BIOSCIENCE

私立名城大学附属高等学校

目　次

第１章　研究開発　4

第１節　研究開発の経緯
第２節　バイオサイエンスのねらい
第３節　バイオサイエンス
第４節　検証と考察
第５節　総括

第２章　指導計画　7

第３章　指導教材　8

bio

マイクロピペットの使用法・データ処理の方法　12
希釈法・分光光度計の使い方　16
DNA をつくろう　20
だ腺染色体の観察　24
転写・翻訳を可視化する　28
PCR 法による遺伝子の増幅　32
タンパク質の変性　36
アミノ酸・タンパク質の検出　40
生命を扱う実験　44

BIOSCIENCE

第 1 章　研究開発

伊藤憲人　ITO Norihito

第 1 節　研究開発の経緯

第 1 期 SSH 指定の平成 18 年度より , 学校設定教科「スーパーサイエンス」の科目「バイオサイエンス特論」を開講した。当初は教育課程に組み込まず , 放課後に希望者が受講する形態で実施した。当時は旧学習指導要領であり , 遺伝子のはたらきについては選択履修「生物Ⅱ」の内容であったため , 学習する生徒が少なかった。しかし , 近年の状況から理系の生徒は早期に遺伝子のはたらきを学習しておく必要があると思われたこと , 第 2 学年からでも十分理解できると判断できたことからこの分野を扱うことにした。指定後は教育課程を改訂し , 平成 19 年度入学生の主対象生徒であるスーパーサイエンスコースの必修科目として第 2 学年に 1 単位を設置した。それ以降は , 第 1 期指定の最終年次まで継続的に開講した。

その後 , 第 2 期 SSH 指定の平成 23 年度を機に「バイオサイエンス」と改称し , 専門的な実習を取り入れ内容を高度化し , 平成 25 年度まで開講した。学習指導要領の改訂により ,「生物基礎」で遺伝子発現の基礎をほとんどの生徒が学習することとなったため , 関連分野の実験を中心に内容を改めることで多面的に学習することをねらいとした。平成 26 年度からは研究開発の成果と普及の観点から , 新たな学校設定科目「スーパーサイエンス II」の年間指導計画の一部に , これまでの「バイオサイエンス」の内容を組み込みながら展開する。

第 2 節　バイオサイエンスのねらい

近年 , 生命科学分野の進歩が著しく , メディアなどを通して , 遺伝子組換え食品や遺伝子治療 ,DNA 鑑定などが広く報道され , これにより遺伝子工学への世間や高校生の意識と興味関心は大きく変化している。この分野は現在においても新しい発見や報告が続いている。また , 生命科学分野への進路に興味を持つ生徒は少なからず存在し , 生命科学分野の基礎を学習することや現在の生命科学研究の最前線を知ることは , 生徒のキャリア教育に通じ , また教員の知識や技量の向上にもつながると感じたことがねらいとして挙げられる。高等学校の理科では生命に対する倫理観を学習する機会は少ない。倫理観の欠如から研究生活やキャリアの展望に支障を来たしている現状があるので , 生命科学の基礎を学びながら生命の倫理観の育成を同時に行うことをねらいとする。

第 3 節　バイオサイエンス

3 － 1　教材観

生命と倫理をテーマに , 化学・生物を融合し , 教科間の関わりを体系化して授業を行うとともに , 授業内における実験の実施 , 大学教員による最先端の研究内容の講義を展開する。さらに , このバイオサイエンスでの学びが課題研究活動において , 知識や研究手法 , 課題設定や課題解決能力につながっていくとスーパーサイエンスでの学びがより横断的になると考えられる。

3 － 1　生徒観

純粋に学びの面白さを理解し , 理科や生命科学に対する興味関心を高め , 主体的に学習する姿勢を養い , 結果として基礎学力の向上や，化学や生物といった科目を縦割りではなく , 自然科学を横断的に生徒が理解できるようになることを目的とする。また , 研究との関わり , 研究者としての倫理観を学ぶことで , 知識偏重になることなく , 生徒自身の生命に対する考え方 , 扱い方に広い視野を与え , 総体的なものの見方を育成できると考えられる。受講した生徒はもちろんのこと , その周囲の友人 , 先輩 , 後輩達にも学ぶ姿勢についての良い影響を与え , 生命科学に関心を持ち , その技術の発展や問題を解決する担い手になるきっかけとしてなど様々な波及効果を生みだすことができると推測する。

3 － 3　指導観

授業の実施ついて，SSH 指定終了後も継続して学校設定科目を運営していくために , 高等学校教員が授業を行い , 実施授業時間は 50 分を基本とした。倫理観の育成については , 社会科と連携して計画を立て , 授業を行うこととした。生徒が科学を総合的にとらえることができるとともに , 教員の指導力向

上につながると考えられる。また , 幅広い分野を扱うことで , 他分野と教員の専門分野との関わりを再発見することができるので , 指導力向上を図ることができると推測する。

第 4 節　検証と考察

4 － 1　分野について

生命科学・遺伝子分野に焦点を当て実施した。主に高校生物の分野であるが , 大学で学ぶ生化学では , 化学に重点が置かれるため , 核酸やタンパク質などの化学構造 , 物質の性質を多く取り入れたところ , 生徒は難しいと感じる部分が増えたようだが , 疑問を解明しようとする姿勢がみられるようになった。また , 近年第三の生命鎖として注目されている糖鎖を題材として加えた。近年盛んに研究されているがんやインフルエンザについては , 生徒の興味関心が強く , 先端研究を題材にした教材として適当であると考えた。これらの内容は化学と生物の両方に関わり , 授業案を作成していく中で教員同士の知識の交換も今まで以上に活発となるという副次的な効果が得られた。

4 － 2　視聴覚教材について

授業ではできるだけアニメーションなどの視聴覚教材を多く取り入れることを心がけ ,JST の理科ねっとわーく ,NHK スペシャルの DVD など短時間で効果的な使用を模索した。アニメーション , 映像を用いることにより , 感覚的な理解を助けることができたが ,30 分以上の連続した使用だと生徒全体に飽きが感じられるようになるので 10 分 ~15 分の利用が効果的だと思われる。

4 － 3　生命倫理の分野

生命倫理の分野については , 生徒には科学者を目指すものとして , よい機会になったと思われる。しかし , 生命倫理を扱う場合の教材 , 例えば実験動物の取り扱いについて , 生徒の発達段階に留意して作成しなければならないことは特筆しておく。

4 － 4　試験について

基本事項の確認 , 計算問題 , 実験考察 , 生命倫理に関する論述問題とした。計算問題や実験考察の結果は , 満足できる定着の具合だったが , 基本事項を論述で確認したところ , 細かい知識の理解不足から全体を取り違えてしまっていることが多いということがよくわかり , 指導方法の改善につなげた。

バイオサイエンスは学習の動機付けとしては効果があったが , 十分な知識の定着という点では効果が薄かったようで , 補完のためには別途の演習時間の確保が望まれる。

論述力を向上させるために課したレポートを添削していくなかで , 当初は抽象的な内容や表面的な観察・考察ばかりであったが , より具体的に事象を把握し自身の言葉で表現するように指導を重ねたところ ,3 学期には生徒が個々で考え , 詳細な記述ができるようになった。

4 － 5　実験や実習について

授業の展開に簡単な実験を取り入れることは興味付け , 学習内容の具体化において非常に効果的だと考えられる。生徒はとても楽しんで行っており , 授業の展開には重要な位置づけとなった。しかし , 簡単な実験ではじっくり考察ができないため , ホタライトを使った酵素実験等を行うことで考察力を養うきっかけを作ることができたと考えられる。

生命科学の研究では , 試薬キットや機器が発達しており , 実験の原理を理解することは難しい。そこで ,DNA の抽出などの実験はタマネギ等 , あえて身近にあるものを使って実験を行った。一方で , より高度な展開を考えるならば PCR などの最先端の実験を計画に組み入れる必要があった。

授業アンケートでは , 実験や実習を多く取り入れることで生命科学分野に対する興味関心が非常に高まったとの意見が 7 割を超えた。その中には , 最も前向きに取り組める授業であるという意見も複数みられた。さらに実験技術が向上し , 課題研究の学校設定科目『スーパーサイエンスラボ』で行っている研究に役立ったという意見もあった。

第 5 節　総括

模擬試験の生物 , 化学は好成績で , バイオサイエンスにより , 早期の動機付けができ学習成果につながったと考えている。生物と化学の融合を目指し , 年度を重ねる毎に発展的に内容を充実させることができた。最新の生命科学分野のトピックを授業に取り入れることで生徒の興味関心を更に高められたと考えている。生徒は意欲的に学んでいるが , 学習した知識の活用や文章表現能力はあまり高くなかったので , 論述力の向上は今後の課題である。

特に , 大学教員の講義を高校教員の授業の中へ取り込むことができたことは , 生徒のためにも教員のためにも非常に効果があったと思われる。知識の定着と論述力の向上については一定の成果を見た。今後は , さらに討論・発信などの言語活動および表現力を養うための方策を考えたい。

平成 24 年より施行された学習指導要領解説の『1「生物基礎」の性格』には「~ 近年の生命科学の急速な進歩を反映した内容を取り入れ ~」とある。「バイオサイエンス」の前身である「バイオサイエンス特論」のねらいであった , 遺伝子分野の早期学習の必要性は学習指導要領改訂の内容と多くの点で合致しており , 適切であったと思われる。

本書は , 校内でのさらなる展開ならびに校外への普及を目的に作成する。研究開発の成果を , 授業で実践的に展開することが可能な指導書である。全国の SSH や関係教育機関に配付することで研究開発の成果が普及され ,「バイオサイエンス」の内容が多くの学校の生物や化学の学習に活かされることを期待する。

第２章　指導計画

伊藤憲人　ITO Norihito

バイオサイエンスは , 第 2 学年を対象に 1 単位 (50 分) で実施した。授業は化学と生物の 2 名によるチームティーチングで実施した。座学は教室で , 実験は生物実験室・化学実験室などで行った。

下記にバイオサイエンスの体系に沿った指導計画のモデルプランを示す。一連の流れにしたがって全てを履修することが理想であるが , テーマは 1 回あるいは 2 回での完結型の講座となっているため , 本書に収録されているテーマを生物や化学の授業時間を利用して実施することが可能である。

回	収録	テーマ	主な学習内容
1		ガイダンス・科学とは	① どのようにして科学が始まったのか ② 科学的な手法とはどういったものなのか ③ 生命の誕生の尊さ
2	◎	マイクロピペットの使用法 (実習)	①マイクロピペットの使用法 ②誤差 ③統計処理
3	◎	定量分析 (実習)	① 吸光光度計の使用法 ② 希釈法と検量線を用いた定量分析
4		細胞	① 細胞の発見・顕微鏡・サイズの感覚 ② 細胞を構成する物質
5		DNA の抽出 (実験)	① DNA の抽出実験 (簡易法) ② DNA の抽出実験の化学的な説明
6		DNA の性質	① DNA と RNA の違い
7	◎	DNA を作る (実習)	① ペーパークラフトを用いた DNA の二重らせん構造の模型の作製
8		DNA の複製	① メセルソンとスタールの実験 (DNA の複製 (半保存的複製)) ② DNA の複製の進行の様子
9		遺伝情報の発現	① コドンと tRNA ② タンパク質の合成
10	◎	遺伝子 (DNA)	① 遺伝子も原子・分子からできている化学物質 ② ワトソンとクリックの DNA 二重らせん構造の発見 ③ DNA とは (DNA の存在・構造など) ④染色体の観察
11	◎	転写と翻訳	① DNA の mRNA への転写 ② mRNA からタンパク質への翻訳
12		バイオテクノロジー	① 遺伝子組み換えの仕組み ② クローン技術
13	◎	PCR 法 (実験)	① PCR 法による遺伝子の増幅
14		生命に関わる化学物質	① 有機化合物とは ② ポリマー (高分子) とは何か ③ 脂質
15		アミノ酸	① アミノ酸とは (必須アミノ酸とは何か) ② α - アミノ酸の構造
16	◎	タンパク質	① ペプチド結合のしくみ ② タンパク質の体内での性質・機能
17		酵素反応と無機触媒反応に対する 温度の影響 (実験)	① 酵素反応 ② 無機触媒反応
18	◎	アミノ酸やタンパク質の検出 (実験)	① アミノ酸・タンパク質の検出反応 (ニンヒドリン反応 , ビウレット反応 , キサントプロテイン反応)
19		糖・糖質 (概論)	① 糖質・糖鎖とは ② 血液型の糖鎖による違い
20		糖質 (インフルエンザ)	① インフルエンザウイルスの構造 ② インフルエンザの感染・増殖
21		糖質 (がん)	① がんの発生 ② がんの転移
22		生命倫理とは	①生命の倫理 (バイオエシックス) とは何か
23		生命倫理の論点	① 生命にどこまで人為的に手を加えてよいか ② ヒトの組織の利用はどのような条件で認められるか
24		遺伝子技術	① ES 細胞について ② iPS 細胞について
25		研究者としての倫理	① 研究者倫理の定義 ② 情報・データの適正な取り扱い
26		動物実験の倫理問題と マウスの解剖事前学習	① 生命を扱う実験に対する向き合い方 ② 遺伝子組換え体の扱い方
27	◎	マウスの解剖 (実験)	①哺乳類の内部構造

