

高等学校の授業実態に即した  
分子生物学実験の実践と考察

針谷 桃華・橋場 美穂・甲斐 由理子・押鐘 浩之

[研究ノート]

## 高等学校の授業実態に即した 分子生物学実験の実践と考察

針谷桃華<sup>1</sup>・橋場美穂<sup>1</sup>・甲斐由理子<sup>2</sup>・押鐘浩之<sup>3,4</sup>

1 帝京大学医療技術学部臨床検査学科

2 独立行政法人日本学生支援機構東京日本語教育センター

3 神奈川工科大学非常勤講師

4 大阪大学大学院薬学研究科

### Practical Consideration of Molecular Biological Education Suited for Japanese Highschools

Momoka HARIYA<sup>1</sup>, Miho HASHIBA<sup>1</sup>, Yuriko KAI<sup>2</sup>, Hiroyuki OSHIKANE<sup>3,4</sup>

#### Abstract

Whilst molecular biological articles have been extensively described in high school-level textbook guidelines by MEXT, it is, however, commonly deemed to be practically difficult to perform molecular biological experiments in high schools. We herein report an ingenious protocol for molecular biological experiments best suitable for biology classes in Japanese high schools, comprising DNA extraction, DNA detection, PCR and agarose electrophoresis, all of which can be completed substantially within no more than two classes. In order to exploit the protocol, we cautiously cared the following points: sets of the experiments can be accomplished in typical period in high schools (50 minutes); and most of the listed experiments can be performed in standard high school facilities. For DNA extraction, “silica monolith” spin column (Animos Co. Ltd.) was employed, much facilitating and shortening the procedure (completed within ~10 minutes). DNA from rice powder (*O. sativa*) and flour (*T. aestivum*) was successfully detected by means of agarose electrophoresis, followed by PCR amplification by Taq polymerase reaction mixture (Quick Taq® HS DyeMix; Toyobo Co. Ltd.), targeted for RuBisCO small subunit gene through *O. sativa* specific primers. The amplification was confirmed by agarose electrophoresis, non-hazardously stained by Midori Green (Nippon Genetics Co. Ltd.). To further develop the experimental protocol, it is thought to be necessary not only to supply the equipment required for routine molecular biological experiments in the high schools, but also to manufacture either illustrated or visualised protocol, expecting for future facilitation of molecular biological learning in high schools.

Keywords: gap-bridging between high school and university, molecular biological experiments, DNA extraction, DNA quantification, PCR, agarose electrophoresis

Abbreviations used: DNA; deoxyribonucleic acid, GFP; green fluorescent protein, IPTG; isopropyl- $\beta$ -D-thiogalactopyranoside, OD; optical density, PCR; polymerase chain reaction, RFLP; restriction fragment length polymorphism, RuBisCO; ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase, SNP; single nucleotide polymorphism, Tm; melting temperature, UTR; untranslated region

#### 1. はじめに

2009年に高等学校生物における学習指導要領が大きく変わり、以後の教科書では分子生物学的内容が多く含まれるようになった<sup>1)~4)</sup>。それとは対照的に、一般的に高等学校においてPCR法など分子生物学実験を授業中に実施するのは難しく、高等学校における生徒において名称や原理は教科書で習ったものの、実際にどういったものであるのかという実感が湧かないという問題がある<sup>5)</sup>。他方、大学等の研究現場においてはPCR法などの分子生物学的手法は日常的に使用するものであり、高大接続の観点からも、高等学校において分子生物学の実験を可能にすることが

望ましいと考えられる<sup>5)</sup>。

そこで、筆者らは2018年8月に、神奈川県立高等学校の理科教員有志に呼びかけ分子生物学実験の研修会を実施し、分子生物学実験の体験だけではなく、各教員の教育現場における意見交換を行った<sup>5)</sup>。実験内容としては、マイクロピペットや高速冷却遠心分離機の使用法から、DNA抽出、制限酵素処理、PCR法、大腸菌の形質転換、アガロースゲル電気泳動、ランバート・ベールの法則による分光光度計の理解と核酸・タンパク質の定量法について3日間にわたって行った。しかしながら、これらの内容の多くは各理科教員が勤務先高等学校で容易に実施可能ではないことが分かった。原因としては高速遠心機やサーマルサイ

クラーといった実験設備がないこと、高等学校の標準的な期限内 (50 分以内) では実験が終わらないことなどが挙げられた。

一方、これまで高等学校における分子生物学的実験プロトコルは報告されてきている。例えば林田ら<sup>6)</sup>は、耳垢型 (*ABCC11*) 遺伝子についての SNP 解析として、RFLP 法を用いた実習法を提案している。同様に PCR 法の有用性の経験を主眼とするものが多い中、PCR の原理に着目した実験教材の開発・提供は少ないのが現状である<sup>7),8)</sup>。

分子生物学の研究現場では、例えば目的遺伝子のクローニングのための PCR 法はルーティンワークであり、クローニング実験は分子生物学的実験を実施するにおいてピペット操作だけではなく必要な知識とスキルが多く含まれている<sup>9)</sup>ことから、分子生物学系の研究室では、配属されてきた学生を初めて指導するにあたって、PCR の原理について教授すると共に cDNA 作製を課すことが多い<sup>10)</sup>。そうした大学研究室レベルの現状を加味すると、高等学校においては、cDNA クローニング実験に根差して PCR の原理を教授することが望ましいと考えられる。

目的遺伝子のクローニングの具体的な手法については、研究室や研究者個人によって違いはあるとは思われるが、大まかな流れとして：

1. 組織・細胞からのスピニングによる DNA 抽出
2. 抽出した DNA を鋳型とした PCR 法による目的遺伝子断片の増幅
3. 増幅断片のアガロース電気泳動による確認

のステップを踏むものと考えられる。組織・細胞からの DNA 抽出については古くから多くの方法が報告されてきたが<sup>11)</sup>、核酸をシリカビーズに吸着させることを特徴とする Boom 法<sup>12)</sup>の開発から、研究現場ではシリカカラムを基礎とした固液抽出の使用が主流となっている。

もちろん、固液抽出ではなく液液抽出の方が実験所作として簡便かつ迅速であり、遠心分離機などの特別な実験機器を必要としない。例えば前述の林田ら<sup>6)</sup>や園山ら<sup>8)</sup>の報告も液液抽出による実践例について述べている。しかしながら液液抽出のデメリットとして、一般的に DNA の精製度は固液抽出に劣り、特に PCR 阻害物質が多く含まれるサンプルの DNA 抽出においては固液抽出の方が好ましいことが多い。したがって、固液抽出法であれば PCR 阻害物質の多い環境サンプルを含め、拡張が利く方法論の提供が期待される。また、大学研究室レベルでは核酸抽出は固液抽出が一般的であることから、遠心機を用意した上でのスピニングを用いた固液抽出を実施した方が望ましいと筆者は考える。

以上の背景をふまえ、本稿では、高等学校の授業で実施可能な分子生物学実験プロトコルの作成について報告する。本プロトコルは、どの高等学校の生物教科書にも記載されている DNA 抽出から PCR 法、アガロースゲル電気泳動までの分子生物学的実験が 2 時間分 (50 分×2) で実施可能であるという特徴を有している。実験プロトコル作成にあたっては：

