

トップガンジャーナル

Journal of TopGun



令和6年2月8日 第92号

トップガン教員理科自主研修会

第15回トップガン 理科自主研修会を、令和5年8月10日（木）に行いました。午前中は、これまで数多くの課外講座やイベント等でサイエンスショーを実演されてこられた木村元彦先生による「サイエンスショーから科学の楽しさや仕組みを学ぶ」を、静岡大学浜松キャンパス佐鳴会館で行い、中学校、高等学校の教員計26名が参加しました。午後は、例年化学・生物学関係の実技研修を開催いただいております大橋和義先生による「大腸菌からのプラスミドDNA (plasmid) の単離」を、同キャンパス8号館1階生物実験室で行い、中学校、高等学校の教員計14名が参加しました。

今回の参加校

(午前) 浜松市立引佐南部中学校/浜松市立北浜中学校/浜松市立富塚中学校/磐田市立福田中学校/静岡大学教育学部附属浜松中学校/浜松市立高校/静岡県立浜名高校/静岡県立浜松北高校/静岡県立浜松湖北高校/静岡県立浜松西高校/静岡県立磐田北高校/静岡県立磐田南高校/聖隷クリストファー中・高校/浜松学院中学校・高校/浜松学芸中学校・高校

(午後) 浜松市立引佐南部中学校/浜松市立北浜中学校/静岡県立浜名高校/静岡県立浜松北高校/静岡県立浜松湖北高校/静岡県立浜松西高校/静岡県立磐田北高校/聖隷クリストファー中・高校/浜松学芸中学校・高校

「サイエンスショーから科学の楽しさや仕組みを学ぶ」 木村元彦先生

< 講座概要 >

不思議さ、神秘さ、美しさ等、魅力あふれる自然現象を素材にしたサイエンスショーとその原理について、実演を交えてご解説いただきました。利用する自然現象の一部には熱電変換等、高度な内容も含んでいましたが、小・中高校の理科との繋がりについてもヒントをいただきながら実演していただき、学校での実践という点でも大変参考になりました。

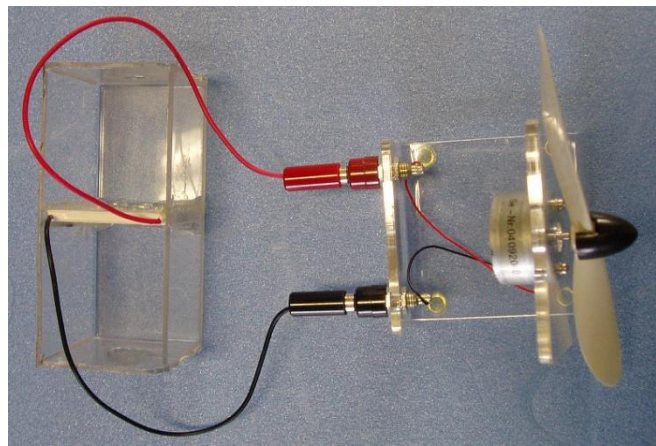
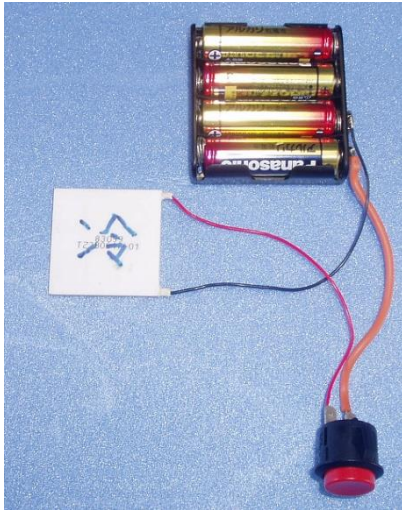
<研修内容>

実験1 電子冷却・熱電発電

(概要) ペルチエユニットに直流電流を流すと温度差が発生します。逆に、ペルチエユニットに温度差を与えると発電します。お湯と水とで発電し、モーターを回転させます。

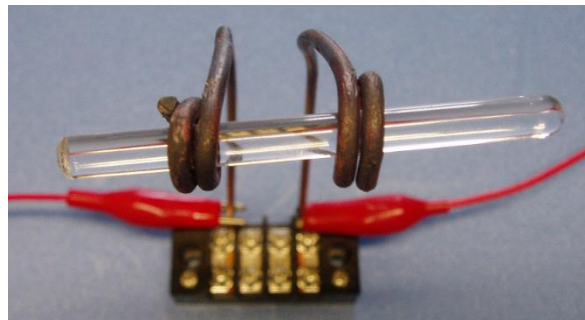
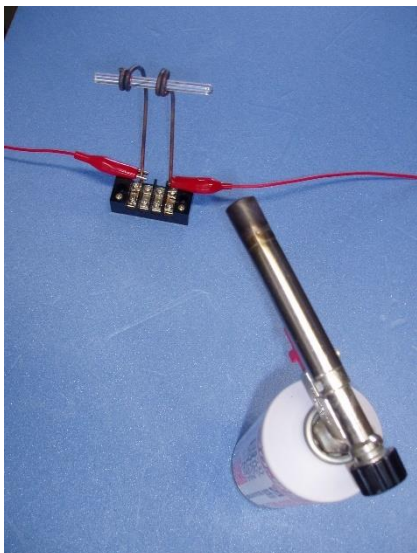
(方法)

- 市販のペルチエユニット（アマゾン等で販売）を使用します。乾電池 6V 程度を 3 秒間程度通電させると、ペルチエユニットの一方が冷え、反対側が温まる様子を参加者に体験してもらいます。
- 四角容器の中央をペルチエユニットで仕切ることができるような容器を製作します。太陽電池や燃料電池で回転させる教材用の小型直流モーターをペルチエユニットに接続し、ペルチエユニットの片面に熱水（90℃程度）を入れ、他方に冷水を入れると、ゼーベック効果によって発電し、モーターが回転します。



