

(研修 3・5)

教育用キットを用いた組換え DNA 実験(講義と実習)

大藤道衛 (東京テクニカルカレッジ・バイオ科)

<はじめに>

「組換え DNA 実験を含む授業」は、単に実験操作を行うことが目的ではない。生徒は、実験を通じて物に触れ、遺伝子発現とセントラルドグマ (DNA>RNA>タンパク質>形質)、発現調節の仕組みという生物学的な概念を学ぶことができる。また組換え DNA 実験の原理、組換え実験を行う際の組換え DNA 実験の規則 (安全を保つきまり) や廃棄物の処理、更には、生物系実験の結果評価のやり方を学ぶこともできる。この授業を受けた生徒が、組換え DNA 実験を通じて生命科学の面白さに興味を持つキッカケや更に勉強する動機付けになろう。

本研修では、アメリカ合衆国の高校で広く使用されている市販教材 Biotechnology Explorer を用いて実験を体験し、授業方法について考察する。Biotechnology Explorer には、実習用試薬、器具ばかりでなく 50 分単位で授業ができるように教員用テキスト、生徒用テキスト、確認テストなど授業実施に必要な教材が含まれている。

この組換え DNA 実験を含む授業用キットでは、オワンクラゲ (*Aequorea victoria*) が持つ蛍光タンパク質である Green Fluorescent Protein (GFP) の遺伝子を大腸菌へ導入し大腸菌を形質転換することにより光る大腸菌を作製する系を使用する。すなわち GFP の遺伝子を大腸菌プラスミドのプロモーターの下流に組み込んだ組換え DNA (pGLO) を大腸菌 K12 (HB101 株) に導入し形質転換する。形質転換した大腸菌内では、GFP が産生され紫外線を当てることにより大腸菌は蛍光を発する。プロモーターはアラビノースオペロンのプロモーター配列を用いているため培地にアラビノースを添加するか否かで発現調節を行う。

このキットは良くできたものであるが、実際に授業を組む際に教員は、キットをそのまま使用するのではなく、生徒に何を教えたい

かの目的を明確にし、自分の授業の流れの中で遺伝子組換え実験を有効に取り入れることが大切であろう。

<実施予定>

8月27日（月）14:00-17:00

講義：

DNAの構造と組換え DNA 実験

実験を含む教育の主眼

実験原理と操作・廃棄物処理

Biotechnology Explorer キットテキスト使用方法

実習：

培地調製と無菌操作

大腸菌への GFP 遺伝子の導入と形質転換

8月28日（火）9:30-12:30

演習と講義： 形質転換結果の観察と実験データのまとめ考察

実習：

実験廃棄物の処理方法

本研修での講義・実習は、Biotechnology Explorer キットのテキストを中心に実施するが、テキストの補助教材としてこのプリントを使用する。

<Biotechnology Explorer テキストでの実習授業の流れ>

ページは、キットに含まれるテキストのページ数

(50分 x4 コマ)

●形質転換授業準備 (約3時間弱)

1.講義内容の準備

形質転換と遺伝子組換え：p. 1-2

遺伝子組換えについて：p. 30-34

付録（用語解説等）：p. 49-61

2.実習の準備 p. 3-15

使用器具の準備：p. 3-9

寒天プレートの準備：p. 10-13

スタータープレートの準備・試薬調製：p. 13-15

試薬分注：p. 15

使用した器具・試薬の殺菌廃棄方法を確認すること：p. 5

3. 実習講義内容の準備

使用器具・試薬・用語説明：p. 3-5

実験操作説明：p. 16-20（先生用）、p. 34-39（生徒用）

実験結果解説説明：p. 20-28（先生用）、p. 39-47（生徒用）

4. 遺伝子組換え講義と実習・演習（50分×4コマ）

Lesson 1 遺伝子組換えについて（講義） p. 30-34

下記の5項目を盛り込み講義します。

- ① 組換え実験と原理（宿主・ベクター）
- ② 遺伝子組換え実験の規則（実験室・滅菌方法）
- ③ 実験の結果評価方法
- ④ 遺伝子発現とセントラルドグマ（DNA>RNA>タンパク質>形質）
- ⑤ 発現調節の仕組み（プロモーター：種固有）

Lesson 2 遺伝子導入実験（実習） p. 34-39

実際に形質転換を行います。

Lesson 3 データの収集と分析（演習） p. 41-44

蛍光の観察とコロニーの有無を定性的に確認し、発現調節の仕組みを考えます。

Lesson 4 考察（演習） p. 45-48

形質転換効率を測定し、他のクラスメートの結果と比較して定量的に評価します。

注：上記での講義・実習・演習の定義

講義：先生からの一方通行が中心の授業

実習：先生の指示により生徒が手を動かし実際に実験してみる授業

演習：先生と生徒がディスカッションし双方向性のある授業

Biotechnology Explorer : 米国 Bio-Rad Laboratories 社が開発販売している遺伝子教育用教材

<実験の背景>

遺伝子工学と実習の位置付け

遺伝子工学技術には、特定の遺伝子クローンを得る遺伝子クローニング、得られたクローン化した遺伝子を他の細胞に入れる遺伝子導入、ならびに遺伝子の塩基配列や構造を決める遺伝子解析がある。この内いわゆる組換え DNA 実験と呼ばれるものは、遺伝子クローニングならびに遺伝子導入実験である。Biotechnology Explorer では、オワンクラゲが持つ蛍光タンパク質 (GFP) の遺伝子を大腸菌へ導入し大腸菌を形質転換する。この大腸菌内で GFP を発現させ光る大腸菌を作製する。この授業では、組換え実験の原理、遺伝子組換え実験の規則、実験の結果評価のやり方、遺伝子発現とセントラルドグマ、発現調節の仕組みを学ぶことができる。

遺伝子クローニング : 特定遺伝子のクローン化
目的細胞からのDNAまたはmRNA(poly A RNA) の抽出
遺伝子ライブラリーの調製 (cDNAライブラリー、ゲノムライブラリー)
プラークハイブリダイゼーションによる目的遺伝子のスクリーニング
DNAのクローン化 (単一分子化)