- Ⓐ 高等学校における 1 単位時間 (50 分) で実施できるようにすること
- Ⓑ 高等学校の標準的な理科実習室の設備でできるだけ実施可能にすること
- Ⓒ 大学研究室レベルの日常的な実験を経験できるようにすること

の 3 つの要件を満たすように心掛けた。

## 2. 【実習プロトコルの条件検討】 材料と方法

### 2.1 DNA の抽出

本実験プロトコルでは、目的 DNA 断片を増幅している実感をもたせるために、身近な材料からの DNA 抽出も盛り込むこととした。DNA 抽出は熟練者が抽出キットを用いても 30 分以上はかかることが一般的である。また、Proteinase K による酵素処理なども必要となることから、分子生物学的実験を行う生徒にとって作業も煩雑になると容易に予想されるため、筆者らは、上記Ⓐの要件を満たし (DNA 抽出過程のみで 15 分程度)、高等学校の教育現場で容易に DNA 抽出できる方法論を模索した。そこで、株式会社アニモスの MonoFas Food Kit アレルゲン検査用 (#A17-0201) を用いれば、米粉および小麦粉といった身近な材料を出発材料とし、短時間 (所要時間 15 分程度) で DNA 抽出が可能となることから、本プロトコルにおいて最適であると判断した。

また、固液抽出に用いる遠心機については、小型卓上遠心機であるハイスピンミニ遠心機 HSC-12000 (アズワン社 #1-2827-01) を採用した。本遠心機の最大回転数は 12,000 rpm (6,900 g) であり、固液抽出を行うには充分の遠心力を出すことができると判断した。

具体的な DNA 抽出方法は以下の通りである。なお、下記 Buffer A~D は上記 MonoFas Food Kit アレルゲン検査用に付属するバッファーを指す。

100 mg の米粉および小麦粉を秤量し、そこに 500  $\mu$ L の Buffer A を入れ強く転倒混和した。続けてそこに 250  $\mu$ L の Buffer B を入れ強く転倒混和した後、12,000 rpm (6,900 g: 以下同様) で 1 分間遠心をした。上清を別容器に取り、500  $\mu$ L のエタノールを入れ強く転倒混和し、この混合液全量をスピニングカラムに加え、12,000 rpm で 1 分間遠心に供した。ろ液を捨て、カラムに Buffer C を 500  $\mu$ L を入れた後、12,000 rpm で 1 分間遠心した。最後に 100  $\mu$ L の Buffer D をカラムに入れて、吸着した DNA を溶出した。

なお、本抽出法では攪拌操作が多くあるが、出来るだけ高等学校の一般的な設備で実現可能とするためにボルテックスミキサーを使用せずに攪拌操作を行うことが望ましい。手でチューブを激しく振ることで、チューブ底が円筒形である 2.0 mL マイクロチューブの方が先細型である 1.5 mL マイクロチューブよりも容易に米粉や小麦粉を DNA 抽出に充分な程度に攪拌できることを確認しており、実際に高等学校において本プロトコルを実施する際には 2.0 mL マイクロチューブを使用する方が良いことを追記しておく。

### 2.2 DNA の定性的検出

DNA の定量は、一般的には核酸が吸光極大を示す 260 nm での吸光度測定を通して行われる<sup>9)</sup>。しかしながら、吸光度による測定ではランバート・ベールの法則の説明も必要になることから、説明のための時間を要するためⒶの要件に抵触してしまう。また分光光度計が新たに必要になることから、Ⓑの要件からも実施は難しいものと考えた。そこで、当初、筆者らは染色法およびドットプロットによる大まかな定量法を着想した。染色液としては Fast Blast DNA Stain (Biorad 株式会社; #166-0420EDU) を試みた。筆者らによる予備検討では、タンパク質や糖類と反応しないことを確認しており、糖類やタンパク質を含む米粉および小麦粉から抽出した DNA を検出する本プロトコルに最適であると判断した。しかし、ろ紙に DNA 溶液をドットプロットすることから、当然ながらしっかりとろ紙が乾かないまま染色をすると検出ができないことなど、手技によって再現性の低下が危ぶまれることが予備検討において明らかになった。

以上を踏まえて、抽出した DNA 溶液の定量的検出は断念し、定性的に DNA の存在をアガロースゲル電気泳動にて確

認する手法を採用することにした。アガロースゲル電気泳動であれば、PCR 法による目的断片増幅の確認実験であるアガロースゲル電気泳動と共に実施でき、所要時間の短縮にも繋がると考えた。さらに、抽出した DNA がアガロース電気泳動においてどの様に可視化されるのかを予想することも、教材としては非常に有意義であると判断した (後述⑨)。抽出 DNA の定性的確認におけるアガロースゲル電気泳動の実験条件は、2.4 アガロースゲル電気泳動の項と同様とした (ロードしたサンプル量は、サイズマーカーを 10  $\mu\text{L}$ 、抽出 DNA 溶液を 30  $\mu\text{L}$ )。

### 2.3 PCR 法

PCR 法での DNA 断片の増殖において、高等学校生物教科書にも紹介されているような植物由来遺伝子を標的とすることが望ましいと考えた。そこで、筆者らは標的遺伝子として、リブロース 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (RuBisCO) の小サブユニット遺伝子を選定した。RuBisCO 大サブユニットは葉緑体 DNA にコードされているが、小サブユニットは核にコードされている。小サブユニットはコメ (*Oryza sativa*) で塩基数が 631 残基 (イントロンを含む) であり、比較的サイズが小さいことから、米粉や小麦粉のような DNA が断片化されてしまった試料においても PCR で増幅しやすいと考えた。しかし、Forward プライマーについては *O. sativa* の開始コドンから開始するようにすると GC 含量が 70% と高すぎるため、5' UTR を含めた配列を Forward プライマーとした。Reverse プライマーについては終止コドンから始まる配列で問題点は見つからなかった。以上から、Forward プライマーの配列を 5' - TGGTGAGCTGCAGAGATGG-3'、Reverse プライマーの配列を 5' - TTAGTTGCCACCAGACTCCTC-3' とした (Forward プライマーおよび Reverse プライマーの下線部はそれぞれ開始コドン、終止コドンを示し、 $T_m$  は共に 56°C である)。目的産物の期待される塩基長は 646 塩基対 (bps) である。なお、このプライマー配列は *O. sativa* に特異的なプライマーであり、コムギ (*Triticum aestivum*) の RuBisCO 遺伝子には結合しないであろうことを、NCBI BLAST によるホモロジーサーチ (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) から予想した。

次に PCR 酵素の選定についてであるが、本実習目的において fidelity は比較的問題にならないことから、コスト面を考え Taq ポリメラーゼで充分と考えた。一般的に PCR においては酵素や鋳型、プライマーの他に dNTP や  $\text{MgCl}_2$ 、バッファーなどを添加するが、それぞれの添加量が数  $\mu\text{L}$  であるため、ピペティングにまだ慣れていない高等学校の生徒には混乱を招く可能性があると考えた。そこで、dNTP や  $\text{MgCl}_2$ 、バッファー類が予め混和しているプレミックス酵素を本プロトコルに採用することを考え、Premix Taq (タカラバイオ株式会社: #R004A)、Quick Taq<sup>®</sup> HS DyeMix (東洋紡株式会社: #DTM-101) と共に、Taq 系ではないがプレミックス酵素である KOD One<sup>®</sup> PCR Master Mix (東洋紡株式会社: #KMM-101) と、従来型の非プレミックス Taq 酵素である Jena Bioscience DNA ポリメラーゼ Taq スタンダード (株式会社グライナー: J986005) で、増幅反応の正確性について比較検討を行った。なお、本研究における Forward および Reverse プライマーは北海道システム・サイエンス株式会社に合成依頼をし、サーマルサイクラーは株式会社グライナーの TurboCycler 2 (#TCST-9612) を使用した。各反応液の組成および反応条件について、以下に記す。

