**東京学芸大学附属国際中等教育学校　齋藤淳一**

**1.　カルタヘナ法に従った教育目的遺伝子組換え実験の流れ**

**実験計画の立案**

・宿主－ベクタ－系およびDNA供与体に関して、安全上の観点から問題がないことを十分に検討し、立案する。

　　　　　　　　　　　(文部科学省ホームページ；高等学校等において教育目的で行われる遺伝子組換え実験の「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」における取り扱いについてhttp://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/9\_12.pdf参照)

**所属長の同意**

 ・実験の実施に関して所属機関の長の同意を得る。その際、各学校の状況に応じて申請書等を作製する。（別紙書式1参照）

**実験準備**

・宿主・ベクタ－・DNA供与体を入手し、実験器具・試薬等の準備・確認を行う。

・実験を安全に行うため、生徒に対しては事前指導を十分に行う。

**実験実施**

　　　　　　　　　 ・拡散措置を十分とった上で、実験を行う。

**実験後の処理**

・組換え体・実験器具・試薬等の滅菌・廃棄を適切に行う。

**記録書類の保管**

* 実験終了報告書（別紙書式2参照）等を作製し、保管する。

**2.　安全管理のための自己点検表**

実験前

* 組換え実験の内容は、安全上の観点から問題がないことを十分に検討した。

(http://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/9\_12.pdf参照）

* 組換え実験を行うにあたり、所属の長の同意を得た。
* 組換え実験を行うにあたり、実験室は整理され、清潔が保たれ、飲食等は行われていない。
* 生徒に対して組換え実験の原理や無菌操作について十分な指導を行った。
* 生徒に対してバイオハザードを防ぐための方法について十分指導を行った。

実験時

* 実験室入り口に**「組換えDNA実験実施中、関係者以外立ち入り禁止」の掲示**を行った。
* 実験室の窓および扉は閉じていた。
* 実験室内で飲食や化粧等の行為は行われなかった。
* 実験前後に実験机の上をアルコ－ル等で消毒した。
* すべての操作は飛沫が飛び散らないよう慎重に行った。
* 実験終了後は必ず手を洗い、アルコール等による消毒を行った。

実験後

□　組換え体を一時的に保管する場合はシャ－レをパラフィルム等でシールし、4℃に置いた。また冷蔵庫などの前面には**組換え体** (**LMO**)　**保管中**と明記する。

□　組換え体は煮沸または消毒液の投入等の措置により滅菌し、廃棄した。

* 組換え体の付着した実験器具（プレ－ト、マイクロチュ－ブ、ピペット）はすべて滅菌し、廃棄した。
* 組換え体の廃棄方法を記録した実験終了報告書等を記録し、保管した。

