

# データ処理に ICT を利用し実験考察を充実させる

岐阜高等学校 棚橋 誉久

## 1 研究のねらい

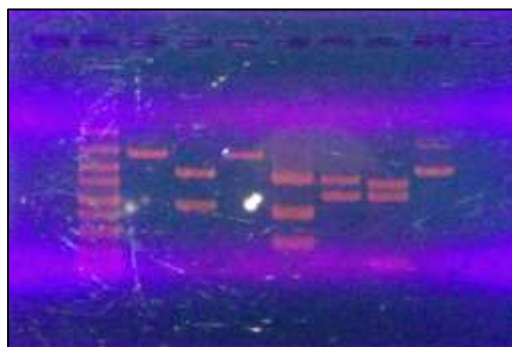
生の実験が良いことは言うまでもない。一方で生物の実験は個体差が大きく、各々が行った実験データが絶対的ではない。行った実験を共有することで全体像を把握することは実験のまとめに有効である。クラス全体でデータを見ることで一定の傾向を把握することができる。また、入力したデータをエクセルでグラフ化されるのも有効であると考えられる。

## 2 実践した内容

実験データをエクセルファイルで処理を行い、グラフ化する。

## 3 実践中および実践後の生徒の変容

マイクロピペットの練習、DNA と制限酵素の反応 (30 分)、電気泳動 (30 分) の「開始」までを 1 回の授業 (60 分授業) で計画していたが、例年は普通の授業でマイクロピペットの練習を済ませていた結果であり、実験でマイクロピペットの練習に時間がかかり電気泳動を開始するところまで追いつかなかった。生徒はマイクロピペットなど DNA の実験に非常に意欲的で、是非自分たちで続きがやりたいと言い、2 回目の授業で電気泳動 (30 分)、ゲルの染色 (30 分) を行い、放課後に泳動結果をチェックした。3 回目の授業でようやく結果のまとめとグラフ化を行うことができた。非常に時間がかかったが、生徒たちは実験に非常に意欲的に取り組んでいた。ICT を活用する場面では、あまり使い慣れていないエクセルに悪戦苦闘しながらであったため、とても時間がかかったが実験結果から検量線が出てくることに感動していた。最後の考察で、実験に用いた DNA の制限酵素地図を作成するのも悪戦苦闘をしていた。時間はかかったが、やっている内容がよく理解できた結果に生徒たちは満足していた。



### 生徒の感想

- ・ウェルに漏らさないように入れるのが難しかった。綺麗な泳動写真が取れて嬉しかったし、よく分からなかった酵素実験の仕組みや一つ一つの手順の理解が深まった。制限酵素地図を描くのはパズルみたいでもどかしかったが、理解はできたので良かった。
- ・解答と見比べると少し違うが、同じ班で見せ合うと同じ形だったのでデータの読み取りとしては間違いではなかったのかなと思った。今後も正しい実験が出来るように器具を正しく扱い、量を守り、細心の注意を払って実験を行いたい。
- ・実験を通して理解がかなり深まった。結果の処理から制限酵素の形を考えるのは難しかったけど、推定できるのはとても面白いと思った。
- ・バンドが重なっていたり、うまくバンドが表れなかったりしたので、複数回行うことの重要性を感じました。制限酵素の種類の高さに驚きました。
- ・実験の誤差修正がとても大変だった。実験道具を手に取り、手順の意味を考えながら行ったので電気泳動や制限酵素に対する理解が深まった。形態によって泳動結果にも差がでること

が興味深かった。

- ・ $\mu\text{L}$  単位の実験はとても少量で、失敗した部分もあり DNA の実験は難しいと感じた。
- ・実験分析の途中段階では何を求めているのかや、どうすれば良いのか分からなくなってしまうので、実験前に基礎的なことを理解して自分で予想することが大切だと感じた。
- ・教科書で習ったことを実際に実験することができ、より実験の難しさが分かりました。繊細な作業でも正確な値に近づけるようにこれからも集中して実験に臨みたい。また、どうして DNA のバンドに濃淡があるかを調べたところ、DNA 量に比例していることが分かりました。

#### 4 研究のまとめ

目に見えない現象を学ぶため、学んでいることが実感できない。制限酵素地図の作成や光る大腸菌をつくる実験は非常に失敗が少なく、期待される結果が出やすいので非常に有効である。バイオテクノロジーは身近に利用されており、実際に実験で確かめることができることは学習の理解を進めるうえで非常に有効である。実際には mRNA から cDNA を合成することや、配列の解析や制限酵素の見極めなど細かい内容が模試等で質問されることも多く、DNA の実験を 1 つは経験させておきたい。

