

第7回実験研修会報告(1)

遺伝子組換え実験とリスクコミュニケーション教育

橘 淳治¹⁾・北浦 隆生²⁾・濱野 彩³⁾・刈間理介⁴⁾

1. はじめに

バイオ技術の急速な進展に伴い、遺伝子組換え食品、医薬品などこれらの技術を応用したものが大変身近なものになり、DNA という専門用語もテレビ、ラジオ、新聞等でも日常語として使われている。

また、新学習指導要領においては中学校理科で「遺伝子がDNA という物質であることに触れる」となっており、さらに、高等学校生物では「遺伝子やバイオテクノロジーについて理解させる」と共に、理科においては「目的意識を持って観察、実験を行う」と記載されている。

このように、バイオ技術に関する知識、バイオ技術と人の生活や社会との関わり、バイオ技術のリスクと利便性のほか、遺伝子組換え実験そのものを授業等で扱う必要が増してきた。

そこで、本研究会ではJST(独立行政法人科学技術振興機構)の理数系教員指導力向上研修として、大学等の研究機関で行われているP1レベルの遺伝子組換え実験に準ずる内容で、第7回実験研修会「遺伝子組換え実験とリスクコミュニケーション教育」を企画・実施した。

2. 概要

(1) 事務手続き等について

平成20年度の教育センター主催のJST理数系教員指導力向上研修「プラスミドベクターを用いた遺伝子組換え実験研修」が契機となり、平成21年度は大阪府高等学校生物教育研究会主催での研修を企画した。JSTの理数系教員指導力向上研修は法人格を持たない団体(例えば本研究会)は実施主体になれないので、牧野修司研究会会長の指示を受けて北浦隆生事務局長が実施主担者になり、大阪府立生野高等学校が研究会所属の府立学校をまとめる形で実施主体になり、JSTの理数系教員指導力向上研修として「遺伝子組換え実験とリスクコミュニケーション教育」研修を実施した。

(2) 研修概要

① 講師と日程

東京大学環境安全研究センター准教授の刈間理介先生を講師にお招きし、市販のキットなどを使わず、大学等で行われているのと同じ内容での、大腸菌プラスミドベクターを用いたP1レベルの遺伝子組換え実験の研修を行った。

日程は、平成21年12月8日～10日の全日3日間で、大阪府教育センターを会場として実施した。

実験研修の係としては事務局長の北浦隆生、濱野彩、橘 淳治があたり、事務処理と実習の事前準備、事後処理等を行った。

研修受講者は10名であり、充実した内容の研修であった。

② 3日間の研修内容

i) 研修前日(試薬準備と滅菌)

大腸菌を用いた遺伝子組換え実験においては、試薬と培地作製、器具類の滅菌が必須である。また、研修会の性格上、実習に用いる実験セットを複数(研修受講者の人数分)用意した。

また、振盪培養器、インキュベーター、紫外線イルミネーター、冷却超遠心分離機、ピペッターなどの点検と調整を行った。

ii) 第1日(ライゲーションと遺伝子導入)

刈間理介先生より、プラスミドベクターを用いた遺伝子組換え実験の概要についての説明があり、その後実習に入った(図1)。



図1 刈間先生による遺伝子組換え実験に関する講義

1) 大阪府教育センター 2) 府立生野高等学校
3) 府立西成高等学校 4) 東京大学環境安全研究センター

詳しい実験のプロトコールは別途記載するので、大まかな流れのみを紹介する。

プラスミドベクター(pcDNA3.1)を2種類の制限酵素(EcoRIとBamHI)を用いて特定塩基配列の部位で切り取り、エタノール沈殿により取り出す。

導入するDNA(EGFP)を、切断したプラスミドベクター(DNA)と混合し、Takara DNA Ligationキットを用いてライゲーション(DNAリガーゼを用いて導入するDNAをプラスミドベクター(DNA)に組み込むこと)をする。

Competent cell(大腸菌の細胞膜をカルシウムイオン等で変化させて外来遺伝子を取り込みやすくしたものに)、EGFPが組み込まれたプラスミドベクターをヒートショックにより導入する(図2)。



図2 ヒートショックによるプラスミドベクターの導入

このCompetent cellをアンピシリンの入ったLB寒天培地(LB/アンピシリン寒天培地)に塗布し、37°Cで8~16時間培養する(図3)。



図3 LB/アンピシリン寒天培地への塗布と培養

iii) 第2日目(遺伝子導入大腸菌の液体培養)

LB/アンピシリン寒天培地では、プラスミドベクターが導入されなかった大腸菌はコロニーを形成

することができない。そこで、コロニーを形成した大腸菌を滅菌した爪楊枝で採取し、LB/アンピシリン培地を入れた遠沈管に接種する。

遠沈管の口をパラフィルムで覆い、パラフィルムに5~6個の小さな穴を開けて通気性を保ち、37°Cにて、8~16時間振盪培養する。

iv) 第3日目(電気泳動による遺伝子導入の確認)