**参考**

**全国大学等遺伝子研究支援施設連絡協議会**http://www.idenshikyo.jp/education/education\_1.html

実施方法や機器貸し出しリストに関する情報提供がある。

**東京農工大学遺伝子実験施設** http://web.tuat.ac.jp/~idenshi/

ホーム　＞　公開講座　＞　学校教員のための遺伝子組換え実験教育研修会　＞　H29年度テキスト

申請書・報告書の書式のダウンロードができる。

　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　書式1

|  |  |
| --- | --- |
| 　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　第　　　　号**教育目的遺伝子組換え実験計画承認申請書** |  |
|
|  |
| 　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　 |  |
| 　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　平成　 年　　月　 　日 |  |
|  |  |
| 　学校長殿 |  |
| 　　　　　　　　　　　　　　　　　　　実験指導責任者氏名　 　㊞　　　 |  |
| 　このたび下記のとおり教育目的遺伝子組換え実験を行いたいので、ご承認願います。なお実験指導責任者は筑波大学主催による「教育目的組換えDNA実験教育研修会」において所定の課程を修了しております。また、下記の実験は、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」および関連諸規則に従い、安全性の確保に十分配慮して実施いたします。　 |  |
| 授業科目名 |  「生物II」 |  |
| 実験課題名 | 　大腸菌の形質転換 |
| 実験内容 | 　オワンクラゲのGFP（緑色蛍光タンパク質）遺伝子を大腸菌に導入し、形質転換を行う。　 |
| 実験方法 | 宿主 | ベクタ－ | DNA供与体 | 封じ込めレベル |
| 大腸菌（HB101株） | pGLO(pBR322由来) | オワンクラゲ(*Aequorea victoria*) | P1 |
| 組換え体の廃棄方法 | 　オ－トクレ－ブ（高圧蒸気滅菌器）による滅菌 |  |
| 使用教室 | 　 （生物実験室） |
| 実験実施期間 | 　平成 年 月 日～ 月 日 |  |
| 実験生徒名 | 　 名　（詳細は別紙名簿参照） |  |
|  |  |  |
| 添付書類 |  生徒名簿、実験マニュアル、BIO-RAD社形質転換キットカタログの写し |  |
| 上記の願い出について承認する。 |  |
|  |  |
| 　　　　　　　　　　　　平成　 　年　　月　　日 |  |
|  |  |
|  高等学校校長　　　 　　㊞　　　　　　　　　　 |  |

　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　書式2

|  |  |
| --- | --- |
| **教育目的遺伝子組換え実験終了報告書**　　　　　　　　　　　　　　　平成 年 月 日学校長殿 |  |
|
|  |
| 実験指導責任者　　 　㊞　このたび、過日承認を受けた教育目的遺伝子組換え実験（申請書第 号による）を終了しましたので下記の通り報告いたします |  |
| 授業科目名 |   |  |
| 実験課題名 |  大腸菌の形質転換 |
| 形質転換実施日 | 　　平成 年 月 日 |
| 実験内容 | 　オワンクラゲのGFP（緑色蛍光タンパク質）遺伝子を大腸菌に導入し、形質転換を行った。 |
| 実験方法 | 宿主 | ベクタ－ | DNA供与体 | 封じ込めレベル |
| 大腸菌（HB101株） | pGLO(pBR322由来) | オワンクラゲ(*Aequorea victoria*) | 　 P1 |
| 使用教室 | 　 （生物実験室） |  |
| 実験実施期間 | 平成 年 月 日～ 月 日 |
| 実験生徒名 | 　 　 名（詳細は別紙名簿参照） |
| 組換え体の数量 | 　寒天プレ－ト 枚で培養 |
| 組換え体の廃棄日時 | 　平成 年 月 日 |
| 組換え体の廃棄方法 | オ－トクレ－ブ（高圧蒸気滅菌器）による滅菌後、平成 年 月 日○○（株）に引き取ってもらった。 |
|  |  |
| その他 | 安全管理のための自己点検表、実験生徒名簿 |
|  |
|  |
|  |

３．**実際の授業準備・実施の流れ**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 日程 | 項目 | 内容 |  |  |  |
| 14日前 | 実験準備１ | 所属の長の同意（実施願い） |  |  |  |
| 　 |  | キットの注文　※１　 |  |  |  |
| 　 |  | 　 |  |  |  |
| 7日前 | 実験準備2 | キットの入荷 |  |  |  |
| 　 |  | マニュアルの印刷 |  |  |  |
| 　 | 　 | 器具の準備　※２ |  |  |  |
| 7日～4日前 | 実験準備3 | 3種類のプレートを作る |  |  |  |
| 1日前 | 実験準備4 | LB培地に大腸菌を植菌 |  |  |  |
| 実験当日 | 実験　※３ | 形質転換後37℃でインキュベート |  |  |  |
| 1日後～ | 実験結果観察 | 3種類のプレートの観察・結果の考察 |  |  |  |
|  | レポート提出 |  |  |  |  |
|  | 組換え体廃棄 | 滅菌後、業者等に依頼。 |  |  |  |
| ※１　G40-6201 バイオテクノロジー・エクスプローラーキット　（バイオラッド社）「ｐGLOバクテリア遺伝子組換えキット」 　17,000  |
| ※2　フラスコ、長波長UVライト（ブラックライト）、インキュベーター（37℃設定）、ウオーターバス（42℃設定） |  |
| ※3　エアコンがない場合、室内が高温になる夏場は避けたほうが無難。 |  |  |