第 3 章　指導教材

伊藤憲人　ITO Norihito

第 2 章の指導計画のモデルプランで示した授業のうち , 関連のある実習や実験を収録したものは下記のようである。それぞれの授業の内容は , 必要最小限の教師用の解説と生徒用の配付資料により構成されている。よって , 必要な背景知識や補足については , 実施の際に補完されたい。

教師用の解説書には十分に盛り込めなかった情報や実際の授業で用いたスライドや視聴覚教材などの教示用資料が必要な際は , お知らせいただければ幸いである。問合せ先については巻末に掲載する。

本書作成にあたっては参考文献や参考ウェブサイト , また , オリジナルの教材の開発者などの情報をできる限り掲載するよう心掛けているが , 必ずしも図版のすべてについて , 著作者の許諾を得ているわけではないため , 使用については留意されたい。

回	テーマ	主な学習内容
2	マイクロピペットの使用法 (実習)	①マイクロピペットの使用法 ②誤差 ③統計処理
3	定量分析 (実習)	① 吸光度計の使用法 ② 希釈法と検量線を用いた定量分析
7	DNA を作る (実習)	① ペーパークラフトを用いた DNA の二重らせん構造の模型の作製
10	遺伝子 (DNA)	① 遺伝子も原子・分子からできている化学物質 ② ワトソンとクリックの DNA 二重らせん構造の発見 ③ DNA とは (DNA の存在・構造など) ④染色体の観察
11	転写と翻訳	① DNA の mRNA への転写 ② mRNA からタンパク質への翻訳
13	PCR 法 (実験)	① PCR 法による遺伝子の増幅
16	タンパク質	① ペプチド結合のしくみ ② タンパク質の体内での性質・機能
18	アミノ酸やタンパク質の検出 (実験)	① アミノ酸・タンパク質の検出反応 (ニンヒドリン反応 , ビウレット反応 , キサントプロテイン反応)
27	マウスの解剖 (実験)	①哺乳類の内部構造

BIOSCIENCE

- マイクロピペットの使用法・データ処理の方法
- 希釈法・分光光度計の使い方
- DNA をつくろう
- だ腺染色体の観察
- 転写・翻訳を可視化する
- PCR 法による遺伝子の増幅
- タンパク質の変性
- アミノ酸・タンパク質の検出
- 生命を扱う実験

マイクロピペットの使用法・データ処理の方法

西田　奈津代　NISHIDA Natsuyo

学習指導要領とのつながり

高等学校理科　生物基礎	(1) 生物と遺伝子	イ　遺伝子とその働き
高等学校理科　生物	(1) 生命現象と物質	ウ　遺伝情報の発現
高等学校理科　化学基礎	(3) 物質の変化	ア　物質量と化学反応式
高等学校理科　化学	(1) 物質の状態と平衡	イ　溶解と平衡

1　はじめに

生物基礎・生物では遺伝子の範囲でバイオテクノロジーの分子生物学的手法を扱う。近代の生化学的・生理学的手法では少量の溶液中で反応を行うスモールスケールの実験が多く，その際に手法としてマイクロピペット（プッシュボタン式液体用微量体積計）は必須である。マイクロピペットは，少量の液体を高い精度で計量できる器具であり，生化学実験においては有用であるが，正しく使わないとサンプルのコンタミネーションや計量ミスを招き，正確な結果を導くことができない。

また，実験の結果が数値で表される場合に，その数値は実験操作による不確かさを含んでいる。これを誤差と呼ぶ。したがって得られたデータがどの程度信頼できるかについて，判別の仕方を学ぶ必要がある。本実習では，正しいマイクロピペットの使用法を学び，再現性の高い実験を行う素地を養うとともに，実験データの統計処理の初歩を学ぶ。

2　内容の解説

(1) 全体の流れ

ア　準備

実験の当日までに，下記 4 に材料をそろえる。

イ　実習

はじめに原理・マイクロピペットの使用法について解説する。その後，マイクロピペットの操作に慣れるために，蒸留水の吸い上げと排出を何度か練習させる。実際に蒸留水を量り取り，その重量を記録させる。

データ処理の方法について解説し，記録した水温での理論上の 1000 μ L の水の質量・データの平均値・標準偏差・誤差平均を求めさせる。時間の都合により課題としてもよい。

ウ　課題

実習プリントの問いを完成し，レポートとして提出させる。

(2) マイクロピペットの原理と使用方法

通常のピペットと同様に，空気の出し入れをすることによって，液を吸い上げたり，押し出したりする。目盛調節ねじを使って，ピストンが上下する距離を調整することで，出し入れする空気の量を調節できる。そのため，何らかの要因で空気圧が変化すると，正確な液量が計量できない。パッキンの劣化による密閉度の減少や揮発性溶媒を吸引する際の圧力変化，体温による内部の空気の温度変化等が起こりうるため，注意が必要である。

(3) データ処理の方法・誤差について

実験で得た測定値は，その操作過程によって真の値とは異なる場合が多い。本実習では測定値の評価の仕方として，①平均値　②標準偏差　③誤差平均を求めること，およびそれぞれの意味を理解することを目指す。

① 平均値：すべてのデータを合計し，データの数で割った値。計算が単純で，集団を表す値として便利である。ただし，データのばらつきの評価はできない。

② 標準偏差：データのばらつきをあらわし，データの精度の評価の目安となる。標準偏差の推定値 s は標本標準偏差とよばれ，次式で算出され，$s > \sigma$ となるが，n が十分大きくなれば $n-1 \fallingdotseq n$ となり，$s \cong \sigma$ となる。

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

（ $\bar{x}$ ＝平均値）

③ 誤差平均：

ア 確定誤差

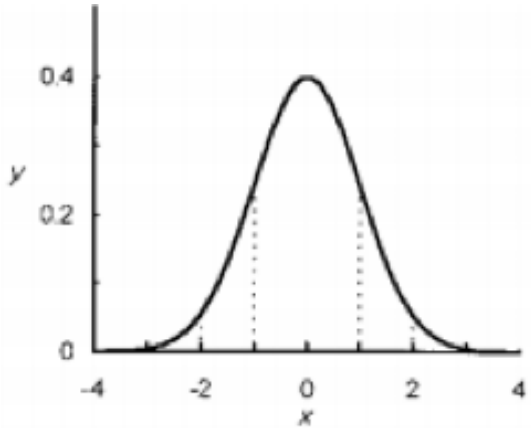
定常的な原因があり，測定結果に系統的な影響を与える場合に生ずる誤差。測定機器に欠陥がある場合や測定者の不注意による実験操作上の誤差，原理上目的の反応が完結しない場合や副反応がさけられない場合など，測定方法そのものに起因する誤差がある。確定誤差は，測定値間の偏差に関わらず真の値とのずれが生じるため，不正確さを示す指標となる。本実習では，誤差平均を求めることで，生徒の行った操作の正確性をはかる。

イ 不確定誤差

実験条件が同一であっても，測定値にばらつきが出て，測定値がランダムな分散となる。この不確定誤差は正規分布する。不確定誤差は測定値間での偏差を反映し，不精密さ示す指標となる。

(4) 正規分布と標準偏差

平均値 (μ) を中心に , データが全くランダムに分布している場合 , その確率密度のパターンは , 正規分布と呼ばれる下図のような左右対称の山形の分布を示す。



正規分布の曲線は以下の式で与えられる。ただし , μ は平均値 , σ は標準偏差である。この式を区間積分すると ,(平均値±標準偏差) の区間には , 全体の 68 % がその内部にはいり ,(平均値± 2 σ) の区間には全体の 95 % が含まれることが推測される。従い , 標準偏差やばらつきの記述が有効になるとともに , その他の統計処理でも正規分布が成立していることが非常に有効である。

$$y = \frac{\exp\left\{\frac{-(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right\}}{\sigma\sqrt{2\pi}}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i-\bar{x})^2}{n-1}}$$

($\bar{x}$ = 平均値)

3 ポイント

(1) マイクロピペットを正しく使うことができるか。

(2) 実験データを誤差をふまえて , 統計的に取り扱うことができるか。

4 準備

電子天秤 (最小表示 0 .01 g のもの), マイクロピペット (容量 ~1000 μ L), チップ , 蒸留水 , マイクロチューブ (10 個)

5 留意点

(1) 実験操作

ア マイクロピペットを使用する際に , ゆっくりと操作するように指示し , 本体に溶液がつかないようにすることを心がけさせる。チップの先は吸い上げが完了するまで液面から離さないようにし , 空気が入らないようにさせる。

イ 採取する容量に適したマイクロピペット (最大容量の 100 %~20 %) を選択する。マイクロピペットの目盛を必要量に合わせる。目盛を合わせる時は , 大き目の数字にしてからゆっくり戻しながら目的の数字に合わせる。下がりすぎた時は , 一度大き目の数字にしてから , 上記の操作を繰り返す。

ウ 目的に合ったチップをマイクロピペットの先端にしっかりと取り付ける。コンタミネーションを防ぐため , チップの先端は机などにつけないように指導する。溶液の逆流を防ぐためにチップの先端は下に向けておくことを指導する。

エ ピペット上部のプッシュロッドを第 1 ストップの状態まで押し込み , チップのごく先端部分だけをつけるよう指導する。チップの周りに溶液がつくことで , 溶液のロスが起こる。特に粘性の高い溶液では注意する。

オ ゆっくりプッシュロッドを戻して , 溶液を吸い上げること。勢いよく吸い上げると , 溶液がマイクロピペット本体に付着し , コンタミネーションを招く。また , 気泡の発生により正確な定量ができない。

カ チップを液面からゆっくり離し , 移したい容器の壁面にチップの先端をあて , プッシュロッドをゆっくり押して溶液を押し出す。

キ 第 1 ストップボタンまで押したのち , さらにプッシュロッドを押し込み , 第 2 ストップボタンまで押し込む。この時 , ゆっくりと先端部分の溶液を見ながら表面張力を利用して完全に溶液を出し切る。ゆっくりと操作し , 気泡が発生しないようにすること。

ク ストップボタンを押しこんだままピペットを溶液から離し , チップを外す。次も同じ液体を吸引する際は同じチップを使用した方が , 経済的である。

(2) データ処理

データの誤差平均が大きかった場合 , 操作の不正確さが原因であると考えられる。多い原因は , マイクロピペットのプッシュロッドを勢いよく操作し , 液が泡立つ・チップの先を液面から離して吸い上げをするため空気が入る等があげられる

6 参考文献

バーフォード著 (酒井訳). 実験精度と誤差　測定の確からしさとは何か . 丸善 ,1997

マイクロピペットの使用法と容量検定

1　目　的

正しいマイクロピペットの使用法を学ぶこと。
データ処理の基本を学ぶこと。

2　材料・器具

電子天秤 (最小表示 0 .01 g のもの), マイクロピペット (容量 ~1000 μ L), チップ , 蒸留水 ,50 mL ビーカー

3　実験操作

(1) 1000 μ L 用のマイクロピペットと蒸留水を使用する。
(2) 1000 μ L に目盛りを合わせる。ピペットは必ず先端を下に向ける。
(3) マイクロピペットにチップを確実に装着する。
(4) ピペット上部のプッシュロッドを第一ストップの状態まで押し込み , チップの先端を蒸留水につける。
(5) ゆっくり蒸留水を吸引した後 , チップの先をゆっくり水面から引き上げる。吸い取った液の中に気泡がないことを確認する。
(6) 50 mL ビーカーを電子天秤にのせ , あらかじめゼロ点補正したのち ,50 mL ビーカーの内壁にチップの先を沿わせ , プッシュボタンを 1 段目までゆっくり押し下げる。
(7) チップの内壁の蒸留水がチップの先まで下るのを確認した後 , プッシュボタンの 2 段目までしっかり押し込んでチップ内の蒸留水をすべて排出する。
(8) ストップボタンを押しこんだままピペットを溶液から離し , チップを外す。
(9) 採取した蒸留水の質量を読み取り , 記録する。(10 回ずつ)
(10) 水温を測定する。

