

高等学校生物における PCR 法を利用した遺伝子判定実験を 取り入れた教材開発

— 遺伝子組換え「青いバラ」を可能にした遺伝子の起源の探究を通して —

【研究者】 教科教育部 指導主事 山内 宗治

【研究指導者】

広島大学自然科学研究支援開発センター 教授 田中 伸和
広島大学大学院教育学研究科 教授 竹下 俊治

【研究協力員】

県立広島観音高等学校 教諭 福本 伊都子
県立海田高等学校 教諭 橋本 英治

研究の要約

本研究は、高等学校生物において、PCR 法（DNA 増幅技術）を利用した遺伝子判定実験を取り入れた教材開発を行ったものである。

具体的には、パンジー又はペチュニアの青色遺伝子（フラボノイド 3'.5' 水酸化酵素遺伝子）を導入し作出された遺伝子組換え青いバラと青いカーネーションを実験材料として、どちらの青色遺伝子が導入されているのかを PCR 法によって遺伝子判定する実験を確立した。さらに、この実験を用いることにより、①遺伝子に関する理解を深め、②遺伝子を扱った技術の有用性を実感し、③科学的な思考力の育成を図ることをねらいとした教材を開発した。

本教材を用いて広島大学教育学部 3 年生を対象に講義を行った結果、教材のねらいはおおむね達成できたと考えられる。今後、この実践を踏まえて、高等学校における授業実践を行っていきたい。

キーワード：PCR 法 遺伝子組換え青いバラ 遺伝子判定実験

目次

はじめに	117
I PCR法を利用した遺伝子判定実験の確立について	118
II 教材開発について	120
III 大学生を対象とした講義について	125
IV 高等学校における授業実践に向けて	129
V 成果と課題	132
おわりに	132
添付資料	133

はじめに

近年、遺伝子組換え、遺伝子診断、再生医療、オーダーメイド医療などの言葉がメディアでよく報道され、生命科学の成果が食生活や環境・医療などの日常生活の中に浸透していることがうかがえる。しかし、こうした状況に対する一般市民の知識と理解力は十分とは言えず、生命科学の成果について議論できたり、自己決定できたりするための基礎知識

を身に付ける場として、高等学校生物教育がどう関わるべきかが問われている。また、中央教育審議会答申（平成20年1月）の高等学校理科の改善の具体的事項においても、「生命科学などの科学の急速な進展に伴って変化した内容については、実社会・実生活との関連や、高等学校と大学の接続を円滑にする観点から見直しを図る。」と示されている。

そのような背景のもと、高等学校学習指導要領（平成21年）が改訂され、「生物」のバイオテクノロジーの單元には、遺伝子を扱った技術について、制限酵素、ベクター、遺伝子の増幅技術などに触れ、その原理と有用性を理解させると述べられるなど、改善の内容が具体的に示された。

しかしながら、笹川由紀（2008, 2009）や池内達郎（2012）が述べているように、高等学校における遺伝子を扱った実験教材は少なく、その開発が求められている。また、伊佐治錦司（2006）によりヒトのアルコール分解酵素の遺伝子を判定する優れた教材が報告されているが、遺伝子配列が個人情報に

当たると考えられるため、ヒト以外の遺伝子を用いた新たな教材の開発も必要とされている。そこで、本研究において、遺伝子を扱った技術の有用性を総合的に理解させるのに適していると考えられる PCR 法（遺伝子増幅技術）を用いて、次の(1)、(2)に示すような教材開発を行った。その概要を図1に示す。

(1) 遺伝子組換え青いバラ（商品名「アプローズ」）と遺伝子組換え青いカーネーション（商品名「ムーンダスト・プリンセスブルー」「ムーンダスト・ベルベットブルー」）の3種類の植物を実験材料として用いて、パンジーとペチュニアのどちらの青色遺伝子が導入されているのかを PCR 法を利用して遺伝子判定する実験を確立する。

(2) その実験を用い、①遺伝子に関する理解を深め、②遺伝子を扱った技術の有用性を実感し、③探究の過程を通して科学的な思考力の育成を図ることをねらいとした教材を開発する。

<p>【実験材料】</p> <ul style="list-style-type: none"> ○アプローズ（青いバラ） ○プリンセスブルー（青いカーネーション） ○ベルベットブルー（青いカーネーション） <p>【実験】</p> <ul style="list-style-type: none"> ○PCR 法により DNA を増幅する <ul style="list-style-type: none"> ・増幅される DNA の大きさは、パンジーまたはペチュニアの青色遺伝子のいずれが導入されているかにより異なる ○増幅された DNA の大きさを電気泳動法により確認する <p>【考察】</p> <ul style="list-style-type: none"> ○パンジー、ペチュニアのどちらの青色遺伝子をもつかを判定する <p>ねらい</p> <table border="1"> <tr> <td> <ul style="list-style-type: none"> ①遺伝子に関する理解を深める ②遺伝子を扱った技術の有用性を実感する ③科学的な思考力の育成を図る </td> </tr> </table>	<ul style="list-style-type: none"> ①遺伝子に関する理解を深める ②遺伝子を扱った技術の有用性を実感する ③科学的な思考力の育成を図る
<ul style="list-style-type: none"> ①遺伝子に関する理解を深める ②遺伝子を扱った技術の有用性を実感する ③科学的な思考力の育成を図る 	

図1 本教材の概要

I PCR 法を利用した遺伝子判定実験の確立について

1 PCR 法を利用した遺伝子判定実験

本研究によって、高等学校生物における PCR 法を利用した遺伝子判定実験を確立した。具体的には、アプローズ（青いバラ）、プリンセスブルー（青いカーネーション）、ベルベットブルー（青いカーネーション）の3種類の遺伝子組換え植物を実験材料として、PCR 法と電気泳動法を行うことで遺伝子を判定する実験である。本実験の流れを図2に示した。

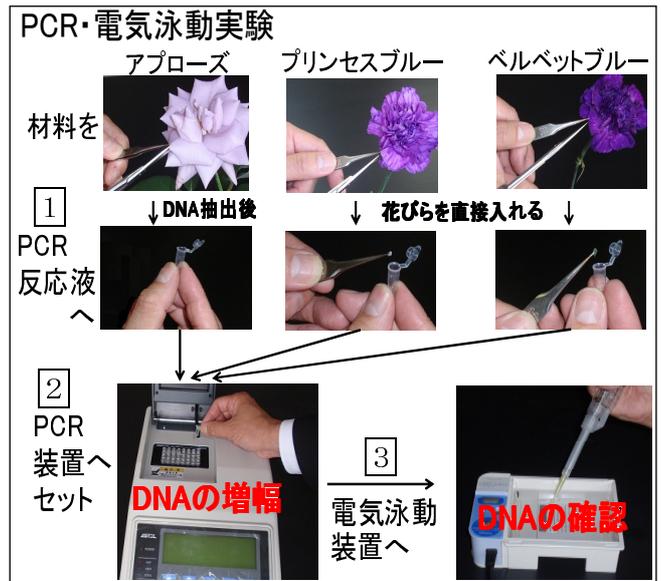


図2 PCR 法を利用した遺伝子判定実験の概要

- 1 アプローズについては、花びらから DNA を抽出し、その抽出液 1 μ L をマイクロチューブ内の PCR 反応液へ入れる。また、プリンセスブルーやベルベットブルーについては、それぞれの花びらを反応液に直接入れる。
- 2 マイクロチューブを PCR 装置にセットし、PCR 反応によって DNA を増幅させる。
- 3 PCR 反応終了後、電気泳動を行い DNA の確認を行う。

本実験により、3種類の遺伝子組換え植物に導入されている青色遺伝子が、パンジーとペチュニアのどちらの遺伝子であるのかを判定することができる。

2 PCR 法を利用した遺伝子判定実験の工夫

次に、本実験が高等学校生物の授業に適するように工夫した点について説明する。

(1) 実験材料について

バラやカーネーションは、フラボノイド 3' .5' 水酸化酵素と呼ばれる青色色素（デルフィニジン）を合成する遺伝子（以下、「青色遺伝子」とする。）をもたないため、図3に示すように青色色素を合成することができず、交配による青いバラの作出は不可能とされていた。

そこで、サントリー（現サントリーフラワーズ）がパンジーやペチュニアの青色遺伝子を導入することにより、青いバラや青いカーネーションを作出した。図4にその作出過程の概要を示し、青色遺伝子が導入された元の植物、導入される青色遺伝子の由来、販売開始年、商品名について整理した。

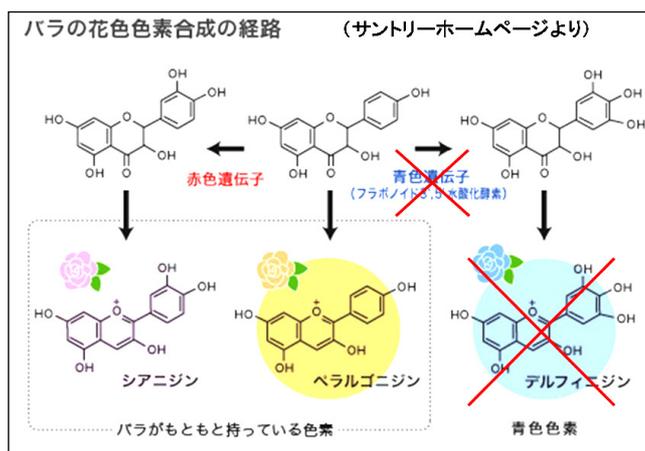


図3 バラの花色素合成の経路



図4 青いバラ・青いカーネーションの作出過程の概要

これらの青いバラや青いカーネーションは「形質」（花が青いということ）と「遺伝子」（青色遺伝子）の関係がはっきりしており、かつ青色遺伝子の遺伝情報が公開されているため、高等学校生物において教材として用いるのに適していると考えた。真核生物においては、ある形質に関連する遺伝子が複数個関係している場合が多く、「遺伝子」と「形質」が1対1の関係になっている本材料のように分かりやすく説明できるものは少ない。また、遺伝子組換え植物であることも、興味・関心を高めるといふ観点から価値のある実験材料である。本実験材料を用いることによって、遺伝子組換え技術や遺伝子組換え植物について深く考えさせ、その問題点や有用性について根拠をもって考えさせる授業展開につなげることが可能である。

