国内研修
- 3 事業実施対象者 長野県諏訪清陵高等学校
- 4 実施対象者
本校 2 学年 S R（サイエンスリサーチ）コース生徒
及び理系生物選択者
- 5 実施内容と成果
別紙（次ページ以降）

講座名・講演名		長野県教育委員会サイエンスアソシエイツプロジェクト支援事業 連携講座「遺伝子操作体験実習」	
実施日時		7月12日（火）～14日（木）学習合宿2時限（事前学習） 7月19日（火）、20日（水）、21日（木）本校生物室（遺伝子導入実習） 8月2日（火）～8月3日（水）1泊2日信州大学（遺伝子操作体験実習）	
実施会場		信州大学基盤研究支援センター 遺伝子実験支援部門（遺伝子操作体験実習）	
講師・授業者		信州大学繊維学部応用生物科学科 教授 林田 信明 先生 信州大学基盤研究支援センター 遺伝子実験支援部門 准教授 松村 英生 先生 助教 小笠原 寛 先生 信州大学大学院理工学研究科 TA 三浦 竜平 先生 TA 荻野 真唯子 先生 TA 伊藤 克 先生 TA 熱見 稜 先生 担当教諭 山岡 淳一 牛山 敏章	
対象者		2年SSHコース 25名（男子14名、11名）生物選択者8名、物理選択者17名	
内 容（予定）			
月日	項 目		
6月中旬～7月下旬 （学習合宿、放課後補習）	本校における事前学習 現代社会を生活する市民として今後欠くことができないであろう遺伝子に関する教養を身に付けることを目標に、長野県教育委員会のASPの支援を受けて、2年生の生物選択者に加えて生物を選択していない生徒にも対象を広げて「遺伝子操作体験学習」を実施した。 2年生生物選択者に対しては、生物の授業の「細胞と分子」、「遺伝情報の発現」、「細胞の分化と形態形成」の単元において、遺伝情報の本体であるDNAの構造、転写翻訳の仕組み、遺伝情報の発現の仕組み、そしてバイオテクノロジーの例として遺伝子組換え技術や遺伝子のクローニング（PCR）や塩基・アミノ酸配列の解析法などの具体的方法を学んだうえで実習に臨ませた。 生物を選択していない生徒に対しては、1年次全員必修で履修した生物基礎の「遺伝情報の発現のしくみ」を簡潔に復習したうえ、遺伝子組換えに関わる「制限酵素の働き」「リガーゼの働き」「遺伝子の発現調節」のしくみについての事前講義を学習合宿の場で受講させて、本校でのプラスミド（pGLO）の大腸菌への導入実験、大学での遺伝子操作実験に臨ませた。		
			
7/19～7/21	本校における遺伝子組換え実習 2学年受講希望者25名に対して、以下の「オワンクラゲのGFP遺伝子の導入実験」を本校生物室において実施した。 実習前日までに、実習に必要な4種類の培地を用意し、実習前日19日に、1種類の培地に実習で用いる大腸菌を植え付けた。実験当日20日には該当生徒に対して「GFP遺伝子の導入実験」の内容と手順の解説をあらためて簡潔に実施したうえで実習を行った。実習の翌日21日は、実験結果を観察して各班で結果の考察を行わせた。 実習中は結果を予想しながら、仲間と協力しながら、操作の意味を理解しつつ行うよう配慮した。実習の過程は以下の通りである。 1 プラスミドによるGFP遺伝子の大腸菌への形質導入を体験する。（ヒートショック法） 2 アンピシジン耐性遺伝子をGFP遺伝子とともに導入することにより形質転換大腸菌をスクリーニングできることを体験する。 3 アラビノースの有無でアラビノースオペロン（GFP遺伝子を含む）の転写調節が起きることを確認する。 4 大腸菌の菌内でオワンクラゲのGFPタンパク質が翻訳合成されることを確認する。 5 無菌培養操作を体験する。		
		 ヒートショック法でGFP遺伝子 を大腸菌に導入	
			