(参考) 水の温度による密度変化

1 mL の水の質量（g）

温度（℃）	10 + *	20 + *	30 + *
＊= 0	0.9997	0.9982	0.9957
＊= 1	0.9996	0.9980	0.9953
＊= 2	0.9995	0.9978	0.9950
＊= 3	0.9994	0.9975	0.9947
＊= 4	0.9992	0.9973	0.9944
＊= 5	0.9991	0.9970	0.9940
＊= 6	0.9989	0.9968	0.9937
＊= 7	0.9988	0.9965	0.9933
＊= 8	0.9986	0.9962	0.9930
＊= 9	0.9984	0.9959	0.9926

4　結　果

(1)　水温 (　　)℃

(2)　計測した質量の記録・計算上の容量

回数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均値	標準偏差
質量 (g)												
計算上の容量 (μL)												

(3)　誤差平均を求めよ。

誤差平均 (μL)=10 回の平均容量ー真の値

＝

誤差平均＝±8μLであれば，正確さが保たれているとみなす。

(4)　マイクロピペットで目的の容量を正確に図り取るために注意するべき点は何か。

(5)　マイクロピペットの先端は必ず下に向けて扱うが，その理由は何か。

(6)　マイクロピペットを使用する際は，ゆっくりとプッシュロッドを押す必要があるが，その理由は何か。

5　感　想

希釈法・分光光度計の使い方

西田　奈津代　NISHIDA Natsuyo

学習指導要領とのつながり
高等学校理科　化学基礎 (3) 物質の変化　　ア　物質量と化学反応式
高等学校理科　化学　　(1) 物質の状態と平衡　　イ　溶解と平衡

1　はじめに

実験において，試薬の調整は最も大切な技術の一つである。また，調整した試薬が意図したものであるかを確認する術も知っておく必要がある。本実習では正確な希釈法を学ぶ。また，色のある溶液の場合は，吸光度の測定によってその濃度を知ることができる。そこで，分光光度計を用いて未知の濃度を求める方法についても学ぶ。

2　内容の解説

(1) 希釈法

今回は 1 /2 ずつの段階希釈を行うが，微生物の培養などでは 1 /10 や 1 /100 ずつの段階希釈を行うことも多い。作成した希釈液から次の段階の希釈液を作成するため，一度でも定量やコンタミネーションといったミスをすると正しい溶液の調整ができないので，事前に操作の全容を生徒に把握させる必要がある。

(2) 吸光光度法

光が溶液中を透過すると，溶質に光のエネルギーの一部が吸収される。この失うエネルギーは物質によって特異的かつその物質の濃度に比例して減少する。そこで一定波長の光を一定距離から当てた際の，前後の光の強さの程度を吸光度として計測し，溶液中の溶質濃度を求める定量分析法を吸光光度法と呼ぶ。

溶液に光が透過する前の光の強さを I_0，透過した後の光の強さを I とする。このとき，透過率は，透過率 $=(I/I_0) \times 100$ (%) となり，透過した光の強さに比例する。吸光度は，吸光度 $= -\log_{10}(I/I_0)$ で定義され，透過率が 100 % であると吸光度は 0 となる。この時，透過させる光の波長のピークを，対象の吸収波長に合わせることで，より正確な吸光度が求められる。

本実習では，濃度の感覚が分かりやすいように青色色素のメチレンブルーを用いた。下図の色相環で，反対側に位置する 2 色は互いに補色の関係にある。簡単に言えば，目に見えるのは吸収された光の補色である。

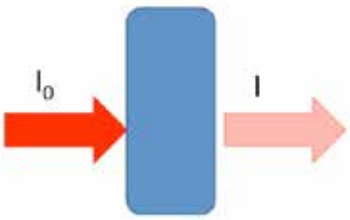
メチレンブルーが最も吸収する光の波長 (極大吸収波長) は 660 nm であり橙色の光に相当する。よって，橙色の補色である青が見えるのである。

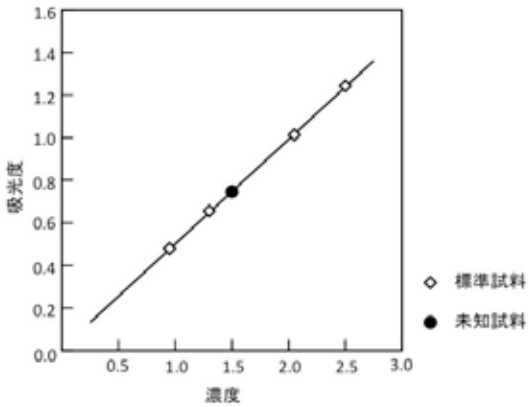
また，可視 ~ 紫外領域の範囲で光の波長を連続的に変えながら試料に照射することで，正確な吸収波長が分からずとも，その物質の状態ならびに成分を定量する方法を分光光度分析という。

(3) 検量線法

吸光光度法をはじめ，多くの質量分析では対象となる物質のみを測定しても，溶液試料の濃度や固体中の含有率を知ることは困難である。そこで，既知量の標準物質の濃度や含有率と，質量分析の結果得られる信号強度の関係を検量線に表す。そうすることで未知試料の信号強度からその試料の濃度や含有率を割り出すことができる。

検量線の範囲外の濃度の未知試料が得られた場合検量線の濃度範囲を広げて直線性が成立するかどうかを確認する必要がある。





3　ポイント

(1) 正しくマイクロピペットを使用して希釈が行えるか。
(2) 吸光度の意味を説明できるか。
(3) 吸光度を測ることで何が分かるかを説明できるか。
(4) 検量線を作成する目的を説明できるか。
(5) 検量線を正しく作成できるか。

4　材料の準備

(1) 吸光光度計とキュベット
分光光度計や光電比色計でも代用可能である。
(2) 色素液
標準液 : メチレンブルーを 32 ppm に調整
色素液 : 濃度が未知のもの
(3) コニカルチューブ (15 mL)　各班 3 本
(4) マイクロピペット (5000 μ L のもの)
(5) チップ
(6) 蒸留水
(7) グラフ用紙

5　留意点

(1) 光の波長や物質が波長を吸収するといった事柄について未習の場合 , 原理の説明を丁寧に行う必要がある。
(2) 吸光度が 1 を越えないように原液の濃度を調整する。

希釈法・分光光度計の使い方

1　目　的

正しい希釈法を学ぶこと。
分光光度計の使用法を学ぶこと。

2　材料・器具

色素液 (標準液 : メチレンブルー　32 ppm)・色素液 (濃度が未知のもの) 1 本
コニカルチューブ (15 mL) × 3・ピペットマン (5000 μ L)・チップ・蒸留水・分光光度計
キュベット・グラフ用紙

3　実験操作

(1)　標準液をピペットマンで 5000 μ L 計量し , コニカルチューブに入れ蒸留水で 1 /2 倍希釈する。
(2)　(1) で得られた溶液を同様に希釈し ,(1) ～ (2) を繰り返し ,1 /4 倍 ,1 /8 倍を調整する。
(3)　分光光度計でそれぞれの試料の吸光度を計測し , 記録する。

分光光度計の使い方
(1)　分光光度計の電源を入れ ,15 分間待つ (装置のウォームアップのため)。
(2)　キュベットを 2 本用意し , 水洗後 ,1 本に蒸留水をもう 1 本には調製した液を入れる
(吸収セルはそれぞれ , 対照液・検液で共洗いしてから利用する) 装置の安定を図る。
(3)　波長設定ダイアルを設定波長 (今回は 660 nm) にセットする。
(4)　蒸留水の透過が 0 % となるように 0 %T 調整ダイアルをセットする。
(6)　計測したい液を入れたキュベットをいれ , 吸光度を読み , 記録する。
※以上の操作を繰り返し 3 回行い , 大きな差異がないこと (再現性) を必ず確認すること！

(4)　検量線を作成する。
(5)　未知の濃度の色素液の吸光度を計測し , 濃度を決定する。

4　結　果

(1)　吸光度と濃度

倍	1	1 /2	1 /4	1 /8	未知の試料
吸光度					
濃度 (ppm)	32				

(2)　吸光度とは何を表すものか。

(3)　吸光度を計測することで , 何が分かるか。

(4)　検量線を作成することで , 何が分かるか。

(5)　検量線を作成し , 未知の試料の濃度を決定せよ。

5　感　想

DNA をつくろう

吉川　靖浩　YOSHIKAWA Yasuhiro

学習指導要領とのつながり

高等学校理科	生物基礎 (1) 生物と遺伝子	イ	遺伝子とその働き
高等学校理科	生物　(1) 生命現象と物質	ウ	遺伝情報の発現
高等学校理科	化学　(5) 高分子化合物の性質と利用	イ	高分子化合物と人間生活
中学校理科	第 2 分野 (5) 生命の連続性	イ	遺伝の規則性と遺伝子

1　はじめに

「DNA」という単語は今やだれでも聞いたことのあるものとなった。多くの生徒は「DNA= 遺伝子」と答えられるが ,DNA が核酸という物質であり , 分子であることをはっきりと説明できるかどうかは甚だ疑問である。DNA が核酸分子であることはきちんと理解させておく必要があるが「二重らせん構造」も含め , 分子としての認識は意外と難しいことのようである。現行の学習指導要領では中学校で DNA という言葉は出てくるようになったものの構造については言及されない。高校入学後 , 化学基礎で簡単に分子と結合を学習し , ようやく分子を " 構造 " の面からとらえられるようになる。このことから ,DNA のような巨大分子の構造をイメージすることが容易でないと想像できる。そこで , すでに学習している DNA の基本的な構造である " 塩基同士の相補性 " と " 二重らせん構造 " という根幹にあたる部分について , 模型を作成することでイメージさせることを目的に行った。

模型の作製は本来であれば分子模型キット等を用いることが望しいが , 生徒が分子模型に慣れていないことやキットの数をそろえることなどが障壁となり目的を達成しづらい。そこでペーパークラフトを用いた。この類のものはいくつかあるが , 芯となる竹ひごや針金など準備に手間がかかる上 , 複数準備できないものが多い。今回用いたものは紙だけで作ることができ , 手間がかからず生徒全員分を準備できる。よって生徒個人で作製でき非常に有効な教材だと考えられる。

科学の授業はとかく座学 , もしくは実験になりがちなので , 模式化されたものとはいえ , 手を動かしながら立体的なものを作る行程でそれまでに学習した様々なことに気づいていくことがあるのではないかと期待している。

2　内容の解説

使用したペーパークラフトは「サイエンスファクトリー英一」というウェブサイトで公開されており , 兵庫県の吉田英一氏が作成したものである。いろいろなパターンのものが用意されている。ここでは 4 塩基分離型と簡易型を準備したが , 授業では主に 4 塩基分離型を班で完成させるという形で用いた。

この教材は以下の①～⑥が表現されている。

① 二重らせん構造
② 塩基の相補性
③ 相補鎖が逆平行になっていること
④ 1 周期が 10 塩基であること
⑤ 2 本のらせんの間隔が等しくないこと
⑥ らせんの傾き

また , ヌクレオチドをイメージしたパーツを組み立てていくので塩基配列を独自に作ることもでき , 完成した後に遺伝子の組換えをイメージして実習することもできる。

簡易型は 500 mL のペットボトル容器に入れて飾ることもできるので , 個人で完成させられる教材として準備した。授業内にできなかった場合は持ち帰らせた。4 塩基分離型とは異なり , 相補性は表現されているが取り外しできず , らせんの間隔も等間隔になっている。

3　学習のポイント

(1) DNA は核酸分子である。
(2) 二重らせん構造になっている。
(3) 相補性があり , 逆平行になっている。
(4) 10 塩基で 1 周期となる。
(5) 2 本のらせんの間隔が等しくない。
(6) 塩基配列が遺伝情報を示している。

4　材料の準備

(1) ペーパークラフトのデータをダウンロードする。
(2) 180 K 程度の厚紙かケント紙を用意し , 印刷する。普通紙では柔らかすぎて作製できない。
(3) 完成したものをペットボトルに入れて飾る場合は炭酸飲料用のものがのぞましい。

5　留意点

(1) 遊びにならないよう留意する。
(2) ハサミで作製できるが , カッターナイフ等を用いる場合はけがに注意する。

6　参考文献

吉田英一 ." サイエンスファクトリー英一 ".http://www.venus.sannet.ne.jp/eyoshida/

作成者の吉田英一氏には教材の掲載等へのご理解とご協力をいただきました。この場を借りてお礼申し上げます。

DNA をつくろう

1　目　的

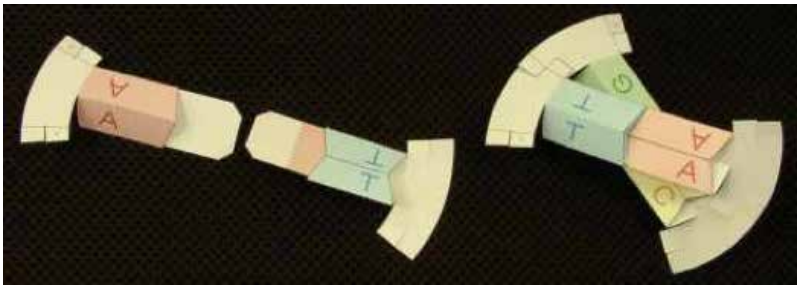
ペーパークラフトを利用して DNA の模型を作ることで DNA の構造を学習する。