(2) PCR法について

PCR法はDNAを増幅するための手法で、現代社会において、分子遺伝学の研究のみならず、生理学、分類学などの研究から医療や犯罪捜査に至るまで、

様々な分野でその役割を果たしている。PCR法は、プライマーと呼ばれるDNA増幅を行う足掛かりとなる短いDNA及びDNA合成酵素を用いて、PCR装置で98℃・60℃・68℃の温度変化を繰り返すことでDNAを増幅する方法である。プライマーとDNA合成酵素について、高等学校生物の授業に適した形でPCR実験を行うことができるよう検討した。

ア プライマーについて

青色遺伝子に関するプライマーの文献研究を行い数種類の候補を立て、それらを用いた予備実験の結果、次の(ア)(イ)のプライマーを使用することとした。

(ア) パンジー用プライマー①の配列情報

5'-GAGCTAGGCCACATGCTTA-3'

5'-CTTTGCGCTCATGACTCGT-3'

このプライマーの情報は、「環境省、報道発表資料、平成18年3月10日、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律に基づく第一種使用規程の承認申請案件に対する意見の募集（パブリックコメント）について」から得た。

本プライマーを用いてパンジーの青色遺伝子をPCRにかけると約350bpのDNAが増幅される。

(イ) ペチュニア用プライマー①の配列情報

5'-TGTGGCATGGCAGTTGCTTCT-3'

5'-GCACTAGAAGAAGTGTCCGTACC-3'

このプライマーの情報は、ペチュニアのHf1 F3'5'Hの配列(Nature, 366, pp.276-279, 1993)に基づいて設計されたものであり、サントリーフラワーズから情報提供を受けた。

本プライマーを用いてペチュニアの青色遺伝子をPCRにかけると、cDNAでは約700bpのDNAが増幅され、DNAでは約1900bpのDNAが増幅される。

(ア)(イ)のプライマーによって増幅されるDNAの大きさは350bp、700bp、1900bpであり、遺伝子判定する際に大きさがはっきりと区別できるところが本プライマーの優れた点である。

本プライマー以外に予備実験で使用したプライマー②について、その配列情報を添付資料に載せた。

イ DNA合成酵素について

PCR法で使用されるDNA合成酵素は、実験の目的や実験材料によってさまざまな種類の製品が販売されている。本研究では、50分の授業時間内で実験が終了できるように、なるべく短時間で結果が得られる製品を探した。数社の製品を用いて予備実験を行った結果、「MightyAmp DNA Polymerase Ver.2」が適していることが分かった。本製品は、クルード（汚い）な試料でもPCR反応を進めることができる

ため、動植物の生体試料を直接 PCR 反応液に加える「ダイレクト PCR」が可能な DNA 合成酵素である。よって本製品を用いることで、試料から DNA 抽出を行う操作を省略することができ、実験時間の短縮につながるため、高等学校生物の授業に適した試薬であると判断した。

予備実験において、本製品を用いて PCR 実験を行った結果、「ムーンダスト・プリンセスブルー」「ムーンダスト・ベルベットブルー」、カーネーション、パンジー、ペチュニアにおいては、良好な結果が得られた。しかし、「アプローズ」などのバラ科植物においては、粘性物質やポリフェノールが多く含まれるため、「ダイレクト PCR」は不可能であった。そこで、バラ科植物については、PCR 反応を行う前に花や葉から DNA を抽出し（「ISOPLANT 植物 DNA 抽出キット」を用いて実験）、その抽出した DNA を用いて PCR 実験を行った。バラ科植物を用いて「ダイレクト PCR」を行う方法については、今後さらなる検討を行いたい。

(3) 電気泳動法について

電気泳動法とは、寒天の主成分（アガロース）で作製したゲルを用いて電気泳動を行い、DNA を大きさに応じて分離し確認する手法である。電気泳動法は、PCR 法によって増幅した DNA の大きさを確認するために、PCR 法の後に必ず実施する操作である。本実験において、次の手順で電気泳動実験を行った。

- ①1.5%アガロースゲルを作製する。
- ②PCR 反応が終了した上澄み液を10 μ L とり、EZ-Vision 3 μ L と混ぜてウェルに入れる。
- ③100V で泳動を行う（電気泳動時間は20分間）。
- ④紫外線を照射し、バンドを確認する（デジタルカメラ等で写真撮影するとよい。）。

電気泳動実験で使用する DNA 染色剤についてはさまざまな製品が販売されているが、数社の製品を用いて予備実験等を行い比較検討した結果、「EZ-Vision」という製品が適していると判断した。従来からよく用いられているエチジウムブロマイドには変異原性があり、本製品はそれに代わる安全かつ迅速な染色試薬といわれている。PCR 反応液と混ぜて電気泳動を行い、UV照射すると DNA の大きさを確認することができる。つまり、従来のエチジウムブロマイドで必要な染色や脱色といった操作をすべて省くことができるため時間短縮につながり、かつ安全であり、高等学校生物の授業で使用するのに適した製品であると考えた。

II 教材開発について

本研究により確立できた実験を用いて、①遺伝子に関する理解を深め、②遺伝子を扱った技術の有用性を実感し、③探究の過程を通して、科学的な思考力の育成を図ることをねらいとした教材となるように、授業展開について検討した。

1 遺伝子に関する理解を深める授業展開

生物は、DNA に刻まれた設計図（遺伝情報）をもとにしてタンパク質を合成し、そのタンパク質の働きによって生命活動を営んでいる。青いバラや青いカーネーションは、花に含まれる青色色素と、その青色色素を合成するタンパク質の設計図である青色遺伝子との関係がはっきりしているため、遺伝子に関する理解を深める教材として適している。青色遺伝子の遺伝情報を実際に示しながら、青色遺伝子がどのように作用して青い花が咲くのかを具体的に説明することにより、遺伝子に関する理解を深めることができると考えた。

ペチュニアがもつ青色遺伝子は、2781bp の塩基配列からなり（NCBI GenBank Z22545 P.hybrida flavonoid 3',5'-hydroxylase mRNA 参照）、三つのエクソンと二つのイントロンから構成されている（図5）。プリンセスブルーには、ペチュニアの青色遺伝子が導入されているが、この2781bp の遺伝子そのものではなく、イントロンが除去されたcDNA が導入されている（図6）。また、ベルベットブルーやアプローズには、パンジーの青色遺伝子のcDNA が導入されている（図7）。

これらの青色遺伝子の遺伝情報（図5から図7）を用いて高等学校生物において指導すべき点を以下に整理した。

- DNA（＝生物の設計図）は全生物共通であり、種を超えて導入しても設計図として機能することができる。
- 真核生物の遺伝子にはエクソン（タンパク質のアミノ酸情報がある領域）とイントロン（タンパク質のアミノ酸情報がない領域）が存在すること。
- 真核生物では転写時に、イントロン（タンパク質のアミノ酸情報がない領域）を除去する作業（スプライシング）が行われること。
- 遺伝子（アミノ酸配列を指定する遺伝情報）の始まりは ATG（開始コドン）であり、終わりは TAA, TAG, TGA（いずれも終止コドン）のうち、いずれかであること。

- cDNA は逆転写酵素を用いて作製すること。
- ペチュニア青色遺伝子とパンジー青色遺伝子の cDNA は、塩基数はどちらも 1521bp であるが、塩基配列が少し異なっている。つまり、同じ青色遺

伝子でも種が異なれば遺伝情報が異なっている。
 このように、青色遺伝子の遺伝情報を示しながら具体的に説明することによって、遺伝子に関する理解を深めることができる。と考える。



図5 ペチュニア青色遺伝子の遺伝情報 (DNA)