実験2 溶融ガラスで通電

(概要) ソーダ石灰ガラスを熱して溶融すると電気を通すことができます。ソーダ石灰ガラスには、酸化ナトリウムや酸化カルシウムが含まれており、溶融することでこれらの一部がイオン化して電気を通すことができます。石英ガラスではこの実験はできません。



(方法)

- 電子工作の端子部品などを使用して、写真のような装置を製作します。
- ソーダ石灰ガラスを 5cm 程度の長さに切断し、端子部品に取り付けた銅線（直径 2mm 程度）で作った輪の中に通して空中で 2 点支持をします。
- 2 本の銅線がスイッチとなるように 100V の電球が点灯する回路を製作し、コンセントから 100V を供給します。
- プロパンガスバーナーでガラスを溶融させると電球が点灯します。
- ソーダ石灰ガラスは、バーナーで容易に溶融できるものがが必要です。ガラス細工用の物が使用できる可能性が大きいです。市販の多くのものは不適です。

実験3 ブタンガスのバブル燃焼

(概要) 洗剤溶液でブタンガスの泡を作り、これを手の平の上で燃焼させてもほとんど熱を感じません。これは、手の皮膚の上にある水が断熱しているためです。水の入ったフーセンを火であぶっても破れない原理と類似しています。

(方法)

- ダイソーで販売している「あわどん」の白い布面を水で十分に濡らします。食器洗い用洗剤 1mL 程度（適当で可）を「あわどん」の布面に塗ります。
- 写真のように、市販のカセットコンロ用ブタンガスに、殺虫剤などのノズル部分を取りつけ、ノズル先端部分が「あわどん」の吹込み口のサイズに合うようにビニールテープで直径を一致させて、はめ込みます。
- バケツに入れた水の中に一度手を入れて、手全体を濡らします。ブタンガスボンベからガスを出し、「あわどん」から出た泡を塗れた方の手ですくい取ります。すくい取った泡にチャッカマンで火を付けます。このとき、衣服への引火を防ぐために、長袖の場合には腕まくりをしておくことが必要です。また、腕をあまり下げずに着火してください。この実験は教員のみが実施するようにしてください。最初は少量の泡で試してください。



【注意】

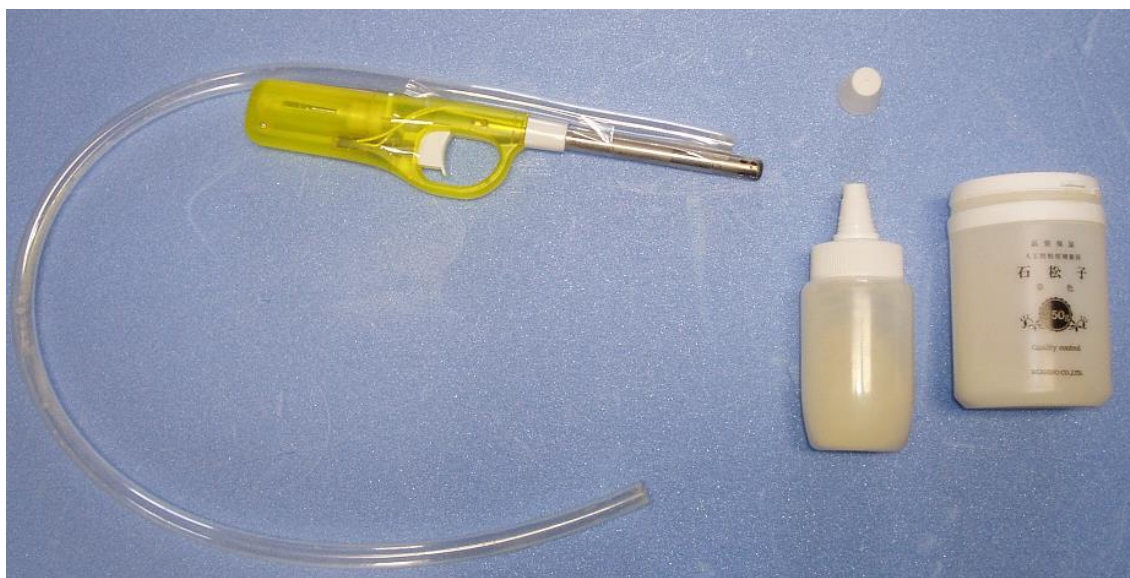
衣服に引火する危険があります。
教員のみが実施してください。
最初は少量の泡で試してください。

実験4 石松子の燃焼

(概要) 粉塵爆発の実験材料として、石松子（ヒカゲノカズラの孢子）を使用すると、簡単に実験ができます。石松子は園芸用品（花粉増量剤）として市販されています。

(方法)

- アマゾンあるいは園芸用品店で「石松子」（ヒカゲノカズラというシダの孢子）を購入します。「石松子」を写真のようなノズルの付いた容器に入れます。
- 写真のように、チャッカマンに透明ビニールチューブをセロテープで固定します。このとき、炎の方向にチューブが来る方向とします。
- 最初に、シャーレ等に入れた「石松子」にチャッカマンで火をつけようとしても火が付かないことを演示します。
- 次に、チューブのチャッカマンの側から「石松子を 5mL 程度（適当で可）入れ、チューブ他端を口にくわえて「軽く」吹きます。このとき、強く吹くとチャッカマンの火が消えて失敗します。



実験5 音階で共鳴 (略)