実験を行う上で、ほとんどの生徒が持つスマホを検鏡に活用する方法は随分身近になった。また、インターネット上で様々な動画が溢れており、ICT は身近な存在になっていると感じる。一方で、タブレットは全員が支給されているが文書作成ソフトでの文字を打つことやスプレッドシートでのデータ処理の機会があまり無く、実験データを共有することやエクセルシートでグラフを作成することを実験結果の処理に入れた。今後、探究活動などでも活用していくきっかけとなるものとする。

#### 5 実践した授業の単元計画と学習指導案

##### ① 単元の指導と評価の計画

時	主な学習活動など	重点	記録	評価規準・評価方法
1 ～ 5	第3章 遺伝現象と物質 第1節 遺伝情報とその発現	知思	○	評価規準：知識・技能（記録分析） ・授業プリントの記載状況
6 ～ 7	第2節 遺伝子の発現調節	知思	○	評価規準：知識・技能（記録分析） ・授業プリントの記載状況
8 ～ 9	第3節 バイオテクノロジー	知思	○	評価規準：思考・判断・表現（行動観察） ・PCR法でDNA断片が増える仕組みを考え、隣人に説明することができる
10 ～ 11	実験 DNA切断と電気泳動による制限酵素地図の作成	知思態	○	評価規準：主体的に学習に取り組む態度（記述分析） ・ピペットマンなどを正しく使って実験を行い、電気泳動結果から制限酵素地図を描くことができる
(12 ～ 13)	実験 光る大腸菌の作成 ※次年度に実施	知思態	○ ○	評価規準：知識・技能（記録分析） ・授業プリントの記載状況 評価規準：主体的に学習に取り組む態度（記述分析） ・ブルーホワイトセレクションのしくみと抗生物質の働きを考えながら実験を行える

②実験プリント

【実験】 DNAの切断と電気泳動～制限酵素地図の作成～

○目的

- DNAを制限酵素で切断し、電気泳動によりDNA断片の塩基対数を求める。
- 1.の結果より、用いたDNAの制限酵素地図（各制限酵素部位を記したDNA図）を作成する。

○準備

1. 各班

- マイクロピペット (F20) 1本
- マイクロピペット用チップ
- マイクロチューブ立て
- 「練習」用の溶液 (青色)
- 「練習」用のマイクロチューブ
- 1%アガロースゲル (大1・小1)
- 電気泳動装置 (泳動用緩衝液 300mL入り) 1台
- ビーカー (チップ捨て用)
- DNAサンプル①～⑥
- M1, M2 (DNAマーカー)
- ゲル染色液 (Gel Red+緩衝液)

2. 全体

- UVトランスイルミネレーター
- サーマルサイクラー
- 10×Loading Buffer

○事前の準備 ※作業4の後に説明

- 1%アガロースゲル (大1・小1) の作成 → 図表 p323
- (1) アガロース 0.4g に TAE 緩衝液 40mL を加え、電子レンジで煮沸させて溶かす。60℃に冷ました。
- (2) ゲル成形トレイに (大1・小1) に流し入れ、コームをさす。室温で放置して、ゲルを固めた。

(参考) 制限酵素によって切断される塩基配列

EcoRI	G <sup>↓</sup> AATTC	ScaI	AGT <sup>↓</sup> ACT	BspI	GCCN NNN <sup>↓</sup> NGGC
	↑CTTAA <sup>+</sup> G		↑TCA <sup>+</sup> TGA		↑CGGN <sup>+</sup> NNN NCCG

○今日の流れ (ニューステージ生物図表 p322 参照)

作業1	マイクロピペットの練習 色水で1st ストップ、2nd ストップを体験 練習用ゲルにアプライする (一人2回)	作業7	電気泳動 100Vで30分
作業2	酵素液にDNA液を加える	作業8	DNAの染色 GelRed+TAE 緩衝液で30分染色
作業3	タッピングする	作業9	ゲルをUV照射で可視化 複写禁止、写真撮影して次回解析
作業4	30分間 37℃で酵素反応させる サーマルサイクラーで行う		
作業5	10×Loading Buffer 2μLを加える 酵素反応が停止する		
作業6	本番用ゲルにアプライする ①～⑥は各 10μL, DNA マーカーは 5μL		