ヒートショック法で GFP 遺伝子
を大腸菌に導入



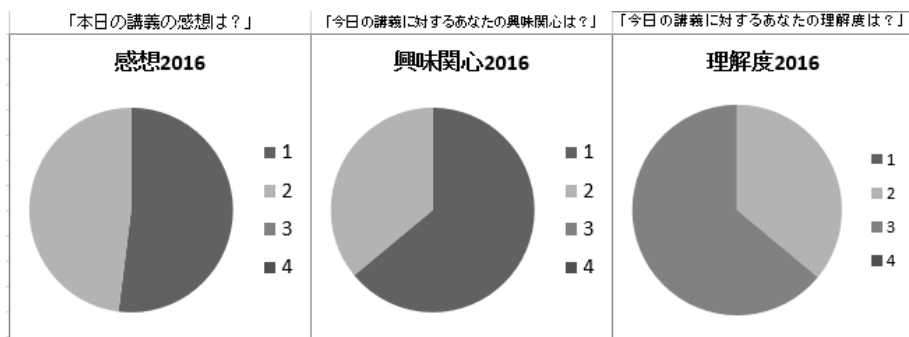
月 日	項 目
8/2 8:30 上諏 訪発 10:30 ～ 11:30	連携機関信州大学での実習 1 日目 オリエンテーション、p G L O プラスミドを導入した大腸菌の液体培地での培養① (1) 2 日間の実験内容の概要説明 (2) 本校で p G L O プラスミド (G F P 遺伝子、A r a オペロンを含む) を導入して保存してあった大腸菌と導入せず保存してあった大腸菌からクローンを採取し、液体培地へ植菌する。1 日培養して、大腸菌を増殖させて p G L O プラスミドのクローニングができることを実習する
8/2 12:30 ～ 13:30	マイクロピペット操作実習 (楽しみながら操作の技術を学べる方法) ・実習中必須となるマイクロピペットの取り扱いの実践実習 ・器具自体の取り扱い方の理解。 マイクロピペットで 2μl、8μl、10μl、20μl、60μl をテストチューブに取る。取った液を 100μl のマイクロピペットで再び取り、正確な操作が出来たか確認する。楽しみながら操作の技術を学べる方法である 
8/2 13:30 ～ 16:00	口内粘膜からの DNA の抽出、精製 まずはマニュアルに沿って実習を進め、待機時間に、一つひとつの操作が DNA の抽出精製にどのような意味を持つのか解説する。実習後再度操作の意味を解説。以上により、実習の効率化と同時に操作の理解も高まった (1) DNA の抽出と精製の手法についての簡単な講義 (2) DNA の抽出と精製の実習 (かつては各自の髪の毛を利用したが、口内粘膜の方が精製しやすい) ・各自、口内粘膜細胞を採取し、酵素、S D S、尿素等により細胞成分を溶解させる ・上記の試料からフェノール、クロロホルム、エタノールなどにより DNA の抽出、精製 
8/2 16:00 ～ 18:30	P C R 法による DNA の増幅の手法の実習と講義 (1) DNA を人工的に増幅する P C R 法についての講義 (2) P C R 法による DNA の増幅実習 ・DNA の抽出と精製の实習で得た DNA 試料に DNA ポリメラーゼ、プライマー、d N T P 等を加えてサーマルサイクラーにセットし、目的の遺伝子 (A L D H 2) を増幅させる ・P C R 法実施時のプライマーとして A L D H 2 遺伝子の高活性型プライマー (H) と低活性型 (L) の 2 種類を利用し、各自が A L D H 2 遺伝子のいずれを持っているか最終的に電気泳動で分析することを目的とした (個人情報扱いには本人家族の承諾をとること、実験結果も本人のみ確認できるよう注意した。結果は 2 日目に、その電気泳動結果をもとにヒト遺伝子の増幅結果を分析した。) (3) 植菌した大腸菌のチェックを行う 午前中に植菌操作をした液体培地の試料の状態を肉眼で確認する。 