実験6 ヨウ素時計反応

(概要) 亜硫酸水素ナトリウム水溶液とヨウ素酸カリウム水溶液を混合することでヨウ素を生成させます。この反応は 2 段階反応で、1 段目の反応が遅いため、亜硫酸水素ナトリウムが消失した途端に瞬間的にヨウ素が生成します。これをデンプンで見えるようにした実験です。

(方法)

A液：ヨウ素酸カリウム+デンプン

B液：亜硫酸水素ナトリウム

この2つを混ぜると以下の反応がおこります。



A 液：ヨウ素酸カリウム(KIO_3) 4.3g を水に溶かして 1L とする

B 液：亜硫酸水素ナトリウム水溶液

(1)水 100mL に可溶性デンプン 4g を加えて加熱しながら攪拌して、でんぷんが完全に溶けた後に室温まで放冷する。(3 回沸騰させます。)

(2)別の容器に亜硫酸水素ナトリウム(NaHSO_3) 5.2g を水 500ml に溶解する

(1)と(2)を混合し、さらに水を加え 1L となるようにする。

それぞれの溶液を希釈することで、変色するまでの時間を長くすることができます。

実験7 ブリックス・ラウシャー反応 (略)

実験8 Pink bottle レサズリン

(概要) レサズリン水溶液に還元剤としてマロン酸を加えた溶液をペットボトルに入れて振ると空気中の酸素で酸化されてピンク色になります。1 分程度で還元されて無色となります。

(方法)

500mL 炭酸用ペットボトルに、以下をいれて溶解 (250mL 程度) する。

グルコース 5g 程度

NaOH 3g 程度 ←還元速度は NaOH の量で決まる

試薬 薄め・・・濃いとき水面に色が残る

レサズリンは最初に別途希釈した溶液を作成しておき、希釈したものを滴下して使用する。

溶液作成後、10 分間程度待つ必要あり。水道水中の酸素が消費されるまで待つ

溶液作成後、数時間で変色して使用できなくなります。

ペットボトルは NaOH 水溶液で加水分解するので、炭酸用ペットボトルを使用し、短時間のみの使用とする必要があります。

実験9 Blue bottle メチレンブルー

(概要) メチレンブルー水溶液に還元剤としてマロン酸を加えた溶液をペットボトルに入れて振ると空気中の酸素で酸化されて青色になります。1 分程度で還元されて無色となります。

(方法)

500mL 炭酸用ペットボトルに、以下をいれて溶解 (250mL 程度) する。

グルコース 5g 程度

NaOH 3g 程度 ←還元速度は NaOH の量で決まる

試薬 薄め・・・濃いとき水面に色が残る

メチレンブルーは、極めて少量の粉末を入れるのみで十分

溶液作成後、10 分間程度待つ必要あり。水道水中の酸素が消費されるまで待つ

溶液作成後、数時間で変色して使用できなくなります。

ペットボトルは NaOH 水溶液で加水分解するので、炭酸用ペットボトルを使用し、短時間のみの使用とする必要があります。

実験10 traffic reaction インジゴカルミン

(概要) インジゴカルミン水溶液に還元剤としてマロン酸を加えた溶液をペットボトルに入れて振ると空気中の酸素で酸化されて黄色→赤→緑と2段階に変色します。1分程度で還元されて最初の黄色となります。

(方法)

500mL 炭酸用ペットボトルに、以下をいれて溶解(250mL程度)する。

グルコース 5g程度

NaOH 5g ←この量が必要

試薬(0.18%) 20ml・・・溶解直後に緑色になるようにする

溶解直後は緑色になり、2分間程度で赤から黄色になる

20分間程度で色素が変質して色が薄くなる。色素を追加すると戻る。

溶液作成後、1時間程度しか使用できません。

ペットボトルはNaOH水溶液で加水分解するので、炭酸用ペットボトルを使用し、短時間でのみの使用とする必要があります。

実験11 ロウソクの水蒸気爆発

(概要) 沸騰したロウソクを水に入れると水蒸気爆発を起こして発火します。

(方法)

- ・試験管に5cm程度のロウソク3本程度を入れ、プロパンバーナーで溶解させます。
- ・ロウソクが溶解したら、ロウソクの芯を取り出します。
- ・再度加熱し、十分に沸騰させます。このとき、引火しないよう、下部を熱めます。
- ・バーナーの火を消してからバケツの中の水に緩やかにロウを短時間で投入します。
- ・安全メガネと軍手は必須です。
- ・ロウの融点は60℃程度です。ロウの沸点は300℃程度です。ロウの自然発火点は250℃程度です。水蒸気爆発によって飛散したロウの液体が自然発火点を超えているので発火します。沸騰の程度が弱いと発火しません。

実験12 Gough-Joule 効果(参加者全員で実施)

(概要) 伸ばしたゴムを瞬間的に元の長さに戻すと、ゴムの温度が低下します。これはエントロピーが増加することで吸熱して温度が低下する現象です。エントロピー弾性と呼ばれます。

(方法)

- ・フーセンを鼻と口の間(以下、皮膚)に当てて、空気温度とフーセンの温度が同じであることを確かめます。
- ・フーセンを強く(30cm程度)伸ばしてその温度を皮膚で感じます。
- ・フーセンを強く伸ばした状態で10秒程度待ち、室温と同程度の温度にします。
- ・フーセンを元の長さに急に返し、その温度を皮膚で感じます。

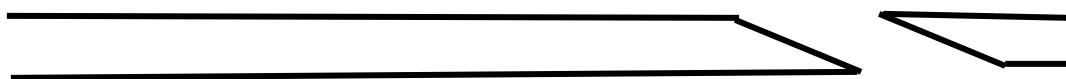
実験13 喋る笛

(概要) ゴムフーセンを取り付けたストロー笛を口の中で音を出しながら「あいうえお」の口の形をつくと「あいうえお」と発声できます。声帯とフォルマントを理解できる実験です。