・PCR 反応液 1 (プレミックス型酵素: Premix Taq, Quick

|   |                   |
|---|-------------------|
| Taq <sup>®</sup> HS DyeMix、および KOD One <sup>®</sup> PCR Master Mix) |                   |
| 鋳型 DNA (米粉由来または小麦粉由来)   | 1.0 $\mu\text{L}$ |
| 10 $\mu\text{M}$ Forward プライマー                                      | 1.0 $\mu\text{L}$ |
| 10 $\mu\text{M}$ Reverse プライマー                                      | 1.0 $\mu\text{L}$ |
| 超純水   | 22 $\mu\text{L}$  |
| Premix 酵素   | 25 $\mu\text{L}$  |

・PCR 反応液 2 (非プレミックス型酵素: Jena Bioscience DNA ポリメラーゼ Taq スタンダード)

|                                |                    |
|--------------------------------|--------------------|
| 鋳型 DNA (米粉由来または小麦粉由来)          | 1.0 $\mu\text{L}$  |
| 10 $\mu\text{M}$ Forward プライマー | 1.0 $\mu\text{L}$  |
| 10 $\mu\text{M}$ Reverse プライマー | 1.0 $\mu\text{L}$  |
| $\times 10$ バッファー              | 5.0 $\mu\text{L}$  |
| 2 mM dNTP                      | 4.0 $\mu\text{L}$  |
| 超純水                            | 37.5 $\mu\text{L}$ |
| Taq polymerase                 | 0.5 $\mu\text{L}$  |

・PCR 反応条件

95°C  $\times$  15 秒、56°C  $\times$  15 秒、72°C  $\times$  45 秒  
サイクル数: 35 サイクル

なお、条件検討においては  $T_m$  を 54~62°C (54、56、58、60、62°C) について調べた。

### 2.4 アガロースゲル電気泳動

アガロースゲル電気泳動において、研究レベルでは DNA の検出には染料としてエチジウムブロマイド (EtBr) を使用し、UV 光を照射して可視化することが一般的であるが、EtBr は発がん性物質であること、また UV 光は直接目に入れてしまう可能性があるため、分子生物学的実験に慣れていない高等学校の生徒が扱うには危険を伴うと考えられる。そこで、発がん性のない DNA 検出法を各社から発売されていることに着目し、本プロトコルでは、コスト面と扱いやすさの面から日本ジェネティクス株式会社製のミドリグリーン (#NE-MG04) を採用した。ミドリグリーンでは UV 光ではなく青色 LED で検出ができるため、UV 光による危険性を回避できる。

本プロトコル作成では、泳動バッファーとして TAE バッファーを用い、電気泳動槽には Mupid<sup>®</sup>-2 plus (タカラバイオ株式会社) を使用した。実験時間の短縮の観点から、ゲルの染色には「先染め法」を採用した。電気泳動用アガロース (関東化学株式会社; アガロース KANTO S # 01095-23) を用いて 1%アガロースを作成し、この 1%アガロース・TAE 溶液 50 mL に対しミドリグリーンを 2.5  $\mu\text{L}$  滴下することによりゲルを調製した。図 2 に記載するように、2.3 の PCR 酵素の検討の結果、電気泳動用の dye も含む Quick Taq<sup>®</sup> HS DyeMix を採用したため、loading dye との混和作業は必要なく、PCR 反応液をそのままアガロースゲルにロードし、100 V で 30 分電気泳動に供した。なお、泳動バッファーは TAE バッファーを用いた。ロードしたサンプル量は、サイズマーカーを 10  $\mu\text{L}$ 、PCR 産物を 30  $\mu\text{L}$  とした。なお、サイズマーカーには株式会社アンテグラル (旧アプロサイエンス) 製の XL-DNA Ladder 1K plus (#KE-2610) を使用した。

またバンドの可視化は、青色 LED 光 (株式会社グライナー; Smart BlueTM # J804303) の元で行い、目視および携帯デバイスでの撮影ができることを確認した。ただし、本稿の図 1~図 3 の作成については、可視化およびデータ保存において Atto 株式会社の Lumino Graph I を使用している。

### 3. 【実習プロトコルの条件検討】結果

#### 3.1. DNA の抽出（実験 1）

本プロトコルによる米粉および小麦粉からの DNA 抽出では、微量分光光度計（MicroDigital 社 Nabi）による定量ではそれぞれ  $28.8 \pm 1.70 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 、 $65.6 \pm 16.2 \text{ ng}/\mu\text{L}$  ( $n = 3$ )と、PCR を行うにおいて十分な濃度で DNA が抽出できることが分かった。また純度に関しても、 $OD_{260} / OD_{280}$  は米粉、小麦粉でそれぞれ  $2.28 \pm 0.00787$ 、 $2.22 \pm 0.0160$ 、 $OD_{260} / OD_{230}$  も  $0.75 \pm 0.653$ 、 $1.19 \pm 0.157$  と、PCR に供するのに十分な純度<sup>9)</sup>を有することが確認できた。

さらに、DNA 抽出に要する時間は、筆者らが行って 10 分程度で済むことを確認した。

#### 3.2 DNA の定性的検出（実験 2）

上記 DNA の抽出より、本プロトコルによる米粉および小麦粉由来の DNA 溶液の濃度は分光光度計によって数十  $\text{ng}/\mu\text{L}$  のオーダーであることが分かっていることから、アガロースゲル電気泳動でも可視化が期待された。図 1 に示したように、米粉および小麦粉由来の抽出 DNA がアガロースゲル電気泳動によって可視化されたことが確認できる。このことから、本プロトコルによって各々の DNA 抽出物が視覚的に確認できることが分かった。さらに、米粉・小麦粉由来 DNA では DNA が比較的小さいサイズに剪断されていることが見て取れる。ここからも分かるように、米粉や小麦粉のように粉碎工程を含む DNA 試料から PCR に供する際には、PCR の標的遺伝子として本プロトコルの RuBisCO 小サブユニットのように比較的小さいサイズのもの望ましいということが認識できる。

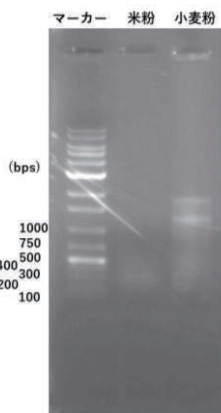


図 1 抽出 DNA の定性的確認。一番左のレーンがサイズマーカー、真ん中のレーンが米粉抽出 DNA 溶液、右のレーンが小麦粉抽出 DNA 溶液。米粉・小麦粉ともに 1000 bps 以下の領域でスミアなバンドが確認できることから、両者ともに機械的な粉碎によって DNA サイズも小さくなっていることが確認できる。