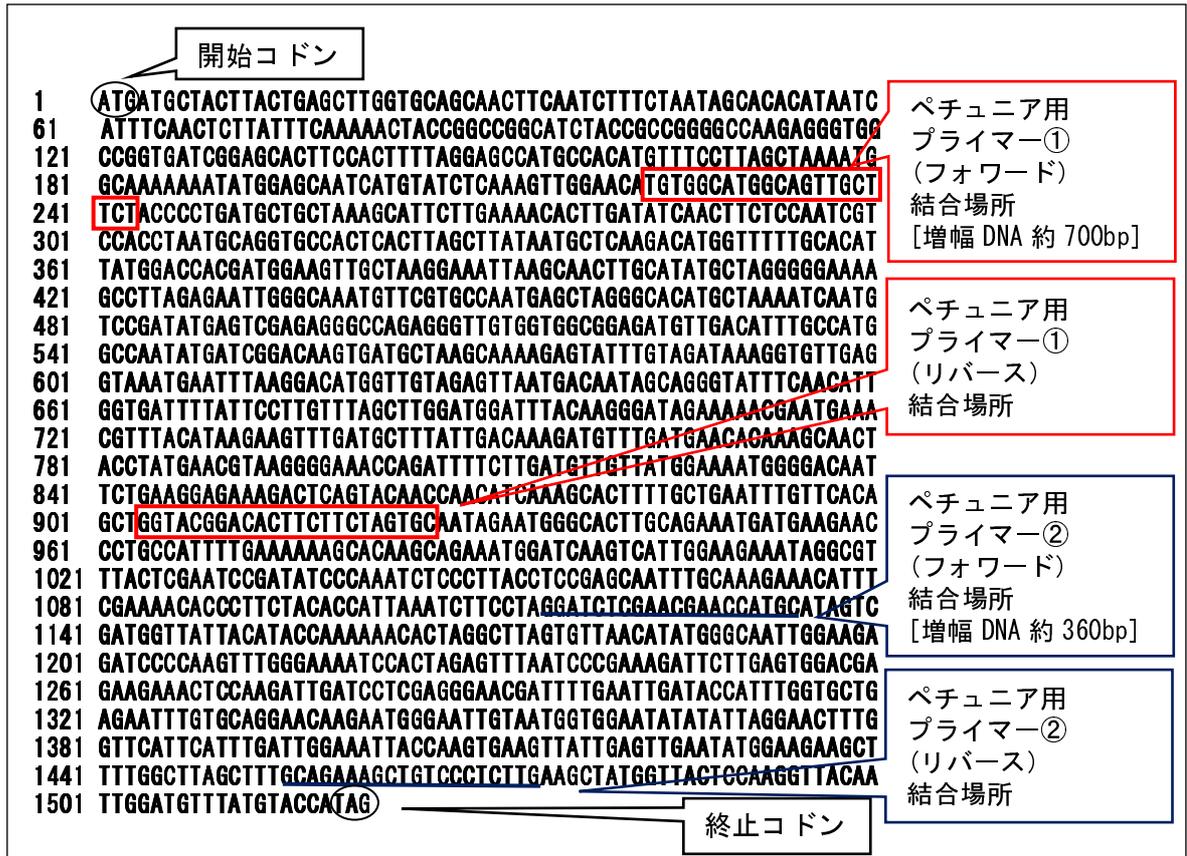


図6 ペチュニア青色遺伝子の遺伝情報 (cDNA)

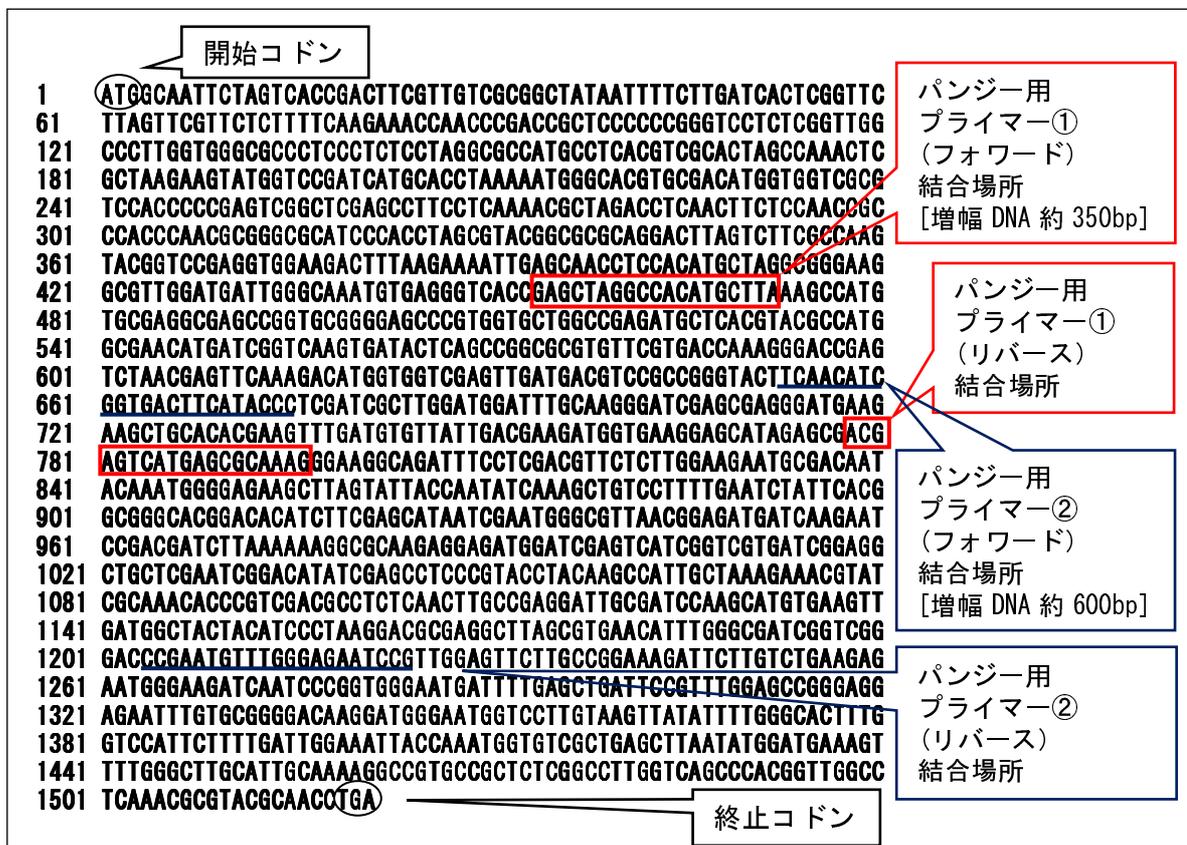


図7 パンジー青色遺伝子の遺伝情報 (cDNA)

2 遺伝子を扱った技術の有用性を実感させる授業展開

遺伝子を扱った技術について、高等学校生物の授業で利用可能な実験は、PCR 法、電気泳動法、制限酵素による DNA の切断、大腸菌や酵母菌の形質転換法、DNA 抽出などが考えられる。このうち PCR 法（遺伝子を増幅する技術）と電気泳動法（遺伝子の大きさを確認する技術）は、前述したとおり医療分野、生命科学研究分野、その他実社会で広く応用されている。したがって、高校生に PCR 法と電気泳動法を利用した遺伝子判定実験を体験させることは、その技術を用いることの有用性を実感させることにつながると考える。

しかしながら、本実験で行う PCR 法による遺伝子の解析は、その原理が複雑であるため、高校生にどのように教えるかは指導者にとって重要な課題である。図 8 に、本実験における PCR 法による遺伝子解析の仕方についてその手順を示し(1)、次にそれぞれの場面について具体的に説明する(2)。

(1) PCR 法による遺伝子解析の仕方について

PCR 法による遺伝子解析の仕方について、次に示す手順で行う。

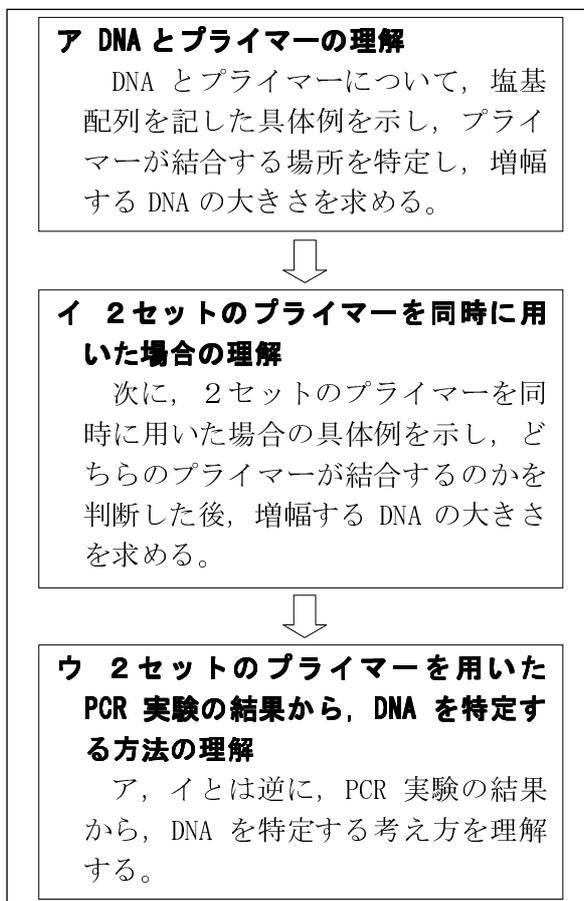


図 8 PCR 法による遺伝子解析の仕方についての手順

(2) それぞれの場面における説明

ア DNA とプライマーの理解

DNA とプライマーの理解について図 9 と図 10 のように、DNA とプライマーの簡単な塩基配列の例を実際に示し、PCR 法によりプライマーがどこへ結合し、いくらの大きさの DNA が増幅するのかを具体的に考えさせる。図 9 では 13bp の、図 10 では 9bp の DNA が増幅することを理解させる。