QIAGEN社のQIAprep Spin Miniprep kitを用いて振盪培養した大腸菌からプラスミドを精製する。

原理は、大腸菌をアルカリで処理し、タンパクを溶解してDNAのみを残す。その後、遠心分離、溶解、ろ過、エタノール沈殿でプラスミドを精製し、採取する。

採取したプラスミドを制限酵素EcoRIで処理し、電気泳動装置(ミュージッド)を用いて、アガロースゲル電気泳動を行う(図4)。



図4 アガロースゲル電気泳動の準備

エチジウムブロマイドでアガロースゲルを染色し、紫外線イルミネーター上でバンドの確認をする(図5)。

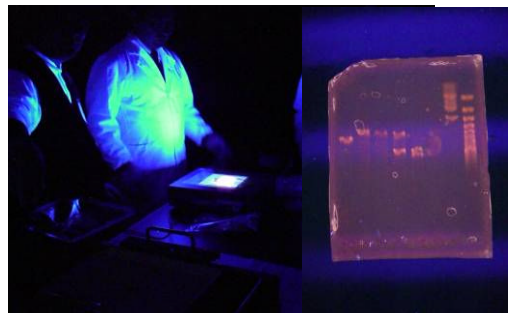


図5 染色したゲルの紫外線イルミネーター上で観察している様子とpcDNA3.1及びEGFPのバンド

遺伝子が導入されておれば、pcDNA3.1(4.5kbp)とEGFP(0.7kbp)の2本のバンドが確認される。

この3日目の研修において、実習中の待ち時間に、遺伝子組換え技術と社会等の関係について考えるために、「遺伝子組換え食品について考える」と題して、アミノバクテリウムによる植物細胞への遺伝子導入、レトロウイルスを用いた遺伝子組換え、ES細胞やips細胞による臓器・個体の再生技術、遺伝子組換え食品の利点と問題点等についての講義をされた。

さらに、リスクコミュニケーション教育が今後重要になってくると考えられるため、「リスクを伴う科学技術の受容について」と題して、リスクコミュニケーションの定義と必要性、リスクコミュニケーションの過程で求められること及びマスコミ情報やインタープリターの問題点、対抗リスク（リストトレードオフ）についての講義をされた(図6)。

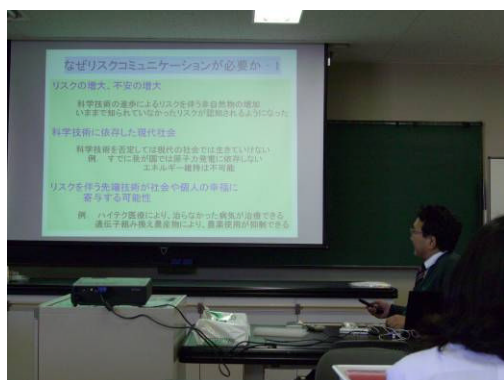


図6 リスクコミュニケーションに関する講義

さらに、近年の大学入試小論文にみられる「リスクコミュニケーション能力を求める出題」についても話され、大学ではリスクコミュニケーションが重視されつつある現状がよく分かった。

v) 研修翌日 (実験廃棄物処理)

教育目的の遺伝子組換え実験は、平成16年2月のカルタヘナ法に基づき行う必要がある。特に、遺伝子組換え実験際しては、組換え体の拡散防止措置を講じることが重要である。

遺伝子組換え大腸菌及び実験に用いた器具類は121℃にて15分間のオートクレーブ滅菌し、廃棄した。

余った試薬類に関しては、劇物等で廃棄困難なものは業者委託まで専用容器で保管し、一般試薬は希釈して廃棄した。

3. おわりに

遺伝子組換え実験は、近年のバイオ技術の進展

による一般化のため、教員のみならず生徒にも関心の高いものである。

ところが、遺伝子組換え実験は新しい内容であり、教員自身も経験の無い者が多い。そのため、教育目的の遺伝子組換え実験を行う際には、市販のキットを用いるのが現状である。

市販のキットを否定するものではないが、キットはブラックボックスの要素が強いため、遺伝子組換えの理論を理解した上で実験をしないと教育効果は上がらないと考えられる。

本研修のように、遺伝子組換えの原理に関する講義、大学等で行われている遺伝子組換え実験の実習、遺伝子組換えなどの先端科学技術が人や社会に与える影響やリスクコミュニケーション教育に関する講義と演習など、深くしかも幅広い内容での研修は、自然科学を生徒に教える理科教員にとっては必要であると考えられる。

このように成功裏に終わったJSTの理数系教員指導力向上研修であるが、平成21年度でこの事業は終了とアナウンスされている。残念な次第である。

次年度以降は、本研修を発展させ、生徒に対してもキットを使わない本格的な遺伝子組換え実験を、SPP事業などを活用して行う必要があると考えている。

参考文献

- 1) 大藤道衛:適切な実験を行うためのバイオ実験の原理,2006.
- 2) 刈間理介:プラスミドベクターを用いた遺伝子組換え実験,平成21年度理数系教員指導力向上研修テキスト,2009.
- 3) 刈間理介:遺伝子組換え食品について考える,平成21年度理数系教員指導力向上研修テキスト,2009.
- 4) タカラバイオ株式会社:E.coli DH5α Competent Cells 取扱説明書.
- 5) 田村隆明:改訂第3版遺伝子工学実験ノート上,羊土社,2009.
- 6) 田村隆明:改訂第3版遺伝子工学実験ノート下,羊土社,2009.
- 7) 田村隆明:超基本バイオ実験ノート,羊土社,2005.
- 8) 文部科学省HPの「ライフサイエンスにおける安全の取り組み」
<http://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/anzen.html> 2010.2.9現在.