#### 3.3 PCR 法（実験 3）

まず、PCR におけるサイクル数および  $T_m$  に対する条件検討の結果について示す。なお、可視化については従来法であるエチジウムブロマイドによる染色により、Lumino Graph I (Atto 株式会社) によって撮影を行った。 $T_m$  については、図 2 に示すように、Greiner 社製 Jena Bioscience DNA ポリメラーゼ Taq スタンダードを除いて大まかに  $58^\circ\text{C}$  以下で目的断片が増幅されているのが見て取れる。PCR 断片の増幅した他 2 種のポリメラーゼでは、低い温度では非特異的な DNA 断片の増幅も見られることから、 $56^\circ\text{C}$  が最適であることが分かる。さらに、PCR の後の工程であるアガロースゲル電気泳動を考え、電気泳動のための dye も含んでいる Quick Taq® HS DyeMix (東洋紡株式会社) が本プロトコルに最適であると判断した。以上をまとめると、本プロトコルにおいて最適な PCR 酵素は Quick Taq® HS DyeMix、PCR 反応のサイクル数は 35 サイクル、 $T_m$  は  $56^\circ\text{C}$  と結論づけることができた。

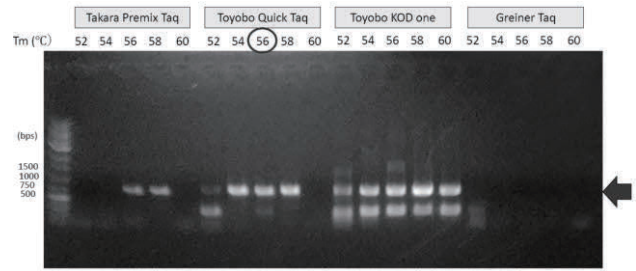


図 2 米粉 DNA を鋳型とした際の PCR 酵素と  $T_m$  についての条件検討。電気泳動像から PCR 酵素は Quick Taq、 $T_m$  は  $56^\circ\text{C}$  とするのが最適であるということが分かる。右矢印で示したのが目的となるバンドサイズである。なお、泳動条件は II (4) に記載したとおりである。

また、この最適化した条件で米粉および小麦粉由来の DNA を鋳型としてそれぞれ PCR に供すると、図 3 に示すように米粉では目的断片が増幅されているが、小麦粉では増幅されていないことが明らかである。この実験から、コメ RuBisCO を標的としたプライマーでは小麦粉由来 RuBisCO を増幅しないこと、および非特異産物も生成しないことが分かり、ネガティブコントロールとして機能することが分かる。

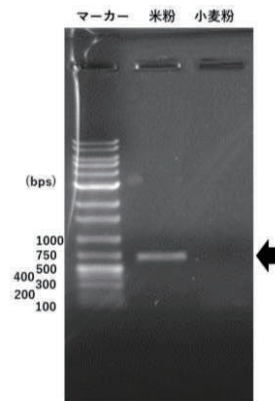


図 3 米粉と小麦粉 DNA を鋳型とした際の PCR 結果。35 サイクル、 $T_m$  は  $56^\circ\text{C}$  とした。米粉由来 DNA を鋳型とした場合には予想通り目的のサイズにバンドが見られる (646 bps) 一方、小麦粉由来 DNA を鋳型とした場合には増幅がみられないことが分かる。

#### 3.4 アガロースゲル電気泳動（実験 4）

上記でも記載したミドリグリーンおよび青色 LED 光を用いた方法で、目的となるバンドを緑色に可視化できることが確認できた。図 4 は青色 LED 光 (Smart Blue™) を使い、携帯デバイス (スマートフォン) で撮影したゲル像であり、Lumino Graph I のような大型撮影機を使用しなくても電気泳動像を簡単に電子データとして保存できることが分かる。したがって、学生が手持ちのスマートフォンなどで自らが電気泳動したゲルを撮影することが可能であることが分かった。

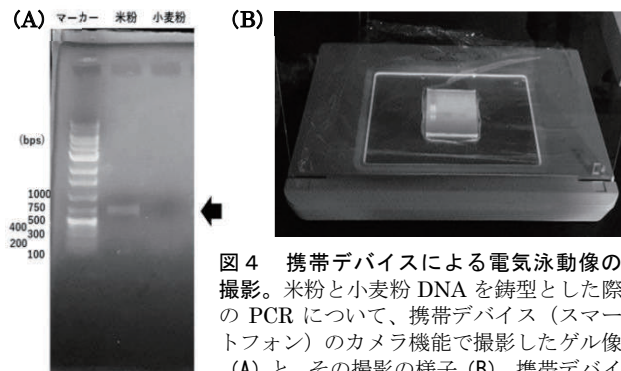


図 4 携帯デバイスによる電気泳動像の撮影。米粉と小麦粉 DNA を鋳型とした際の PCR について、携帯デバイス (スマートフォン) のカメラ機能で撮影したゲル像 (A) と、その撮影の様子 (B)。携帯デバイスによる撮影でも泳動結果が判別でき、電子データに簡単に保存できるということが分かる。

#### 4. 本実習法の実施

##### 4.1 実習実施の概観

本プロトコルについて、2021 年度に東京都立青山高等学校、2022 年度に東京都立三田高等学校の協力を得て、いずれも 3 年生の生物選択者を対象とした実習を行った。

実習に先立ち、特にマイクロピペットなど初めて手にする実験器具が多く、学生は最初戸惑ってしまうことを危惧し、予め本実習の手技についての実験動画を作成し YouTube にアップロードしておいた。また高等学校の時間割的に核酸抽出や PCR 法、アガロース電気泳動の原理などを説明する時間まで中々取れなかったことから、これらの説明については筆者が有する“wiki”で、上記動画リンクと共に紹介を行った<sup>13),14)</sup>。なお、実験動画の撮影にはウェアラブルカメラ (Ordro 社製 EP7) を用いることで、実験者視点で撮影することにより、実験所作において何処に注意を払うべきか実験中の視線を共有できるように心掛けた。

両実施例においてもカリキュラムの都合上、1 日分 (午後の 2 時間程度) のみ確保できたことから、実験 3 : PCR は筆者の方で予め行い、実験 4 : アガロース電気泳動と一緒に泳動することで、1 日内で出来る様に柔軟に対応した。なお、両校とも分子生物学の実験の基礎ともなるマイクロピペットの正確な使用法と練習を充分に行ってから、実験を実施した。

##### 4.2 学生アンケート結果

両実施例においても、講義後にアンケートを実施した。アンケート項目については以下の通りである。

Q1 : 本実習の内容についてどう思いましたか? 当てはまるものに○を付けて下さい (“興味深かった” = 10 から “全く興味がなかった” = 1 の 10 段階評価)。  
 Q2 : 来年度以降も後輩達にこの様な実習を実施することに意義があると思いますか? 当てはまるものに○を付けて下さい (“意義があると思う” = 10 から “意義がないと思う” = 1 の 10 段階評価)。  
 Q3 : 現在、高校生物では分子生物学的内容が多く含まれています。今回は DNA 抽出～アガロース電気泳動を実施しましたが、他にどの様な授業内容または実習内容を望まれますか? もう少し深掘りして欲しい内容・項目でも構いません。自由に記述して下さい。  
 Q4 : 今回の実習内容について、印象に残ったこと、難しいと思ったこと、改善点または要望などございましたら、自由に記述して下さい。  
 Q5 : その他、意見や感想などございましたら、自由に記述して下さい。