遺伝子導入 : 特定DNAの細胞への導入
目的遺伝子の抽出精製
形質転換、形質導入

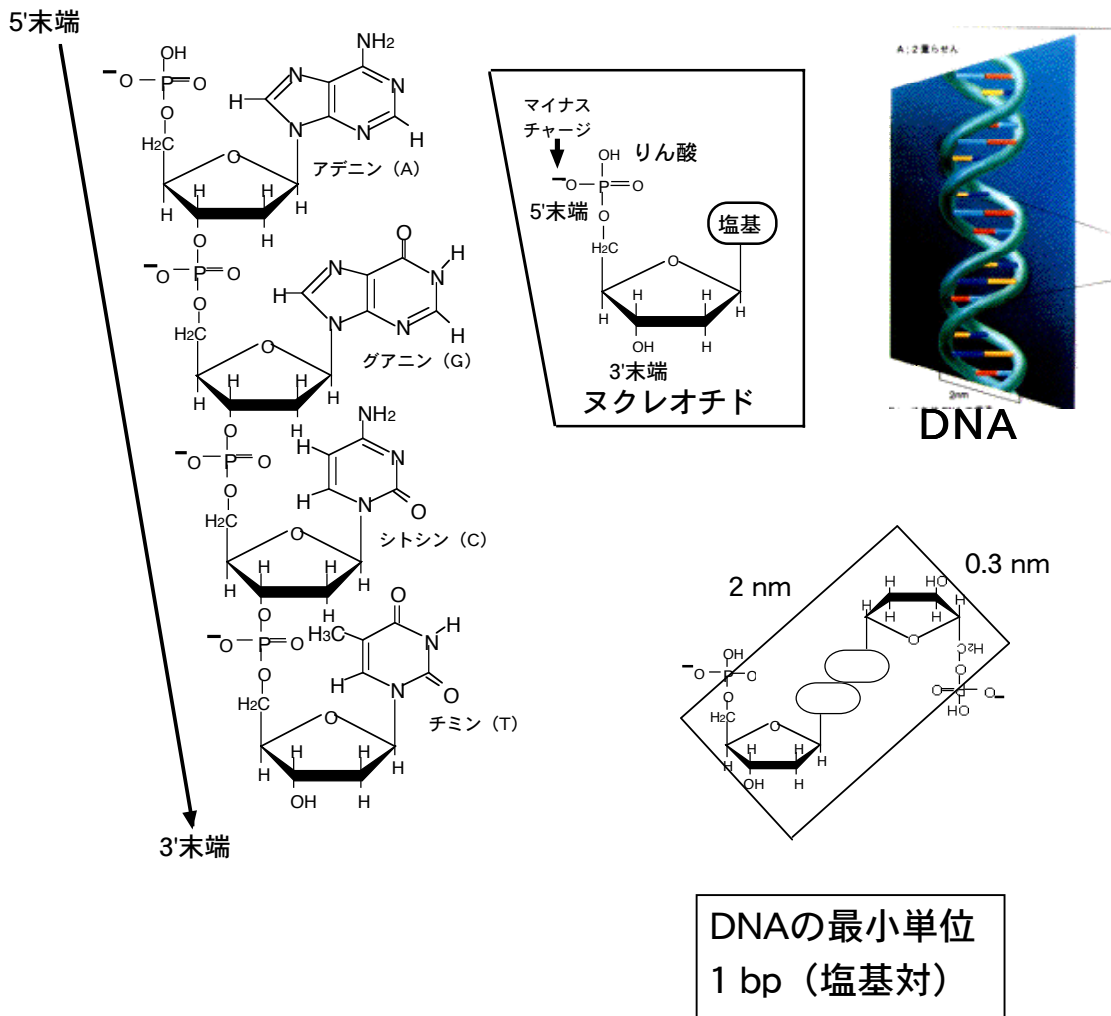
遺伝子発現
調節遺伝子による発現調節
発現タンパク質の抽出精製

遺伝子解析 : 塩基配列決定を含め配列に関わる遺伝子分析
DNAの抽出、mRNAの抽出と逆転写によるcDNA化

PCRによるDNAの増幅
制限酵素処理と電気泳動
サザン、ノーザンハイブリダイゼーション解析
シーケンシング (塩基配列決定)
変異・多型解析 (RFLP, SSCP, Heteroduplex解析)

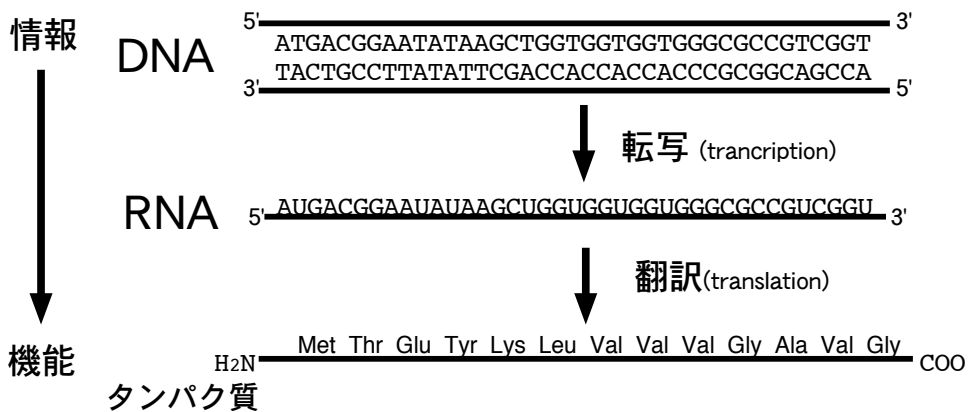
DNA とは

DNA は、デオキシリボースという糖に 4 種類の有機塩基並びにリン酸が結合したヌクレオチドがリン酸エステル結合した高分子である。この 4 種類の塩基の配列が遺伝情報をになっている。分子構造は図の様な繰り返し構造であり、解析しやすい。重らせんを形成に当たっては、G と C (水素結合 3 つ)、A と T (水素結合 2 つ) が、対となって結合する。 GC の含量は DNA の安定化に寄与している。また、リン酸のマイナスチャージは電気泳動で解析する場合に有効に作用する。



セントラルドグマ

DNA から RNA が転写され、更に Peptide に翻訳される。この流れはレトロウイルスを除く生物に共通である。遺伝情報は、この流れに沿って機能をもつタンパク質へと翻訳されていく。



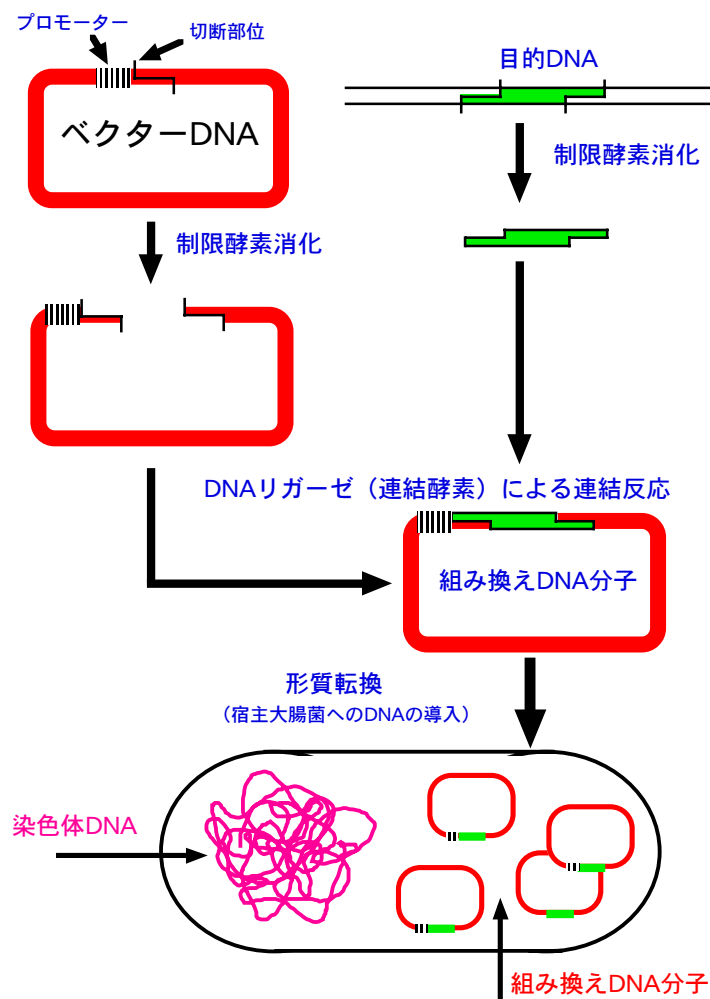
コドン表

DNA の AGCT の配列は 3 塩基を 1 単位 (コドン) としてアミノ酸に翻訳される。コドン表は、この暗号解読表である。(コドン表では、RNA の AGCU で表わしてある。)

第一塩基	第二塩基				第三塩基
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	-	-	A
	Leu	Ser	-	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

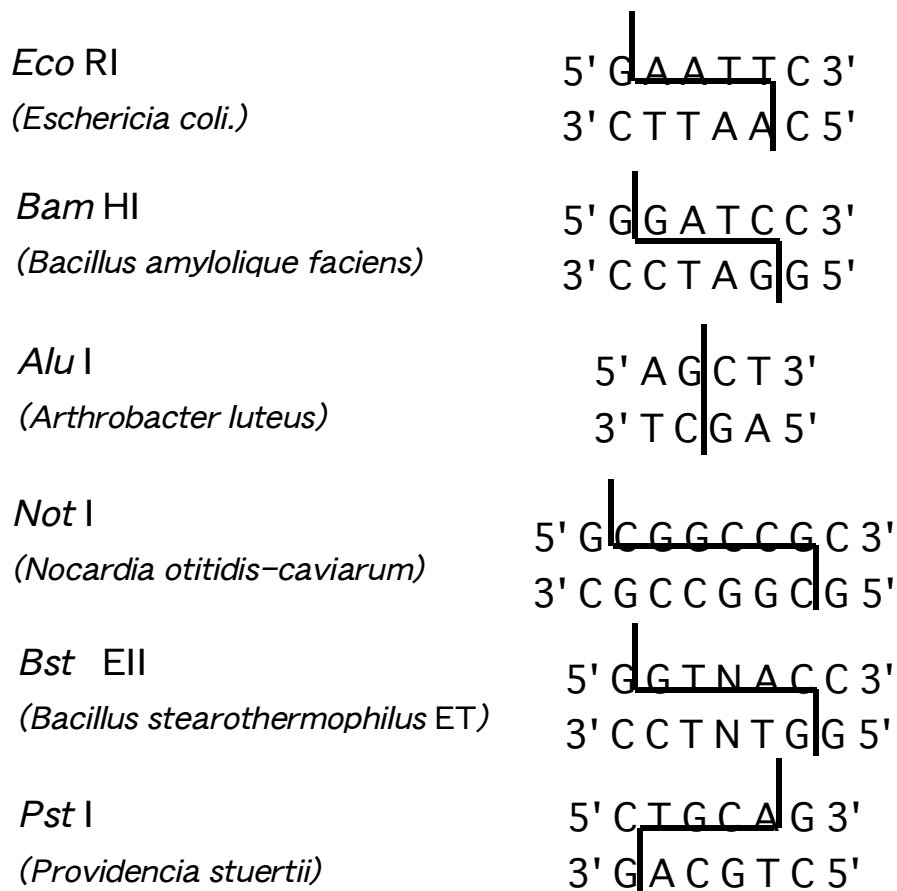
組換え DNA 実験

まず制限酵素による切断で目的 DNA を切り出す。一方プラスミドなどのベクター DNA も同じ制限酵素で切断した後、目的 DNA とベクター DNA を連結酵素（DNA リガーゼ）にて連結する。これを組換え DNA 分子という。この組換え DNA 分子を宿主細胞（下図では大腸菌）に導入することで、組換え DNA をもつ細胞ができる。ベクターのプロモーター領域などの調節遺伝子の下流に目的遺伝子を組み込んだ場合、遺伝情報に従い組換えタンパク質が宿主細胞のタンパク質合成系を用いて合成される。