1. **キットの購入とその内容**

アメリカBIO-RAD社のバイオテクノロジー・イクスプローラーキットは、中村理科（ナリカ）が代理店として販売している。中村理科に連絡して個数と納期を伝えると、取引のある別の代理店が見積もりを出す。時期によってはナリカで欠品の場合もあるので時間的に余裕を持って注文したほうがよい。現在、定価は18,000円だが注文数によって値引き率は異なる。キット到着後は試薬など指定されたものは冷蔵保存する。

キット以外の器具に関しては以下のように一部の学校で常備されていないものは代用可能である。また、一部の大学などの研究機関では以下の器具の無料貸出も行っている。

**インキュベータ－**→室温でも可。

**ウォーターバス**→温度計で調整した42℃の湯で十分可能

**紫外線ランプ**→長波長UVライトかブラックライトを購入する。

高等学校では地学科で所有していることが多い。

**オートクレーブ→**オートクレーブは圧力釜で代用できる。大腸菌の廃棄の際は鍋でぐつぐつ煮る方法でも可能。

1. **プレートの準備・植菌**

　マニュアル上では教師の準備項目だが、できるだけ生徒と一緒に作業することにより

4種類のプレートの持つ意味や植菌の練習にもなる。

なお、スタータープレートの植菌は実験予定時刻の16時間～20時間前に行うようにする。

1. **組換えDNA実験（50分授業）**

50分の授業時間を少しオーバーする可能性もある。あらかじめ、VTRなどを見せてイメージトレーニングをしておくのも一法である。実験後の手洗いを忘れないようする。

また、生徒には以下のようなプリントを配布し、翌日の結果を予測させておく。実験結果がうまくいかなかった少数の生徒のためにスタータープレートと3種類のプレートを余分に準備しておくとよい。

1. **結果の観察と考察（組換え翌日以降，50分授業）**

まず，各班ごとに４つのプレートを観察させ、コロニーの計数を行う。

結果についてのデイスカッションを行った後に各プレートに長波長紫外線（365 nm）を照射する。

（１）プラスミドを加えていない大腸菌（-DNA）はなぜLB/Amp.プレートで生育できず、プラスミドを加えた大腸菌(＋DNA )ではコロニーができたのか。

（２）大腸菌（-DNA）はLB培地に多数の大腸菌がローン状にびっしりと生育したが，大腸菌(＋DNA )はLB/Amp．培地にコロニーを少数しか作らなかったのはなぜか。

（３）大腸菌（＋DNA）が，LB/Amp．培地で生育したものでは紫外線を当てても発光しなかったが，LB/Amp./Ara．培地に生育したものが発光したのはなぜか。

（４），LB/Amp．培地で生育したものでは紫外線を当てても発光しなかったがそれを発光させるにはどのような処理をすれば良いか？

※翌日、授業がない場合には、培養後の大腸菌を冷蔵庫で保存できる。長時間培養室し続けると組換え体の周辺に非組換え体（サテライト）が出現する。

1. **レポートのまとめ**（宿題）

観察結果と考察をまとめ後日提出させる。

1. **実験のポイント**

実験操作そのものは簡単であるから、実験操作の意味を一つ一つ生徒に理解させながら、進めて行く必要がある。大腸菌がうまく形質転換するかどうかは、（1）スタータープレ―トの培養時間(16時間～20時間)（2）プラスミドを確実に入れ、（3）ヒートショックの時間の正確さと迅速な温度変化にかかっている。（1）はプラスミド溶液がループに膜を張るように付着しているのを確認させることで確実さが増す。（2）は50秒間温浴させる前後に冷却槽からすみやかに出し入れさせることを念押ししておく。

**6). 資料（生徒用配布プリント）**

生物Ⅱ実験 　　組換えDNA実験

- GFP遺伝子の大腸菌への導入-

組換えDNA技術は、バイオテクノロジーの基本的技術であり、すでに大腸菌によるホルモンや酵素の生産など医学や農学など広い分野で活用されている。

今回の実験ではオワンンクラゲという発光クラゲの遺伝子GFPを挿入したプラスミドで大腸菌を形質転換する遺伝子組換え実験を行なう。その結果、大腸菌にはどのような変化がおきるのか。この実験でバイオの基本技術である組換えDNAの基本を学ぼう。

