

## 7 4 生物分野 「遺伝子工学の基礎」

### (1) 研究開発の概要

- ア 植物細胞のプロトプラストを作成し、異種細胞間での細胞融合を試みる。異なる色素をもつ異種の細胞での細胞融合は、光学顕微鏡でも容易に観察でき雑種細胞が作成される経緯を知ることができる。
- イ シロイヌナズナの無菌株をつかって、ホルモン添加培地におけるカルスの誘導と器官の再分化を試みる。カルスの再分化によって、分化した細胞の全能性を確認できる。並行して無菌培養処理も実体験させることができる。

### (2) 研究開発の経緯

#### ア 準備・打ち合わせ

昨年度、小川教諭（現緑が丘商業高校）によって本校のカリキュラムに即した生徒実習手順が開発されたので、本年度はこれを踏襲した。

ただし昨年度の実施結果から、滅菌装置については若干改良を加え、カルスの分化に対するホルモンの相互作用の確認は、実習目的から削除した。

(ア) 平成18年5月、名古屋大学大学院生命農学研究科松林嘉克助教授に特別研究協力について指導を受ける。

(イ) 平成18年6月3日、松林助教授に、代表生徒4名に対する実技指導を受ける。

イ プロトプラスト作成と細胞融合の生徒実習を3組が5月8日、4・5組は9日に実施し、カルス形成・再分化の実習を7月11日、12日に実施した。

ウ 各実験後、レポート作成を指示した。また、参加生徒全員に本事業についてのアンケートを実施した。

エ レポートを提出させ、実施目的が達成できたかを調べた。



融合した二種の細胞

### (3) 仮説（ねらい、目標）

- ア 通常の植物細胞、原形質分離およびプロトプラストを比較観察する。
- イ 異種細胞間での細胞融合を観察する。
- ウ カルス作成・組織の再分化を通して、植物細胞が全能性をもつことを確認する。
- エ レポート作成を通して、主体的に探究する態度を身につける。

### (4) 研究の方法および内容

ア 対象生徒 3年生理系生物選択者（3組27名、4・5組42名）

#### イ 実施日程

(ア) 「プロトプラスト作成と細胞融合」 5月8日（3組）、9日（4・5組）

(イ) 「カルスの誘導」 7月11日（3組）、12日（4・5組）

結果確認 8月1日（3組）、4日（4・5組）

#### ウ 実施内容

##### (ア) 「プロトプラスト作成と細胞融合」

前処理：ニンジンと赤タマネギの色素を含む表皮を採取し、酵素液中で一晩静置する。

タマネギ表皮を、マンニトール液につけ、湿室で一晩静置する。

本実習： 資料液をろ過したろ液を遠心分離し、沈殿（プロトプラスト）を顕微鏡観察する。

ニンジンと赤タマネギのプロトプラストのスケッチ後、両者を混合して、ポリエチレングリコールを添加し、細胞が融合する過程を観察する。

マンニトール液中で原形質分離した表皮細胞と、プロトプラストを比較観察する。

##### (イ) 「カルスの誘導」

シロイヌナズナ無菌株から茎等を採取し、無菌培地（22℃、連続光下）で約3週間培養する。

#### 結果観察

脱分化してできたカルス細胞を観察しレポートを作成する。

(5) 検証(成果と反省)

ア 結果の分析

(ア) 「プロトプラストと細胞融合」の授業(実験)について

昨年同様、生徒は実習に強い関心・興味をもち、積極的に取り組んだ。

身近な植物を材料とし、異なる色の2種の融合が、顕微鏡下で実際に進行すること、また、知識としての「原形質分離」の現象をその理由とともに納得できたことが、強い関心を引き起こしたものと思われる。



プロトプラストの観察

(イ) 「カルス誘導」の授業(実験)について

組織細胞の脱分化とカルスの形成に長時間必要で、生徒は関心を持続させることが難しく、「細胞分化」に対する関心は(ア)より小さい。

しかし無菌操作を通じて、大気や器具にもカビを発生させる原因があること、カビそのものを観察するなど、目的外ではあるが意外な点に興味をもった生徒が続出した。

「細胞分化」への理解を要求するならば、ホルモン組成の違いなど、実験操作を工夫し直すことが必要である。しかし、カビを観察した経験がほとんどない生徒が、その観察を通じて、成長にみられる周期性とリズムにまで考察をすすめたことには驚きを感じる。実習目的の変更を示唆する問題を感じた。

(ウ) 特別研究全体について

昨年度に続く本校では2度目の実習であり、教師自身の指導も充実したことから、昨年度には感じられなかった問題点も明らかになった。

その1は、昨年以上に生徒達の実習能力が低下していることである。本校SSH特別研究(生物分野)の実習開発では、「生徒が実験結果を予測できること」を意識している。そのためには授業時間という限られた時間内で、器具を扱い操作を完了させる必要がある。これなくしては結果に対する十分は信頼感は生まれない。当然操作を完了できなければ理解し納得する喜びも半減する。しかし、生物分野の実験には、いわゆる職人的な習熟技術の必要な部分があるのだが、ピペットや顕微鏡の操作技術は年々低下している。これは自ら試みる実験の経験が少ないからと考えられる。この現状から各時間での実習内容を一層精選する必要がある。



カルス細胞

その2は、未経験であるがゆえに生じる感動を、生徒に得させることである。細胞融合がまさに進行している状況を観察しているからこそ、融合するしくみへの疑問が湧き、無菌であることに自信をもっているからこそカビの発生を驚き、成長の周期性の存在まで推理できる。このことは、実験の内容がふさわしければ、自然現象に対する強い関心と感動を生徒にあたえることができる可能性を示唆している。



無菌操作



無菌操作

イ 研究開発実施上の問題点及び今後の研究開発の方向

(ア) 実施するにあたって

昨年度の反省から、本年度は次の変更を加えた。

「細胞融合」の実習では、原形質分離との比較をすることによって、細胞壁の消失を確認する。

「カルスの形成誘導」では、細胞の分化・未分化を確認することを目的として、ホルモン相互の比較は省略した。

本校の実習機の配置では生徒が注意深く行動しても、教室内の気流は乱れるため、バーナーの周囲を覆い気流を安定させるよう配慮したこと。

これらの改良点は、十分な効果をもたらした。

(イ) 大学や研究機関との連携について

昨年に続き本年度もまた名古屋大学の松林助教授の指導を受けることができた。

引き続き松林助教授に指導をうけることにより、本校の意図をよく把握され的確な指導を受けることができた。メールのやりとりで疑問や問題点に対して即座に指導いただいたことは、準備を進める上でも大きな効果があった。

(ウ) 実施後のフィードバックについて

生徒のレポートから、今回の特別研究で生まれた疑問やさらなる興味を見出すことができた。今回得られた経験を自ら深化させ、発展させるような指導を授業の中でも実践していきたい。また、大学側に生徒や教員の感想をフィードバックすることで大学側と協力体制をとり、今後の対策をいろいろな側面から模索していきたい。