2　準　備

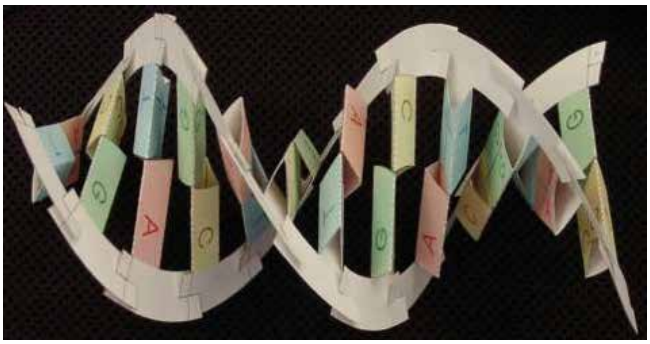
(1)　材料 : ペーパークラフト用紙 4 塩基分離型 1 枚 /1 班 , 簡易型 1 枚 /1 人
(2)　器具 : ハサミ , のり (両面テープ)
(3)　容器 : ペットボトルの空容器 (1 .5 L　1 つ ,500 mL　1 つ)

3　方　法

(1)　4 塩基分離型を班で協力して作成する。
(2)　4 種類の塩基を , 切り取り , 三角柱になるように接着する。
(3)　塩基を , 下図の左のように A と T,G と C の対で , 上下逆さまにして差し込んで , 塩基対が完成。



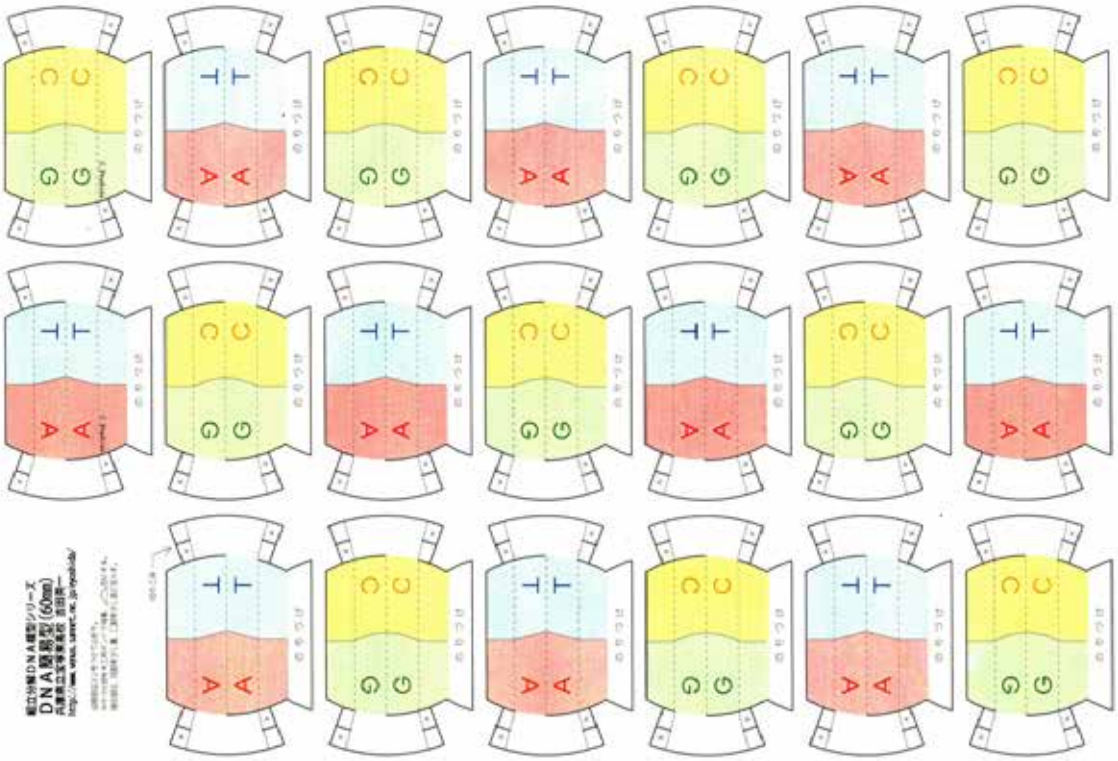
(4)　上図の右のように塩基対を X 字に重ねながら , 二重らせんを組み上げてゆく



「サイエンスファクトリー英一」より

(5)　組み上げたものを 1 .5 L のペットボトル容器に入れて完成。
(6)　さらにすべての班の模型をつなげてクラスの DNA とする。
(7)　4 塩基分離型が完成した班は個人で簡易型を作成する。
(8)　簡易型は 500 mL ペットボトル容器に入れて完成とする。

5　感　想



だ腺染色体の観察

吉川　靖浩　YOSHIKAWA Yasuhiro

学習指導要領とのつながり
高等学校理科　生物基礎 (1) 生物と遺伝子　　イ　遺伝子とその働き
高等学校理科　生物　　(1) 生命現象と物質　　ウ　遺伝情報の発現

1　はじめに

遺伝子発現は分子レベルのことなのでイメージするのが難しい一面がある。だ腺染色体を染色することで遺伝子の位置の手がかりを得ることができ，パフを観察できるので，染色体に遺伝子が存在することや実際に遺伝子発現が行われていることを実感しやすい。生物分野では古くからおこなわれてきた実験であり，学習効果は認められている。しかし，分子レベルで観察できるものではないので，バイオサイエンスとしてはこれまでの学習内容を補足する意味で有効な実験だと考える。

2　内容の解説

(1) だ腺染色体は双翅目の幼虫のだ腺にみられる巨大染色体である。通常の染色体の 100 ~150 倍の大きさがあり，光学顕微鏡で観察しやすい材料である。
(2) 複製を繰り返した DNA が分離せず束になることで形成されるため巨大になる。
(3) 相同染色体が対合した状態になっているため染色体数は体細胞の半数 (n) になっている。
(4) 染色することで横縞が染色体上に遺伝子の位置を示すとされる横縞がはっきりと観察できる。
(5) 染色体の一部にはふくらみがあり，パフとよばれる。パフは転写が行われている部位とされ，その位置からは遺伝子の位置が，大きさからは転写の活発さがわかる。
(6) アカムシユスリカ (2 n=6) やオオユスリカ (2 n=6) がよく使用される。
(7) メチルグリーン・ピロニン溶液で染色すると RNA が赤桃色 ,DNA が緑色に染色されるのでよりよい観察ができる。

3　観察のポイント

(1) だ腺染色体の本数や大きさはどうか。
(2) だ腺染色体の横縞は観察できるか。
(3) パフは観察できるか。
(4) 染色体 1 本あたりのパフの個数や位置はどうか。
(5) パフの個数や位置は他の個体と比較してどうか。

4　材料の準備

(1) アカムシユスリカやオオユスリカの幼虫は釣具店で購入可能である。店にもよるがスプーン 1 杯で 200 円程度であり ,1 クラス分としては十分な量である。
(2) 温かい季節には購入できない店もあり，その場合は秋から冬にかけて実施するとよい。実験材料の取扱店であれば年中手に入るが高価である。
(3) 購入後は濡れた新聞紙に包み，冷蔵庫で保管すれば数日から 1 週間は維持できる。
(4) 長期間維持する必要がある場合は小さな砂利を敷き，水を張ったタッパー容器等に入れておく。3 ~5 日ごとに水換えが必要で，水換え時や使用時は容器を撹拌し，ざるや茶漉し等でわける。
(5) 側溝などにいるセスジユスリカ (2 n=8) や冷凍アカムシは小さかったり，柔らかいなどで操作が難しい。
(6) 柄付き針やピンセットが人数分用意できない場合はつまようじ等で代用できる。

5　留意点

(1) 実験操作
ア　だ腺と脂肪を間違えやすい。だ腺は透明な器官で，白っぽいものは脂肪である。
イ　染色時間を十分に取った方が観察はうまくいきやすい。
ウ　押しつぶす際にろ紙をかぶせることを忘れないよう注意する。直接カバーガラスを押すと割れてけがをする。
エ　緑色のような塊は頭部である。本来は除いておくべきだが生徒はそのままにして観察し戸惑いやすい。
オ　検鏡像などを印刷したものをラミネート加工し，各実験台に 1 枚程度配布しておくと，検鏡時の参考となる (生徒提示資料を参照)。
(2) 倫理的な問題
ア　生命を奪う実験なので生命倫理の観点をふまえた指導に留意する。
イ　アカムシの色や動きに嫌悪感を持つ生徒は多く，その上で頭部を引きちぎることに対して強い抵抗感を示す生徒がいるので指導には十分配慮が

必要である。

ウ　抵抗感を示す生徒には無理に実験をさせず，染色体の観察のみにするなど，できる範囲のことにとどめておく。

6　参考文献

高等学校　生物Ⅰ．啓林館

だ腺染色体の観察

1　目　的

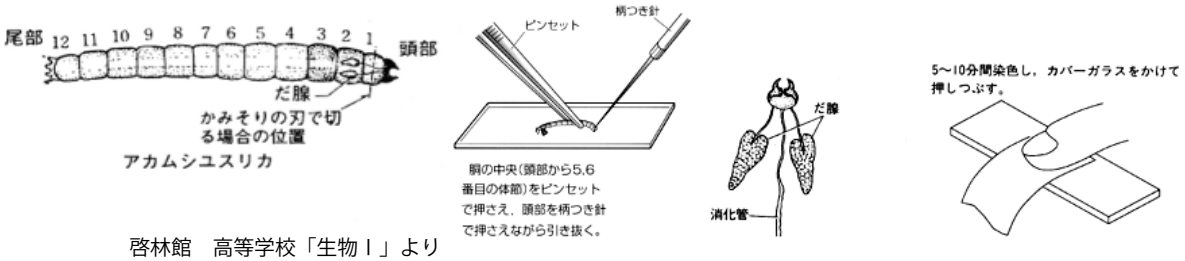
ユスリカのだ腺に見られる巨大染色体を観察し , その特徴を調べる。

2　準　備

(1)　材料 : ユスリカの幼虫
(2)　器具 : ピンセットと柄つき針 , スライドガラス , カバーガラス , ろ紙 , 検鏡用具
(3)　薬品 : 酢酸オルセイン溶液

3　方　法

(1)　ユスリカの幼虫 (アカムシ) をスライドガラスにのせ ,0 .7 % 食塩水 (または水) を滴下する。
(2)　ピンセットと柄つき針で , ユスリカの幼虫の第 5 または第 6 体節と頭部を押さえ , 引き抜く。
※だ腺は透明なバナナ形の器官である。



啓林館　高等学校「生物Ⅰ」より

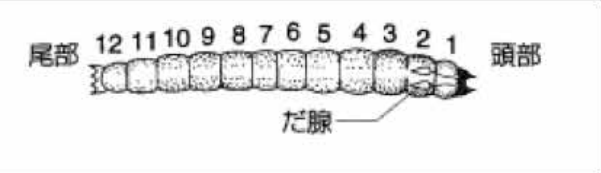
(3)　だ腺だけを残し , 余分なものは捨てる。水分をろ紙で除く。
(4)　酢酸オルセイン溶液で 5 ~10 分間染色する。
(5)　カバーガラスをかけ , ろ紙をはさんで親指で押しつぶす。
(6)　低倍率でだ腺細胞を探し , 高倍率でだ腺染色体を検鏡し , スケッチする。