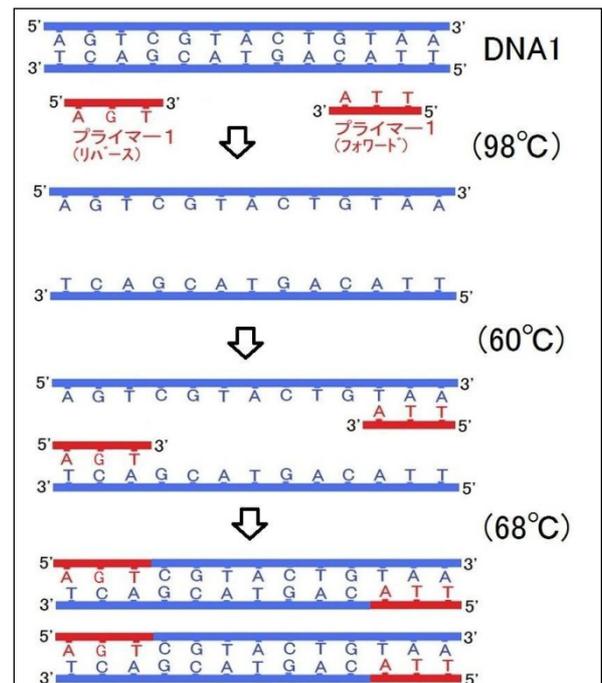


図 9 DNA とプライマーの結合について（その 1）

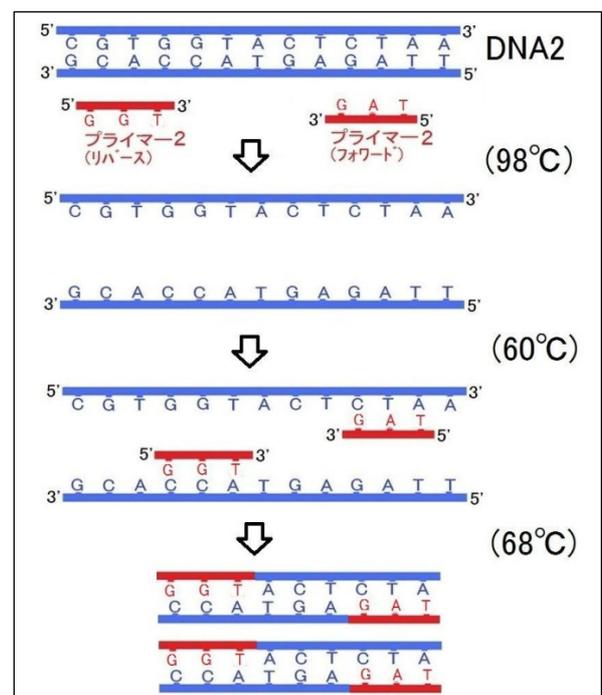


図 10 DNA とプライマーの結合について（その 2）

イ 2セットのプライマーを同時に用いた場合の理解

次に、2セットのプライマーを同時に用いた場合の理解について、図11と図12に示したプライマー1とプライマー2の2セットのプライマーを同時に用いた場合の解析の仕方を考えさせる。DNA 1においてはプライマー1が働いて13bpのDNAが増幅され、DNA 2においてはプライマー2が働いて9bpのDNAが増幅されることを理解させる。

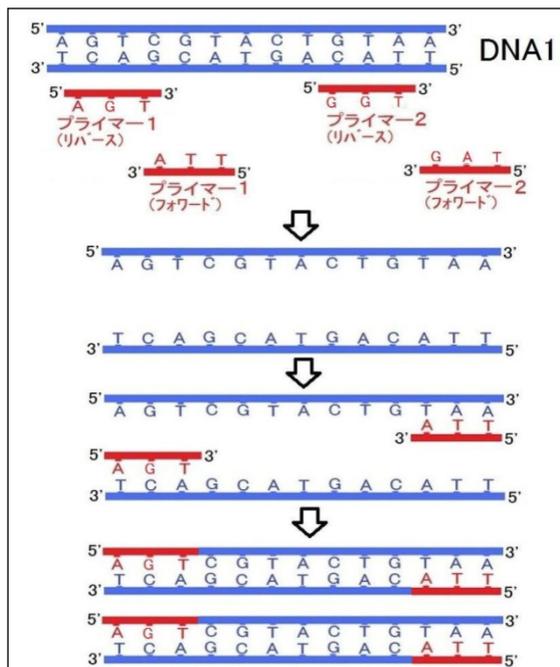


図11 DNAとプライマーの結合について（その3）

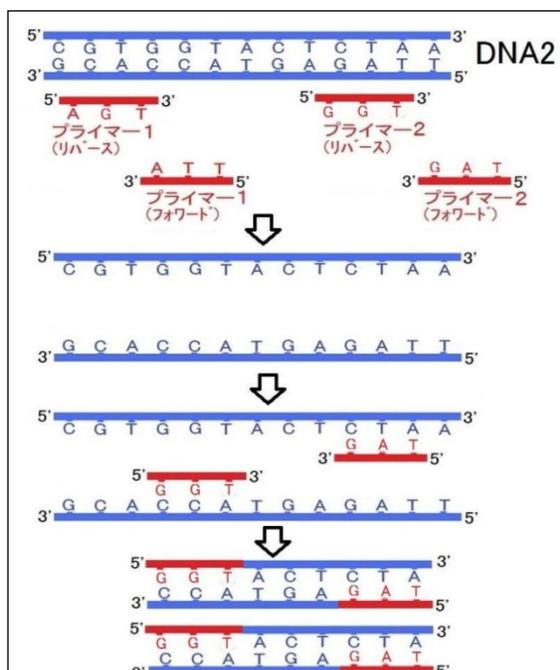


図12 DNAとプライマーの結合について（その4）

ウ 2セットのプライマーを用いた PCR 実験の結果から、DNA を特定する方法の理解

さらに、2セットのプライマーを用いた PCR 実験の結果から、DNA を特定する方法の理解について、図13に示す通り、2セットのプライマーを用いて PCR 実験を行った結果から、そこへ存在する DNA を推定することを考えさせる。図13の場合、13bpのDNAが増幅すると DNA 1であり、9bpのDNAが増幅すると DNA 2であることを理解させる。

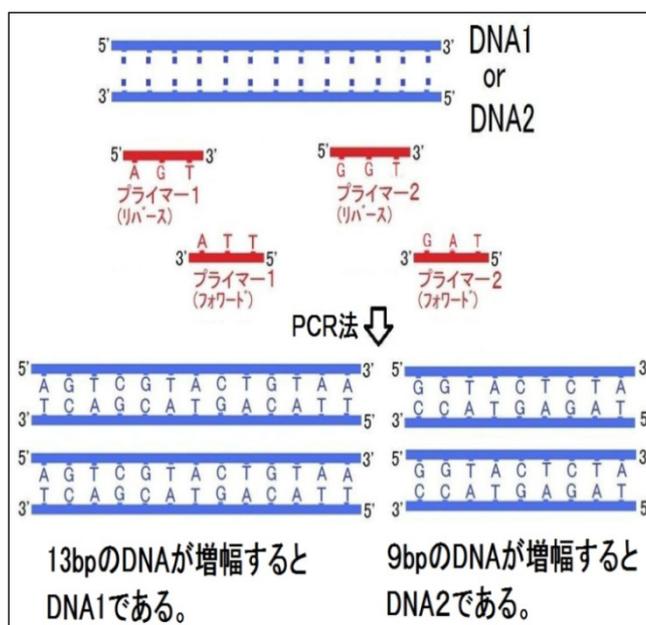


図13 DNAとプライマーの結合について（その5）

PCR 法によって増幅された DNA は、そのままでは目に見えず比較できない。そこで、電気泳動法によって DNA を大きさに従って分離し、DNA 染色剤によって染色することで DNA の大きさを確認することができることを分かりやすく説明する必要がある。

本授業展開のように、PCR 法における遺伝情報の分析の仕方を具体的かつ段階的に説明し、十分に理解させた上で遺伝子判定実験を行うことにより、遺伝子を扱った技術が科学的な根拠に基づいたものであること、そしてその有用性を実感させることができると考える。

3 探究の過程を通して、科学的な思考力の育成を図る授業展開

本実験における探究の過程として、①本実験に必要な知識を習得し、②課題を把握し、③実験の見通しをもち、④実験計画を立案し、⑤PCR 実験や電気泳動実験を行い、⑥考察する場面を設定し、それぞれの内容を図14に示した。このような授業展開に

より、問題を把握したり、結果の見通しをある視点のもとで比較したり、結果の見通しと実験結果を関連付けたりする力などが身に付き、科学的な思考力の育成を図ることができる考える。