制限酵素

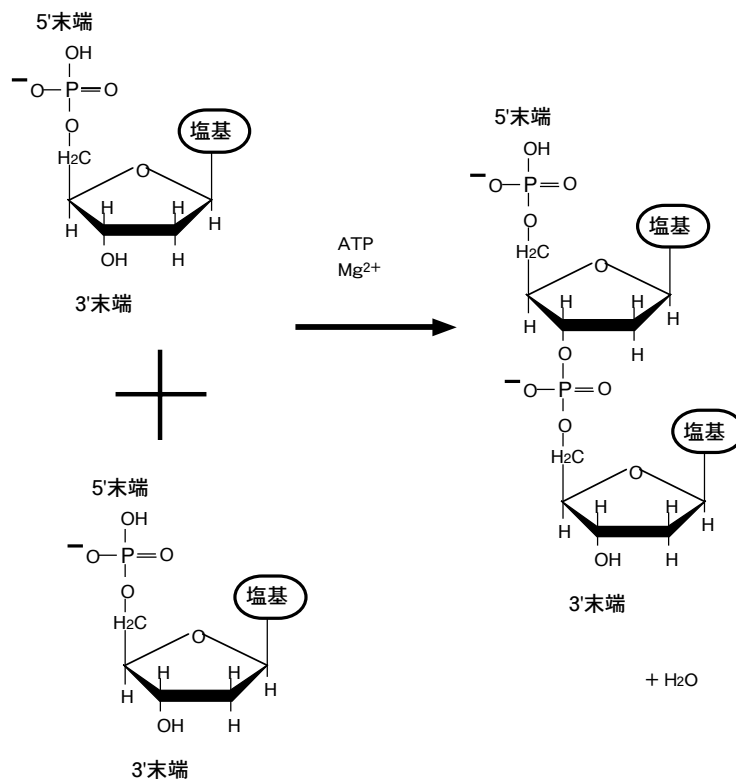
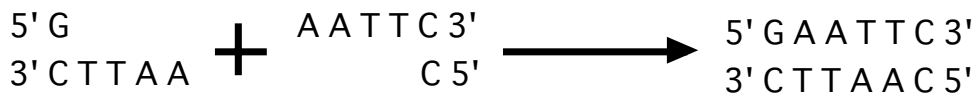
DNA を切断する酵素 (DNA 分解酵素 : DNase) には、DNA 鎖の途中を切断するエンドヌクレアーゼ (endonuclease) と DNA 鎖の末端から切断するエキソヌクレアーゼ (exonuclease) がある。エンドヌクレアーゼのうち、特定の塩基配列を認識し、この部位を特異的に切断する酵素を制限酵素 (restriction endonuclease) という。制限酵素は、現在までに 100 種類以上が市販されている。



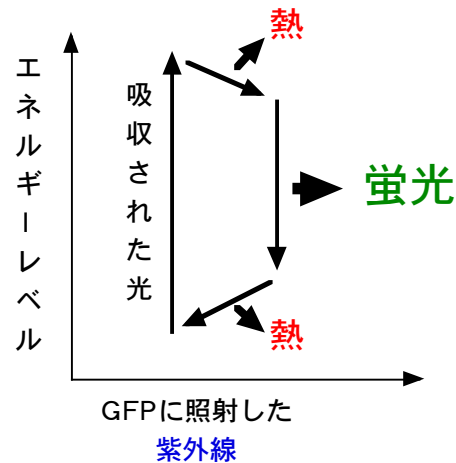
制限酵素には、4 塩基認識、6 塩基認識、8 塩基認識など色々な種類がある。何れも認識配列は回文構造 (palindorome) を持っている。命名は、その酵素が存在する微生物の名前に由来している。属名と種名の最初の 2 文字のイタリック体で示し、1 種類の菌で 2 種類以上の制限酵素が存在するときは、ローマ数字を付け区別する。また切り口は、5'または 3'側に突出している付着末端 (cohesive end) や平滑に切断される平滑末端 (blant end) がある。

連結酵素

2種類の DNA 鎖の 3'-OH と 5'-リン酸基を、ホスホジエステル結合で連結させ、いわば糊の役割をする酵素を DNA リガーゼ (DNA ligase) : 連結酵素という。よく用いられる DNA リガーゼには、大腸菌 DNA リガーゼ、T4DNA リガーゼがある。前者は、付着末端同志の連結に適し、後者は平滑末端同志の連結もできる。これらの酵素も各メーカーから市販されている。



Green Fluorescent Protein (GFP) とは



GFP は発光オワンクラゲ *Aequorea victoria* に含まれる緑色蛍光タンパク質である。オワンクラゲにはフォトサイト と呼ばれる発光組織があり、この組織中にイクオリンと GFP の 2 つの発光分子が結合して存在している。外部から刺激を受けた場合、イクオリンはカルシウムと結合し、エネルギーが生産されている。そのエネルギーが GFP に受け渡されて緑色の蛍光を発する。一方、単離された GFP にエネルギーが高い光である紫外線を照射した場合でも GFP は、蛍光を発する。GFP は、27kDa (分子量：27000) のタンパク質で分子内部に発色団をもっているため紫外線を当てると GFP に照射された光のエネルギーの一部が蛍光として放出され GFP タンパク質自身が光る。

$E = Nhc / \lambda$ エネルギーは光の波長に反比例する。つまり紫外線のような波長の短い (青色系の) 光のエネルギーは高く、赤外線のような波長の長い (赤色系の) 光のエネルギーは低い。

E : エネルギー

λ : 波長 (nm)

N : アボガドロ数 (6.02×10^{23})

h : プランク定数 (1.58×10^{-37} kcal/mol)

c : 光速 (3×10^8 m/s)

蛍光は、始めに照射した光よりもエネルギーが低い光 (長波長) となる。

プラスミド pGLO の構造

プラスミド pGLO は、オワンクラゲ由来の Green Fluorescent Protein (GFP) 遺伝子の他に GFP 遺伝子のプロモータ (pBAD) および GFP の発現調節に関わるタンパク質 (Ara C) の遺伝子 Ara C がある。更には抗生物質アンピシリンを分解する酵素 (β ラクタマーゼ: Bla) の遺伝子をもつ 5371 bp の組換えプラスミドである。

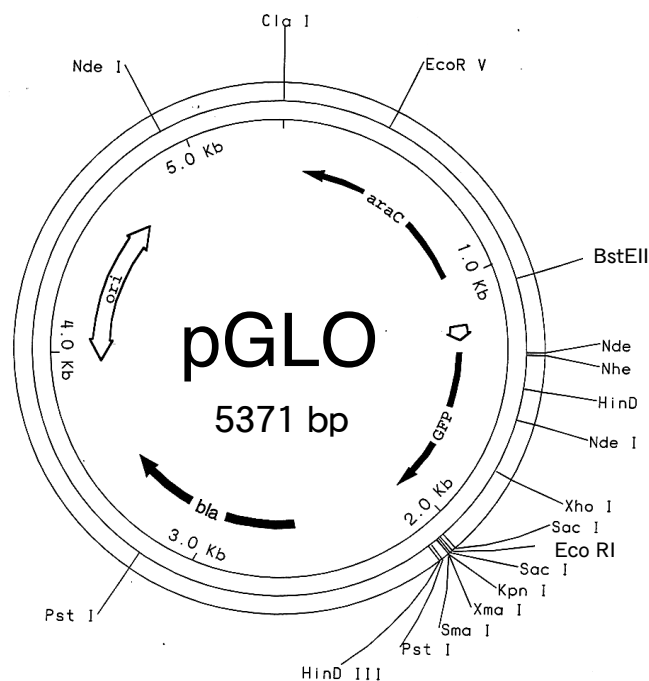
注:

プロモータとは、RNA ポリメラーゼが結合する配列のこと。

β ラクタマーゼ (β lactamase: Bla) は、アンピシリナーゼ (ampicillinase) ともいう。

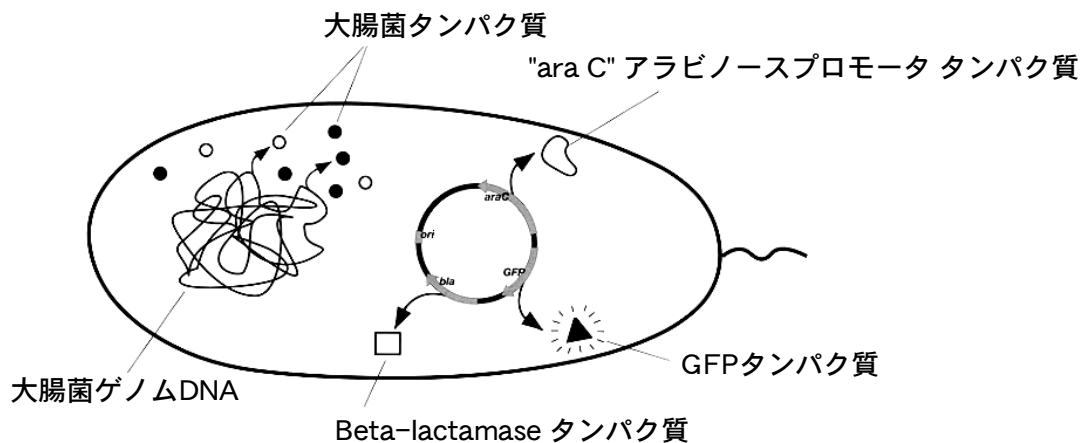
β ラクタマーゼの遺伝子をアンピシリン耐性遺伝子ともいう。




プラスミド pGLO の全塩基配列は、参考資料参照



pGLO プラスミド導入大腸菌におけるタンパク質の発現

Green fluorescent protein (GFP) の遺伝子を含むプラスミド pGLO を大腸菌に導入し形質転換 (Transformation) した場合 GFP ばかりでなく Beta-lactamase タンパク質やアラビノースプロモータ結合タンパク質も発現される。このため、培地にアンピシリンを添加した場合でも、形質転換した大腸菌は、生育できる。また、GFP の発現は、培地にアラビノースが存在するか否かによって左右される。

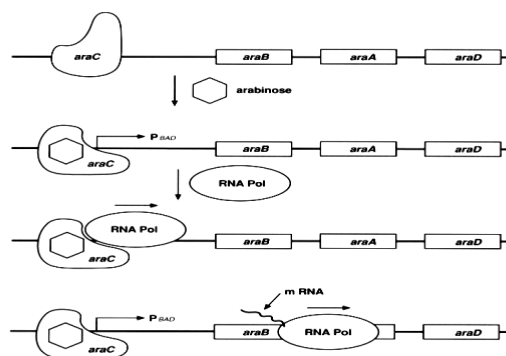


- "GFP" Green fluorescent protein
クラゲ由来の蛍光タンパク質の遺伝子 
- "bla" Beta-lactamase=Ampicillinase=アンピシリン
分解酵素の遺伝子=アンピシリン耐性遺伝子 
- "araC" GFP発現調節タンパク質 "araC" 遺伝子
アラビノースプロモータタンパク質の遺伝子 

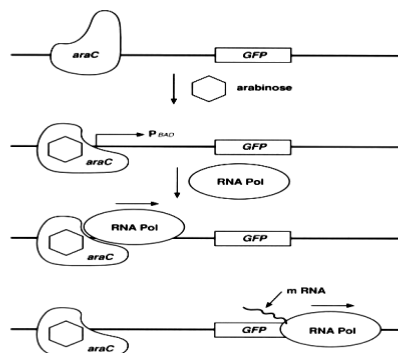
遺伝子発現調節

アラビノース分解酵素遺伝子のアラビノースオペロンには、分解酵素の遺伝子である *araB*, *araA*, *araD* およびプロモータ配列 *P_{BAD}* が含まれており、プロモータの調節は、タンパク質 AraC で行われている。培地にアラビノースが存在しないときは、AraC は *P_{BAD}* の付近に結合しているが、アラビノース存在下では、AraC の立体構造の変化により *P_{BAD}* が現われ RNA ポリメラーゼにより、構造遺伝子は発現する。AraC タンパク質が *araB*, *araA*, *araD* などの構造遺伝子の発現調節を行っている。

アラビノースオペロン



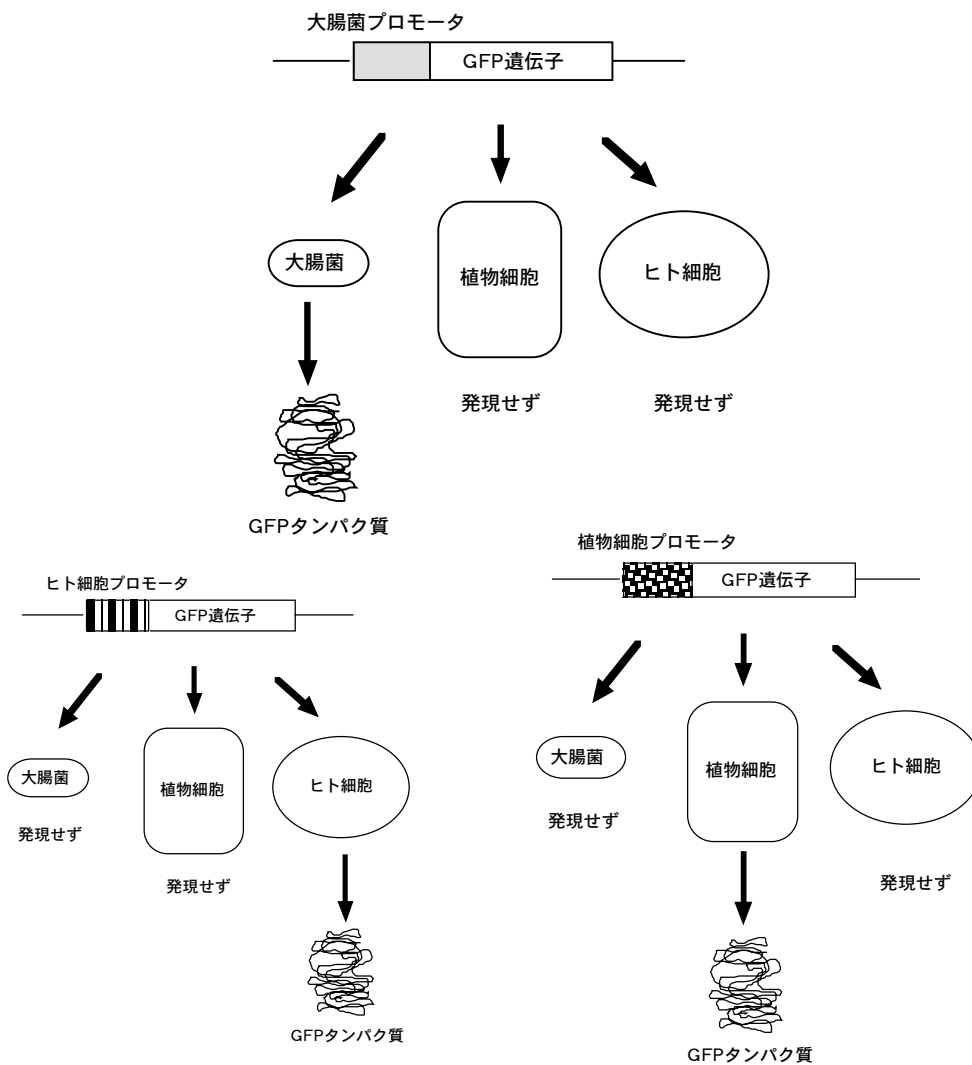
GFPタンパク質の発現



プラスミド pGLO は、*araB*, *araA*, *araD* の代わりに、オワンクラゲの GFP 遺伝子が組み込まれている。この GFP の発現は、AraC タンパク質により調節されている。そこで培地にアラビノースを加えるか否かにより GFP の発現調節を行うことができる。