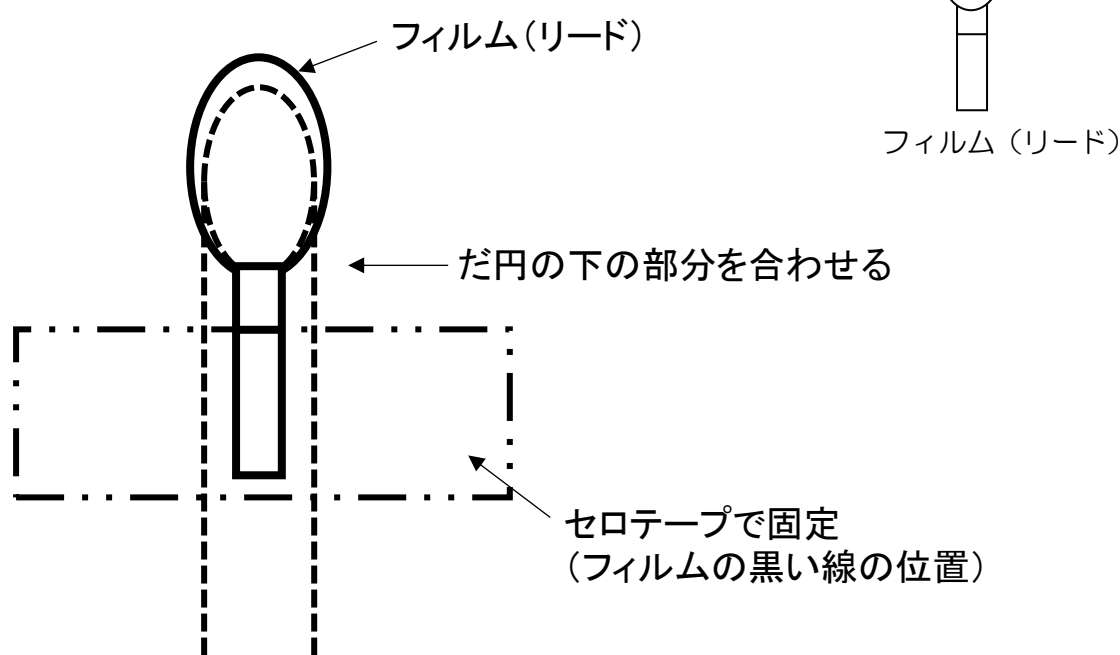
(方法)

- 吸うことで音が鳴るストロー笛を製作します。
- ストロー笛の音の鳴る部分をフーセンの中に入れ、フーセンを膨らませると音が鳴ることを確認します。
- 音を鳴らした状態で、ストローの吹き口を口の中に入れ、口の形を「あいうえお」にすると発声できます。

ストロー（曲がない方）の先をハサミで斜めに切る。



ストローにフィルム（リード）をセロテープで付ける。



実験14 エコーマシン（参加者全員で実施）

(概要) 紙コップ2個と切断した金属製アームバンド1個でエコーマシンができます。簡単な工作で楽しいおもちゃができます。

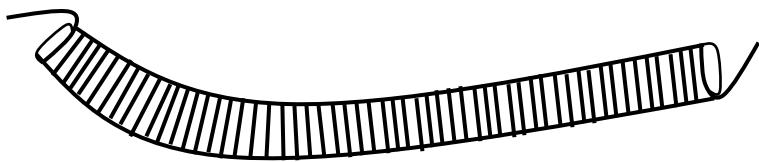
(方法) 次ページ

エコーマシンの作り方

その1

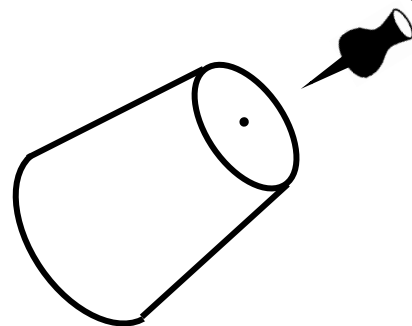


アームバンドの1か所を2cm程度伸ばす。
伸ばした部分の中央をペンチで切ってバネを作る。



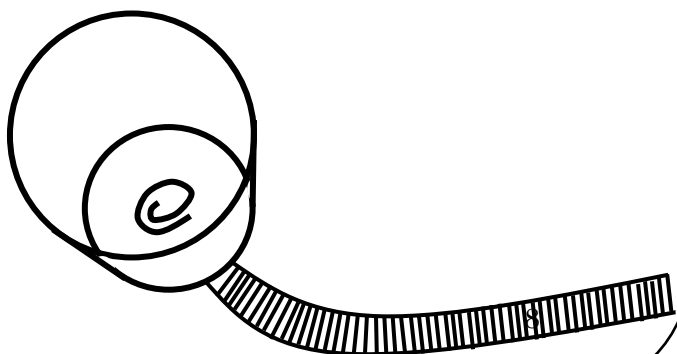
その2

- ・紙コップの底の真ん中に、がびょうで穴を開けます。
- ・紙コップ2つとも穴を開けます。



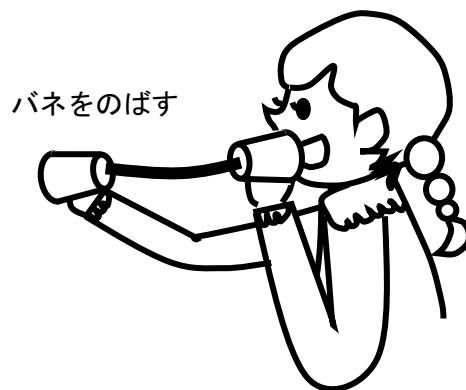
その3

- ・バネの曲げた部分を紙コップの穴に入れます。
- ・バネを回して2周分のバネを紙コップの中に入れます。
- ・もう一つの紙コップにもバネを入れます。



その4

バネを少し伸ばして、紙コップに向かって声を出すと、エコーになります。



<参加者の感想（抜粋）>

大きな変化があることは、生徒の興味を引き易いのだろうということが、改めて自分が生徒の視点から見ることで、気付けることができました。また、実験の内容はもちろんのこと、その内容を伝えるための流れであったり、その内容を上手に伝える語り口であったりの技術も、とても大切なのだということを、今回木村先生から学ぶことができました。今日はありがとうございました。（磐田南高校 鳥井久行先生）