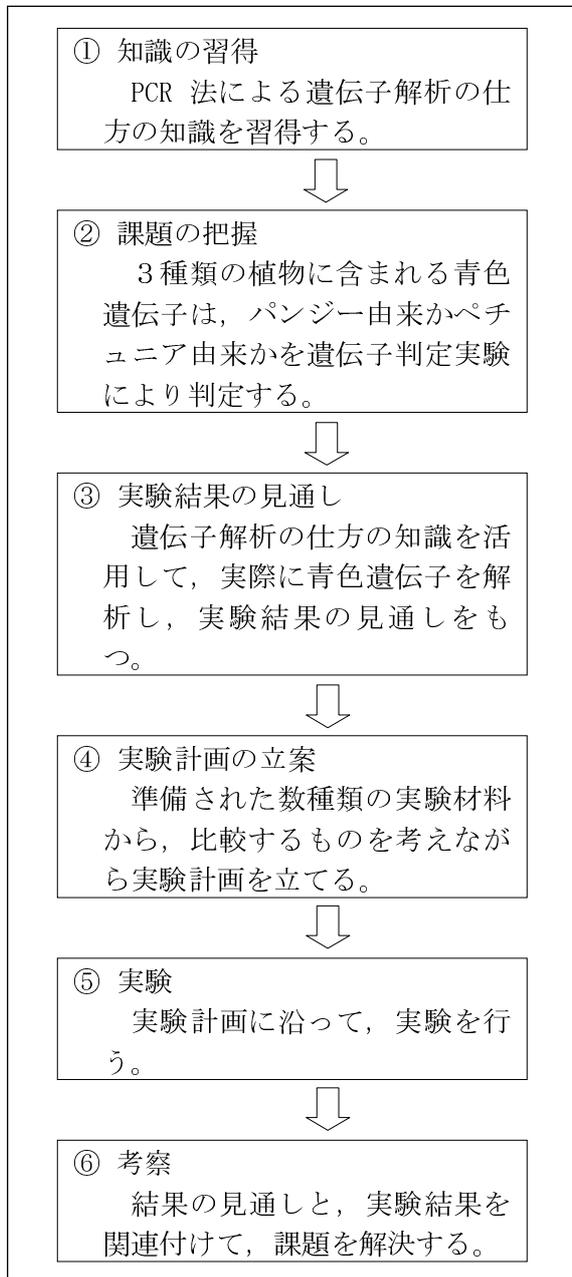


図14 探究の過程を通して、科学的な思考力の育成を図る授業展開について

Ⅲ 大学生を対象とした講義について

1 講義の概要

本教材を用いて授業実践することを検討した。本研究においては、高校生を対象に授業実践することはできなかったが、研究指導者である広島大学大

学院教育学研究科竹下俊治教授の指導のもと、広島大学教育学部3年生11名を対象に平成24年12月14日・21日に講義を行う機会を得た。講義は90分で4限実施した。その展開の概要を表1に示し、本教材開発のねらいに深く関わる場面について詳しく述べる。

(1) 2限目：実験結果の見通しをもたせる場面について

2限目の実験結果の見通しをもたせる場面の様子を次の①、②に示す手順で展開した。

表1 大学生を対象とした講義内容

時間	講義内容
1限目	DNAの構造や遺伝子に関する基本的な内容を説明した後、PCR法、電気泳動法、青いバラ・青いカーネーションについて詳しく説明した。
2限目	本実験の課題を提示し、実験結果の見通しをもたせ、実験計画の立案をさせた後、PCR実験を行った。
3限目	前時のPCR反応液を用いて電気泳動実験を行い、その結果を整理し考察した。
4限目	NHK『追跡! A to Z 「金メダル遺伝子を探せ」』の一部を視聴し、運動選手が行っている現在の遺伝子判定の現状を把握するとともに、遺伝子判定について考えた。

①ペチュニアのDNA(図5)、ペチュニアのcDNA(図6)、パンジーの青色遺伝子のcDNA(図7)の塩基配列と、2セットのプライマーの塩基配列(図15)を資料として学生に配付した。



図15 2セットのプライマーの塩基配列

② 3 から 4 名のグループで、その資料をもとに遺伝情報を解析し実験結果の見通しを立てさせ、ワークシートに記述させた。たくさん並んだ文字の中から、プライマーと同じ配列を探し出すことに手間がかかり、それを嫌う学生がいることを心配したが、班で協力しながら楽しく取り組んでいた。また、遺伝情報を実際に解析することで理解が高まったとの発言も聞かれた。



遺伝情報を解析している様子

学生のワークシートにはすべての班において、次のような記述がみられた。

- 約 350bp の DNA が増幅すると、パンジーの cDNA が存在する。
- 約 700bp の DNA が増幅すると、ペチュニアの cDNA が存在する。
- 約 1900bp の断片が増幅すると、ペチュニアの DNA が存在する。

このことより、PCR 法における遺伝情報の解析の仕方の知識を活用し、実験結果の見通しを立てることができたと考える。

(2) 2 限目：実験計画を立案させる場面について

実験結果の見通しを立てさせた後、次に示した実験材料を机上に並べておき、どれを用いて実験を行うかを、学生たちに自由に考えさせ、ワークシートに記述させた。

- アプローチ (青いバラ) 花 [DNA]
- ベルベットブルー (青いカーネーション)
- プリンセスブルー (青いカーネーション)

- 赤いバラ花 [DNA]
- 橙カーネーション
- 青いパンジー
- 赤いパンジー
- 青いペチュニア (冷凍)
- 赤いペチュニア (冷凍)

アプローチと赤いバラは DNA 抽出したものを
用いた。
青いペチュニアと赤いペチュニアは夏に
冷凍保存したものを
用いた。

表 2 に、各班の実験計画の内容を整理した。

表 2 各班の実験計画の内容

班	各班が用いた実験材料
1	アプローチ花, プリンセス花, ベルベット花, 赤バラ花, 青パンジー花, 赤パンジー花, プリンセス葉, 橙カーネーション花, 青ペチュニア花, 赤ペチュニア花
2	アプローチ花, プリンセス花, ベルベット花, 赤バラ花, 橙カーネーション花, プリンセス葉
3	アプローチ花, アプローチ葉, プリンセス葉, プリンセス花, ベルベット花, 赤バラ花, 青パンジー花, 赤パンジー花,
4	アプローチ花, プリンセス花, ベルベット花, 赤バラ花, 青パンジー花, 赤パンジー花, アプローチ葉, プリンセス葉

例えば 1 班は、遺伝子組換え植物と非遺伝子組換え植物との比較、青色の花と他の色の花との比較、花と葉との比較について、実験計画に盛り込んだワークシートを作成した。他の班も、ほぼ同様な計画を立ててワークシートを作成した。

これらのワークシートの記述から、数種類の実験材料について、いくつかの視点をもって実験結果の見通しと比較しながら実験計画を立案することができたと考える。

実験計画を立案した後、PCR 反応液を各班ごとに調製し、実験計画に従って PCR 実験を行った。PCR 実験は PCR 反応に約 1 時間 30 分の時間がかかるため、PCR 装置にセットし、PCR 反応が行われていることを確認したところで 2 限目を終了した。PCR 反応終了後、PCR 反応液を冷蔵庫で保存した。



PCR 実験を行っている様子



電気泳動実験を行っている様子

(3) 3 限目：電気泳動実験の結果の考察について

PCR 反応液を冷蔵庫から取り出し、電気泳動実験を行った。

電気泳動終了後、寒天ゲルをUV照射しながらデジタルカメラで写真を撮り、プリントアウトしたものを配付し、実験結果の考察を行わせた。図16は電気泳動実験の結果である。図16の右端には、DNA の大きさを知るために、事前に大きさが分かっている DNA を目印として電気泳動したもの（マーカーと呼ぶ）が見えている（100bp ラダーマーカー）。



電気泳動実験の結果から考察している様子

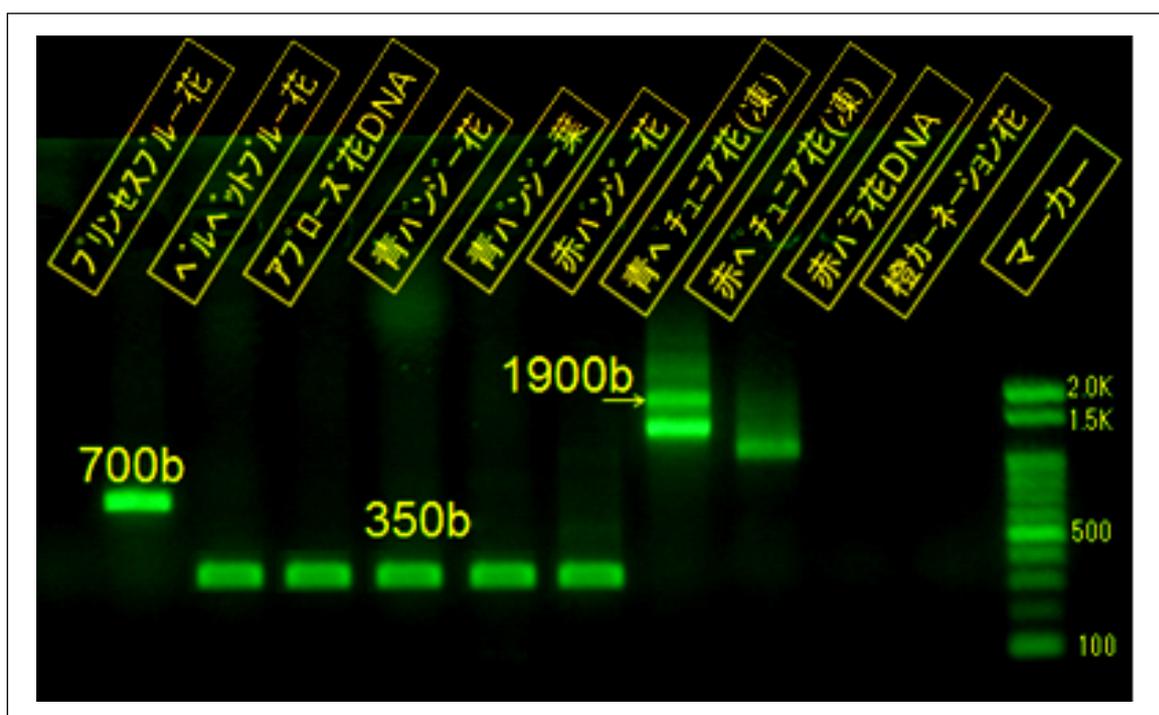


図16 電気泳動実験の結果

実験結果から次の結論を導くことができた。

[プリンセスブルーの花]

700bp の DNA が確認されたことより、ペチュニアの cDNA が導入されている。

[ベルベットブルーの花, アプローチの花]

350bp の DNA が確認されたことより、パンジーの cDNA が導入されている。

[赤いバラや橙色のカーネーションの花]