**Ａ 原理**

１．オワンクラゲから発光タンパク質をつくるＤＮＡを制限酵素で切り出す。

　（実際にはゲノムＤＮＡから切り出すわけではなくcDNAを用いる）

２．切り出した発光タンパク質のＤＮＡ（GFP）を大腸菌プラスミドに挿入する。プラスミドに抗生物質（アンピシリン）耐性の遺伝子も存在する。

 【ここまでは事前に用意してある】

３．大腸菌を形質転換用緩衝液(５０mM CaCl2)に入れて、プラスミドが入りやすい状態をつくる。このようにプラスミドが入りやすくなった細胞をコンピテントセルという。

４．大腸菌の入ったチューブにプラスミドを混ぜ、ヒートショックを与える。

５．大腸菌の入ったチューブに液体培地（ＬＢ-Ｂｒｏｔｈ）を入れて室温に10分間おく。

６．大腸菌をアンピシリンの入った寒天プレート（寒天培地）にまく。

７．３７℃で一晩培養する。

８．4枚のプレートについて結果を観察する。

 【用語】

　　 pGLO　　GFP遺伝子を組み込んだ大きさ5571塩基対のプラスミド

 　 GFP (Green fluorescent　Protein）　緑の蛍光を発するタンパク質。

 　ara C アラビノースオペロンのリプレッサー（抑制物質）

　　 ara(アラビノース) 単糖類の一種、araCに結合し、ｐＧＬＯのスイッチを入れる役割をする。

　　アンピシリン（Ａｍｐ）抗生物質ペニシリンの一種。

 　LB－Broth 液体の培地

　　コロニー　　寒天培地上にできた大腸菌の塊。丸い斑点のように見える。

　　コンピテントセル　　プラスミドが入りやすくなった状態の細胞。

**Ｂ 準備**

●１班あたり（今回は２人分）

大腸菌スタータープレート　　　　 １枚

（大腸菌が育っているＬＢ培地）

＋ＤＮＡと書かれた緑チューブ 　　　 １本

－ＤＮＡと書かれた青チューブ 　　　１本

寒天培地プレート（次のものが計４枚）

　ＬＢ　　　　　　　　　　　　　　　１枚

　ＬＢ／ａｍｐ 　　　 　　　　２枚

　ＬＢ／ａｍｐ／ａｒａ 　　　　　　　１枚

ループ（黄色） 　 １パック

使い捨てピペット　　　　　　　　　　５本

チューブをさす白いラック 　　　２個

●全体で準備

アイスボックス

４２℃に温度調整したウォーターバス

形質転換用緩衝液

ｐＧＬＯプラスミド溶液

ＬＢ－Ｂｒｏｔｈ（液体のＬＢ培地）

３７℃に温度調整したインキュベーター（恒温器）

 ※実験中守るべき重要事項

 **１．実験中はドア・窓を開けない。**

 **２．飲食厳禁。**

 **３．実験前後に手洗いおよび殺菌を行なう。**

●実験の基本的注意

１.実験前後に７０％エタノールをスプレーし、実験台の上をふく。

２. 組換え体が衣服や皮膚、持ち物に付着しないように注意する。

（万が一、付着した場合には７０％エタノールをスプレーしたキムワイプでふき取る。）

３．チューブやシャーレのふたを開けているときはできるだけ、会話しないようにする。

　（だ液には雑菌やＤＮＡ分解酵素が含まれている）

4. 組換え体のついた器具類はすべて組換え体と書いた袋の中にすてる。

**Ｃ 実験方法**

● 形質転換溶液（５０ mM CaCl2）を各チューブに２５０μＬずつ入れる。

 緑のチューブ　　＋ＤＮＡ用

 青のチューブ　　－ＤＮＡ用　　　★ここまで準備してある。

● 各チューブのフタに＋ＤＮＡ、－ＤＮＡと記入する。

● 大腸菌コロニーをプラスチックループでかきとり、＋ＤＮＡと－ＤＮＡ両方のチューブに入れる。この状態で大腸菌はコンピテントセルとなる。

● 形質転換溶液に入れた大腸菌はとても弱い。すぐに氷に入れて冷やしておく。

● pGLOプラスミドをループで取り、＋ＤＮＡ用の緑のチューブに入れ、数回まわす。

● 氷に１０分以上入れて冷やしておいた大腸菌の入ったチューブを４２℃のウォータバスに入れる。５０秒後、すぐに氷に入れ、２分間冷却する。