40年以上の経験があるにもかかわらず、新たな驚きや発見があった有意義な時間でした。2学期に1年生の化学基礎で「酸化還元」を扱います。その導入として本日の実験6～10のうちのいくつかを実施したいと思います。また、「高分子化合物・ゴム」では、輪ゴムを数十本束ねて、エントロピー変化と熱の吸収・放出をやっていました。生徒一人に数十本も配布することなく、ゴム風船で代用できるのは、正に目から鱗です。（磐田北高校 岡部和之先生）

ドレミの音階ビンの実験はとてもおもしろかったです。物理基礎の音の分野で、生徒の興味をひくことができるおもしろい実験だと思いました。エコーがかかる糸電話も、なぜエコーがかかるのかを考えさせる授業が展開できると思いました。とてもわくわくすることができる実験が多く、ためになりました。その他の実験も資料を参考にして、行ってみたいと思いました。（浜松学院高校 小杉一志先生）

今回、木村先生の研修会で、科学の楽しさを再確認できました。スピーディーでマジックのような、あっという間の研修会でした。仮説と実験、検証の繰り返しの大切さ、再現性について、実験の基本姿勢を学ぶ機会となりました。実験の原理、入手方法、工夫なども、惜しみなく教えてくださり、大変ありがたく思います。中高の科学部で部員と共に楽しみたいと考えています。本当にありがとうございました。（聖隷クリストファー中・高等学校 西岡愛香先生）

どの実験も子どもの心をつかむものだと思います。先生の事前の準備や自作の道具があつてこそのもも多くあつたので、そういった研究が理科の原点なのだと感じました。中学校では授業時間に余裕がなく、教科書に載っている実験をやることで精一杯になりがちです。教師の演示を増やしたり、できるものは生徒に行わせるなどして、より深く学ぶ機会を増やしていきたいと思いました。（富塚中学校 大野みぎわ先生）

「大腸菌からのプラスミド DNA (plasmid) の単離」 大橋和義先生

< 講座概要 >

プラスミド DNA を増幅させた大腸菌 (pKK223) にアルカリ-SDS 液を加えることにより、プラスミド DNA の単離を試みました。また、得られたプラスミド DNA を制限酵素によって切断し、アガロースゲル上での電気泳動の様子を確認しました。本実験は、静岡大学工学部化学バイオ工学科の 2 年生が学生実験として行っている、本物の大学の実験です。

< 研修内容 >

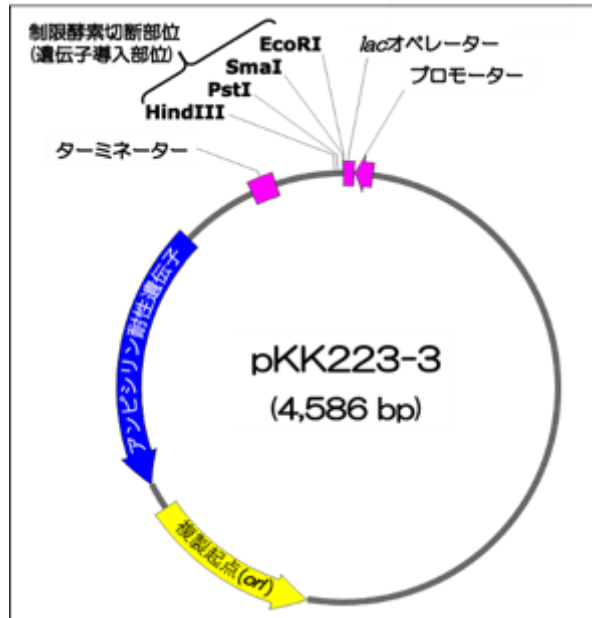
【目的】

本実験では大腸菌からプラスミドを単離する。通常、遺伝子工学ではプラスミドに目的の遺伝子断片を挿入し、遺伝子を増幅させたり、その遺伝子の産物であるタンパク質を生産させたりするが、今回はプラスミドのみを増幅させた大腸菌からの単離を試みる得られたプラスミドは制限酵素によって切断し、アガロース電気泳動で確かめる。

【参考事項】

1. プラスミド

細菌にはゲノム DNA 以外に自律複製する環状の DNA を含まれることがある。この環状 DNA をプラスミド (plasmid) という。プラスミドには他の細菌を殺す物質をコードする遺伝子、抗生物質耐性遺伝子 (R 因子)、細菌の性に関わる遺伝子 (F 因子)、特定の炭素化合物を資化する際に必要な遺伝子などが含まれており、細菌にとって有用なものであれば、複製・保持される。ゲノム DNA とは異なり、複数のコピーが 1 つの細胞内に存在する。このプラスミドを利用し、遺伝子を導入させる制限酵素消化部位の導入、コピー数の増加など人為的に使いやすいように改変し、目的遺伝子の増幅を可能にしたものをベクター (vector) と言う。本実験では遺伝子工学でよく用いられている pKK223-3 というベクターを使う (右図)。ベクターには通常、複製起点 (*ori*)、抗生物質耐性遺伝子、制限酵素切断部位などを含む。