全くバンドが確認されないことより、青色遺伝子は存在しないと考えられる。しかし、本実験では青色遺伝子をもたないのか、PCR 反応がうまくできていないのかを判断することはできない。PCR 反応が正しく行われていることが把握できる実験（ポジティブコントロール実験）を同時に行う方法について更に検討していきたい。

[青いパンジーの花, 青いパンジーの葉, 赤いパンジーの花]

青いパンジーの花や葉, 赤いパンジーの花にもすべて青色遺伝子が含まれている。赤いパンジーの花にも青色遺伝子が含まれていることは面白い結果である。

[青いペチュニアの花]

青いペチュニアの花では、予想通り 1900bp のバンドが確認された。しかし、もう一つ分子量の小さいバンドが現れている。PCR の反応条件についてさらなる検討が必要である。

[赤いペチュニアの花]

赤いペチュニアにもバンドがみられたことにより、青色遺伝子をもつことが予想された。しかし、1900bp より小さい分子量のバンドなので、塩基配列を解析するなどさらなる検討が必要である。考察としては、品種改良が繰り返されるうちに、イントロン（タンパク質のアミノ酸情報がない領域）の部分が欠落したのではないかと考えることができる。

それぞれの班が作成したワークシートから、すべての班が実験結果の見通しと実験結果とを関連付けながら結論を導いていることが読み取れた。また、各班の結論について発表させることによって、情報を共有化することができた。

2 大学生に対するアンケート調査について

講義終了後、大学生に対してアンケート調査を行った。大学生からの回答について抜粋したものを示し、それらの内容を基にして本教材について検討した。

(1) 「本実験についての感想を書いてください」

- 先端技術に触れた感じがして感動した。高校時代にこのような実験を行いたかった。
- DNA という言葉はよく聞くけれど実際に見ることができないものを取り扱っていることは、科学技術を学んでいる気がしてよかった。
- パンジーかペチュニアかを当てるのが、パズルを解くような感覚で面白かった。
- 遺伝情報を班で相談しながら解析するのが楽しかった。
- 高校生の時は、この単元はただひたすら覚えるだけだったが、遺伝子や DNA を実際に扱うことで効率よく理解できた。
- 教科書に書かれていることが実際に目の前で起こると、感動するとともに、もっと詳しく知りたいと思った。

以上の内容から、本実験を通して、学生は遺伝子判定実験そのものを楽しむとともに、遺伝子に関する知識について効率よく理解することができたと考える。学生の「ただひたすら覚えるだけだった」という感想からも分かるように、遺伝子に関する単元は実験教材が少ないため、講義形式で問題練習を繰り返す授業が多いのが現状である。そういう意味では、本研究によって開発された教材は、価値のあるものであると考える。また、多数の文字が並んだ遺伝情報を解析することに対して、手間がかかりそれを嫌うなどのネガティブな思いをもつことなく、むしろ班で協力しプライマーの結合場所を探すことを楽しみながら肯定的に捉える学生が多く見られたことも本教材の有効性を表していると考えられる。

(2) 「本実験によって、遺伝子を扱う技術の有用性を実感することができましたか」

- DNA 鑑定などの場面をいくつか紹介してもらったので、そのようなこともできるのかと驚いた。
- 実験を行うことによって、DNA に関する内容をただ覚えるだけでなく、現代の問題と関連付けて考えることができた。
- 花ではなく食品を用いた実験だともっと有用性を感じると思う。
- PCR 法について、実際に使われている場面をもっと提示してほしい。
- ヒトの遺伝子判定について慎重に考えるべきと

思った。

以上の内容から、PCR 法や電気泳動法などの遺伝子を扱った技術そのものの有用性や、遺伝子を扱った技術が実生活に役立っていることを実感させることができたと考える。しかしながら「実際に扱っている場面をもっと提示してほしい」という意見もあることから、実生活との関連について、更に具体的な内容の充実が必要であると考え。また、「ヒトの遺伝子診断について慎重に考えるべきだと思う」という意見から、遺伝子を扱った技術に対してのデメリットを考えた学生がいた。本実験を通して、遺伝子を扱った技術に対して、そのメリットとデメリットについて根拠をもって論じることができるように、更に教材を充実したものにしていく必要がある。

(3) 本授業展開により科学的な思考力の育成を図ることができると思いますか

- 実験結果の見通しをもった後に実験を行い、実験結果を写真に撮り、見通しと比較しながら考えたところがよかった。科学的な思考力の育成を図ることにつながると思う。

この内容から、実験結果の見通しをもった後に実験を行ったことから、科学的な思考力が身に付いたと感じた学生がいることが分かった。しかしながら、多くの学生は思考力の育成についてのコメントがなく、その点について課題が残った。科学的な思考力を育成させるために、本教材の実験結果を整理し、考察させる場面を更に充実させることで改善していきたい。

(4) 「本実験を高校の生物の授業で行うことについてどう思いますか」

- 原理や実験手順を説明すれば高校生でも理解できると思うので、ぜひ高校で実践してほしい。
- このような科学技術に触れることで、高校生たちに科学に対する興味や関心が高まり、将来進む道を広げたりすると思う。
- 自分が高校生の時は、このあたりはひたすら覚えるだけだったので、この実験が実際に高校で行われるとしたら、この授業を受ける高校生がうらやましいと思う。
- この実験を通して、遺伝子の仕組みについて考え、それまでSFだったものがリアルなものとして捉えられるようになると思う。

以上に示されたように、本実験を高等学校の生物の授業で実施することを肯定的に述べた学生が多かった。このことから、高校生の実態を踏まえ改善

を図ることができれば、本教材を高等学校生物の中に位置付けて授業実践していくことができると考える。

IV 高等学校における授業実践に向けて

本研究では、高等学校における授業実践が実現できていない。そこで、大学生を対象にした講義を振り返り、高等学校で授業実践するときの留意点について検討した。

1 大学生を対象とした講義を高等学校で実践する場合の留意点

大学生を対象とした講義では、90分4限で実施したため、そのまま高等学校で実施することはできない。そこで、大学生に行った講義内容を以下に列記し、検討が必要な事項に(1)から(7)の番号を付け、それぞれの事項について考察した。

(1 限目)

DNA の構造や遺伝子に関する基本的な内容を説明した後、⁽¹⁾PCR 法、電気泳動法、青いバラ・青いカーネーションについて詳しく説明した。

(2 限目)

本実験の課題を提示し、⁽²⁾実験結果の見通しをもたせ、⁽³⁾実験計画の立案をさせた後、⁽⁴⁾PCR 実験を行った。

(3 限目)

前時の PCR 反応液を用いて⁽⁵⁾電気泳動実験を行い、その結果を⁽⁶⁾整理し考察した。

(4 限目)

⁽⁷⁾NHK「追跡! A to Z 『金メダル遺伝子を探せ!』」の一部を視聴し、運動選手が行っている現在の遺伝子判定の現状を把握するとともに、遺伝子判定について考えた。

(1) PCR 法、電気泳動法、青いバラ・青いカーネーションについて説明する場面

大学生を対象とした講義では、PCR 法、電気泳動法、青いバラ・青いカーネーションについて理解していないことを前提に説明をしたので、かなり時間をかけて丁寧に行った。この説明が分かりやすく整理されたものであることが、本実験をより理解させるための大切な要因であると考えている。高校生に対して本教材を用いた授業を行う場合は、PCR 法や電気泳動法について学習していることが前提となっており、それらについて復習した上で、青いバラ・

青いカーネーションと PCR 法を用いた遺伝子判定の関係についての説明を分かりやすく行うべきである
と考える。

(2) 実験結果の見通しをもたせる場面

多数の塩基配列が並んだ青色遺伝子の遺伝情報を印刷して配布し、プライマーの結合場所を見付け出し、増幅する DNA の大きさを推定する展開について検討する。大学生は班で協力し、プライマーを探し出す作業を楽しみながら行った。しかし、高等学校で授業実践する場合には、次のような指導をする必要があると考える。例えば、ペチュニア用プライマー①の配列情報である

-GCCTAGGAAGAAGTGTCCGTACC-

のプライマーが、青色遺伝子のどこへ結合するのかを調べるとき、下線部のような独特の配列を頭に描き、青色遺伝子の遺伝情報と照らし合わせるよう伝えることが必要であると考え。つまり、AAが二つ並んでいるその両端と真ん中に G が存在するという独特の配列を頭に描きながら探すよう指示をすべきである。そのようなポイントを示すことで比較的短い時間（数分間）でプライマーの結合場所を見付け出すことができると考える。その場所さえ見付け出すことができれば、結合場所の両端から内側に含まれる遺伝情報の数を数えることで、実験結果の見通しをもつことができる。

(3) 実験計画の立案をさせる場面

大学生に対する講義では、数種類の植物の中からどの植物のどの部分（葉・花など）を実験に用いるのかを選ばせ、実験計画を立てさせたところ、約15分の時間を要した。高等学校の50分の授業において、遺伝情報の解析・実験計画の立案・PCR 実験のすべてを盛り込むことは難しいと考えられる。そこで、遺伝情報の解析と実験計画の立案・PCR 実験は独立して授業を行うことが必要であると考え。

(4) PCR 実験を行う場面

この度の大学生対象の講義では、PCR 実験に用いる PCR 反応液の調製を大学生自身に行わせた。蒸留水・プライマー・PCR 専用バッファーなど数種類の試薬を、マイクロピペットを用いて指示された量ずつマイクロチューブに入れる作業を行わせたところ、約20分の時間を要した。試薬を正しく調製することは理科において大切な技能であるが、50分で授業を展開することを考慮すると、本作業は省略して展開する必要があると考える。