制限酵素液の内容

①	1 班分 (μL)	
酵素液	10×H buffer	2
	EcoRI	1
	滅菌水	16
DNA液	DNA	0.25
	滅菌水	0.75
合計		20

②	1 班分 (μL)	
酵素液	10×H buffer	2
	EcoRI	1
	ScaI	1
	滅菌水	15
DNA液	DNA	0.25
	滅菌水	0.75
合計		20

③	1 班分 (μL)	
酵素液	10×H buffer	2
	ScaI	1
	滅菌水	16
DNA液	DNA	0.25
	滅菌水	0.75
合計		20

④	1 班分 (μL)	
酵素液	10×Bcl1 buffer	2
	ScaI	1
	Bcl1	1
	滅菌水	14
DNA液	DNA	0.25
	滅菌水	1.5
合計		20

⑤	1 班分 (μL)	
酵素液	10×Bcl1 buffer	2
	Bcl1	1
	滅菌水	16
DNA液	DNA	0.25
	滅菌水	0.75
合計		20

⑥	1 班分 (μL)	
酵素液	10×Bcl1 buffer	2
	Bcl1	1
	EcoRI	1
	滅菌水	14
DNA液	DNA	0.25
	滅菌水	1.5
合計		20

予め電気泳動装置に設置されたゲル (大) のウェルに、右側の順で各反応液をアプライする。(一人2サンプルずつ)



TAE 緩衝液は、トリス (Tris) と酢酸 (Acetate)、エチレンジアミンの酢酸 (EDTA) からなる緩衝液で、アガロースゲル電気泳動で核酸を分離するのに用いられる。  
アガロースは塩基から得られるポリサッカライド (多糖類)。アガロースをバッファーに溶かして作成するアガロースゲルは比較的大きな孔をもつ網目構造になっており、その孔より小さな分子は網目にくっついて移動することができず、DNA を構成するヌクレオチドは帯電したリン酸基をもつため負の電荷を帯びており、アガロースゲルの片側に DNA を注入して電流を流すと、DNA は陰極に引き寄せられて移動する。このときアガロースゲルの網目が DNA の移動を阻害するため、同じ電流をかけてもサイズが小さいものは早く、大きいものは遅く泳動する。この性質を利用して、DNA を分子の大きさに分離する操作が電気泳動である。アガロース電気泳動ではサイズが 5~20 kbp 程度の DNA を分離するのに適している。

○結果の分析

1. 電気泳動の結果 (貼付)

3. DNA サンプル①～⑥について、各断片 (バンド) の長さを求める。

- 各制限酵素で処理したDNA断片のウェルからの移動距離 (mm) を測定し、下表に記入 (各機を左)。
- 検量曲線から各DNA断片の長さ (塩基対数) を求め、下表 (各機の右) に記入する。

①EcoRI	②E/S	③ScaI	④S/B	⑤Bcl1	⑥B/E	⑦無処理
mm : kbp	mm : kbp	mm : kbp	mm : kbp	mm : kbp	mm : kbp	mm : kbp

2. 検量曲線の作成

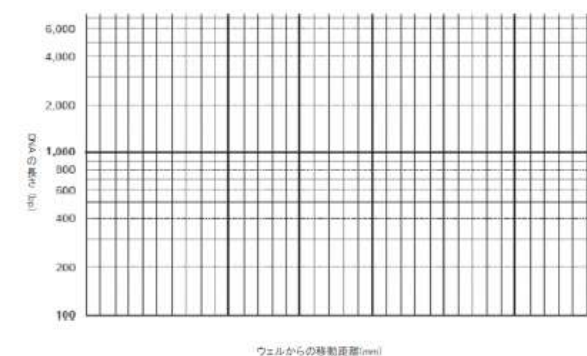
- M1 (DNAサイズマーカー) の各バンドについてウェルからの移動距離を測り下表に記入する。

移動距離 (mm)									
塩基対数 (bp)	5000	3000	2000	1500	1000	750	500	250	100

(参考) M2 (DNAサイズマーカー) のサイズは以下のとおり。こちらは参考まで

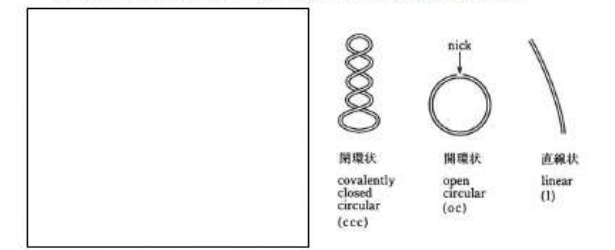
塩基対数 (bp)	2000	1000	750	500	250	100
-----------	------	------	-----	-----	-----	-----