4　結果および考察

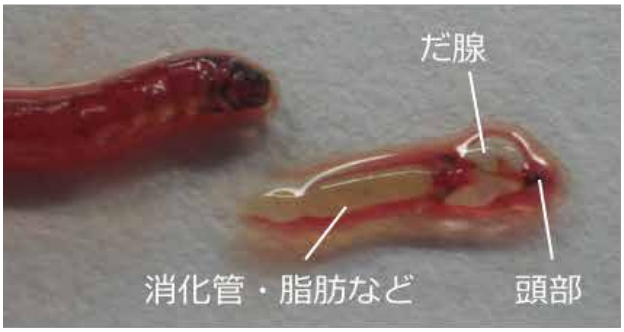
スケッチ　(倍率 :　　×　　倍)	記録・考察

5　感想

だ腺染色体の観察

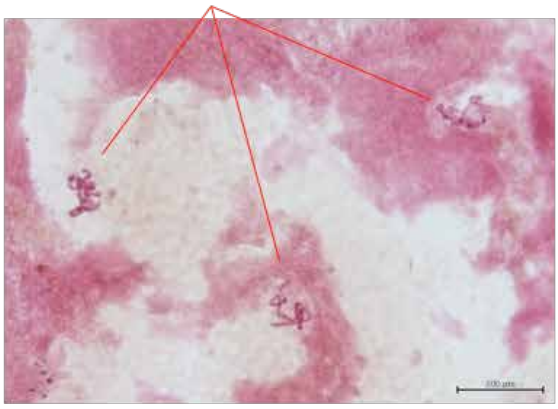


だ腺は第2節付近にある



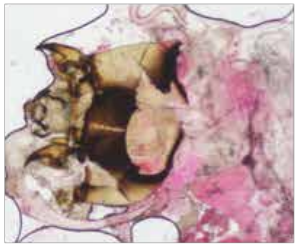
だ腺

だ腺染色体



10×10倍で観察

10×40倍で観察



×これは頭部

撮影：吉川靖浩

転写・翻訳を可視化する

西田　奈津代　NISHIDA Natsuyo

学習指導要領とのつながり
高等学校理科　生物基礎 (1) 生物と遺伝子　　ウ　遺伝情報とタンパク質の合成
高等学校理科　生物　　(1) 生命現象と物質　　ウ　遺伝情報の発現

1　はじめに

遺伝情報は ,DNA の塩基配列を基に mRNA が転写され ,mRNA のコドンに対応するアミノ酸が指定され , タンパク質が翻訳されることで発現が起こる。この流れはセントラルドグマとよばれ , すべての生物に共通する遺伝子発現の大原則であり , 生物学を学ぶ上で重要な事項である。非常に身近な現象であるにも関わらず , 目に見えず生徒にとって DNA が RNA に転写され , そこからタンパク質が合成される流れはイメージしづらい。そのため , 本実習では in vitro で行える無細胞タンパク質合成系を用い , 蛍光を発する GFP タンパク質を発現させることでセントラルドグマの流れを実感することを目的とする。

2　内容の解説

【操作】

(1) 転写には鋳型となる DNA,RNA を合成する RNA 合成酵素 ,RNA を構成するそれぞれの塩基 (アデニン・ウラシル・グアニン・シトシン) をもったリボヌクレオチドが必須である。目的遺伝子である GFP 遺伝子はプラスミド DNA の中に導入し ,RNA 合成酵素およびリボヌクレオチドは試薬として使用する。

翻訳にはリボソームおよびアミノ酸 , エネルギー供給源が必要である。本実習では , リボソームはコムギ胚芽抽出液に , アミノ酸はアミノ酸溶液内に , エネルギー供給源はコムギ胚芽抽出液とアミノ酸溶液に含まれる。コムギ胚芽抽出液にはクレアチンキナーゼが , アミノ酸溶液にはクレアチンリン酸が含まれるのでクレアチンリン酸を分解することでエネルギーを得る。

(2) 本実習で調整する試料 A・B・C はそれぞれ混和する試薬が異なる。その違いにより , 結果に違いが出ることを理解することが重要である。

具体的には , 試料 A のみに RNA の合成および GFP の発現が観察される。それは , 上記の転写に必要な試薬がすべて含まれ ,RNA が分解されずに維持される試料が A のみであるからである。B には RNA 分解酵素が含まれ , 転写された RNA が分解されてしまう。C にはプラスミドが含まれておらず , 目的遺伝子である GFP の遺伝子が含まれないため , 転写が起こらないからである。

(3) 転写反応用緩衝液には RNA ポリメラーゼが働きやすい pH を一定に保つ働きがある。

(4) RNA 蛍光試薬は RiboGreen を用いる。

RiboGreen は ,RNA に特異的に結合して青色 LED の光で黄色に蛍光する色素である。オレンジ色のアクリル板を通して観察することで , 青色 LED の光を遮断し , 黄色の光を観察しやすくしている。

(5) GFP タンパク質は , ペプチド鎖の一部が蛍光団とよばれる構造を形成しており ,395 nm の光を受けると共鳴し励起される。励起されると基底状態に戻る際に 509 nm の緑色の光としてエネルギーを放出するため , ブラックライトの波長で励起され緑色の光を発する。

【無細胞タンパク質合成系】

本実習では , 転写および翻訳を可視化する目的で , 試験管内で転写および翻訳を行い , かつ緑色の蛍光を発する GFP タンパク質の発現を行った。このように , タンパク質合成に必要なリボソーム , 伸長因子などの各種を含んだ細胞の抽出液を用いて試験管内でタンパク質を合成することを , 無細胞タンパク質合成系と呼ぶ。タンパク質の機能を研究するうえで , 生細胞にとって異物である外来タンパク質を強制発現させることによる弊害がないなどの利点により , 研究現場で注目を集め , 開発が進んでいる技術である。

3　実習のポイント

(1) 転写に必要な物質は何かを理解しているか。
(2) (1) で挙げたものは今回の試薬のどれに含まれるか理解できるか。
(3) A,B,C の 3 つの試料のなかで , 転写産物が確認できるものはどれか予想できるか。また , なぜそのような結果になるかを説明できるか。
(4) RNA を可視化するために青色 LED をあて , オレンジフィルターを用いる理由を理解できるか。
(5) 翻訳に必要な物質は何かを理解しているか。
(6) コムギ胚芽抽出物溶液は何の目的で使用するか理解できるか。

(7) ブラックライトを当てることにより GFP タンパク質が緑色に見える理由が理解できるか。

4　材料の準備

(1) 本実習は ,(株) セルフリーサイエンスの転写・翻訳実験キット & 消耗品セット『遺伝情報 ~ タンパク質を合成』を用いた。

(2) 青色 LED・オレンジフィルター・チップ・チューブ立て・ウォーターバスフロート・ブラックライトは (株) セルフリーサイエンスの〝実験器具セット " を購入すれば入手可能だが , 市販品等で十分対応できる。オレンジフィルターは透明のオレンジ色アクリル板を購入すればよい。

(3) キットにないものとして , マイクロピペット・ウォーターバスが必要になる。

(4) 実習前に班毎に溶液を分注しておく。

5　留意点

(1) 転写の反応時間は 2 .5 時間程度であっても RNA は確認できた。

(2) 事前にマイクロピペットの使用法を指導しておく必要がある。

6　参考文献

(株) セルフリーサイエンス .http://www.cfsciences.com/jp/index.html

転写・翻訳を可視化する　～試験管内 (in vitro) での GFP 発現実験

1　目　的

転写・翻訳を段階的に観察することで , セントラルドグマの仕組みを理解する。

2　準　備

器具 : マイクロチューブ・マイクロピペット・バイアル瓶 (自立式透明チューブ)
試薬 : 蒸留水・転写反応用緩衝液・リボヌクレオチド溶液・RNA 分解酵素・プラスミド DNA・コムギ胚芽抽出液・アミノ酸溶液

3　方　法

(1)　転写

ア　マイクロチューブを 3 本 (A・B・C を油性ペンで記入) 用意し , 下表のように溶液を混合する。
※ゆっくり吸引・注入し , 泡立たないようにすること。

試　薬	試料 A	試料 B	試料 C
①蒸留水	8　μ L	8　μ L	10 μ L
②転写反応用緩衝液	4　μ L	4　μ L	4　μ L
③リボヌクレオチド溶液	2　μ L	2　μ L	2　μ L
④ RNA 分解酵素	0　μ L	2　μ L	0　μ L
⑤ RNA 分解酵素阻害剤	2　μ L	0　μ L	2　μ L
⑥ RNA 合成酵素	2　μ L	2　μ L	2　μ L
⑦プラスミド	2　μ L	2　μ L	0　μ L
計	20　μ L	20　μ L	20　μ L

イ　ウォーターバスフロートにチューブを刺し ,37℃で 4 時間反応させる。

ウ　RNA 蛍光試薬 198 μ L が入ったマイクロチューブ 3 本 (A'・B'・C' を記入) に , ①の A~C の反応液をそれぞれ 2 μ L ずつ加え , よく混合する。

エ　暗所で A'・B'・C' に青色 LED の光をあて , オレンジフィルターを通して観察する。
(RNA が合成されていれば強く発光する。)

(2)　翻訳

ア　マイクロチューブ (A"・C" を記入) にコムギ胚芽抽出液 10 μ L を分注し ,(1) の A・C 10 μ L をそれぞれに加えて , 穏やかに混合する。

イ　アミノ酸溶液 200 μ L 入ったバイアル瓶 2 本のふたと容器上部それぞれに A"・C" を油性ペンで記入する。

ウ　①の溶液 A"・C" をそれぞれ②のバイアル瓶下部からゆっくり加え , 混ぜないように二層にする。

エ　ふたをしめ , 常温で翌日まで反応させる。

(3)　GFP タンパク質の可視化

(2) の自立式透明チューブにブラックライトを横から当て観察する。タンパク質 (GFP) が合成されていれば緑色に蛍光する。

4　結　果

(1)　転写

(ア)　転写に必要なものは何か , 列挙せよ。

(イ) 今回の実習で (ア) で列挙したものにあたるものを答えよ。

(ウ) 操作 (1) の ウ で添加した RNA 蛍光試薬の働きは何か。

(エ) 青色 LED の光をあて , オレンジフィルターを通じて観察すると ,A~C の試料はどのように見られたか。

(オ) 転写が起こった試料は A.B.C のうちどれか。すべて答えよ。

(カ) なぜ (オ) の結果となったか , 考えられることを書け。

(2) 翻訳
(ア) 翻訳に必要なものは何か。列挙せよ。

(イ) 今回の実習では (ア) に挙げたものはどれにあたるか答えよ。

(ウ) ブラックライトを当てるとそれぞれの試料はどのように見られたか。

(エ) (ウ) の結果になった理由で考えられることを答えよ。

5 感想

PCR 法による遺伝子の増幅

山口　照由　YAMAGUCHI Teruyoshi

学習指導要領とのつながり
高等学校理科　生物基礎 (1) 生物と遺伝子　　イ　遺伝子とその働き
高等学校理科　生物　　(1) 生命現象と物質　　ウ　遺伝情報の発現

1　はじめに

めざましく発展しているバイオテクノロジーを支えている中心的な技術は PCR(ポリメラーゼ連鎖反応 :Polymerase Chain Reaction) 法であるといっても過言ではない。今日では , インフルエンザ感染症の迅速診断や病気の遺伝子診断などの医学や法医学での実用 , 古生物学研究についての報道等で PCR という言葉も身近になってきている。にもかかわらず高等学校化学や生物の中で分子生物学的手法を用いた実験というのはほとんど無い。これは , 器具が高等学校の実験室では揃っていないことや , 実験が長時間になるので授業時間の面から難しいなどの理由があるためと考えられる。しかし , 科学技術の明日を担う高校生が PCR 法を学習することは , 今後もバイオテクノロジーが発展するためには重要である。

本実験で着目する遺伝子は , ヒトアルデヒドデヒドロゲナーゼ 2 (アルデヒド脱水素酵素 :ALDH2) である。未成年者は飲酒が禁止されているが , 将来，飲酒をするときの参考にしてほしい。また , アルコールパッチテストも行う。それにより ,PCR 法による遺伝子診断の結果と比較し検討することはとても重要である。

本実験は 1 日で出来なくはないが ,2 日間の実験時間を確保することが望ましい。本校では夏休みに希望者を対象として 2 日間の集中講座を開講している。

2　内容の解説

(1) PCR 法

PCR 法の原理を Kary Banks Mullis が 1983 年に発見し , その功績により 1993 年にノーベル化学賞を受賞した。PCR 法は , 鋳型となる DNA,2 種類のプライマー , 耐熱性 DNA polymerase, および DNA のモノマーである 4 種のデオキシリボヌクレオチド三リン酸 (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) などを混合し , 温度の上げ下げを繰り返すことによって特異的な領域のみを試験管内で効率よく増幅する技術であり , 熱変性 , アニーリング , 伸長反応の 3 ステップを 1 サイクルとして , 通常 20 ~30 サイクル繰り返す。

PCR は通常の DNA 複製過程を模しており , 向かい合った一組のプライマーを使うことで , 特異的領域のみ増幅することを実現している。

DNA の複製に関与する DNA polymerase は単独で DNA を合成することはできず , 鋳型鎖に相補的に結合したプライマーを頭にして , 鋳型鎖の塩基に相補的な塩基を結合させる形で伸長反応を触媒する。

(2) ヒトアルデヒドデヒドロゲナーゼ 2 (アルデヒド脱水素酵素 :ALDH2)