●ＬＢ－Ｂｒｏｔｈ（液体培地）を２５０μｌ加え、１０分間室温に置く。

●各チューブに入っている溶液を１００μｌずつ、培地にまく。

　－DNA→　LB,LB/Aｍｐ

　＋DNA→　LB/Aｍｐ, LB/Aｍｐ/ara

●大腸菌が均一に広がるようにプラスチックループで広げる。このとき、強くひっかくと培地に傷が付いてしまうので軽く広げる。60度ずつ回しながら3回から4回ジグザグを描くように広げる。※ 雑菌が入らないように手早く行い、確実にフタを閉める。

●油性ペンでプレートの裏側の縁に近い部分に小さく名前を書く

●３７℃で一晩、培養する。

　　　翌日までに以下の予測をする。（宿題）

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| プレートの種類 | 生育の有無＋or－ | 発光の有無　＋or－ |
| +DNA①LB/Amp |  |  |
| +DNA②LB/Amp/ara |  |  |
| -DNA③LB |  |  |
| -DNA④LB/Amp |  |  |

●実験成功のコツ

・ コロニーを取るときは比較的小さなものを複数とるようにする（5個から10個）。

・ プラスミドをループで取るときは液体の膜を確実にチューブに入れる。

・ 形質転換溶液に大腸菌を入れてからは、冷やした状態を保つ。

・ プレートにまく前に底に沈んでいる大腸菌を十分に懸濁させる。

・ ヒートショックは手早く確実に。

**Ｆ　結果および考察**

　２．肉眼での観察および考察

4枚のプレ－ト+昨日の大腸菌について実際にコロニ－の色・数を観察してみよう。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 種類 | 生育の有無+or- | コロニ－の色 | コロニ－数 | その他気が付いたこと |
| スタ－タ－プレ－ト | 　+ | 乳白色 |  |  |
| +DNA①LB/Amp |  |  |  |  |
| +DNA②LB/Amp/ara |  |  |  |  |
| -DNA③LB |  |  |  |  |
| -DNA④LB/Amp |  |  |  |  |

1) ③と④のプレートの結果はなぜ異なるのか。

2) ③のプレートは他のプレートと大腸菌の生育のしかたがどのように異なるか。

　またそれはなぜか。

3）①と④の結果を比較して言えることを述べよ。

4) ①と②の結果を比較せよ。

5)　組換え体（pGLOプラスミドが導入された大腸菌）プレートをすべて記せ。

３.紫外線照射による観察

紫外線（365 nm）をあてて各プレートの大腸菌が光るかどうか調べてみよう。

|  |  |
| --- | --- |
| 種類 | 発光の有無+or- |
| スタ－タ－・プレ－ト | 　 |
| +DNA①LB/Amp |  |
| +DNA②LB/Amp/ara |  |
| -DNA③LB |  |
| -DNA④LB/Amp |  |

1. 特定のプレートでUVランプを宛てたとき大腸菌が光るのはなぜか。
2. ①と②の結果の違いについて考察せよ。

3)4枚のプレートの中にはある方法により、光っていないコロニ－を光らせることができるものがある。それは何番のプレートか。また具体的にはどのような方法を取ればよいか。

●実験後の処理

・実験に使ったブレート、ループ、ピペットなどはすべてオートクレーブに入れ滅菌処理をする。

・遺伝子を組換えた大腸菌は実験室外に持ち出さない。

**４．発展的考察**

1)大腸菌のおよそ何％が形質転換をおこしたか？

チューブの中に入った大腸菌のうち約何％が形質転換をおこしたか？ただしチューブの中に入れた大腸菌の数は１コロニーを約10６ケとしておおよその値を求める。ただし一つのプレートにまいた大腸菌はト－タル500μL中の100μLであることを前提とする。