Q1 および Q2 のアンケート結果を円グラフでまとめると次の様になった (図 5 : 東京都立青山高等学校 (n = 7)、東京都立三田高等学校 (n = 22))。

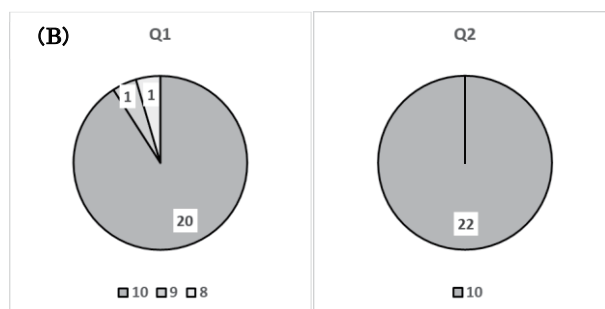
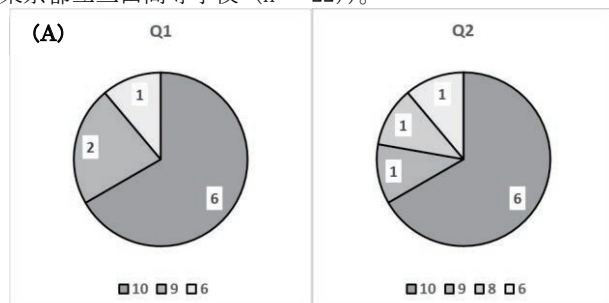


図 5 (A) 東京都立青山高等学校 (2021 年度実施, n = 7)、(B) 東京都立三田高等学校 (2022 年度実施, n = 22) の Q1・Q2 についてのアンケート結果。なおスコアについて、Q1 については“興味深かった”を 10、“全く興味がなかった”を 1、Q2 では“意義があると思う”を 10、“意義がないと思う”を 1 とする 10 段階評価で評価してもらった。

図 5 から Q1 に関して、両校共に実習内容について興味深いと回答した学生がほとんどであったことが分かる。また Q2 に関しても、多くの学生が今後も続ける意義があると回答したことが読み取れる。

Q3～Q5 の記述式の質問について寄せられた感想・意見は、筆者の方で以下①～⑭の類型にまとめた。まず Q3 の他の内容・深掘りして欲しい内容については：

- ① PCR 実験がしたかった
- ② ヒトを対象とした遺伝子を扱いたかった
- ③ プラスミド作成や制限酵素の実験をしたかった
- ④ 遺伝子が発現している所を見てみたい
- ⑤ 塩基配列の解析

などが挙げられた。

また、Q4 印象に残ったこと・難しかったこと・改善点等については：

- ⑥ 何故その様な結果になるのかを考察するのが難しかったが、それだけ面白味も感じた
- ⑦ それぞれの工程の意味を理解しながら進めることが難しかった
- ⑧ 工程ごとの解説が分かりやすかった
- ⑨ 実験所作には 1 つ 1 つ理由があることが分かり、勉強になった
- ⑩ マイクロピペットの使い方が最初難しかったが、コツを掴み始めると安定して使えるようになった
- ⑪ 遠心分離機を初めて使ってみて、沈殿と上澄みに綺麗に分離することに驚いた
- ⑫ アガロースゲルにサンプルをアプライするのが難しかった
- ⑬ マイクロピペットを初め、分子生物学で用いる実験器具の精巧さに驚いた
- ⑭ シリカカラムの原理を理解するのは難しかった
- ⑮ 教科書の勉強で理解していたつもりものが、実際に実験してみることによって理解がより深まった

などの記載があった。

Q5 の自由記載については：

- ⑮ 実験を楽しみにしていたので、無事実験結果も得られて良かった
- ⑯ 実地でやるからこそその楽しさや発見があった
- ⑰ 大学生になったらこういう実験器具で、こういう実験をしていくのだなと想像できて、楽しくなった
- ⑱ 実習プリントの手順の説明が分かりやすく、実験がスムーズに行えた
- ⑲ 米粉や小麦粉から抽出した DNA がぼんやり見える理

由について、とても興味深かった

⑩生物の実験であるはずなのに、その基礎として物理や化学があることが分かり、楽しかった

⑪実習助手の方（注：本稿筆頭著者の針谷桃華）と進路のことなど話せて非常に参考になった

⑫次は自分が卒業生として、この実習のお手伝いをしたい

と、多くの感想・意見が挙がった。

## 5. まとめ

### 5.1 実習プロトコルの作成についての考察

#### 5.1.1 実習プロトコル自体について

以上のように、冒頭の①～④の要件を満たすような DNA 抽出から PCR 法、アガロース電気泳動に至るまでの実験プロトコルを作成できたことが分かる。所要時間を考えると、実験 1：DNA 抽出・実験 3：PCR 法は標準時限（50 分）内に終わることができる。実験 2：DNA の定性的検出・実験 4：アガロース電気泳動についても別日に共に電気泳動に供することによって標準時限内で終わることができるため、一連の実験が 2 日間（2 時限）あれば終わることが可能であることが確認できた（図 6）。

| 日程      | 1日目                                      |       |           |     |     | 2日目                                      |           |          |     |
|---------|--|-------|-----------|-----|-----|--|-----------|----------|-----|
|         | 5分                                       | 20分   | 25分       | 45分 | 50分 | 5分                                       | 35分       | 45分      | 50分 |
| 標準的所要時間 |  |       |           |     |     |  |           |          |     |
| 工程      | イントロダクション                                | DNA抽出 | イントロダクション | PCR | 総括  | イントロダクション                                | アガロース電気泳動 | ゲル像撮影・撮影 | 総括  |
| 説明      | DNA抽出を短縮できたことが、1日の間にPCRまで進めることに大きく貢献している |       |           |     |     | 2日は、1日に仕掛けたPCR産物を用いてアガロース電気泳動から始めることができる |           |          |     |

図 6 授業時のタイムテーブル DNA 抽出を短縮することによって、DNA 抽出からアガロース電気泳動までを 2 日間（2 時限）で終了できる。

とりわけ、実験 1 において米粉および小麦粉からの DNA 抽出が 10 分程度で終了できるという貢献が大きい。これは、株式会社アニモスの独自技術であるシリカモノリスと呼ばれる担体をカラムに使用しており、この革新的な技術によって短時間に効率よく DNA を抽出できたと考えられる<sup>15)</sup>。

このように本教育研究によって高等学校での分子生物学実験において特筆すべきプロトコルを提案できたことが分かるものの、課題も残った。表 1 に本プロトコルにおいて必要な実験器具および材料についてまとめたが、特に◎印を付した実験器具については高価であるために、一つの高等学校で全てを賄うことは難しいと考えられる。しかしながら、これらの実験器具は分子生物学の実験を行う上で必要不可欠なものであり、何処かから調達しなければならない。

この問題に対しては、例えば“Bento Lab Pro”<sup>16), 17)</sup>であれば比較的 low コストで解決できると考えている。

“Bento Lab Pro”には、マイクロピペット、サーマルサイクラー、電気泳動槽、青色 LED ランプだけではなく、遠心分離機も 8,000 g まで遠心力がかけられるため、本プロトコルにおける DNA 抽出が可能である。したがって、“Bento Lab Pro”が高等学校の教育現場にあれば、本プロトコルは勿論のこと、その他の分子生物学実験も高等学校において実施可能ではないかと考えている。