ALDH2 は , 飲酒後にエタノールが代謝されてできるアセトアルデヒドを酸化して酢酸に代謝する酵素である。ALDH2 の欠損は ALDH2 遺伝子の点突然変異によるものと考えられており , 対立遺伝子の組み合わせから , 正常型ホモ接合体 (NN 型), ヘテロ接合体 (MN 型), 変異型ホモ接合体 (MM 型) の 3 種類の遺伝子型が知られている。3 種類のうちのどの遺伝子型を持っているかを調べることで , 酒に強いか弱いかを判断することができる。正常型ホモ接合体は酒が飲めるタイプ , ヘテロ接合体は飲むことはできるがすぐ顔に出るタイプ , 変異型ホモ接合体は全く飲めないタイプに分類することができる。ALDH2 欠損者においては , 飲酒後 , 血中アセトアルデヒド濃度の上昇により , フラッシング反応 (顔面紅潮 , 動悸 , 悪心 , 低血圧等) が起きる可能性がある。

(3) アルコールパッチテスト

アルコールの相性を診断する簡易推定法である。まずパッチテープ (絆創膏等) に消毒用アルコールを数滴しみこませ , 上腕の内側に貼る。次に , テープを 7 分後にはがし ,5 秒以内にガーゼが当たっていた肌の色を確認する。そのまま放置し ,10 分後にもう一度 , 肌の色を確認する。結果は , はがした直後に肌が赤くなっている場合は ALDH2 不活性型。はがした直後には変化はないが ,10 分後に赤くなっている場合は ALDH2 低活性型。肌の色に変化がない場合は ALDH2 活性型となる。これは国立療養所久里浜病院の樋口進先生が考案した方法である。

3　実験のポイント

(1) PCR 法の結果から分かったことは何か。

(2) アルコールパッチテストの結果から分かったことは何か。

(3) PCR 法とアルコールパッチテストの結果を比較して相関性があるのか。また , 違いがあるのか。

4　材料の準備

実験は，ニッポン・ジーン社の「ISOHAIR Jr」に沿って行う。

(1) 準備する材料

ア　毛髪

毛髪中の毛根部を使用するのが最もよい。これは毛髪中の色素であるメラニンは PCR 阻害物質であるため，髪質によって PCR の結果に差が生じやすい傾向があるためである。毛根部は，毛根から約 1 cm のものを 5 ~8 つ用意する。実習書には最低 3 つとしているがこれでは少ない。このとき，毛根がしっかりついている方が DNA 抽出効率が良い。

(2) 準備する試薬

ア　PCR 用プライマー

以下の 3 種類のプライマーを準備する。理科研 STAR Oligo(http://star-oligo.rikaken.co.jp/) 等で注文する。

(ア) Forward:

5 '-CAAATTACAGGGTCAACTGCT-3 '

(イ) Reverse/ 正常型 (N):

5 '-CCACACTCACAGTTTTCTCTTC-3 '

(ウ) Reverse/ 変異型 (M):

5 '-CCACACTCACAGTTTTCTCTTT-3 '

イ　エタノール (Wako)

ウ　フェノール / クロロホルム / イソアミルアルコール (25 :24 :1 v/v)(Wako)

エ　d.d.H_2O

蒸留水をオートクレーブ滅菌したものを用いる。

(3) 準備する器具・機器

ア　恒温器

イ　卓上遠心機

ウ　真空乾燥機

エ　マイクロピペットおよびチップ

オ　マイクロチューブ

カ　サーマルサイクラー

キ　アガロースゲル電気泳動装置

ク　UV トランスイルミネーター

5　留意点

(1) 実験操作

ア　白衣を着用する。

イ　廃液処理を徹底する。

ウ　エチジウムブロマイドは突然変異誘起剤である。また，フェノール / クロロホルム / イソアミルアルコールは経皮吸収や蒸気吸入により悪心，嘔吐，不眠症などを起こすことがあるため，これらの物質を扱うときには必ず手袋や保護メガネを着用する。

エ　得られた結果は個人情報に相当すると考えられるので，授業内での公表の際には配慮を要する。

6　参考文献

1）　ISOHAIR Jr. Manual Ver. 1 .2 . ニッポン・ジーン

2）　中村桂子・松原謙一監訳 .Essential 細胞生物学 . 南江堂 ,2011

3）　芦田嘉之著 . やさしいバイオテクノロジー . サイエンスアイ新書 ,2011

PCR 法による遺伝子の増幅

1　目　的

身近な代謝過程の 1 つであるアルコールの代謝に関与する , アルデヒドデヒドロゲナーゼ 2 の遺伝子型を , 毛髪から DNA を抽出し ,PCR 法を用いて推定する。また , これを通して , バイオテクノロジーの基礎である DNA や PCR 法 ,DNA 電気泳動法などについて理解する。

2　準　備

ISOHAIR Jr. の説明書に準ずる。

(1)　材料

ア　毛髪

毛髪中の毛根部を使用するのが最もよい。毛根部は , 毛根から約 1 cm のものを 5 ~8 つ用意する。

(2)　試薬

ア　ISOHAIR Jr.
イ　PCR 用プライマー
ウ　エタノール (Wako)
エ　フェノール / クロロホルム / イソアミルアルコール (25 :24 :1 v/v)(Wako)
オ　d.d.H_2O

(3)　器具

ア　恒温器
イ　卓上遠心機
ウ　真空乾燥機
エ　マイクロピペットおよびチップ
オ　マイクロチューブ
カ　サーマルサイクラー
キ　アガロースゲル電気泳動装置
ク　UV トランスイルミネーター

3　方　法

ISOHAIR Jr. の説明書に準ずる。

(1)　DNA の抽出
(2)　PCR
(3)　アガロースゲル電気泳動
(4)　アルコールパッチテスト

4　結　果

(1)　PCR の結果から自分の遺伝子型は何か。

(2)　アルコールパッチテストの結果からあなたは ALDH2 不活性型 ,ALDH2 低活性型 ,ALDH2 活性型のうちどれか。

5　考　察

(1)　PCR とアルコールパッチテストの結果に相関性はあるか説明せよ。

(2)　肝臓で機能する酵素の遺伝子型が , なぜ頭髪を用いて決定できるのか説明せよ。

(3)　PCR 法を利用・応用した技術 , 実験方法を調べよ。

6　感　想

タンパク質の変性

山口　照由　YAMAGUCHI Teruyoshi

学習指導要領とのつながり

高等学校理科　化学	(5) 高分子化合物の性質と利用	ア　高分子化合物	イ　高分子化合物と人間生活
高等学校理科　生物	(1) 生命現象と物質	ア　細胞と分子	

1　はじめに

生命科学を学習する上で，タンパク質を理解することは化学的にも生物学的にも重要である。タンパク質の構造は化学的な視点から，性質・機能は生物学的な視点から明らかになると，生徒にとっては化学と生物のつながりが捉えやすくなると考えられる。本実験はその導入として最適である。多くの教科書や資料集に記載されている実験であるが，タンパク質の機能がその構造に大きく依存することを学ぶことはとても重要である。近年，タンパク質の変性による異常タンパク質がかかわる病気などが報告されており，有用な実験であると考える。

本実験は 0.5 ~1 時間相当の実験である。授業の前半でタンパク質の構造についての概要を講義し，後半で実験という流れが良い。

2　内容の解説

タンパク質は，生物の主要な構成成分の一つで，生体に含まれる物質の中で最も種類が多く，様々な生命現象にかかわっている。生物基礎では，このタンパク質が生体内で合成される過程を学習している。タンパク質が機能を発現するためには，その構成物質であるアミノ酸の配列だけでなく，高次構造が重要である。このタンパク質の高次構造が乱されたり壊されたりして機能を失うことをタンパク質の変性という。タンパク質の高次構造は，水素結合や疎水結合などによる比較的弱い結合であるため，物理的要因である熱や圧力を加えること，化学的要因である酸・塩基，有機溶媒，重金属イオンなどを加えることにより比較的容易に結合を破壊できる。これは，ほとんどの場合が不可逆的な反応であるが，まれに可逆的な反応がある[1)]。

牛乳のタンパク質の主成分はカゼインで約 80 % を占め，残りはアルブミンやグロブリンなどの乳清タンパク質である。このカゼインは直径 20 ~600 μm のカゼインミセルを形成して牛乳中に存在している。牛乳は，熱を加えると 40℃以上から表面に膜が張り，次第にその膜は厚くなる。これはラムスデン (Ramusden) 現象とよばれる。

加熱によって空気と牛乳の界面で牛乳の水分が蒸発して，さらにカゼイン分子中の水素結合が切断される。これによりカゼイン分子の立体構造が壊れ，疎水性部分が凝集して沈殿する変性が起こる現象で，不可逆的な反応である。また，レモンや酸を加えると，水素イオンが増加するため，タンパク質表面の電荷が正に帯電するため，静電気的な反発が生じて立体的な構造が壊れ，疎水性部分が凝集して沈殿する。

日常生活においては，牛乳のタンパク質の変性のほかに火傷や卵白アルブミンの熱変性が知られている。卵白アルブミンの熱変性は，ジスルフィド結合の生成によるタンパク質の二量化による不可逆反応が起こるためである。チーズは，牛乳 (生乳) にレンネットと呼ばれる子ウシなどの第四胃を塩漬けにして抽出した混合物を加えて製造される。つまりチーズは，レンネットの活性酵素であるキモシンがカゼインに作用して，牛乳中のカルシウムイオンを介して凝集し，沈殿凝固したものである。近年では，狂牛病に代表されるように異常タンパク質の増殖による病気が注目されている[2)]。

3　実験のポイント

(1) タンパク質は，物理的要因によりどのように変化するか。

(2) タンパク質は，化学的要因によりどのように変化するか。

(3) 物理的要因と化学的要因よる変性の仕方に違いがあるのか。

4　材料の準備

実験に使用するタンパク質は，粉末状などの固体より，液体のほうが変化を見やすいため実験に用いやすい。本実験では，実験の片づけなどが容易である点などから，卵ではなく牛乳を用いた。

5　留意点

(1) 実験操作

ア　火を用いるので，火傷に気を付ける。

イ　酸・塩基の水溶液を用いるので，保護メガネ，白衣の着用をする。

ウ　廃液処理を徹底する。

エ　加熱の際に沸騰石を加えるが，突沸に注意する。また，変性の様子が分かりにくいので，大きめの

試験管または , ビーカーを用いるとよい。

6　参考文献

1) 辰巳敬ほか . 化学 [化学 /306] 教授資料 . 数研出版 ,2013
2) 生物編集委員会・東京書籍株式会社編集部 . 生物 [生物 /301] 指導書 . 東京書籍 ,2013

タンパク質の変性

1　目　的

物理的要因と化学的要因の観点からタンパク質の変性の様子を観察する。

2　準　備

(1)　材料

ア　牛乳

牛乳に含まれるタンパク質は ,80 % がカゼインで ,20 % が乳清タンパク質である。

イ　レモン汁

(2)　試薬

ア　1 mol/L 塩酸

イ　1 mol/L 水酸化ナトリウム

ウ　エタノール

エ　1 mol/L 塩化バリウム

(3)　器具

ア　試験管 (7 本程度)

イ　試験管立て

ウ　メスピペット

エ　試験管ばさみ

オ　ガスバーナー

カ　沸騰石

3　方　法

(1)　牛乳を各試験管に 5 mL 程度加える。

(2)　1 本の試験管に沸騰石を加えてガスバーナーで加熱し , その変化を観察する。

(3)　5 本の試験管にレモン汁 ,1 mol/L 塩酸 ,1 mol/L 水酸化ナトリウム , エタノール ,1 mol/L 塩化バリウムをメスピペットで一滴ずつ加えながら変化を観察する。

4　結　果

試験管番号	1	2	3
加える物質等	(牛乳のみ)	熱	レモン汁
変化の様子			

試験管番号	4	5	6	7
加える物質等	塩酸	水酸化ナトリウム	エタノール	塩化バリウム
変化の様子				

5　考　察

加える物質等の違いにより，変化に違いがあるかどうか比較検討し , なぜ違いがあるのか調べよう。

6　感　想

アミノ酸・タンパク質の検出

山口　照由　YAMAGUCHI Teruyoshi

学習指導要領とのつながり

高等学校理科　化学	(5) 高分子化合物の性質と利用	ア　高分子化合物	イ　高分子化合物と人間生活
高等学校理科　生物	(1) 生命現象と物質	ア　細胞と分子	

1　はじめに

タンパク質は , 小学校の段階から理科や家庭科で学習する物質である。タンパク質は生物を構成する重要な物質であるということは知っているが , どこに存在するかという実験はしていない。自分たちの身の周りの物質にタンパク質が含まれているかどうかを確かめることはとても重要である。この実験では , タンパク質はアミノ酸からできていることが理解できるため有用であると考える。

本実験のような分析実験が , 定性的なのか定量的なのかを理解すること , また対照実験の概念を学ぶことは , 今後の課題解決能力や研究活動に対する基礎能力の育成に重要である。

本実験は 1 ~2 時間相当の実験である。授業の前半でニンヒドリン反応によるアミノ酸 (タンパク質) の検出 , 後半はビウレット反応またはキサントプロテイン反応によるタンパク質の検出について実験する流れである。時間の都合上 , ニンヒドリン反応のみでも十分に効果が得られると考えられる。