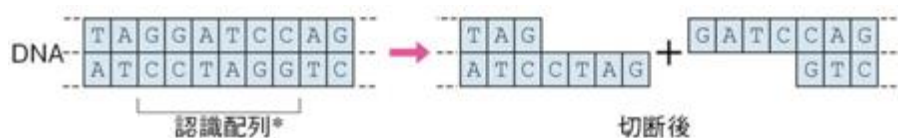
pKK223-3 ベクターのマップ

どのような遺伝子が乗っているか、どのような制限酵素で切断できるかを図で表したものをベクターの地図 (マップ) という。

転換（transformation）すると言う。ベクターで形質転換した大腸菌を抗生物質が入った培地で培養することにより、大腸菌は抗生物質耐性を示し、ベクターも増幅する。ベクターに目的の遺伝子を連結させると、その遺伝子を増幅することができるし、適当なプロモーターの下流に連結すると、その遺伝子産物であるタンパク質を生産させることができる。

2. 制限酵素と遺伝子工学

制限酵素（restriction enzyme）とは DNA の特定の配列を認識して切断する酵素である。1968年 スイスのヴェルナー・アーバーやアメリカのハミルトン・スミスによって、ファージの増殖を「制限」する酵素として発見され、以来、DNA を自由に操る「遺伝子工学（genetic engineering）」という技術として現在まで様々な手法が開発されてきた。生物学的には生物を自由に行うことができる合成生物学（synthetic biology）の幕開け、とも言われた。制限酵素は 4~8 塩基対の様々な配列を認識する。例に取ると *Bam* HI という制限酵素は下図のように GGATCC という配列を認識し、図のように切断する（この配列があると切断する）。



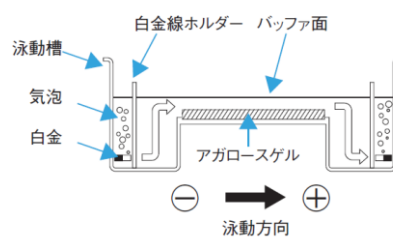
制限酵素 BamHI の切断

田村隆明（2008）『コア講義 生物学』裳華房 p.177

制限酵素の名前は、その制限酵素を有する細菌由来となっている。BamHI は *Bacillus amyloliquefaciens* H 株から取られた 1 番目の制限酵素という意味である。同じ制限酵素で切断された断片同士は連結酵素（DNA リガーゼ、DNA ligase）で結合させることができる。この制限酵素と連結酵素を駆使して、ベクターに目的の遺伝子を導入できるわけである。

3. アガロース電気泳動

DNA やタンパク質などの生体高分子をあるゲルを用いて電氣的に分離することを電気泳動（electrophoresis）と言う。DNA やタンパク質は全体的に負に帯電しているため、適当なゲル中で-から+の方に流れる。ゲルマトリックスを通り抜けやすさと負の帯電の割合によって、物質の移動度が決まる。DNA 分子の負の帯電は一樣（ヌクレオチドを構成するリン酸に由来）であるから、その移動度は分子量に依存し、小さい分子ほど先に流れる。通常タンパク質はポリアクリルア



ミドゲルを利用し、それより大きな分子である DNA はアガロース (agarose) をゲルとして用いる。アガロース電気泳動は通常ゲルを水平にしてバッファーに沈めた、サブマリオン型と呼ばれる方法で行う (図)。アガロースゲルで分離した DNA は通常エチジウムブロミド (ethidium bromide, EtBr) で染色する。EtBr は DNA の二本鎖に挿入され、紫外線を当てると蛍光を発する。EtBr は分子生物学でよく利用されているが、強い発癌性があるため危険である。そのため、本実験では GelleX 社から販売されている発癌性がない染色試薬を用いる。

【実験】

1. プラスミドの単離

< 遺伝子を扱う実験を行う場合は Dnase の混入を防ぐためゴム手袋を着用する。 >

配布された大腸菌抽出液 150 μ l が入ったチューブに

- (1) 200 μ l の溶液 II*1 を加え、フタをして、上下に数回転倒攪拌 (溶液が均一になるまで)。
注 溶液 II は NaOH が入っているので注意する。チューブの開閉はゆっくりと!
- (2) 150 μ l の溶液 III を加え、上下に数回転倒攪拌 (白い沈殿が十分見られるまで)。
- (3) 遠心分離機で 13,000 rpm で 8 分間遠心分離する (名前を記入する。なるべく何人かまとめて遠心分離する)。待ち時間に新しいマイクロチューブを準備しておく。
- (4) 上澄みを新しいマイクロチューブに移す (白色の沈殿*2 を取らないように!)
- (5) 450 μ l のイソプロパノール*3 を加え、3 回ほど上下に反転させる。
- (6) 5 分間放置後 (名前を記入する。なるべく何人かまとめて遠心分離する)、遠心機で 13,000 rpm で 8 分間遠心分離する。
- (7) 今度は沈殿*4 に触らないように注意深く上澄みを捨てる。
- (8) 1 ml の 70% エタノールを加え、緩やかに 3 回ほど上下に反転させる。
- (9) 遠心分離機で 13,000 rpm で 2 分間遠心分離し、上澄みを捨てる。
- (10) 再度、数秒遠心分離 (スピンドダウンと言う) した後、沈殿に触らないように出来るだけ上澄みを取り除く。
- (11) キムワイプの上にチューブを逆さに置き、5 分放置して乾燥させる。
- (12) 30 μ l の TE バッファーを加え、沈殿を溶解させる。
- (13) チューブに名前を記載し、実験 2 に用いる。