以上から、◎印を付した機器について随時貸し出し・運搬ができるシステム、または“Bento Lab Pro”を一か所に集約させ随時レンタルできるシステムなどがあれば、高

等学校における分子生物学実験の実施もさらに普及できるのではないかと考える。

表 1 各実験に必要な実験器具・材料

※表中◎印は、分子生物学の実験を実施するのに不可欠な器具・機器類のうち、比較的高額で調達が容易ではないものを示している。

| 全実験で必要となるもの      |                                |
|------------------|--------------------------------|
| ◎                | マイクロピペット (P1000, P200, P20)    |
|                  | チップ                            |
|                  | マイクロチューブ                       |
| 実験 1：DNA 抽出      |                                |
| ◎                | 高速遠心分離機                        |
|                  | DNA 抽出キット (株式会社アニモス)           |
|                  | 米粉および小麦粉                       |
| 実験 2：DNA の定性的検出  |                                |
| 実験 4：アガロースゲル電気泳動 |                                |
| ◎                | 電気泳動槽                          |
|                  | 1%アガロースゲル                      |
|                  | TAE バッファー                      |
|                  | DNA サイズマーカー                    |
|                  | ミドリグリーン (日本ジェネティクス株式会社)        |
| ◎                | 青色 LED ランプ                     |
| 実験 3：PCR 法       |                                |
| ◎                | サーマルサイクラー                      |
|                  | PCR 用チューブ (0.3 mL チューブ)        |
|                  | プライマー (Forward および Reverse)    |
|                  | Quick Taq® HS DyeMix (東洋紡株式会社) |
|                  | 超純水                            |

#### 5.1.2 学習効果向上に向けたプロトコルの可視化

本プロトコルを高等学校の生徒に対して分かりやすくする工夫も必要であると考えられる。実験においては予め作業をイメージすることが重要であることから、例えば「バイオ実験イラストレイティッド」<sup>10)</sup>のように、イラストを交えて実験プロトコルを紹介することもファシリテーションに繋がると考えられる。そこで、本プロトコルについてのイラストを交えた学生向けの説明について、筆者のホームページ ([http://plaza.umin.ac.jp/~oshikane/oshikane/lib/exe/fetch.php?media=highschool:highschool\\_molecular-biological\\_experiment\\_protocol.pdf](http://plaza.umin.ac.jp/~oshikane/oshikane/lib/exe/fetch.php?media=highschool:highschool_molecular-biological_experiment_protocol.pdf)) に掲載した。本報告においては学生用のプロトコル作成までであったが、今後の課題としては、実験準備・指導を行う理科教員に対するプロトコルの作成も行い、現場の理科教員にとって円滑に準備および実施が行えるようにすることが必要であると考えている。

さらに、実験所作を動画資料にするとさらにイメージが掴みやすいことが多い。例えば研究分野においても Journal of Visualized Experiments (JoVE) (<https://www.jove.com/>) と呼ばれる実験手技にフォーカスした査読付き学術誌があるように、本プロトコルについても実験者の視点での動画があると望ましいと考えた。そこで、実験者の視点で実験所作が撮影できる様に、ウェアラブルカメラ (Ordoro 社 EP7 最新型 Vlog 4K 60FPS) を用いて本プロトコルの実験所作を全て撮影した。動画ファイルは YouTube (<https://www.youtube.com/>) にアップロードし、スマートフォンなどで閲覧できるようにすると共に、上述の wiki<sup>15)</sup>にも embed することで、DNA 抽出～アガロースゲル電気泳動に至る原理に触れながら動画を閲覧できるようにもした。上記プロトコル同様、理科教員向けの動画作成についても本プロトコルの更なる普及におい

て将来的な課題として考えている。

## 5.2 本プロトコル実施についての考察

以下、アンケート項目 Q3~Q5 に対する学生からの個々の意見・感想に対して回答すると共に、本実験プロトコル実施に対する考察を記載する。考察の記載においては、本プロトコルに対してだけでなく、高等学校の分子生物学の実験を実施するにおける意義や課題のブラッシュアップも図りたいと考える。

### 5.2.1 Q3 についての考察

①PCR 実験をしたかったという声に対してであるが、本実施ではカリキュラムの都合上、1 日・2 時限内という制約があったため、実験 3 の PCR 法は省略することとした。本プロトコルは 2 日間あれば PCR を含む実験 1~4 まで実施可能であるので、PCR を取り入れるとしたら本実習の実施を検討している各高等学校においてカリキュラムの調整を依頼することが現実的かと思われる。また、本稿において PCR における標的遺伝子は RuBisCO としたが、学生がプライマーを設計するところから携わることによって、より PCR について経験を伴った学びに繋がると考えられる。研究現場ではプライマー設計は ApE (<https://jorgensen.biology.utah.edu/wayned/ape/>) や Genetyx (<https://www.genetyx.co.jp/>) などの DNA 編集ソフトウェアで行うことが多い。特に ApE は無料ソフトであり、パソコンさえあれば DNA 配列を画面上で編集・設計できることから、筆者も自身のホームページで使用方法について紹介している<sup>13),14)</sup>。PCR 実験を取り入れるとしたら、1 日目に遺伝子データベースや DNA 編集ソフトウェアの使用法からプライマーの設計、2 日目に PCR 法から電気泳動に至るまでの実験を行う、などのアレンジも可能であると考えており、各高等学校と相談しながら新しいプロトコル・教材も開発していきたいと考えている。

②ヒトの遺伝子を対象とした実験であるが、例えば頬の上皮細胞をスプーンで掻き取って DNA を抽出する、耳垢から DNA を抽出するなど、学生個人の身近な(細胞)材料で以て実験をすることは可能であるし、学生にとっても非常に興味深い実験となると考えられる。しかしながら、現在 COVID-19 の感染拡大防止の観点から、ヒト由来の DNA を抽出することは控えた方が良く考えられる。さらに、本来は学生自身の遺伝子の解析となってしまうことから、倫理的配慮も必要となってくる。以上の理由から、本稿においてはコム・小麦粉由来の DNA を対象とした。今後、COVID-19 も収束方向に向かうのであれば、各高等学校と相談し、倫理的配慮をクリアした上でのヒト遺伝子を対象にした実習の実施も視野に入れたいと考えている。

③前述のような制限酵素の活用例<sup>6)~8)</sup>があるが、遺伝子組換えの意見も並行して出ていることから、恐らく PCR による増幅断片を制限酵素で切断後、ベクターにリガーゼにより挿入して形質転換を行うという、各教科書や資料集でも扱っている記載について、実験として実際に行ってみたいという意見と読み取れる。制限酵素の使用を経験するのであれば、RFLP 解析や、古典的には電気泳動用のマーカーを自作する際に用いられていたλファージ由来の DNA (λDNA) を HindIII などの制限酵素で切断し、アガロースゲル電気泳動で確認する、なども考えられる。ただし、高大接続の観点からは、分子生物学実験で日常的に行われている cDNA クローニングの実施が、制限酵素やプラスミドの使用も含むことから望ましいと考えられる。しかし、クローニング実験を一通りという、リガーゼ処理は一般に失敗率が高いということは分子生物学実験に慣れている研究者であれば誰でも知っていること、また形質転換実験