2　内容の解説

タンパク質は , 多数のアミノ酸分子が縮合重合し , ペプチド結合によりつらなったポリペプチドを基本構造とする分子量が約 1 万から数百万の天然高分子化合物で , 立体 (高次) 構造をとることで機能をもつ。

タンパク質は種々の原子や結合をもつため , いくつかの検出方法があり , それらの検出方法を組み合わせることによってタンパク質にどのような原子や結合が含まれているかを分析することができる。以下に検出方法を示す [1),2),3)]。

(1) ニンヒドリン反応

タンパク質溶液にニンヒドリン溶液を加えて加熱すると , 赤紫 ~ 青紫色 (最初にニンヒドリン反応による紫色の色素を報告した人名からルーエマンパープル (Ruhemannn's purple) ともよばれる) に呈色する反応。アミノ基に基づく反応であるため , アミノ酸も検出可能である。また , 非常に鋭敏な反応であるため , 分光吸光光度計を用いて吸光度を測定する吸光光度法により定量も可能とされている。

ヒトの汗にもアミノ酸が含まれるのでニンヒドリンを用いた指紋検出にも利用されている。ちなみに , ガラスや金属についた指紋はアルミニウム粉を用いるが , 紙の上の指紋はニンヒドリン溶液を紙にふきかけてドライヤーなどで加熱するとルーエマンパープルの指紋が浮き上がり指紋の検出ができる。

(2) ビウレット反応

タンパク質溶液を , 水酸化ナトリウムなどで塩基性にして , 硫酸銅 (Ⅱ) などの銅 (Ⅱ) イオンを加えると赤紫色に呈色する。これは銅 (Ⅱ) 錯体を生成するためで , ペプチド結合に基づく反応であるため , タンパク質もしくは 3 つ以上のアミノ酸からなるペプチドを検出する反応である。また , 吸光光度法により定量も可能である。

(3) キサントプロテイン反応

タンパク質溶液に濃硝酸を加えて加熱すると黄色になる。冷却した後にアンモニアで塩基性にすると橙黄色に呈色する。これは , タンパク質を構成するアミノ酸のベンゼン環がニトロ化されたためである。

濃硝酸が誤って手についたとき , 手が黄色に変色することがあるが , これもキサントプロテイン反応である。

(4) 硫黄の検出

硫黄原子をもつタンパク質溶液に , 水酸化ナトリウム水溶液を加えて加熱し , 酢酸鉛 (Ⅱ) 水溶液を加えると黒色沈殿を生じる。これは , 硫黄原子が硫化物イオンとなり , 鉛 (Ⅱ) イオンと反応して硫化鉛 (Ⅱ) の黒色沈殿が生じるためである。

(5) 窒素の検出

窒素原子をもつタンパク質溶液に , 水酸化ナトリウム水溶液を加えて加熱し , 生じた気体に赤色リトマス紙をかざすと青色に変色する。これは , タンパク質が分解してアンモニアが生成するためである。

以上が主な定性的な検出方法である。タンパク質の定量法として , ケルダール (Kjeldal) 法 ,Lowry 法 , 紫外吸収法 ,Bradford 法などがある [4)]。

実験を行うとき , その実験が定性的なのか定量的なのかを念頭にすることは非常に重要である。定性的とは , 実験や観察により , 物質の性質や特徴などの質的側面に注目すること。定量的とは , 現象や変化を測定することにより数値を用いて量的側面に注目することである。自然科学分野では数式などを用いて現象を一般化して理論的に説明するのが基本である。

また , 本実験のような分析実験では , 定性分析なのか定量分析なのかが明確でないと実験を行う目的を見失ってしまう。

対照実験とは , 実験の結果を比較検証するために行う実験で , 中学校の理科実験においても行っている実験手法である。対照に用いられる物質は , あらかじめ結果が分かっている物質で , 必ず陰性の結果になるとわかっているものをネガティブコントロール (陰性対照) といい , 必ず陰性の結果になるとわかっているものをポジティブコントロール (陽性対照) という。本実験のニンヒドリン反応においては , 前者が蒸留水 , 後者は牛乳や卵白である。

3　実験のポイント

(1) ニンヒドリン反応はどのような物質に対して陽性であるか。

(2) ニンヒドリン反応ではどのような変化が起こるか。

(3) ビウレット反応 , キサントプロテイン反応はどのような物質に対して陽性であるか。

(4) ビウレット反応 , キサントプロテイン反応ではどのような変化が起こるか。

(5) ニンヒドリン反応 , ビウレット反応 , キサントプロテイン反応はタンパク質 (アミノ酸) のどの構造に反応して起こるか。

4　材料の準備

(1) タンパク質を検出する材料 (ニンヒドリン反応)

教師側でポジティブコントロールとネガティプコントロールを 2 種類ずつ準備しておくとよい。ポジティブコントロールとして , 牛乳と卵白 , ネガティプコントロールとして蒸留水と食塩水を用意する。それ以外の材料は , 生徒に準備させるとよい , 実験の前授業時に生徒に課題を提示して考えさせる。教師の予備のサンプルとして , タンパク質含有栄養補助食品 (スポーツサプリメント), スポーツドリンク , 精肉や魚肉 , 野菜 (大根おろし , キャベツ , ジャガイモ) などを用意してもよい。また , アミノ酸のポジティブコントロールとして , 味の素 ® を使用してもよい。

(2) ニンヒドリン溶液

ニンヒドリン (Wako)1 g を水 100 mL に溶かす。点眼瓶等に分注しておくと , 一滴ずつ加えられるので , 実験時に扱いやすい。

5　留意点

(1) 実験操作

ア　火を用いるので , 火傷に気を付ける。

イ　酸を用いるので , 保護メガネ , 白衣の着用をする。

ウ　廃棄物や廃液処理を徹底する。

エ　加熱の際に沸騰石を加えるが , 突沸に注意する。

オ　ニンヒドリン反応を行う際 , 材料は蒸留水に溶解させるかひたす。

6　参考文献

1) 辰巳敬ほか . 化学 [化学 /306] 教授資料 . 数研出版 ,2013

2) 日本化学会訳編 . 身近な化学実験 II 中・高校生と教師のために . 丸善 ,1990

3) 横山茂之編 . 基礎生化学実験 . 東京化学同人 ,1994

4) 水島昭二ほか編 . ライフサイエンス基礎実験 . 丸善 ,1996

アミノ酸・タンパク質の検出

1　目　的

身近な物質にタンパク質が含まれているかを定性分析する。

2　準　備

(1)　材料

牛乳・卵白・食塩 (水)・スポーツサプリメント・精肉 (豚肉)・大根おろし・味の素など

(2)　試薬

ア　ニンヒドリン反応

ニンヒドリン溶液 (1 %)

イ　ビウレット反応

6 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液・1 % 硫酸銅水溶液

ウ　キサントプロテイン反応

濃硝酸・6 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液

(3)　器具

試験管・試験管立て・メスピペット・試験管ばさみ・ガスバーナー・沸騰石

3　方　法

(1)　ニンヒドリン反応

ア　試験管に各材料を入れ , 試験管の底から 3 ~5 cm 程度の水を入れる。

イ　アに 1 % ニンヒドリン溶液を 0 .5 mL(点眼瓶で 3 ~5 滴程度) を加える。

ウ　各試験管に沸騰石を加えて 3 分ほど加熱して変化を観察する。このとき , 沸騰したら中断し , 落ち着いたら再び加熱を繰り返す。

(2)　ビウレット反応

ア　試験管に各材料を入れ ,6 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 1 mL を加えて振り混ぜる。

イ　1 % 硫酸銅水溶液 1 mL を加えて振り混ぜ , その結果を観察する。

(3)　キサントプロテイン反応

ア　試験管に各材料を入れ , 濃硫酸 1 mL を加えて振り混ぜ , 沸騰石を加えて加熱する。

イ　6 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 4 mL 加えて振り混ぜ , その結果を観察する。

カ　沸騰石

4 -1　結　果 : ニンヒドリン反応

材　料	変色・変化の様子を詳細に記録する
蒸留水	
食塩水	
牛乳	
卵白	
豚肉	
味の素	

* 表中の材料は例示

5 -1　考　察 : ニンヒドリン反応

タンパク質 (アミノ酸) のどの部位がニンヒドリンと反応しているか。また , 陽性の材料に含まれるタンパク質 (アミノ酸) の種類を調べよう。

4 -2　結　果 : ビウレット反応

材　料	変色・変化の様子を詳細に記録する
蒸留水	
卵白	

5 -2　考　察 : ビウレット反応

ビウレット反応は , タンパク質 (アミノ酸) がどのように変化する反応か。

4 -3　結　果 : キサントプロテイン反応

材　料	変色・変化の様子を詳細に記録する
蒸留水	
卵白	

5 -3　考　察 : キサントプロテイン反応

キサントプロテイン反応は , タンパク質 (アミノ酸) がどのように変化する反応か。

生命を扱う実験

西田　奈津代　NISHIDA Natsuyo

学習指導要領とのつながり

高等学校理科	生物基礎 (1)	生物と遺伝子	ア	生物の特徴　(ア) 生物の共通性と多様性
	(2)	生物の体内環境の維持	ア	生物の体内環境
	(3)	生物の多様性と生態系	イ	生態系とその保全

1　はじめに

生物学の研究では , 生体を材料として用いることは避けて通れない。その際に , たとえ実験材料であっても生命であり , 必要最低限の個体を使用し , 苦痛を最小限にとどめるよう配慮をするといった生命倫理観を養うことは必須である。

本実験はマウスの内臓の観察を通して①生命を扱う実験を行う上での生命倫理観の養成 , ②実験生物の取り扱い方および観察・実験技能の習得 , ③個体として統合的に生命を捉える視点を培うことを目的とする。特にマウスはヒトと同じ哺乳類であり , 解剖による観察で主な臓器の配置や構造を学ぶことができる。これまでに生徒が学習してきた知識が実験を行うことにより統合されることを期待する。本実験は目的に沿った指導を行うため , 生命倫理観の養成として事前講義を 1 時間, その後 , 解剖実習を行う。

2　内容の解説

【事前講義】

(1) 生命を扱う実験を行う必要性

ア　医学・薬学などの医療研究のため

イ　食品・機械・機器類をはじめとした日用品の試験

ウ　宇宙開発での実験　など

(2) 生命を扱う実験を行う上での注意事項

ア　科学的合理性の確保

代替法 :Replacement・使用数の制限 :Reduction・苦痛の軽減 :Refinement を 3 R と呼び , これらを最大限行ったうえで実験を行うべきである。

イ　安全管理

(ア) 病原体を保有する動物などを用いる場合の実験者や環境への配慮。

(イ) 実験動物の飼育環境を整え , 実験動物が損害を受けないような配慮。

(ウ) 遺伝子組換え生物の環境への拡散防止措置

① 法律・省令等によって定められており (参考文献参照), 第一種使用の場合は申請が , 第二種使用の場合は定められた封じ込め法を執る必要がある。

② 物理的封じ込めとしては , 実験室から遺伝子組換え生物が物理的に拡散しないような実験環境の工夫を行う。また遺伝子組換え生物の危険性に沿った実験場所の許可を得なければならない。

③ 生物学的封じ込めとして実験室外では生存できない遺伝子改変や品種改良が行われた生物を用いる方法もある。

④ 遺伝子組換え生物の扱いが法律・省令等で厳格に定められている理由は , 組換え体が実験室外に拡散した場合 , 現存する生物や環境に対して未知の影響や悪影響が及び生物多様性を損なう可能性があるからである。

【解剖実習】

(1) マウス解剖の意義

マウス (ハツカネズミ) はヒトと同じ脊椎動物門哺乳綱に分類されており , ヒトと遺伝的・解剖学的に共通点が多い。加えて飼育や繁殖がしやすいなどの利点から , 古くから実験動物として用いられ , 遺伝子操作等の実験法も確立されている。

(2) 解剖による観察

観察項目は多岐にわたる。外観 , 皮膚 , 筋肉 , 内臓 , 脳 , 骨など目的に応じて観察が行われる。すべて行うことができると一番よいが , 授業時間には制限があるので本実験では生物の授業で主に取り上げられる肝臓を中心に消化管とのつながりを含めて観察を行う。他の項目は時間の許す範囲で行うとよい。

ア　肝臓はマウスもヒトと同様に 4 葉でできている。一方ヒトは 4 葉が漿膜で包まれ , ひとまとまりになっているがマウスは包まれておらず ,4 枚の肝臓がよく観察できる。