プロモータと遺伝子発現

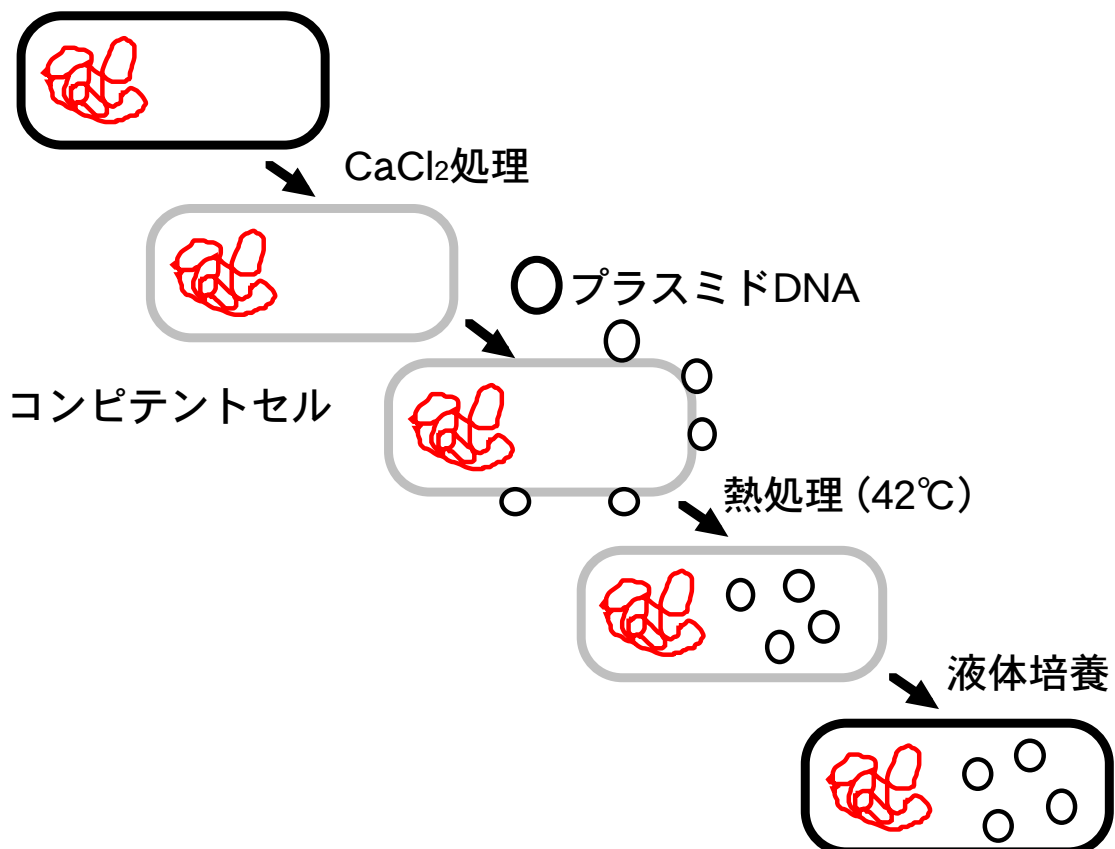
生物種によりプロモータや調節遺伝子は異なる。実験では、大腸菌のプロモータ配列 PBAD を含むプラスミドベクターに組み込んだ GFP 遺伝子を用いている。しかし、このプラスミドを植物細胞やヒト細胞に導入して培地にアラビノースを加えても GFP は発現しない。これは、生物種ごとに RNA ポリメラーゼも異なりプロモータ配列も異なるためである。下図では、大腸菌プロモータ配列をもつベクターに組み込んだ GFP 遺伝子は、大腸菌のみで発現している。一方、植物細胞プロモータ配列をもつベクターに組み込んだ GFP 遺伝子は、植物細胞のみで発現する。ヒト細胞でも同様である。



大腸菌への遺伝子導入

大腸菌は細胞膜／細胞壁をもち、通常ではプラスミドのような大きな分子は内部に入り込めない。大腸菌を 50 mM 程度の CaCl_2 処理することによりプラスミドを取り込めるコンピテント細胞 (competent cell) となる。更に Ca イオンにより DNA のマイナス電荷が中和されマイナス電荷をもつ細胞表面からの反発が防がれプラスミドは効率良く大腸菌の中に取り込まれる。実験に際しては、 42°C での熱処理と短時間おこなうことで更に導入効率をあげることができる。実験で用いる形質転換用緩衝液が、50 mM CaCl_2 を含む溶液である。

コンピテントセルを用いた化学的遺伝子導入法



教育目的組換え DNA 実験に際しての注意点

教育目的の組換え DNA 実験に際しては、実験申請手続きが済んでいることを確認した後に、実験系、実験者、実験室環境を守るために幾つかの注意が必要である。

- ① 実験中は、ドアを閉めて閉鎖系にする。
- ② 実験前および実験後には、必ず手を洗う。
- ③ 実験台は、70%エタノール溶液を噴霧し殺菌してから使用する。
- ④ 実験に使用する水は、蒸留水、イオン交換水もしくはこれらよりも高純度な水を用いる。
- ⑤ 使用する器具、試薬は、予め全て滅菌する⁽¹⁾。
- ⑥ プラスミドなど DNA を扱う場合は、会話などによる唾液からの DNase の混入を避ける⁽²⁾。
- ⑦ 使用した菌、プレート、器具、試薬は、全てオートクレーブ滅菌⁽¹⁾もしくはそれに準じた方法にて滅菌した後、廃棄⁽³⁾する。
- ⑧ 紫外線を使用する際には、ゴーグルもしくはフェイスシールドを使用して目を保護する。

(1) 滅菌

キットを用いる場合、キット中の器具、試薬は予め滅菌してある。しかし、ピペットやチューブなどをキット以外に購入し使用する場合は必ず滅菌してから用いる。この滅菌は、菌のコンタミを防ぐばかりでなく混入した DNase を失活させる目的がある。また、実験後にも同様に滅菌する。滅菌方法には以下の方法があるが、主に用いる方法は、オートクレーブ滅菌である。

○高圧蒸気滅菌；オートクレーブ滅菌（121℃、15-20分）

実験前では、タンパク質成分など熱に弱い物質を含まない溶液の滅菌に用いる。また、ポリプロピレン製のチューブ、チップ、更にはマイクロピペットを滅菌する時にも用いる。この場合、オートクレーブ滅菌後 60℃程度で乾燥させてから使用する。実験後には、使用したチューブ、ピペット、プレート、菌を含む培地など全て滅菌する。

オートクレーブが設置されていない場合は、圧力釜などで代用する

ことも可能である。

○乾熱滅菌（160℃、1-2時間）

乾熱滅菌器を用い、主にガラス器具の滅菌に用いる。

○火炎滅菌

火であぶります。白金耳の滅菌など植菌の際に用います。

○ろ過滅菌

オートクレーブにかけられない血清などのタンパク質や抗生物質を含む溶液の滅菌に用いる。

○ガス滅菌

エチレンオキシドガスで置換し滅菌する。熱に弱いプラスチックプレート（ポリスチレンやポリエチレン製）の滅菌に用いる。通常の使い捨てで用いるプラスチック製品すでにガス滅菌してある場合がある。

オートクレーブ滅菌の際の注意：タンパク質や抗生物質などの熱に弱いものを含む溶液の場合、抗生物質などは溶液をオートクレーブした後添加する。

（2）DNA 分解酵素

DNA は安定な物質であるが、 Mg^{2+} イオン依存性の DNA 分解酵素（DNase）により簡単に分解されています。DNA 分解酵素は、細胞内ばかりでなく唾液・血液・その他の体液中にも存在し、実験中に実験者から混入する場合があります。これを防ぐためには、実験系にキレート剤である EDTA を添加したり、実験中会話をしないようにする。

（3）実験終了後の器具・試薬・大腸菌の処理方法

組換え実験に使用した器具／試薬／組換え大腸菌は全て滅菌してから廃棄する。滅菌方法は、オートクレーブ滅菌が原則である。

菌をまいたプレートは、オートクレーブ滅菌後、最終的には産業廃棄物業者に処置してもらおう。ゴミの処理方法は、各都道府県により方法が異なるため、各地区の方法に沿って行う。

<組換え DNA 実験 (形質転換)>

形質転換方法

エペンドルフチューブ

+DNA, -DNAのラベルをつける。

←形質転換用緩衝液 250 μ l
(+DNA, -DNA両チューブ)