を実施するためには遺伝子組換え実験になるので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成 15 年法律第 97 号;カルタヘナ法)を遵守した形での運用が必要であり、少なくとも P1 レベルの実験設備を有することに、第三者的認証が必要となる。したがって、クローニング実験の実施には実験上および法的にクリアしなければならない問題があることから、大学や研究所などの専門機関での実施が現行としては望ましいかもしれない。しかしながら、今後の生物学の発展によって高等学校の生物課程においても分子生物学的記載が多くなる可能性もあることから、長期的視点に立って、高等学校でもクローニング実験の実施ができるように整備していくことも必要ではないか、と筆者は考えている。

④特定の遺伝子が発現している所を観察したい、については、恐らくジャコブ・モノーによるオペロン説を勉強したことによって出てきた意見と考えられ、リコンビナントタンパク質発現の可視化が最善と筆者は考える。GFP は教科書でも紹介されており、可視化において優れていることから GFP を用いることが望ましいと考えられ、これについては例えば Biorad 社でもキット化されている<sup>19)</sup>。Biorad 社では誘導物質としてアラビノースを使用しているが、IPTG を用いた系については筆者の方でもホームページを介して紹介をしている<sup>19)</sup>。しかしながら、タンパク質発現の可視化においても遺伝子組換え実験を伴うことから、③でも指摘した様に法的にクリアすることが必要となる。

⑤塩基配列の解析については、高等学校においてバイオインフォマティクス入門的な取り組みを行うことは非常に興味深いと筆者は考えている。昨今では Google 社が開発した人工知能プログラムを以てタンパク質の立体構造予測を行う AlphaFold (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>) の開発例など、将来的に生物情報を *in silico* で扱っていくことは更に増加すると考えられることから、early exposure の一環として情報科目とも協働で実施することは、現在の高校生の将来を見据えた試みとして非常に価値があると考えられる。したがって、①でも記載した様な ApE などの DNA 編集ソフトと共に、NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) や UniProt (<https://www.uniprot.org/>)、KEGG ([https://www.genome.jp/kegg/kegg\\_ja.html](https://www.genome.jp/kegg/kegg_ja.html)) などのデータベースの使用法から、BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) や ExPasy (<https://www.expasy.org/>) などホモロジー検索や計算ツール、Jalview (<https://www.jalview.org/>) を用いたアラインメント解析や分子系統樹の作成など生物情報学的ツールの紹介や、高等学校における情報科目の必修化の一環として配列解析の簡単なプログラミングを試行する、なども興味深い試みと考えている。

### 5.2.2 Q4 についての考察

⑥~⑨の感想については、各工程の意味の伝達や、実験結果に対する予想および考察を心掛けた結果と思われる。例えば、所謂派手な結果が出る様な実験をした方が学生の印象に残るかもしれないが、教育現場で行う実習そのものの意義を考える時、実験原理や教科書で学んだことを反芻しながら“考える”プロセスを重視することが、何よりも本質的な学びに繋がると考えられる。したがって、教師の視点に立ってどの様な声掛けが学生の“考える”プロセスを促進できるか、上記の教師用のマニュアル作成にも随時盛り込んでいくことが必要であると考える。

⑩~⑫について、マイクロピペットの使用についての感想が多かった。初めて使用する実験器具であり、マイクロピペットを正確に扱えることは分子生物学実験には必須



であることから、高大接続の観点から、また学生のマイクロピペットを手にした際の表情を見るに、マイクロピペットを用いた実験を体験できたことは、将来生物系専門に進む学生にとってプラスだったのではないかと考えている。ピペッティング操作では、アガロース電気泳動でサンプルをロードする所が難しかった様子であり、班によっては10分ほどの時間を要していた所もあった。アガロースゲルへのアプライは難しいと予想し、アガロースゲル作成に用いたコームは5 mmと大きいサイズのものとすると共に、サイズマーカーでゲルへのアプライを演示することで手技を伝達する様には心掛けたものの、マイクロピペットを初めて持った学生にとっては難しい操作であることを認識させられた。しかしながら、大学での分子生物学実験への接続という観点から、時間を要したとしても経験を優先させるべきだと筆者は考えている。

⑬について、例えば化学科目でもイオン交換樹脂など樹脂の化学的性質や用途について学習するものの、イメージがしづらい所でもあると考えられる。大学生に対しても、 $pK_a$  についての基本説明から生体分子の等電点の説明を経て、生体分子のカラムへの結合性に対する理解を促すことは難しいと日々感じている。一方で大学入学試験の傾向を見ると、化学・生物科目において生化学的分野からの出題が散見されることから、生体分子の化学的性質に対する一定の理解の促進が必要と考えている。今回の実習ではシリカカラムを用いていることから原理の説明として Boom 法に触れる必要があり、高校生にとっては生物と化学の境界となる部分であることから理解が難しい部分ではあるものの、Boom 法の原理を理解する過程で、リン酸の  $pK_a$  などを基礎として DNA の電気的な性質のより良い理解に繋がる様に教師が働きかけることが肝要であると感じた。その他に DNA や、または卵白アルブミンなどタンパク質のイオン交換を用いた精製など生化学的な実習を行うことで、生物と化学との境界となる部分での高大接続に寄与できる可能性があるとも考えている。

⑭実際に実験をして理解が深まったという感想については、まさに百聞は一見に如かずであり、本実習の一番の目的であった。表 1 にもまとめた様に高等学校の設備内で分子生物学的実習を実施することは依然として難しいのが現状であるが、この様な試みを通して一人でも多くの高校生がこの様な経験ができる様、更に教育研究および普及活動が続けていきたいと考える。

### 5.2.3 Q5 についての考察

⑮～⑯実験結果を伴うことが出来、楽しかったという感想に対して、⑭のフィードバックとも関連するが、教科書でアガロース電気泳動について教科書で勉強しているとしても、実際自分で泳動を仕掛け、泳動像を観察するという経験がより深い理解へと繋がると考えられる。また泳動像はスマートフォンのカメラ機能で撮影可能であることから、電気泳動結果を自らのスマートフォンに収めることで、各学生の記憶に留めることにも役立ったのではないかと筆者は考えている。

⑰大学での実習や研究活動を思い浮かべることが出来た、という感想が得られたのも、高大接続を目的とする本実習において大きな成果と考えている。背景でも記載した様に、研究現場に近い方法論での実習実施の重要性がここでも垣間見られる。

⑱実習プリントが分かりやすかったという感想についてだが、5.1「学習効果向上に向けたプロトコルの可視化」の項でも記載した通り、実験プロトコルのイラストや動画など、視覚的に理解しやすくすることの重要性を確認できたことと云える。

⑲泳動結果の考察が面白かったという感想については、まず実験の予想や考察が難しいが面白いと思う学生が存在したことに、本実習の意義があったと考えている。一般に大学に入ってからレポートや、研究レベルにおいても記載が一番難しいのは、「何故そういった実験結果になったのか」という論理的な理由を述べる考察の項であるが、この感想を見る限り、難しいからといって考察するのを諦めてしまうのではなく、むしろ知的好奇心と共に考察に立ち向かおうとしていることから、将来的に理系の技術者や研究者に必要な素養を、この学生は実習を通して気付いたものと推察される。