2)緑チュ－ブの中にはプラスミドはおよそ何分子あるのだろうか？

チューブの中に入ったプラスミドの分子数を計算してみよう。１ヌクレオチドの分子量を３１０として計算するとこのプラスミド（pGLO）の分子量は

３１０×５３７１（塩基対）×２＝〔　　　　　　　〕

　　　　　　　加えたプラスミド（pGLO）の量は

0.08μｇX10μL＝〔　　　　　　　〕　μｇ

　　　　従ってマイクロチュ－ブ（緑）の中のプラスミド（pGLO）の分子数は

　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　〔　　　　　　〕個

参考

DNAの分子量の正確な求め方

（DNA）分子量 ＝（ NA × 313.2 ）＋（ NC × 289.2 ） ＋（ NG × 329.2 ）＋（ NT × 304.2 ）－ 61.9

1. チュ－ブの中の大腸菌とプラスミドの数の比を求めてみよう
2. **おわりに**

遺伝子組換え技術は、現代生活にとって欠くことのできない技術である。一般に遺伝子組換え技術は有用性よりその安全性が強調されがちである。一般の人々のあいだでも「遺伝子組換え食品」は不安なもの、危険なものというイメージが根強く浸透している。下の表は現行、生物IIのバイオテクノロジーに関する記述である。

表　バイオテクノロジーの問題点に関する高校生物II教科書8社の記述

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No. | 安全性 | 倫理的問題 |
| 1 | ○ | ○ |
| 2 |  | 人間の尊厳や人権を侵害する危険性を含んでいる |
| 3 | ○ | 社会的な条件整備なども含めた、慎重な検討が必要 |
| 4 |  | 社会通念や倫理なども含めた広範な見識と議論が必要 |
| 5 | 遺伝子組み換え技術は、それまでになかった生物を作り出すことにもなる。従ってこの技術を用いることによって人間や生態系に害をもたらすことがないように | 法整備などで、遺伝子情報の安易な利用を防ぐ必要がある |
| 6 | 他の生物や自然環境を乱す可能性がある | ヒトの生命を人為的に操ったり、人の器官を道具のように扱ったりする恐れがある |
| 7 | 遺伝子の操作は、安全性や生態系への影響を考慮して、法律に従って行われている。 |  |
| 8 | 外部から入れた遺伝子が長期的に安全かどうかはまだ確かめられていない。 | ○ |

（都立隅田川高等学校　白石直樹氏による）

根強い慎重論の中で遺伝子組換え技術が、具体的にどのようなものであり、どのような方法が用いられるかを知ることは次世代を担う生徒には欠くことの出来ない知識であり、実験をとおして理解を深めることは、たいへん有意義である。今後、本実験が多くの学校でも広く行なわれることが望まれる。