氷中に静置

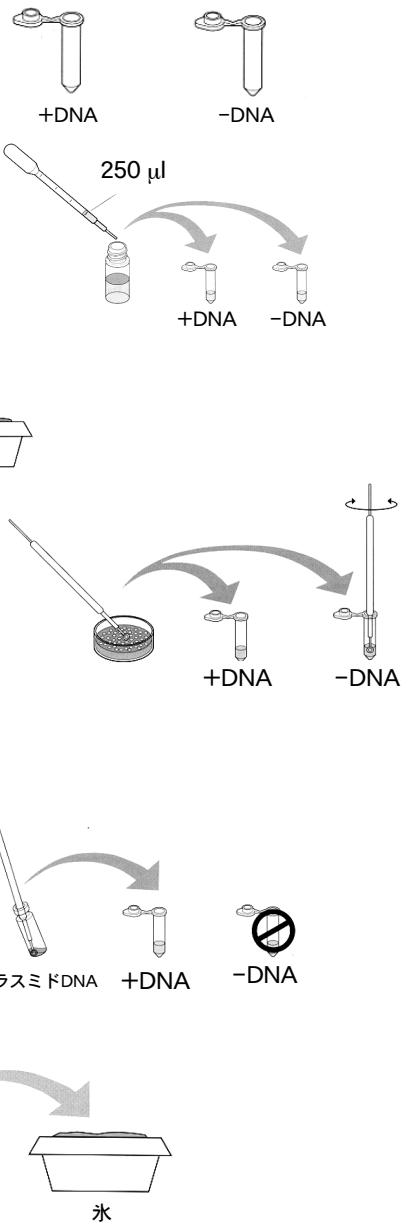
←大腸菌 (HB101) 1ループ
(+DNA, -DNA両チューブ)

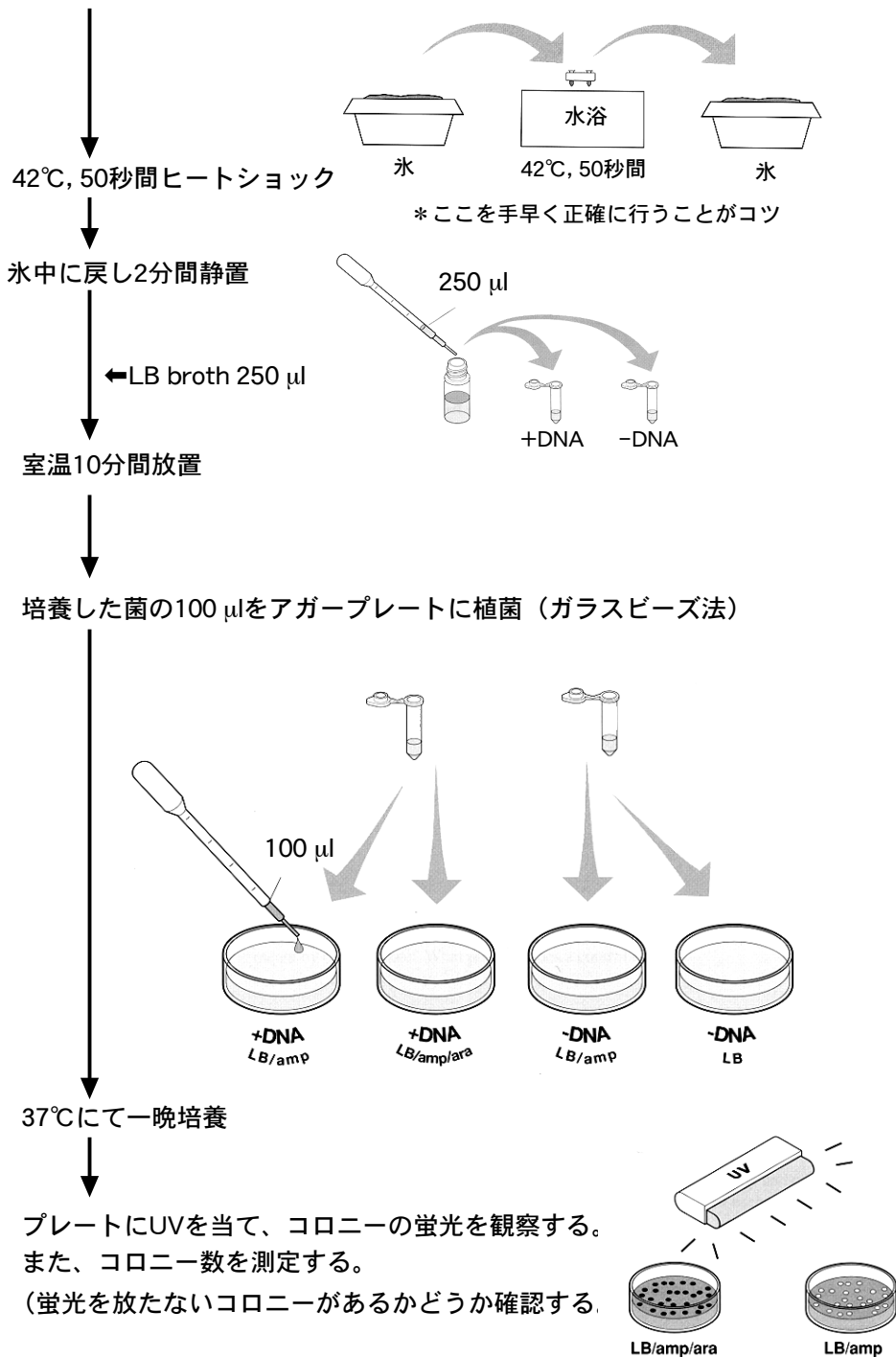
←プラスミドDNA 1ループ
(+DNAチューブのみ)

氷中に10分間静置

ラック

氷



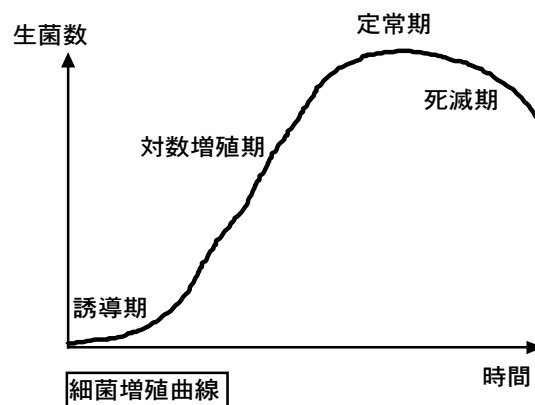


実験のポイント

実験のポイントとなるステップを示す。実験の各ステップで何が起きているかも下記に示す。

① 使用する菌の増殖状態と数

スタープレートからの大腸菌の増殖状態と数は、形質転換効率に影響する。前日から培養した増殖中の菌を用いコロニーの大きいものを選び1ループ十分量を採取する必要がある。コロニーの周縁部は、増殖が盛んな状態（増殖曲線の対数増殖期）である。このため大きいコロニーを選べば増殖の盛んな菌を多く採取できる。また長期間培養した菌は用いない。



② 菌を形質転換緩衝液に添加した後、氷中で保温

形質転換緩衝液は、塩化カルシウム溶液である。このため菌は、不安定な状態である。特にプラスミドを混ぜる時やヒートショックを行う際に、室温に放置しないように注意する。また、製氷機を使用できない場合は、氷を木槌などを用い十分に破砕して用いる。チューブが十分に氷に接する状況を作ることが大切である。

③ プラスミド DNA を確実に採取

プラスミド DNA を、1ループ正確に採取する。この際、ループにプラスミド DNA 溶液は“シャボン玉”のように表面張力で付着しているので自分の目で見て付着していることを確認してから菌に添加する。採取後に“シャボン玉”が割れることがある。

④ ヒートショック

ヒートショックは、氷中 > 42℃・50秒 > 氷中、と連続的に温度差をつけなければならない。この温度差により大腸菌の膜の流動性

が変わりプラスミド DNA が菌の中に入り込める。氷に漬ける前に室温に出すと菌は弱まり、ヒートショックにもならないために注意する。

⑤ LB broth 添加後の放置

この放置中に β lactamase が発現する。この放置を行わなければ、抗生物質が分解できず、抗生物質存在下で生育できない。

⑥ 液の混合

バイオ実験では、混合が重要である。この実験においても菌と DNA の混合（懸濁）を充分に行う。

実験結果のまとめ

Biotechnology Explorer キットのテキストでは、実験を 50 分ずつに分けて各授業ごとに目標を設定し、授業後に確認試験を行う形式である（本適テキスト 3 ページ参照）。本研修では、Lesson 3、4 の一部についてテキストに従い実施してみる（Explorer キットのテキスト：22-28 ページ、40-46 ページ）。

まとめのポイント

⑥ 情報と機能、セントラルドグマ

GFP 遺伝子を含むプラスミド DNA は、紫外線で光らない（Explorer キットのテキスト 17 ページ）が、アラビノース添加培地のコロニーは紫外線で光る。DNA は情報であり光るという機能を持たないが、大腸菌に導入し GFP タンパク質を発現させると GFP タンパク質が光る。

②発現調節

プラスミド DNA を導入した大腸菌は、培地にアラビノースを加えると、アラビノースは araC タンパク質と結合し構造変化が起こりプロモータ配列が現れる。このために GFP は発現する（本テキスト 13 ページ参照）。アラビノースは発現スイッチの ON/OFF ができる。この際プロモータ配列が大腸菌のものであることが前提となる（本テキスト 14 ページ）。