(5) 電気泳動実験を行う場面

電気泳動実験の説明が約10分、寒天内に DNA を入

れる作業時間が約15分、泳動に要する時間が約20分、結果の写真撮影の時間が約5分である。50分の授業内で、電気泳動実験が終了できるよう要領よく授業展開する必要がある。場合によっては、授業時間内に電気泳動が終了しない場合も想定しておく必要がある。その時は、授業終了後に、教師が電気泳動終了時間に装置のスイッチを切ったり、結果を写真撮影したりするなどの工夫が必要である。

(6) 実験結果を整理し考察させる場面

電気泳動実験の結果を写真撮影し、それを印刷したものを配布し、班で相談しながら結果を整理させる活動を取り入れたい。そして、整理した実験結果と結果の見通しとを比較、関連付けて考えさせることを強調して授業を行いたい。このような授業展開を、観察・実験を通して体験させることにより、生徒の科学的思考力が育成されると考える。また、各班の考察を発表し、情報を共有させる活動を取り入れることも有効であると考え。

(7) NHK「追跡！A to Z『金メダル遺伝子を探せ』」の一部を視聴し遺伝子判定について考察させる場面

本教材を用いて実験をした後、実生活と結び付けて考えさせる展開ができればよいと考えている。本教材と直接関係する実生活に関する事項は、「遺伝子診断について」と「遺伝子組換えについて」の2点である。大学生に行った講義では、「遺伝子診断について」を題材に授業を行った。このたび視聴させた NHK「追跡！A to Z『金メダル遺伝子を探せ』」の内容は、瞬発力の優れた筋肉に関する遺伝子をもっているかどうかで、自分が行う競技を決めたり、トレーニング方法を変更したりするというものであり、スポーツに関する自分自身の行動を遺伝子診断によって判断するというものであった。このような内容の映像を視聴させることにより、実際に行われている遺伝子診断の現状を把握させるとともに、遺伝子診断のメリットとデメリットについて具体的に考えさせ、根拠をもって自分自身の意見が主張できる力を育てたい。

2 高等学校における授業展開の具体例

大学生を対象とした講義を参考にして整理した内容をもとにして、5時間の時間設定で高等学校生物を対象とした授業展開について検討した。大学生を対象とした講義は1限90分で実施したが、高校の授業で実践するためには、1限50分の授業で実施可能な形で授業展開を考える必要がある。

表3に、高等学校において50分の授業で実施可能な授業展開の流れを記した。授業時間が限られるため、どの操作に何分必要かということシミュレーションし、具体的な時間配分を表の中に盛り込んだ。

授業は、高等学校学習指導要領の「第5節理科 第7生物 (1)生命現象と物質 ウ遺伝情報の発現 (ウ)バイオテクノロジー」に位置付けて検討した。

表3 高校生を対象とした授業展開の具体例（5時間）

時	展開項目（時間配分）	学習内容・指導上の留意点
1 限 目	①本時の概要・PCR法による遺伝情報の解析方法について詳しく説明する。（20分） ②青色遺伝子の解析をする。（25分） ③本時のまとめ。（5分）	①本授業の概要を説明した後、PCR法による遺伝情報の解析の仕方について説明する。 ②青色遺伝子やプライマーの塩基配列のプリントをもとに、遺伝情報を解析し、結果の見通しをもたせる。班で協力しながら行う。 ③本時のまとめと次時の予告をする。
2 限 目	①前時の復習。（5分） ②実験計画を立案する。（15分） ③PCR実験を行う。（25分） ④本時のまとめ（5分）	①前時の学習内容を把握させる。 ②結果の見通しと実験結果を関連付けながら実験計画を立案させる。 ③PCR実験で用いるPCR反応液の調製は、事前に教師が行っておく。実験中に、マイクロチューブの中で起こっている反応について、パワーポイントを用いて説明するなど視覚的にイメージさせながら展開する。PCR装置にセットした後、一連の温度変化を行っていることを確認させる。 ④本時のまとめと次時の予告をする。
3 限 目	①前時の復習。（5分） ②電気泳動実験の説明をする。（10分） ③電気泳動実験を行う。（30分） ④本時のまとめ。（5分）	①前時の学習内容を把握させる。 ②電気泳動の仕組みや実験方法を説明する。 ③電気泳動終了後にデジタルカメラで写真を撮り、実験結果を保存しておく。 ④本時のまとめと次時の予告をする。
4 限 目	①前時の復習。（5分） ②実験結果をもとに考察を行う。（20分） ③班ごとに結果を発表させる。（20分） ④本時のまとめ。（5分）	①前時の学習内容を把握させる。 ②実験結果の写真をもとに、仮説と実験結果を関連付けながら考えさせる。 ③各班の結果と考察を発表させ、学習内容を共有化させる。 ④本時のまとめと次時の予告をする。
5 限 目	①NHK『追跡！A to Z 「金メダル遺伝子を探せ」』の一部を視聴させる。（20分） ②個人の感想を書かせる。 ③班で協議する。 ④もう一度個人の感想を書かせる。（②から④30分）	①前半部分の約20分間を視聴させる。 ②遺伝子診断の現状と、遺伝子診断のメリット・デメリットについて、個人の感想を書かせる。 ③②の視点をもって班で協議させ、各自がもつ意見と他の意見とを比較させることにより、各自の考えを深めさせる。 ④班協議により変容した個人の意見を記録させる。

V 成果と課題

1 成果

- 個人情報との関連で利用が難しいヒト以外の教材として、話題性のある遺伝子組換え植物を用いた PCR 実験が確立できた。
- PCR 実験を通して具体的に遺伝情報を解析することで、遺伝子に関する理解を深め、遺伝子を扱う技術の有用性を実感させる、他に類のない教材を開発することができた。
- 探究の過程を通して、科学的な思考力の育成を図る教材が開発できた。

2 課題

(1) 実験に関する課題

- バラ科の植物を用いて PCR 実験を行う場合は、DNA 抽出の作業が必要なことが課題である。DNA 抽出の作業は、遠心分離操作の過程が必要で実験が複雑になるため、可能であれば省略したい作業である。DNA 抽出の作業を必要としない実験方法を開発するなどの工夫が必要である。または、青いバラを使わず、青いカーネーションのみの実験で対応する方法も考えられる。
- ペチュニアを用いた PCR 実験の結果で不明なバンドが見られることが課題である。実験結果がよりの確なものとなるように、予備実験を行い、原因を追究していく必要がある。

(2) 高等学校において授業実践を行うに当たっての課題

- 大学生を対象とした講義は1限90分であるが、高等学校の授業で実践するためには、1限50分の授業で実施可能な形で授業展開を考える必要があることが課題である。今後更に検討を進めていきたい。
- 本研究で開発した教材は、実験の課題を教師が提示することで展開している。また、仮説を設定させる場面も盛り込めていない。生徒自らが、課題を発見したり、仮説を設定したりすることができるような授業展開の工夫をすることが今後の課題である。探究の過程に関してより充実し、科学的思考力の育成を図る教材となるよう更に模索していきたい。

おわりに

本研究において、ヒト以外の実験材料である青いバラや青いカーネーションを用いて、遺伝子を扱

った実験教材を開発することができた。日本生物教育学会全国大会において本研究の成果を発表したところ、生徒自らに遺伝情報を解析させた後に PCR 法を用いて遺伝子判定させるという授業展開は他に類がなく、高校生にとって有益な教材であるとの評価を得ることができた。今後は、高等学校における実践を積み重ね、更に有効な教材になるよう取り組んでいきたい。

本研究の推進にあたり、終始丁寧に御指導、御助言をいただいた広島大学自然科学研究支援開発センター田中伸和教授、広島大学大学院教育学研究科竹下俊治教授に謹んで感謝の意を表す。また、本研究に御理解、御協力いただいた研究協力員の皆様に、心から感謝申し上げる。

【参考文献】

- 文部科学省（平成 21 年）：『高等学校学習指導要領』
- 文部科学省（平成 21 年）：『高等学校学習指導要領解説理科編』実教出版
- 環境省（平成18年3月10日）：『報道発表資料、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律に基づく第一種使用規程の承認申請案件に対する意見の募集（パブリックコメント）について』
- 池内達郎・布山喜章 他（2003）：「特集／ゲノム時代の遺伝教育」『生物の科学遺伝, 57(1)』
- 伊佐治錦司, 松本省吾（2006）：「遺伝子診断の教材化：ALDH2(アルデヒド脱水素酵素 2) 遺伝子における SNP (一塩基多型) タイピング」『岐阜大学教育学部研究報告. 自然科学』第30巻
- 池内達郎（2008）：「高校生物で遺伝をどう教えるか（高校の生物教科にヒトの遺伝を）」『遺伝 Vol. 62 No. 6』
- 向井康比己（2008）：「高校生物で遺伝をどう教えるか（高等学校生物遺伝分野で何を教えるべきか）」『遺伝 Vol. 62 No. 6』
- 笹川由紀, 小野道之（2008）：「遺伝子リテラシー教育における高等学校等での教育目的遺伝子組換え実験の普及と教材キットの有効性について」『科学教育研究 Vol. 32 No. 3』
- 笹川由紀, 小野道之（2009）：「高等学校におけるヒトゲノム・遺伝子解析実験に関する現状と教員意識の調査研究」『科学教育研究 Vol. 33 No. 3』
- 池内達郎, 向井康比己（2012）：「新学習指導要領とこれからの生物教育—何が変わり、どう変わるべきか—（遺伝と進化の分野を中心として）」『遺伝 Vol. 66 No. 3』
- 片山豪（2012）：「分子生物学の教材開発（高校の生物教育現場から）」『遺伝 Vol. 66 No. 3』