月 日	項 目
8/3 9:00 ～ 11:10	連携機関信州大学での実習 2 日目 p G L O プラスミドを導入した大腸菌の液体培地での培養② 大腸菌のプラスミドのクローニング、その抽出および制限酵素による切断
	(1) 昨日から液体培地に移して増殖させた大腸菌からのプラスミドの抽出 - 増殖させた大腸菌においても G F P タンパク質が発現していることを紫外線ランプで確認させる←プラスミドが導入されていて、培地に A r a が加えられている大腸菌が G F P 遺伝子を発現し G F P を合成していることを理解させる - 大腸菌を S D S など溶解させ、p G L O プラスミドを溶解。変性した G F P タンパク質は蛍光を発しないことを確認 - スピンカラム等を利用して p G L O プラスミドを抽出、精製 (2) 精製したプラスミドの制限酵素による切断実習と制限酵素についての講義 - プラスミド DNA を H i n d Ⅲ (制限酵素の一種) で切断する。1 時間反応させる。
8/3 11:10 ～ 12:30	口内粘膜から抽出、精製、P C R 法で増幅した DNA の電気泳動による分離と講義
	(1) P C R で増幅した A L D H 2 遺伝子の電気泳動と電気泳動の仕組みについての講義 - アガロースゲルに、口内粘膜から分離し P C R 法で増殖させた DNA をマイクロピペットでローディングし、電気泳動により試料中の A L D H 2 遺伝子を分離した。ローディングの技術をじっくり会得させた。 (2) ゲルの染色と分離パターンの撮影 - エチジウムブロミドでゲルを染色し T A に電気泳動パターンを撮影した。
8/3 13:30 ～ 18:05 18:10 大学 発～ 19:45 上諏 訪着	p G L O プラスミドを導入した大腸菌の液体培地での培養③ 大腸菌のプラスミドのクローニング、その抽出および制限酵素による切断と電気泳動Ⅲ
	(1) 電気泳動を行う - 午前中に精製し制限酵素で切断したプラスミド試料をアガロースゲルにマイクロピペットでローディングして泳動させる。 (2) ゲルの染色と分離パターンの撮影 - エチジウムブロミドでゲルを染色 - トランスイルミネーターを用いて分離した DNA のバンドを確認し撮影した 実習のまとめ (1) 各自の口内粘膜から分離した DNA (A L D H 2) の電気泳動パターンを各自に手渡し、各自の遺伝子型をパターンから読み取る実習 ← 2 種類のプライマーを利用することで、ことなる遺伝子をクローニングし分析できることを確認した。 (2) 大腸菌から分離精製した p G L O プラスミドを制限酵素によって切断したものと制限酵素処理しなかったものを電気泳動し比較する ← H i n d Ⅲ 制限酵素で p G L O は 2 か所で切断され 2 断片になることを確認する。 (3) 遺伝子操作の歴史、現状、課題に関する講義



○ 生徒の反応・様子、課題

例年、事前に本校で実施した「オワンクラゲの GFP 遺伝子の形質導入実験」、および信州大学における「大腸菌プラスミドのクローニングと制限酵素による切断」「口内粘膜細胞 DNA の PCR 法による増幅」の実験では、全員がたいへん熱心に取り組む姿がみられ、興味関心と探究心をもって活動している様子がみられた。以下に今年度の生徒の感想、興味関心そして理解度のアンケート結果を挙げる。



感想の評価基準【1：大変よかった 2：良かった 3：どちらとも言えない 4：あまり良くなかった】

興味関心評価基準【1：大変持てた 2：まあまあ持てた 3：どちらとも言えない 4：あまり持てなかった】

理解度評価基準【1：十分理解出来た 2：ほぼ理解出来た 3：どちらとも言えない 4：理解出来ない点が多い】

○ 生徒の興味関心が高い連携講座である

上にあげた事後のアンケートによれば、講義の感想については、100%の生徒が「良かった」以上の評価を与え、興味関心については、68%が「大変持てた」の評価を答えている。この連携講座は、安定して生徒から大変良い感想を得て、高い興味関心を持たせる実習であるといえる。これも連携先の信州大学の担当の教職員およびTAの皆さんの企画運営の賜物である。