③対照実験の置き方

抗生物質（アンピシリン）の効果、アラビノースによるタンパク質

発現スイッチの ON/OFF、そもそも実験系が成立しているか否か(菌が入っているかどうか、実験の再現性はどうかなど)などは、どのプレートと比較したらよいか確認する。

④実験再現性

参加者全員のコロニー数のデータを比較し、この実験の実験者間再現性を調べ、バラツキの原因を考察する。

⑦ 菌の増殖

形質転換後、翌朝すぐに観察後、昼食時、研修終了時に観察しコロニーの大きさや光具合を観察する。菌の増殖に従いコロニーは大きくなり蛍光強度も強くなることを確認する。

<参考図書>

「遺伝子工学キーワードブック」

遺伝子関連事項の辞書。ふんだんに絵が取り込んであり、遺伝子工学やゲノム科学を勉強するには便利な辞書
緒方宣邦／野島博著 羊土社

「バイオテクノロジーは、わかるとおもしろい」

バイオ研究の経験豊富な著者が身近な問題からバイオをとらえます。専門外のひとでも楽しく読める本。授業でのトピックスにも使えます。
山本良平著 オーエス出版社

「図解 微生物実験マニュアル」

バクテリア、カビ、酵母などの微生物に関する基礎的内容から、無菌操作や培養方法など微生物取り扱いの基本が実験操作の豊富な写真を用いて判りやすく解説されています。
安藤昭一編著 技報堂出版

「バイオ実験超基本 Q&A」

なぜ白衣は着るの？ DNA を扱う基本は何？データベースは実験でどのように使うの？ 遺伝子実験に必要な知識は何？ バイオ支援企業ってどんな会社？ など実験技術者に必要な超基本を Q&A 形式で解説
大藤道衛著 羊土社

<参考資料>

1.ゲノム／遺伝子／DNA

●**ゲノムとは**、その生物の遺伝情報の 1 セットのことである。すなわち「その生物の設計図」である。生殖細胞 (Haploid) では 1 セットの、体細胞 (Diploid) では、2 セットのゲノムがある。ゲノムの物質としての実体は DNA であり、情報を刻んでいる文字は、DNA の 4 種類の塩基、すなわちアデニン (A)、グアニン (G)、シトシン (C)、チミン (T) の配列である。ヒトの場合ゲノムは常染色体 22 対、性染色体 1 対の合せて 23 対の染色体上にある。ヒトのゲノム 1 セットは、30 億塩基対である。長さは約 1 メートルである。すなわちヒトの体細胞では、父親由来のゲノム 1 セットと母親由来のゲノム 1 セット、合計 2 セットの 60 億塩基対からなっている。ゲノムには、遺伝子ばかりでなく遺伝子以外のまだ機能が明らかになっていない配列も含まれる。すなわちゲノム=遺伝子ではない。なお、ゲノムという用語の由来は、gene+chromosome=genome である。

実験においてゲノム DNA (genomic DNA) は、ヒトでいえば、体細胞から抽出した DNA のこと。また、大腸菌ではから取り出した染色体 DNA である。これに対して実際に発現したすなわち mRNA となった DNA 配列は、mRNA から逆転写した cDNA として得られる。

●**遺伝子とは**、DNA のうちタンパク質の情報をもっている配列である。一昔前に”1 遺伝子 1 酵素”、”1 遺伝子 1 ペプチド”という考え方があったが、基本的には一つの遺伝子は、一つのタンパク質の情報をもっている。しかし現在では、一つの遺伝子が複数のタンパク質の情報を持っていることもあると分かった。これは Alternative splicing により一つの遺伝子の情報から複数のタンパク質ができることもあるためである。また、高等生物では Post translational modification (翻訳後修飾) により多くのタンパク質が作られる。ヒトの場合、DNA には、タンパク質の構成成分であるアミノ酸配列の情報を持っているエクソン(exon)とその間を繋ぐイントロン(intron)という配列からなっている。遺伝子は、mRNA を介してあるタンパク質を作る (発現させる) ために必要な情報、

すなわちプロモータ、エクソン、イントロン含めた配列である。ただし大腸菌のような原核細胞では、イントロンはない。ヒトの場合、30 億塩基対のうちアミノ酸の情報を持っている配列は、2%程度といわれている。国際ゲノムプロジェクトにより、次々に各染色体の配列が決められ遺伝子も同定された。2000 年 6 月 26 日には、ドラフトシーケンスは完成したとの発表がなされたことも記憶にあたらしい。1999 年に発表された慶應義塾大学清水信義のグループの 22 番染色体（全体の約 1%）の結果では、545 個の遺伝子(1)が、また 2000 年に発表された理化学研究所ゲノム科学総合研究センターの榊佳之・服部正平のグループの 21 番染色体（22 番よりもやや大きい）の結果では、225 個の遺伝子が発見されている(2)。2001 年 2 月の"Nature"には、ヒトの遺伝子数は当初の予想していた 10 万個よりもかなり少なく 3 万個程度と云われている(3)。

●**DNA とは、**核酸の一種で有機塩基、糖でできたヌクレオシド（nucleoside）が、リン酸を介してリン酸エステル結合した二重らせん構造の高分子ヌクレオチド（nucleotide）で遺伝情報を有機塩基であるアデニン（A）、グアニン（G）、シトシン（C）、チミン（T）の配列として持っている。DNA は、リン酸基があるため中性付近でマイナス電荷をもつ似た構造の繰り返し配列であるため、ゲル電気泳動で分析が可能となる。また、A と T、G と C の塩基同士は水素結合で特異的に結びついており熱や変性剤により変性し、変性剤を除くと再生する。更に G-C では、3 本の水素結合が、A-T では、2 本の水素結合をもつため塩基配列により結合の強さが違う。この性質を利用して PCR による特定 DNA 配列の増幅やハイブリダイゼーションによる特異的な配列検出が可能となった。

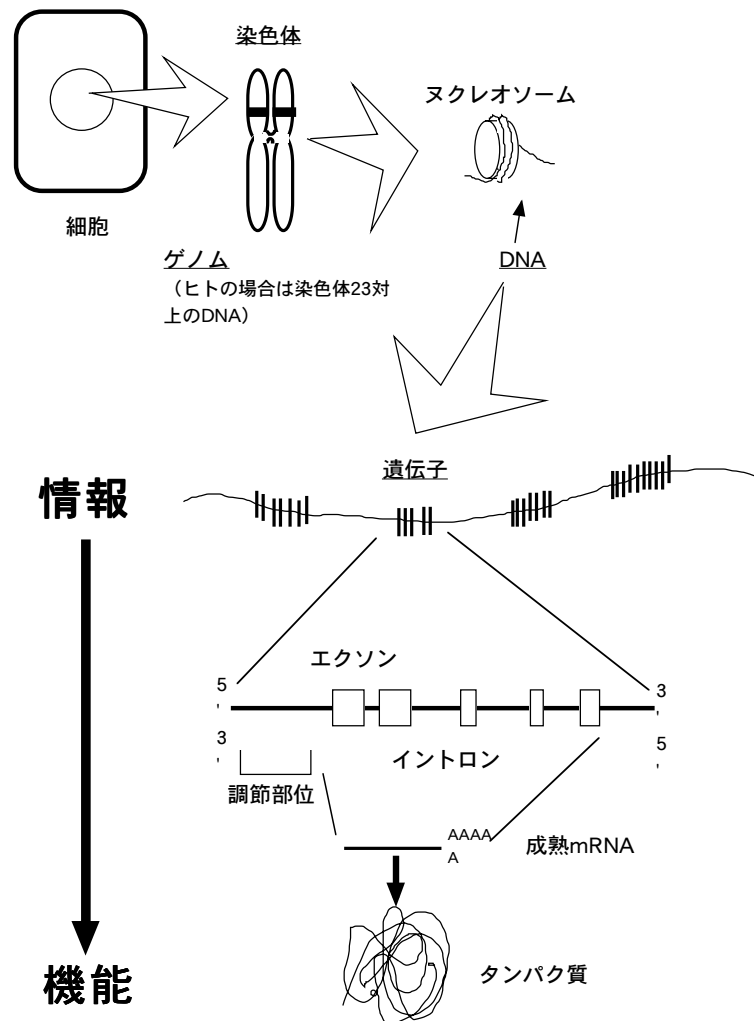
(1) Dunham, I. et al.: "The DNA sequence of human chromosome 22": Nature, 402: 489-495, 1999

(2) Hattori M. et al.: "The DNA sequence of human chromosome 21": Nature, 403: 311-319, 2000