⑳生物の実験の基礎に物理や化学があることが分かったという感想に対して、現代の生物学の飛躍的發展は特にワトソン・クリックによる DNA 2 重螺旋モデル提唱にも見られる様に、物理学や化学を基礎としてきた。したがって、将来的に生物学関連を専門とする学生は、物理学や化学など生物学だけにとどまらない、より広範な知識を基礎とすることが必要になることは自明であろう。本実習においても、例えば前述の⑲における米粉や小麦粉由来の DNA はスミアに見えなことに対する考察は、DNA の化学的特徴や米・小麦の粉砕処理による機械的剪断によって DNA が受ける物理的損傷などと、ゲル電気泳動の原理を組み合わせる必要がある、物理学・化学・生物学を駆使しながら考察するという、学生にとっては初めての経験だったのかもしれない。しかし、こうした early exposure とも謂える経験が、大学以降の学びにおいてもプラスになると信じている。

最後に、㉑実習助手と進路のことなど相談できたという感想について、高校生からすれば現役の大学生は数年後の自分であることから、進路に関する相談を実習後に自発的に行い、現役の大学生から生の声を聞いたことに意義を感じたと思われる。この様に教師だけではなく、現役の大学生も一緒になって実習をファシリテートすることによって、㉒の様にその学校の良いカルチャーとして定着する可能性も今回の実習で発見することができた。

以上 Q1・Q2 のアンケート結果と Q3～Q5 の記載から、両校における本実習の実施は学生にとって興味深いと映り、また今後も一種のカルチャーとして実施して欲しいと考えていることが分かったことから、問題点の改善や新しいプロトコル作成なども視野に入れて、更なるブラッシュアップを図っていきたいと考えている。

### 5.3 結語

以上のように、本稿では高等学校で分子生物学実験を実施可能にするため、冒頭の(A)～(C)の要件を満たすプロトコルの作成および高等学校における実践を紹介した。昨今では COVID-19 の蔓延により、メディアなどでも PCR という言葉を耳にするようになり、生物学を専門とする教員・学生だけではなく一般においても PCR という用語が浸透している様子である。しかしながら、PCR とはどのようなものであるかを実際に知っている人の割合は限られているものと思われる。PCR 法は分子生物学の基礎的かつエッセンシャルな実験技術であることから、本プロトコルを通して高等学校の段階から積極的に経験してもらう機会を増やすことにより、次世代において活躍し得る人材の育成・輩出に対して貢献できればと切に願っている。

### 謝辞

この場を借りて、本教育研究においてディスカッション等協力して頂いた帝京大学医療技術学部臨床検査学科の学生諸君、また本教育法について貴重なアドバイスを

頂いた西澤和久先生、関玲子先生（Biomolecular Logic Research Laboratory）に深く感謝致します。また、本実習法の実践の機会を与えて下さった坂庭愛子先生（元・東京都立青山高等学校）、早川洋志先生、桑野愛先生（東京都立青山高等学校）、田中恵子先生、田中遼先生（東京都立三田高等学校）、各校の生徒の皆さんに対し、この場をお借りして感謝申し上げます。

doku.php?id=transformation（アクセス 2022.8.31）

## 参考文献

- [1] 嶋田正和 他 13 名 (2017) 改訂版 生物基礎. 数研出版. 平成 28 年検定
- [2] 嶋田正和 他 21 名 (2018) 改訂版 生物. 数研出版. 平成 29 年検定
- [3] 吉里勝利 他 20 名 (2017) 改訂 高等学校 生物基礎. 第一学習社. 平成 28 年検定
- [4] 吉里勝利 他 20 名 (2018) 改訂 高等学校 生物. 第一学習社. 平成 29 年検定
- [5] 押鐘浩之、甲斐由理子 (2021) 「高等学校における分子生物学実験のファシリテーション」日本生物教育学会第 105 回全国大会
- [6] 林田真梨子、小泉（岩尾）恭子、村田成範、木下健司 (2010) 「遺伝子診断教育のための簡便な耳垢型遺伝子多型解析法」分析化学 59(7):613-617.
- [7] 三宅崇 (2022) 「生徒向け分子生物学実験教材のレビュー」岐阜大学教育学部研究報告 46:45-52.
- [8] 園山博、渥美茂明 (2018) 「ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法におけるプライマーの働きの理解を目的とした生物授業の実践」生物教育 59(3):158-166.
- [9] M. R. Green, J. Sambrook (2012) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition) Cold Spring Harbor Laboratory Press
- [10] 中山広樹、西方敬人 (1995) バイオ実験イラストレイテッド 秀潤社.
- [11] 日本生化学会編 新生化学実験講座 核酸 I 分離精製 (1991) 東京化学同人.
- [12] Willem R. Boom, Henriette M. A. Adriaanse, Tim Kievits, Peter F. Lens 米国特許第 5234809 号
- [13] 筆者のホームページ「2021 年度東京都立青山高等学校実習」<http://plaza.umin.ac.jp/~oshikane/oshikane/doku.php?id=2022%E5%B9%B4%E5%BA%A6%E6%9D%B1%E4%BA%AC%E9%83%BD%E7%AB%8B%E4%B8%89%E7%94%B0%E9%AB%98%E7%AD%89%E5%AD%A6%E6%A0%A1%E5%AE%9F%E7%BF%92>（アクセス 2022.8.24）
- [14] 筆者のホームページ「2022 年度東京都立三田高等学校実習」<http://plaza.umin.ac.jp/~oshikane/oshikane/doku.php?id=211112%E6%9D%B1%E4%BA%AC%E9%83%BD%E7%AB%8B%E9%9D%92%E5%B1%B1%E9%AB%98%E7%AD%89%E5%AD%A6%E6%A0%A1%E5%AE%9F%E7%BF%92>（アクセス 2022.8.24）
- [15] 株式会社アニモスホームページ。 <http://animos.co.jp/dna/>（アクセス 2022.8.24）
- [16] フナコシ株式会社ホームページ Bento Bioworks 社製「Bento Lab Pro」。 <https://www.funakoshi.co.jp/contents/68144>（アクセス 2022.8.24）
- [17] フナコシ株式会社「フナコシニュース 2020 年 9 月 1 日号」。 <https://www.funakoshi.co.jp/contents/68144>（アクセス 2022.8.26）
- [18] Biorad 社ホームページ : <https://www.bio-rad.com/ja-jp/product/pglo-bacterial-transformation-kit?ID=619b8f74-9d3f-4c2f-a795-8a27e67598b7>（アクセス 2022.8.31）
- [19] 筆者のホームページ「高等学校における形質転換実験プロトコール」 <http://plaza.umin.ac.jp/~oshikane/oshikane/>

研究推進機構運営会議

議長 脇田 敏裕

構成委員 石田 裕昭

小池あゆみ

上平 員丈

高橋 勝美

星野 潤

井上 哲理

岡崎 美蘭

一色 正男

山家 敏彦

新田 晃司

山口 淳一

黄 啓新

兵頭 和人

三枝 亮

井藤 晴久

栗原 誠

高村 岳樹

井上 秀雄

塩川 茂樹

神奈川工科大学研究報告

A-47 人文社会科学編 通巻 47 号

令和 5 年 3 月 1 日 発行

編集兼発行者 神 奈 川 工 科 大 学

〒 243-0292 神奈川県厚木市下荻野1030

電 話 046-241-6221

印 刷 者 株式会社スクールパートナーズ

当該研究報告に掲載された論文の著作権は本学に帰属する。