しかし、理解度については、十分できたと答えた生徒はおらず、ほぼできた生徒も 36 パーセントにとどまっている。ここに課題が見える。



以下に、感想と興味関心についての生徒の記述解答を挙げる。

○ 本講座に対する生徒の感想

- ・得難い貴重な体験ができた。実感の乏しい遺伝子を身近に感じた。
- ・今までのあやふやな知識が理解に変わった。
- ・大腸菌のみならず、自分の遺伝子を材料に仕えて興味深かった。
- ・解説が大変丁寧で分かりやすかった。
- ・順番に沿って実験が進み、一斉に進めて頂いたので一人だけ遅れることがなく良かった。
- ・TAの皆さんが親切に接して下さい、説明も分かりやすかった。
- ・高校の授業では扱えない内容を経験出来て良かった。
- ・生物の授業の内容を実習を通して体験出来、深く学習できてよかった。
- ・事前学習などもあり、1 年次の学習内容の復習もでき、また、実習の間の解説もわかりやすく、実習の理解を深めることができた。
- ・実験操作一つひとつの理論や仕組みに感動した。
- ・遺伝子についての専門的な話が楽しかった。楽しみながらできた。
- ・実習のスケジュールはハードだが充実感があり楽しかった。
- ・事前学習などもあり、1 年次の学習内容の復習もでき、また、実習の間の解説もわかりやすく、実習の理解を深めることができた。
- ・実験操作一つひとつの理論や仕組みに感動した。

○ 本講座に対する興味関心についての生徒の記述内容

- ・目に見えない世界を相手にすることができ大変面白かった。
- ・すごく細かい単位を扱う今まで想像したことがない実習が出来良かった。

- ・精緻な実習・実験に感動した。
- ・大変厳密、精密な実験を体験出来良かった。
- ・解説が工夫されており難しい内容も理解できた。
- ・自分のDNAを扱い興味深い。遠心分離、電気泳動など技術に興味をもてた。
- ・遺伝子に興味があり、この講座に参加でき貴重な経験を得た。
- ・事前学習で説明して頂いたことが、実習でさらに理解が進み、+αがあった。
- ・酵素はその働きが繊細だと感じた。
- ・様々な器具に興味を持った。遠心分離、電気泳動など操作に興味深かった。

多くの生徒が大変良い感想を持ち、興味関心が高められたことがうかがえる記述内容である。また、指導者の解説内容、解説方法も適切であることが伺われる記述内容である。

○ 非生物選択者の理解を高める工夫

さて、今年度の課題は新教育課程第4期生で、1年次に全員が生物基礎を履修しているが2年次では実習参加者の32%のみが生物履修者で残りは物理選択者や文系選択者であるという状況であった。

そこで、基礎知識を学習していない生徒が多数いる状況の中で、遺伝子操作実習をどのように効果的に運営して、生徒の理解度を高めることが出来るかという課題を持って事前学習、実習を行った。

一昨年度本実習参加者のうち物理選択者のみのアンケート結果をみると、100%の生徒が受講感想で「良かった」以上の評価を与え、94%の生徒が「興味関心が持てた」以上の評価を与えおり、その結果はほとんど生物選択者と変わりがなかった。

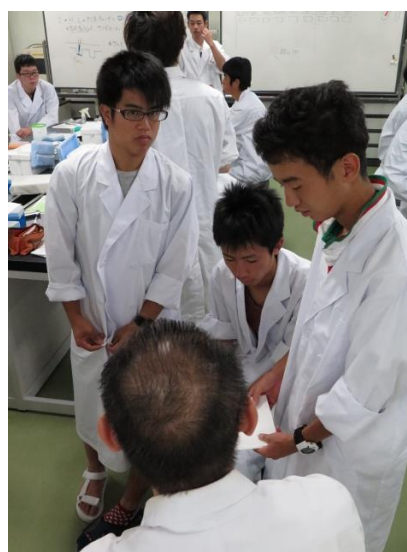
一方、理解度については「十分理解で出来た」生徒が0%で、「ほぼ理解できた」生徒は、全体で73%であったが、物理選択者では65%であった。

そこで、今年度は事前学習に力を入れ、7月中旬に実施された2学年学習合宿（白樺湖）のおり、本実習参加者に対して特別講座を設置し、「遺伝情報の発現のしくみ」の復習、そして本実習の遺伝子組換えに関わる「制限酵素の働き」「リガーゼの働き」「遺伝子の発現調節」のしくみについての講義を実施した。