*1: この溶液 II がプラスミド抽出の決め手である。なぜかは設問になっているので各自調べてみる。

*2: この沈殿はタンパク質とゲノム DNA が含まれるので、今回は「いらないので捨てる。」

*3: DNA は水溶液中では負に帯電した親水性コロイドとして存在している。エタノールなどの水溶性の有機溶媒を加えると水和水が奪われる。それだけではリン酸基の負電荷による反発のため凝集しないが、塩を加えると、リン酸基の負電荷間の反発が解消され、ファンデルワールス力が優勢となり、DNA 同士が凝集して沈殿する (コロイドの塩析)。この性質を利用し、溶液から DNA を沈殿として回収する操作をエタノール沈殿 (通称エタ沈) という。イソプロパノールはエタノールよりも疎水性が高く、より少量の添加で DNA を沈殿させることができるのでよく用いられるが、エタノールよりも乾燥しにくい点が難点である。

*4: この沈殿がプラスミド DNA である。「捨ててはいけない!」

溶液Ⅰ～Ⅲ, および TE バッファアの組成

溶液Ⅰ: 25 mM Tris-HCl/10 mM EDTA (pH 8.0)

溶液Ⅱ: 0.2 M NaOH/1% SDS (ドデシル硫酸ナトリウム)

溶液Ⅲ: 5 M 酢酸カリウムバッファア (pH 5.2)

TE バッファア*5: 10 mM Tris-HCl/1 mM EDTA (pH 8.0)

*5: TE バッファアは DNA や RNA を溶解するのに最も良く使われるバッファアである。EDTA が入っているのは、Dnase の活性に必要な Mg^{2+} イオンをキレート化するため。

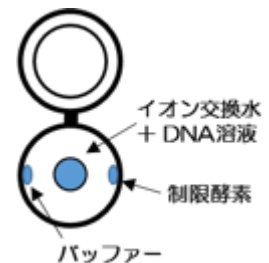
2. 制限酵素処理

- (1) 発泡スチロール箱に氷を用意し, 2本の制限酵素溶液 (③EcoRI と④RsaI, それぞれ 12 μ l) *1 を取りに行く。制限酵素は温度に不安定なので, 出来るだけ氷上におく。
 - (2) 各制限酵素溶液に, 各自が抽出したプラスミド溶液を 8 μ l ずつ分注する*2。
 - (3) 卓上遠心機でスピンドウンする (手で振っても良い)。
 - (4) 各チューブ (名前を記入) を恒温器で 37°C, 20 分間インキュベートする。
- <この間に次のアガロースゲルを作製する。>

*1: 制限酵素には購入時, それぞれの酵素に適した 10 倍濃度のバッファアが付属してくる。今回使用する制限酵素溶液には予めバッファアを加えてある。

*2: 参考: 微量溶液の加え方 (本来, 複数の条件 (制限酵素) を使用する場合, 以下のように加える。

- まずイオン交換水を 9.5 μ l ずつ各チューブの底に加える (チップを変えずに)。
- 各 DNA 溶液を底のイオン交換水につけるように加える。勿論チップはサンプル毎に交換。
- バッファアを底から少し上のチューブのふちにつける。(同じバッファアならばチップを交換しなくてよい。)
- 制限酵素も同様にチューブのふちにつけるが, バッファアとは反対方向のふちにつける (右図)。
- 卓上遠心分離機でスピンドウンする。



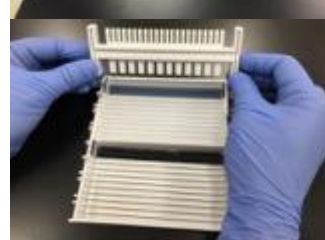
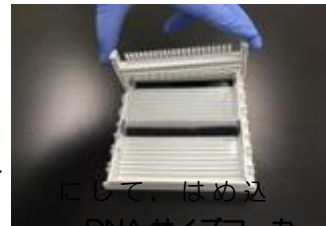
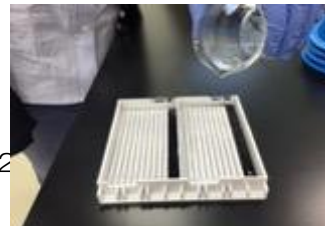
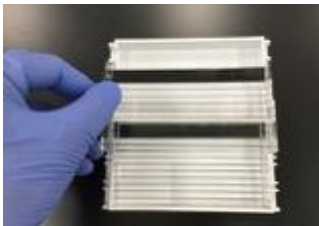
こうすれば元溶液を汚すことなく (他の溶液が混入してしまうことを, コンタミ (contamination) と言う), 微量な溶液をチューブに加えることができる。

今回の実験では上記のように簡略化してあるので, 次に各制限酵素溶液が入ったチューブのふちに, 各自が調製したプラスミド溶液をつければよい。

3. アガロースゲルの作製

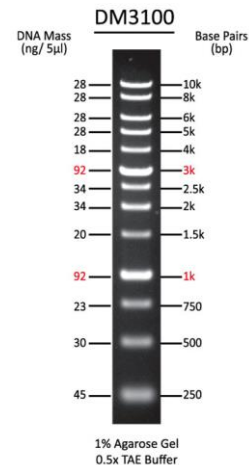
- (1) あらかじめ溶解・保温してある 1%アガロースゲルを取りに行く。
- (2) 手で触れるくらいになれば, 次の写真を参考にゲルメーカーにゲルを注ぐ。
- (3) ラップをゆるやかにかけて放置する。

アガロースゲルの作製方法～ゲルに気泡が入った場合はチップでつつくと消える。



4. ラップをかけて固まるまで放置する。

5. コームを外す時は真上にくっきりと外す。



4. アガロースゲル電気泳動

- (1) ゴム手袋を装着し、ゲルメーカーからコームゲルを注意深く抜いて、トレイごと取り出し、電気泳動層にセットする。(ウェルが-側)ゲルが浸るくらいに 1 × TAE バッファーを追加する。
- (2) 以下に示す表のチューブを用意する。