イ　腸は腸間膜がまとめており , 体内で吊るされる形で収まっていることを確認できる。さらに腸間膜につく血管がまとまって肝門脈へとつながるので , 小腸で吸収した栄養分を肝臓に送ることを実感しやすい。それにより , 肝臓・小腸それぞれの器官の働きだけでなく , 肝臓でグリコーゲンを蓄えることで血糖調節を行っていることも理解できる。

3　観察のポイント

(1) 外観

ア　齧歯目に特徴的な発達した門歯・かぎ爪が確認できるか。

(2) 肝臓から消化管のつながり

ア　肝臓が４葉から成ることを確認できるか。

イ　腸間膜が確認できるか。

ウ　腸間膜静脈が集まって肝臓へつながることを確認できるか。

エ　胃・小腸・大腸のつながりと消化経路の長さを確認できるか。

(3) その他の項目

ア　消化経路における胆嚢・肝臓・膵臓の位置から消化の流れを理解できるか。

イ　肺・心臓が確認できるか。

ウ　心臓の断面から２心房２心室でできていることを確認できるか。

エ　２つの腎臓と膀胱が輸尿管によってつながっていることを確認できるか。

4　材料の準備

(1) ペットショップ等でハチュウ類用の餌として販売されている冷凍マウス (1 匹 200 円前後) を用意する。冷凍庫に入れておけば長期間保存できる。

(2) マウスは実験の前の晩に室温で自然解凍させる。

(3) 解剖マットがない場合 , 浴室マットや発泡スチロールを切って代用できる (A4 用紙程度のサイズ)。

(4) 解剖皿は摘出した内臓を入れるためのものなのでどのようなものでもよい。

(5) 水を張った容器 (シャーレ大) があると消化管の観察がしやすい。

(6) 留め針は裁縫用まち針で代用できる (1 匹あたり 15 本程度)。100 円ショップ等で購入できる。

(7) 安全対策として手袋 , マスク等を準備する。手袋 , マスクは薬局でも購入できる。

(8) 白衣 , 安全メガネ等があるとよりよい。

(9) 生体は教材店等で購入可能だが , 実験操作として麻酔が必要となる。

(10) 生体の場合は SPF マウスを用いたほうがより安全である。

5　留意点

(1) 実験操作

ア　解剖実習の際には感染を防ぐためマスク・手袋等を着用させる。

イ　ハサミとピンセットで十分実施できるが , メスを使う際はけがに十分注意する。

ウ　けがをした際はすぐに傷口を流水で洗浄し , 消毒を行う。

エ　体を固定する際は , マウスの手足をしっかり広げ , 手の甲・足の甲に留め針を体の中心に向けて斜めにさすと , 手足が緩まず , 開腹しやすい。

オ　皮をはぐ際は以下の順序で行うと内臓を傷つけずに行いやすい。

(ア) 腹部の中央の皮をピンセットでつまんでハサミで一部を切り , 穴を作る。

(イ) あけた穴からハサミを入れるように喉元・生殖器まで正中線に沿って皮を切る。

(ウ) 切ったラインから放射状に皮に切り目をいれる。

(エ) 筋肉から皮をはがすように皮と筋肉の間をハサミできる。皮だけをはがすように切ると出血しない。

(オ) はがれた皮は十分に広げ , 留め針で止めることで観察範囲を確保する。

カ　腹膜を切る際も皮をはぐ時と同様に , 腹部の中央の腹膜をピンセットでそっとつまみ , ハサミで一部を切り , 穴を作ってから穴を広げるように上下に腹膜を切り , 腹膜を皮と同様に留め針で止めるとよい。

キ　すい臓は , 腸間膜と胃がつながる付近にあり , 破損しやすいので注意して操作する。

ク　横隔膜を切る前に口からピペット等で空気を送り込むと肺と横隔膜が連動して膨らむ様子が観察できる。

(2) 生命倫理の観点

ア　マウスに針を刺し , ハサミを入れることに嫌悪感や恐怖心を持つ生徒は多く , 強い抵抗感を示す生徒がいるので指導には十分配慮が必要である。

イ　生体を利用する際はより慎重な指導が必要となる。

ウ　抵抗感を示す生徒の中でも , 落ち着く時間を与えることで実験できる生徒や開腹等の操作はできずとも観察はできる生徒もいる。できる範囲を見定めて指導するよう心がけるとよい。

エ　本校ではこれまで２・３年生の理系生物選択者対象に本実験を行った。大半の生徒が解剖を行い , すべての生徒が観察できた。感想として「貴重な経験ができてよかった」,「大切な命を使うのだから真剣に取り組み , 学ぶ姿勢で臨めた」という趣旨のものが多くみられた。事前の講義や当日の指導で本実習の意義を伝えることは重要である。

6　参考文献

1) 文部科学省 . ライフサイエンスの広場　生命倫理・安全に関する取組 .http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/index.html

2) 内山裕之　佐名川洋之 . 解剖・観察・飼育大事典 . 星の環会 ,2007

生命を扱う実験　～マウスの解剖～

1　目　的

マウスの解剖を行い，各臓器の位置や形態を観察し，目的とする臓器の摘出を行い詳細に観察する。

2　材料・器具

マウス，解剖皿，解剖マット，留め針，解剖器具（ハサミ・ピンセット），手袋，白衣

3　方　法

(1)　マウスを容器より取り出し，外形観察を行う。
（門歯，鉤爪，性の区別など）

(2)　解剖マットに腹部を上にして磔にする。

(3)　ハサミで腹部中央に切れ目をいれ，正中線にそって皮膚を上下に切り開く（喉元から生殖器まで）。

(4)　ハサミで皮と腹壁の間を切り，皮をはぐ。剥がした皮はたるまないように針で留める。

(5)　横隔膜の上で左右を横に切り開く。また，横隔膜を切って腹壁を開く（胸部の薄い膜がろく膜。腹部の薄い膜が腹膜）。針で腹膜を留め直す。

ア　胸腺（白い）･心臓･肝臓･胃腸の観察。

イ　呼吸器系の観察。

ウ　肋骨を切り取れば胸部の臓器，腹壁を切り取れば腹部の臓器が見える。

(6)　腹面の臓器を外して背面の臓器を確認する。

ア　胆嚢，肝臓が４葉であるなどの確認。

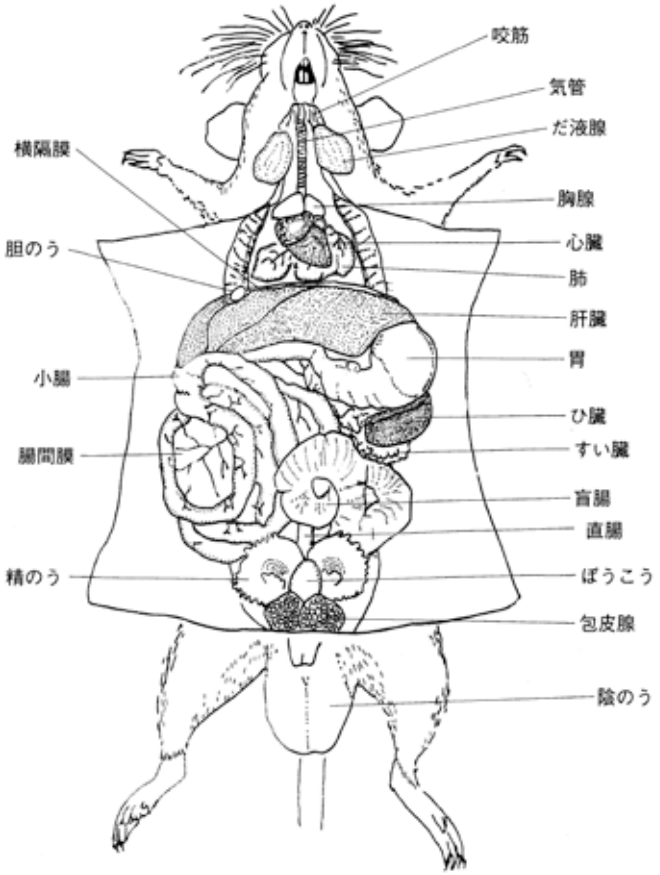
イ　胃と食道の境界で切り，直腸の後端で切り，胃腸全体をとる。

ウ　切り取った胃腸は洗面器に入れ水の中で引っ張って伸ばす。各臓器とつながりを確認する。

エ　腸間膜とそれにつく血管が集まって肝臓につながることを確認。

オ　定規で小腸の長さを測定してみる。

カ　盲腸・膵臓等も観察できる。



出典：解剖・観察・飼育大事典

(7)　泌尿器系を確認。腎臓（ソラマメ形）・副腎（白っぽい三角形）・ぼうこうなど。

(8)　各臓器の内部をみる。

ア　心臓の横断。壁の厚さを比べる。

イ　腎臓の縦断。

(9)　神経･血管を観察。神経は白く伸びる（脊髄から脊髄神経が出ている）。血管は神経の近くを走る。

(10)　取り出した臓器を元に戻す。遺体は教卓へ集めて，その後埋葬する。使用器具を洗い，片づける。

4　結　果

スケッチや気づいたことを書く。

心臓	肺
消化器系	
腎臓	その他 (　　)

5　考　察

今回の実習で学んだこと (生命倫理の観点から)

今回の実習で学んだこと (解剖学的観点から)

6 感　想

【著者紹介】

伊藤憲人 (いとうのりひと)

iton@meijo-h.ed.jp
1969 年生
名城大学附属高等学校　理科教諭 (化学担当)

化学を通じて , 科学リテラシーの育成をするかたわら , ラーニングマップアドバイザーとしてマインドマップの普及に努める。
http://www.diagramassociation.jp/fellow/
季刊「理科の探検」編集委員
http://www.rikatan.com/wiki.cgi

●著者からひとこと

教科書のない授業を生物の教員と一緒に考え , 議論し , 時に妄想しながらつくりあげるのはとても楽しい経験でした。生徒たちが , 驚いたり , 身を乗り出したり , 悩んだりする光景が印象に残っています。この教材ができるだけ多くの学校でお役に立てれば幸いです。

●主な著書 (共著)

やさしくわかる化学実験事典 (東京書籍)
よくわかる身のまわりの現象・物質の不思議 (理科年表シリーズ マイファーストサイエンス)(丸善出版)
ものづくりの化学が一番わかる (技術評論社)
あの元素は何の役に立っているのか ?(宝島社新書)

吉川靖浩 (よしかわやすひろ)

yoshikaway@meijo-h.ed.jp

1978 年生
名城大学附属高等学校　理科教諭 (生物担当)

「骨の学校」を読んで以来 , 骨への興味が高まり , 晒骨の骨格標本作成や透明骨格標本作成を生徒とともに行う。骨の材料となる遺体を見つけるのに苦労している。ダチョウやヌートリアの骨格標本が自慢。

●著者からひとこと

バイオサイエンスの授業を作るにあたり , 手を動かして学習したり , 視覚的に学習したりすることを中心に考えました。それまでの自分の殻を破る作業で大変でしたが , 様々なチャレンジができたこともあり , 非常に勉強になったと思っています。

山口照由 (やまぐちてるよし)

yamaguchit@meijio-h.ed.jp
1982 年生
名城大学附属高等学校　理科教諭 (化学担当)

本校の自然科学部では , メディスン班を担当し , 有機化合物の合成や微生物の培養を行い , 新規の機能性化合物の合成を目指している。
日本化学会教育会員。

●著者からひとこと

受講する生徒も科学者のタマゴとして , バイオサイエンスを通して科学的な手法を身に付けてほしいと思い , 授業や実験の計画を立てました。通常の授業では , 資料集を確認するだけの内容でも , 実際に身近な物質を使って実験し体験することは , とても大切であると改めて痛感しました。この教材が少しでも生徒や先生方のお役に立てれば幸いです。

西田奈津代 (にしだなつよ)

nishidan@meijo-h.ed.jp
1985 年生
名城大学附属高等学校　理科教諭 (生物担当)

“ 名城高校発酵班 ” なるものを構成し , 身近な発酵食品をつくるだけでなく , 新種の有用菌を探索し , 名城ブランドの新たな発酵食品をつくりだそうと日々生徒と醸し活動を行う。無類のキノコ好き。

●著者からひとこと

生きているという状態には巧みな仕組みがあり , その未知を暴く科学の醍醐味を生徒に知ってほしいと考えています。この授業を行う中で , 生徒が原理を理解することと , 現象や生体を直に見ることの二つが , 生徒の思考力の深さと豊かさを劇的に向上させると実感させられました。複数の理科教員が知恵を合わせて工夫することで , 生徒が体験できることがいくらでもあるということも , 担当した実感です。生徒からの “ なぜ ?” や “ 面白い !” の声のためにこの教材が活かされれば幸いです。

URL　http://www.meijo-h.ed.jp

名城大学附属高等学校

〒４５３－００３１
名古屋市中村区新富町１－３－１６
ＴＥＬ　０５２－４８１－７４３６（代）