また、大学においても、講義の合間や一日の実習の終了時に当日実施した実習に関するバイオテクノロジー技術の解説を適宜入れ生徒の理解を進めるような工夫を行った。

本年度は、参加者の68%が生物を選択していない物理選択者であったが、上記の感想や興味関心の記述内容を個別生徒についてみると、物理選択者の多くも良好な感想を持ち、興味関心を持てたことが分かった。しかし、実習の内容理解という点では、十分な理解は得られなかったようである。

非生物選択者にも十分実験の意図、操作、結果が理解できるような工夫がさらに必要のようである。



実習の合間に、行っている操作の意味を丁寧に解説していただいた

○ 本講座の理解度についての生徒の記述内容

- ・事前授業や講義での説明である程度理解できた。
- ・最初は用語や仕組みが理解できていなかったが、事前講義や実習を進める中で分かってきた。
- ・実験で確かめること、流れはわかったが、使っている薬品の働きまで理解できなかった。
- ・流れはつかめたが、幾つかの実験内容が頭の中で混同してしまった。
- ・TAが丁寧に質問に答えて下さり感謝。
- ・1学年の時の生物基礎の内容を思い出しながら実習を受講した。
- ・スライドの説明、実習中の説明の両方を聞いてやっと理解できた点もあった。
- ・図や絵があり概要は理解できた。使用した薬品類が多く、名前も似ており混乱した。
- ・入れている溶液の働きが分からないことがありました。
- ・計算をすることが難解であったが充分理解できなかった。
- ・なかなか難しく理解できないこともあった。
- ・専門的な用語がかなり多くて理解できないことがあった。

- ・理解できないまま言われるがまま実験操作をしてしまうこともあり反省した。
- ・生物が苦手な私には難しかった。
- ・操作手順の意味が分からないまま進んだところもありました。

以上の記述内容から見ると、実習の流れの概要は把握できたが、一つひとつの操作の意図や使用する薬品類の役割まで十分理解できなかったようである。

今後、操作の意図が理解できるまでの知識は事前に持てるような事前学習計画を練る必要がある。

○ 感想、興味関心および理解度の経年変化およびまとめ

2009 年度以降のアンケート項目、感想、興味関心そして理解度を比較してみた。

2013 年度以降現行の学習指導要領下での教育課程となった。翌年 2014 年度から全員必修の生物履修がなくなり物理選択者が本実習に参加始めた。

前教育課程下では、2014 年度まで徐々に理解度や興味関心が高くなっている傾向がみられる。

理解度においては、2010 年度までいた選択肢 3（どちらとも言えない）が 0 人となり、全員が「ほぼ理解できた」以上を答えている。これは、連携機関・信州大学の先生方の実習内容、手法そして解説法の改善の賜物であると考えている。また、本校 SSH 事業が第 3 期となり、SSH コースの生徒の課題探究の取組や連携講座への参加意識がより成熟してきたことによるものと総括している。具体的には、課題研究の課題発見の取組に時間をかけ、自分自身が解明したいテーマをじっくり一年間かけて探究するようになったこと、SSH コースとしてクラスを編成し HR に準ずる活動を 2 年間行うことで、生徒個々の SSH 事業に対する取組が深まったことが挙げられる。

しかし、残念ながら 2015 年度以降再び選択肢 3、4 を選ぶ生徒が出ています。感想や興味関心についても選択肢 1（大変良かった、大変持てた）という生徒がやや減少傾向である。教育課程が変更となり生物受講者が大きく減少したこと、第 3 期 SSH 事業が終了したことによる SSH コース生徒の減少等が原因として挙げられた。

生物の基礎知識がない生徒も遺伝子操作技術の基礎知識を学習し、信州大学において操作の実際を体験することは、科学に興味関心を持った高校生には得難い体験である。

今後も信州大学の先生方と連携しながらより良い講座を開発し、広く長野県下の高等学校でも同様の事業が出来るよう本校と信州大学が連携した講座の内容を機会あるたび公開していく予定である。