本研究における実験材料、試薬、実験方法等の詳細について、最後に別項目を立てて述べることにした。実際に本教材を使用したり、更に改良したりするとき重要な資料になると思われる。

1 青いバラ・青いカーネーションについて

青いバラ、青いカーネーションについてその名称と青色遺伝子の由来について次のように整理した。本研究で使用した青いカーネーションは「ムーンダスト・プリンセスブルー」と「ムーンダスト・ベルベットブルー」の2種類であるが、「ムーンダスト・アクアブルー」と「ムーンダスト・ライラックブルー」を用いても実験可能である。アプローチを実験に用いた場合はDNA抽出が必要なため、アプローチの代わりにムーンダストシリーズを1種類選び、ムーンダストシリーズのみを3種類ほど実験材料に用いて実験する方法も有効であると考えられる。

花の名称		青色遺伝子の由来
青いバラ	アプローチ	パンジー
青いカーネーション	ムーンダスト・アクアブルー	パンジー
	ムーンダスト・ライラックブルー	ペチュニア
	ムーンダスト・プリンセスブルー	ペチュニア
	ムーンダスト・ベルベットブルー	パンジー

青いバラ・青いカーネーションの名称と青色遺伝子の由来について

上記5種類の青いバラや青いカーネーションの購入先について、購入しやすい店舗という観点で情報を集めた結果、京都市の茨木春草園・本店が適していることが分かった。常に上記5種類の植物の在庫があり、1本からでも注文を受け付け、郵送してくれる販売店である。ただし、「アプローチ」は、7月から9月の3か月間は花の劣化が早いいため販売していない。「アプローチ」は1本3,000円、ムーンダストシリーズは1本400円である。「アプローチ」「ムーンダスト・プリンセスブルー」「ムーンダスト・ベルベットブルー」を1本ずつ注文すると、花代3,800円+消費税+送料が必要となる。

2 DNA合成酵素について

本実験で用いたDNA合成酵素は、タカラバイオ社の「Mighty Amp DNA Polymerase Ver.2」（200回用）定価30,000円である。本製品は、クルードな試料でもPCR反応を進めることができるため、動植物の生体試料を直接PCR反応液に加える「ダイレクトPCR」が可能なDNA合成酵素である。本実験で用いた植物において、バラ科植物以外ではすべて有効であった。しかし残念ながら、バラ科の植物では「ダイレクトPCR」は成功しなかった。ポリフェノールや粘性物質が多いことが原因であることが考えられる。

その他のDNA合成酵素として、TOYOBOの「KOD FX Neo」を用いて予備実験を行ったが、うまくDNA合成させることはできなかった。「Mighty Amp DNA Polymerase Ver.2」と同様にクルードな試料でもPCR反応を進めることができ、「ダイレクトPCR」が可能な商品である。本製品の長所は、PCRの温度設定を2サイクルで行うことができるため、より短時間で実験を実施することができる面である。PCRの温度条件を変えてみる等の模索を続けると良好な結果が出る可能性もある。今後、更に検討してみたい商品である。また、その他にも同様な性能をもつDNA合成酵素が存在するため、検討してみたい。

「Mighty Amp DNA Polymerase Ver.2」を用いて良好な実験結果が出ているが、PCR実験は時としてうまくDNAが増幅しない場合がある。つまり、不安定な要素があるということである。そのため、他のより安定した結果が出せるDNA合成酵素について検討することは必要であると考えられる。

3 DNA抽出について

本実験において、PCR実験を行う前に、バラ科の植物からDNAを抽出する必要がある。そこで、ニッポン・ジーンズの「DNA抽出キット ISOPLANT」を用いてDNA抽出を行った。実験方法は説明書に従った。

DNA抽出の過程は、複数の試薬を加えたり、アルコールによるDNAの沈殿操作を行ったりするなど、多くの時間と作業を要するため、授業の中ではできれば省略したい過程である。バラ科植物の組織をマイクロチューブ内において蒸留水中で破壊し、その抽出液を用いてPCRを行う方法などが報告されており、さらなる模索が必要である。

4 PCR実験の詳細な実験手順

①アプローチは、花びらからDNAを抽出し、そ

の抽出液 1 μL を PCR 反応液へ入れた。また、プリンセスブルーやベルベットブルーは、それぞれの花びらをマイクロチューブ内の反応液に直接入れ、PCR 装置にセットした。

PCR 反応液の調製は次の通りである。

試薬等	容量
Mighty Amp DNA Polymerase Ver. 2 $\times 2$ Buffer	500 μL
Mighty Amp DNA Polymerase	20 μL
精製水	456 μL
パンジー青色遺伝子用プライマー(フォワード)	6 μL
パンジー青色遺伝子用プライマー(リバース)	6 μL
ペチュニア青色遺伝子用プライマー(フォワード)	6 μL
ペチュニア青色遺伝子用プライマー(リバース)	6 μL
合計	1000 μL

マイクロチューブ 1 本につき 25 μL の PCR 反応液を入れて使用するため、合計 1000 μL は 40 本分の量である。

② PCR 反応は、98 $^{\circ}\text{C}$ 2 分 1 回、98 $^{\circ}\text{C}$ 15 秒・60 $^{\circ}\text{C}$ 10 秒・68 $^{\circ}\text{C}$ 60 秒を 35 回行った。

③ PCR 反応終了後、電気泳動を行い DNA の確認を行った。

5 プライマーについて

本研究において使用したプライマーは次の 4 セットである。

- パンジー用プライマー①
 5' -GAGCTAGGCCACATGCTTA- 3'
 5' -CTTTGCGCTCATGACTCGT- 3'
 本プライマーを用いてパンジーの青色遺伝子を PCR にかけると約 350bp の DNA が増幅される。
- ペチュニア用プライマー①
 5' -TGTGGCATGGCAGTTGCTTCT- 3'
 5' -GCACTAGAAGAAGTGTCCGTACC- 3'
 本プライマーを用いてペチュニアの青色遺伝子の DNA を PCR にかけると約 1900bp の DNA が、cDNA を PCR にかけると約 700bp の DNA が増幅される。
- パンジー用プライマー②
 5' -TCAACATCGGTGACTTCATACCC- 3'
 5' -CGGATTCTCCCAAACATTCCG- 3'
 本プライマーを用いてパンジーの青色遺伝子を PCR にかけると約 600bp の DNA が増幅される。
- ペチュニア用プライマー②
 5' -GGATCTCGAACGAACCATGC- 3'
 5' -CAAGAGGGACAGCTTTCTGC- 3'
 本プライマーを用いてペチュニアの青色遺伝子を PCR にかけると約 360bp の DNA が増幅される。

本教材で使用したプライマーは、「パンジー増幅用プライマー①」と「ペチュニア増幅用プライマー①」である。他のプライマーは予備実験のときに用いた。

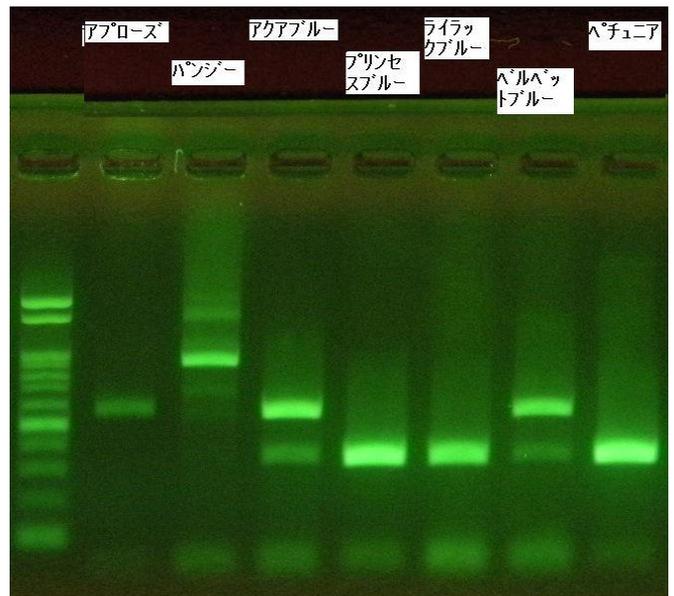
プライマーは、株式会社ニッポンイージーティのホームページのオンラインオーダーより、スモールスケールオリゴヌクレオチドオーダーフォームで注文 (35塩基まではスモールスケール。1塩基当たり 45円。両プライマー併せて約 2,000 円(消費税込み)した。

「パンジー増幅用プライマー②」と「ペチュニア増幅用プライマー②」を用いて PCR を行い、電気泳動した結果、下図のようなバンドが観察された。図の左端は 100bp ラダーマーカーである。

アプローズ、ムーンダスト・アクアブルー、ムーンダスト・ベルベットブルーを用いて実験を行うと、約 600bp のバンドがみられることより、パンジーの青色遺伝子をもつことが分かる。

ムーンダスト・プリンセスブルー、ムーンダスト・ライラックブルー、ペチュニアを用いて実験を行うと、約 360 のバンドがみられることより、ペチュニアの青色遺伝子をもつことが分かる。

パンジーを用いて実験を行うと、約 1000bp の断片がみられた。おそらく、イントロンを含む青色遺伝子をもつことが推測される。これらのプライマーを用いても遺伝子判定が可能であることが予備実験で分かった。



プライマー②を用いた電気泳動実験の結果