**４．実験コストを下げる方法**

例、１キット（８セット：３２名分）を４キット分（３２セット：１１８名分）に増やす

**プラスミドを４倍希釈**

**形質転換溶液・LB broth ・大腸菌はキットに含まれるもので足りる。**

1. **新たに購入するもの器具・試薬**

**滅菌済シャーレ（１２０枚）　　　 ￥1,200（１０枚当た１００円）**

**滅菌済みループ（１２０本）****￥1,200（２０本当たり２００円）**

**滅菌済みスポイト（１２０本）　　　￥ 500　(２００本当たり２５０円)**

**Ampナトリウム (5ｇ)　　　　　　　￥2,700　和光純薬　010-04582**

**Lアラビノース (5g ) 　　 　 　￥3,000**

 **LB寒天培地　　　　　　　　　　　 ￥7,600 大日本製薬　　500ｇ(395-00885)**

**計　　　　　　　　　　　￥16,200**

**参考**

**Monotaro（モノタロウ）**http://www.monotaro.com/c/000/043/

科学実験消耗器具を格安で販売。基本的には事業者向けの販売を行っているが、学校・個人などによる購入も可能。事前の登録が必要。

**和光純薬試薬カタログ**http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/

ページ右側の製品検索からカタログに掲載されている試薬の検索が可能。

**大日本製薬試薬**

http://www.nihon-pharm.co.jp/products/lifetech/index.html

**パン酵母とＧＦＰを利用した組換えＤＮＡ実験キット**

http://genetic.eng.yamaguchi-u.ac.jp/RecombinantDNA/KyoikuDNA1.htm

〒755-8611　宇部市常盤台2-16-1

山口大学工学部応用化学工学科

赤田倫治先生**無料配布**

**５．中高等学校などの教員を対象にした研究助成制度**

**■日本学術振興会**

**科学研究費奨励研究Ｂ　　　　　　　　　　　　100万円**

**http://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/index.html**

**■科学技術振興機構**

**ＳＰＰ（サイエンス　パートナーシップ　プログラム）**

**http://spp.jst.go.jp/**

**■下中記念財団　　　　　　　　　　　　　　　　　30万円**

 **http://www.shimonaka.or.jp/pdf/entry\_form.pdf**

**■日産科学振興財団　　　　　　　　　　　 40万円**

**http://www.nissan-zaidan.or.jp/program/program04.php**

**■日本教育公務員弘済会**[**http://www.nikkyoko.or.jp/business/research/index.html#menu-title08**](http://www.nikkyoko.or.jp/business/research/index.html) 　　　50万円

**■パナソニック教育財団**

**http://www.pef.or.jp/01\_jissen/01\_gaiyo.html　　　　50万円**

**■ソニー教育財団**[**http://www.sony-ef.or.jp/**](http://www.sony-ef.or.jp/)**300万円**

**関連資料**

**1.　形質転換キットを販売している会社リスト**

**日本バイオラッドラボラトリーズ株式会社**http://www.bio-rad.com

〒116-0014　東京都荒川区東日暮里5-7-18　コスモパ－クビル

Tel: 03-5811-6271　　Fax：03-5811-6272

 **EDVOTEK　The Biotechnology Education Company**

　メリーランド州初のバイオテクノロジーキット販売会社

http://www.edvotek.com/

 **CAROLINA Carolina Biological Supply Company**

アメリカ最大の生物教材提供会社

http://www.carolina.com/

**NCBE National Center for Biotechnology Education** http://www.ncbe.reading.ac.uk/

イギリスのバイオテクノロジーキット総合販売会社

**2. アメリカでのバイオテクノロジー教育を知るためのウェブサイト**

**National-Science-Education-Standards** http://www.nap.edu/openbook.php?record\_id=4962&page=R1

 1989年からスタートしたアメリカの初等、中等教育の National Standards。

 **U.S. Department of Education** 　www.ed.gov/

 アメリカ教育省のホームページ。授業の展開例や研究費についての情報が充実して

 いる。

 **Biotechnology Education Program** 　 https://education.llnl.gov/programs/teacher-research-academies/biotechnology

 バイオテクノロジー教育の統合的教育方法について興味深いアイデアが提供されて

 いる。

 **NABT (National Association of Biology Teachers)** http://www.nabt.org/

 全米生物教師協会のホームページ。

 **AAAS (Advancing Sience Serving Society)**

 http://www.aaas.org/

 教科書の比較評価をはじめとした情報提供をしている。

 **Woodrow Wilson Biology Institute** https://www.wilsoncenter.org/issue/synthetic-biology

 バイオテクノロジーの授業モジュールが多数掲載されている。

**3. バイオテクノロジー教育に役立つウェブサイト**

 **Gene-Bank-database-using-DBGET**

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/

　　遺伝子の配列情報に関するデータバンク。

**PDB database using DBGET**  http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do

　 たんぱく質の立体構造に関するデータバンク。現在エントリー数は111,385。

 **Ras Mol homepage**  http://www.umass.edu/microbio/rasmol/

 PDBからダウンロードした座標情報を三次元的に視覚化するフリーウェアソフト。

 **Biology-Animation-Library**

 https://www.dnalc.org/resources/animations/

 PCRやサザンブロッテイングなど分子生物学の実験法をアニメーションで紹介して

 いる。

 **Ma-Grow Hill Student Resources** http://highered.mheducation.com/sites/0072437316/student\_view0/online\_labs.html

 ユニークなオンライン・バーチャルラボを提供するさいと。

 る。

**4. 中高の生物教師のために書かれた組換えDNA実験に関する書籍**

1. Horn T.M.: Working with DNA and Bacteria in Precollege Science Classrooms. *National Association of Biology Teachers* (1992) . Reston, USA
2. Helen Kreuzer and Adrianne Massey: Recombinant DNA and Biotechnology-A. Guide for Teachers (Second Edition). *American Society for Microbiology* (2001). Washington, D.C. USA
3. Alison M. Rasmussen: A Sourcebook of Biotechnology Activities. *National Association of Biology Teachers* (1990). Reston, VA, USA