- (1) より、検量曲線 (片対数グラフ) を描く。



4. 制限酵素地図の作成

- 切断に用いたDNAの制限酵素地図を描く。各制限酵素の切断部位間の長さ (塩基対数) も書く。
- ヒント1. 各制限酵素の切断部位は少なくとも1か所はある。
- ヒント2. DNAには直線状 (リニア) だけでなく環状 (サークル) もある。
- ヒント3. DNAの電気泳動の速度は長さだけでなく、形によっても変わる。プラスミドDNAには右下の3つの状態が存在するが、開環状が最も早く泳動され、次いで直線状、開環状と続く。



感想等

実施日 / / ( ) 気温 天気

### ③今回のポイント

検量曲線を従来は、データをグラフにプロットしてグラフを描いていた。これとは逆にデータを入力してグラフを先に見て、そのグラフの意味を考察させてみた。校内NASにエクセルシートを準備し、生徒はコピーして使用する。電気泳動の結果を定規で測定し、空欄に泳動距離を入れるだけで検量曲線が自動的に出るようにした。さらに、検量曲線から、制限酵素反応のあったバンドの距離を定規で測定して遺伝子断片のサイズ(bp)も自動的に出るように工夫をした。

グラフを間違えて描くことが無く、生徒同士の話し合いの時間をもてたと感じた。実験の理解が不十分な生徒にも考えさせる時間をもたせることができ、一定の効果があつたと考えられる。

コロナ禍でPCRやmRNAなど生物の学習内容がますます身近になった。DNAの実験は非常に時間とお金がかかるが、生物選択者にはDNAに関係する実験を実施させたい。

①検量線を引こう!  
5000bpDNAマーカーの距離を入力する

bp	mm
100	
250	
500	
750	
1000	
1500	
2000	
3000	
5000	

参考  
グラフの種類: 散点図  
対数グラフ  
近似曲線  
を利用しています。

②図の検量線の数式を黄色枠に入れる

$y = 35362 e^{-0.115 x}$

③制限酵素反応のあったバンドの距離を入力する

No.	距離mm	bp
①		
②		
③		
④		
⑤		
⑥		
⑦		
⑧		

④断片の長さを上表より確認する

⑤断片の長さより制限酵素地図を作成する

### ④生徒の感想 (一部)

- ・解答と見比べると少し違うが、同じ班で見せ合うと同じ形だったのでデータの読み取りとしては間違いではなかったのかなと思った。今後も正しい実験が出来るように器具を正しく扱い、量を守り、細心の注意を払って実験を行いたい。
- ・UV照射したときにとってもきれいな結果が取れてよかった。制限酵素地図の作製はパズルと解いているみたいで楽しかった。
- ・マイクロピペットを初めて使ったけど、とても少ない量の液体を測って取ることができて便利だと思った。ウェルに液を入れるのも難しかったけど楽しかった。グラフ・考察・制限酵素地図の作製は難しかったけど、自分なりに考えてできたので良かった。
- ・実験を通して理解がかなり深まった。結果の処理から制限酵素の形を考えるのは難しかったけど、推定できるのはとても面白いと思った。
- ・電気泳動を行うことによって、どんな酵素がどこで切断を起こすのかが分かり、DNA鑑定に利用されることが分かった。
- ・バンドもしっかりと出ておおむね正しい結果が表れていたため、教科書の話がとても身近ですごい技術なんだと感じられた。操作は簡単だったがマイクロに触れられて楽しかった。
- ・テストで分からなかったプラスミドや制限酵素のしくみや考え方を理解できた。
- ・実験の誤差修正がとても大変だった。実験道具を手に取り、手順の意味を考えながら行ったので電気泳動や制限酵素に対する理解が深まった。形態によって泳動結果にも差がでることが興味深かった。
- ・uL単位の実験はとても少量で、失敗した部分もありDNAの実験は難しいと感じた。
- ・教科書で習ったことを実際に実験することができ、より実験の難しさが分かりました。繊細な作業でも正確な値に近づけるようにこれからも集中して実験に臨みたい。また、どうしてDNAのバンドに濃淡があるかを調べたところ、DNA量に比例していることが分かりました。