番号	内容	DNA 容量	イオン交換水
①	DNA サイズマーカー	10	10
②	プラスミド (未処理)	8	12
③	プラスミド (EcoRI 処理後)	上記 3-(4)のチューブそのまま	
④	プラスミド (RsaI 処理後)	上記 3-(4)のチューブそのまま	

(単位は μl)

- (3) 各チューブにローディングバッファー*1 を 5 μl 加える。
- (4) 卓上遠心機でスピンドウンする。
- (5) 電気泳動層にセットしたゲルの穴 (ウェル, well) に番号順に左から注意深く各溶液 10 μl ずつ注ぐ (アプライと言う)。ピペットマンを持っていない手の指で先端部分を押しさえるとアプライしやすい (右図参照)。下まで突き刺してしまわないように、ウェルにチップの先端が少し入った程度でアプライする。先に作製したもう一つのゲルでアプライの練習をしてもよい。



- (6) ふたをして 100 V で電気泳動を開始する。
泳動中は層内のバッファーに触れない。色素が動いていないようであれば、担当に連絡する。
- (7) 先端を流れる青色の色素がゲルの長さの 3/4 くらいまで流れたら、電源をとめ、ゴム手袋を装着し、トレイごとゲルを取りだして、イルミネーター（ウルTRASリム LED）上に置く。ゲルは壊れやすいので注意する。
- (8) カバーをかけて、スイッチを入れ、泳動されたバンドを確認する。
注 LED の光を直接見ない！
- (9) デジタルカメラでゲルを撮影する。
- (10) 電気泳動結果をから、DNA サイズマーカーを参考に各断片の分子量（長さ）を算出し、プラスミドについて考察する。

*1:ローディングバッファーには 3 つの役割がある。1 つはバッファーにスクロースなどを加えて比重をかけ、DNA 溶液をサブマリン型電気泳動のゲルにアプライしやすくする。また、泳動がどのくらい進んでいるか可視化するためにプロモフェノールブルー（1%ゲルで約 650 bp の長さの DNA に相当する移動度）やキシレンシアノール（同、5 kbp の長さに相当）を加えてある。さらに、泳動後に DNA 断片を可視化するために染色試薬を加えてある。

<参加者の感想（抜粋）>

電気泳動自体は別の機会にもやったことがありましたが、抽出からというのは初めてでした。また、マイクロピペットについても、自身が学生の頃には存在せず、これまでも数回しか使ったことがなかったため、練習からやっていただけて助かりました。高校では、このような実験は時間的に実施が難しいのですが、内容的な部分では授業で伝えられると思います。本日は貴重な経験ができました。ありがとうございました。（浜松西高校 後藤昌英先生）

実験は上手くいきませんでした。貴重な経験になりました。言葉の説明だけではピンとこない部分も、実験を通すとよく理解できます。来年度以降、同様の研修があるのであれば、ぜひリベンジさせていただきたいです。本日はありがとうございました。（浜松学芸高校 村上 拓先生）

何度もやってきましたが、初めてきれいなバンドが見られました。生徒に邪魔されずに集中できたのが理由かもしれません。最後にバンドが見えたときのうれしさは、作業の困難さを忘れさせるものがあるので、ぜひ多くの生徒に体験させたいです。（浜松学芸高校 伊藤信一先生）

理科教員として、とても刺激を受けることができました。今回の制限酵素を用いて、電気泳動を行う実験は、自分が大学生の頃になったものでしたが、ピペットマン、エタ沈、コンタミなど久しぶりに触れる器具、用語に、とても懐かしさを感じました。20数年間高校で教え、現在は中学生を教えています。生音に理科を教える立場としてのバックボーンになる体験ができたことに感謝しています。(引佐南部中 櫻田 慎先生)

今日はお忙しい中、実験をさせていただき、ありがとうございました。私は、今年の3月に有機合成の研究室を修了したばかりだったので、実験室で薬品に触れられることがとてもうれしかったです。生化学とは遠かったため、マイクロピペットや培地はほとんど触れてこなかったため、初めての経験で、プラスミドDNAについてよく知れたのがとても楽しかったです。ありがとうございました。(北浜中 高山瑞穂先生)

コラム

現行小学校学習指導要領解説理科編の「指導計画の作成と内容の取扱い」に「主体的な問題解決活動の充実」について書かれています。そこには次のような記載があります。

主体的な問題解決活動を進めるために、教師は児童がこれまでもっていた考えでは説明できない自然の事物・現象を提示するなど、児童自らが自然の事物・現象に興味・関心を持ち、問題を見いだす状況をつくる工夫が必要である。

このことは、中学校、高等学校の指導でも同様だと思います。いわゆる、昔から大切だと言われている“導入の工夫”、や児童・生徒が学んだことに基づいて新たな課題を発見することにつながる手立てですが、この記載はその目的を表しているように思います。そして、理科の教員研修の中でも、観察・実験の工夫に関するものは、いつの時代でも重きが置かれてきたと思います。

今回の、教員自主研修会は、そのような観点においても、教員としての指導力を大きく高める研修会であったと思います。貴重な資料を基に、有意義な経験の場を設定していただいた木村先生、大橋先生には、感謝の思いでいっぱいです。受講された先生方は、皆、熱心な方々ですので、本研修会で得たことを生かし、これまでにまして一層、生徒が主体的な問題活動を意欲的に行う授業づくりに邁進していただけることでしょう。ジャーナルをご覧になった先生方にも、この内容を生かしていただければと切に願います。そして、今後も理科教員としての力量アップに際し、研修会などを通して、児童生徒に提示する、あるいは実際に活動させる観察・実験の引き出しを豊かにしていけることを期待します。

(金田裕之)