 4) Carison Shawn: Spooling the Stuff of Life. *Scientific American* (1998). New York USA

**5. 遺伝子組換え実験の教材化に関する文献**

 1) 貝沼喜兵; 高校における分子遺伝学の実験学習における諸問題(1). *生物教育*14(3): 5-11

 (1973).

 2) 貝沼喜兵;高校における分子遣伝学の実験学習における諸問題(2).*生物教育*14(4): 6-11 (1973).

 3) 岩本昌之,篠沢隆雄; 高熱性細菌からのDNA抽出とそれを用いた形質転換. *科学教育*

 *研究*13(3): 132-138 (1989).

 4) 佐々木市平; バクテリオファージによる形質導入実験. *都生研会誌* 26: 7-11 (1990).

 5) 貝沼喜兵・山根國男; 組換えDNA技術の教材化. *教材生物研究*11(3): 10-15 (1990).

 6) 岩本昌之・篠沢隆雄; 生物教材としての細菌. VI.大腸菌を用いた遺伝子発現機構の教

 材化. *科学教育研究*15(2): 48-54 (1991).

 7) 吉本和夫; 簡便な高校生物分子生物学実習の開発(1).　*大阪教育大学附属平野高校*

*研究紀要*第１号70-76 (1991).

 8) 貝沼喜兵; 組換えDNA技術の実践. *遺伝*45(4): 28-34 (1991).

 9) 貝沼喜兵; 形質転換実験−指導方法とその評価について−. *生物教育*31(2): 115-134

 (1991).

10) 吉本和夫;　簡便な高校生物分子生物学実習の開発(2).　*大阪教育大学附属平野高校*

*研究紀要* 第５号31-40 (1994).

11) 貝沼喜兵; 組換えDNA技術の教材化. plasmidの抽出とcp-cellsの調整法. *生物教育*

 34(1): 130-131 (1994).

12) 齋藤淳一；PCR法を取り入れた教材開発—遺伝子語を体験的に理解する方法の試み−.*東京学芸大学附属高等学校大泉校舎研究紀要*19: 93-113 (1994).

13) 吉本和夫; 高校と大学の共同授業の試み一高校生に大学で遺伝子クローニングを実 体験させてみたー.　*遺伝*54(3): 37-42 (2000).

14) 貝沼喜兵・齋藤淳一・原田和雄・小林興; 中・高校生を対象とした組換えＤＮＡ実験に対する生徒の理解度と体験学習の意義.　*科学教育研究*　27(3) (2003).

15) 齋藤淳一；教育目的組換えＤＮＡ実験について.　*高校理科研究*Ｎｏ.5

 大日本図書

16) 佐藤由起夫；一般の学校でも実施されはじめた遺伝子組換え実験.　*高校理科研究*

Ｎｏ.6　 (2003).　大日本図書

17) 原田宏・鎌田博・大藤道衛他;　*高等研報告書*　生物教育と市民の理解　-変革する社会への対応を目指して-.　 (2003).

18) 貝沼喜兵・大藤道衛・中島春紫・齋藤淳一・飯田秀利・原田和雄・小林興；現職教員の中・高等学校生物教育に対する認識と展望-SPP研修会参加者のアンケート調査より, *科学教育研究* 29-3; 248-264; (2005)

19) Michiei Oto, Michiyuki Ono and Hiroshi Kamada, Gene literacy education in Japan—Fostering public understanding through practice of hands-on laboratory activities in high schools, *PLANT BIOTECHNOLOGY* Vol. 23 No. 3, 339-346 (2006)

20) 笹川由紀・ 小野道之;　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* 32-3; 216-229; (2008)