(3) International Human Genome Sequencing Consortium: "Initial sequencing and analysis of the human genome": Nature, 409: 860-921, 2001

●遺伝子と発現

ヒトを含む高等生物では相同染色体がある。また遺伝子は、イントロンにより分断されたエクソンとして存在し、原核細胞である大腸菌とは、異なる構造を呈している（下図）。しかしどの生物においても遺伝子は、プロモータを含む調節配列で発現調節され、遺伝情報は機能をもつタンパク質と移行する。このプロモータの配列や調節配列は、生物固有の配列であるために、大腸菌で発現させた遺伝子を他の生物で発現させるためには、異なる調節配列を用いなければならない。



2.ゲノム／トランスクリプトーム／プロテオーム

ゲノムとは、その生物の遺伝情報の 1 セットのことである。すなわち「その生物の遺伝情報」＝「その生物の設計図」である。

これに対し、実際に生物の細胞内では、タンパク質が実際の生理作用すなわち機能をになっている。糖や脂質の代謝も酵素タンパク質にコントロールされている。「情報から機能へ」これがゲノム→トランスクリプトーム→プロテオーム→メタボロームの流れである。

ゲノム情報により発現したその細胞の mRNA 全部が、ゲノムに対しトランスクリプトーム (Transcriptome=transcription+genome) である。この意味には、mRNA の種類と量が含まれる。すなわちゲノムの遺伝情報のうち転写 (transcription) された情報という意味です。しかし、受精して卵割を初めてから生まれ落ち成長して死ぬまでに、常に発現している遺伝子もあれば、特定の時期にしか発現しない遺伝子もある。また、脳でのみ発現する遺伝子もあれば、そうでないものもある。ある病気の時に発現が高まる遺伝子もある。このように、トランスクリプトームは、ゲノムと異なり、その生物の成長時期、細胞の種類、病態などにより異なる。厳密に言えばトランスクリプトームは、時系列的に変化しているのである。このトランスクリプトームの解析には、DNA チップやマイクロアレイなどが役立っている。

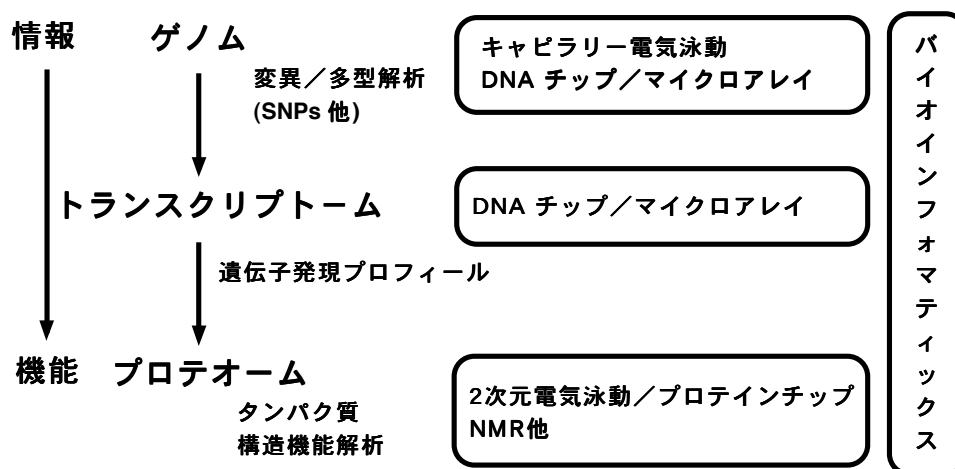
トランスクリプトームとは、情報から機能への橋渡しに相当する。この研究分野を機能的ゲノミクス (Functional genomics) と呼ぶことがある。

プロテオームは、発現しているタンパク質全部ということである。この意味は、タンパク質の種類と量が含まれる。しかし、プロテオームは、転写された mRNA の全て (トランスクリプトーム) の内容とは、完全には一致しない。これは、糖鎖などの翻訳後修飾 (post-translational modification) や前駆体と酵素本体、ポリマー化など翻訳後タンパク質になってからの変化も伴うためである。このプロテオームが、細胞の機能に関係しているのである。ゲノムは、その生物の設計図であるからその生物個体に 1 セットである。しかし、プロテオームは、受精から死ぬまで、細胞により、また時期により変化する。このため此処のステージでのプロテオームの状況を

物として見えるようにすること、すなわちプロファイリング (profiling) することが必要である。このプロテオーム／プロファイリングには、2次元ゲル電気泳動が用いられているが、更にここに MALDI-TOF-MAS 組み合わせの解析も行われている。またタンパク質自体の立体構造の解析には NMR も用いる。更に新しい技術も開発されつつある。このようなプロテオームの研究分野を、「プロテオミクス」(Proteomics) という。

代謝中間体を含めた代謝産物全部をメタボロームという。プロテオームを調べるようにメタボロームも時事刻々と変化して行く。解析方法も、多種類の間産物を同時に見る方法は確立していない。一方、ゲノム情報や、現在ある中間代謝物の情報を基に、コンピュータ上でのバーチャル細胞を用いて解析する試みもなされている。

ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームの順番で情報は、増えて行く。また、ゲノムプロジェクトの完成を基準に考えると 2001 年現在では、ゲノム情報を用いた科学やトランスクリプトーム以降の研究分野をポストゲノムということもある。このため、従来の個々の遺伝子やタンパク質の解析からスタートした考え方からゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームという生物の情報や機能の固まりとして捉え、これらを情報工学的な技術 (バイオインフォマティクス) をもちいて考えてゆくゲノムサイエンスという考え方である。



ゲノム・トランスクリプトーム・プロテオームの関係と解析技術

ゲノムからプロテオームへ、すなわち情報から機能への流れを示す。ゲノム／トランスクリプトーム／プロテオームの解析には、キャピラリー電気泳動（キャピラリー型シークエンサー）、DNA チップやマイクロアレイなどの技術が必要である。

3.組換え体の封じこめについて

遺伝子組換え体は、自然界に存在しないものである。このため組換え DNA 実験を行う場合、その宿主—ベクターのレベルに応じ異なる区域で実験する必要がある（物理的封じ込め）。また、宿主自体も特定の培養条件でなければ生育できないよう外界と区別されている（生物学的封じ込め）。

1. 物理的封じこめ（Physical containment）

物理的封じこめには、P1-4 のレベルがある。（P は、Physical の頭文字）組換え体の実験室外に漏出するのを防ぐための実験施設レベルである。

各レベルの概略を下記に記します。実験指針では、具体的なウイルスや細菌を取り扱う際の危険度、安全性等をふまえ、どの材料を使用する場合にはどの封じ込めレベルの施設で行えば良いかの基準が定められている。管轄省庁の組換え DNA 実験指針に詳細が記されている。

<P1 レベル>

オートクレーブ等の滅菌装置が設置された通常の微生物実験室で、実験中は窓や扉が閉められる区域。

教育目的組換え DNA 実験は P1 レベルの施設であれば問題なく実施できる。

<P2 レベル>

P1 レベルの条件に加え、安全キャビネットが設置、稼動できる区域。実験中は、“P2 レベル実験中”の表示を入りに掲げる必要がある。

<P3 レベル>

P2 レベルの条件に加え、実験室内を陰圧（空気が出入口から室内の方向に流れる状態）となる区域で、専用の無塵衣に着替えるための前室（他の区域と隔離できるように、前後の扉は同時に開かない

構造であること) とエアシャワーなどが備えられている。
また、実験区域の床や天井は容易に洗浄できるようになっている必要がある。

<P4 レベル>

P3 レベルの条件に加え、クラス III 安全キャビネット (クローブボックス) を使用する。

実験室専用の給排気装置が備えられ、シャワー室も備えられている。

普通の研究所では、P2 か P3 レベルまでの施設を保有しており、P4 は日本国内で限られた施設だけです。

2. 生物学的封じ込め (Biological containmant)

特定の培養条件でなければ生育できない生物もしくは、組換え体が、万一実験室外に洩れでたととしても死滅してしまうような宿主、ベクターを用い、組換え体の拡散を防ぐ事。B1、2 がある。(B は、Biological containmant の頭文字) 大腸菌 K12 株とプラスミドの組み合わせは、B1 である。

教育目的組換え DNA 実験では、B1 レベルの系を用いる。

3. 組換え DNA 実験管理規則と安全委員会

研究目的で組換え DNA 実験を行う研究所などの施設では、管轄省庁の指針に基づいた組換え DNA 実験管理規則を作製し、安全委員会を設置して初めて実験ができる。

安全委員会は、組換え DNA 研究者、他の分野の研究者、人文社会研究者、医学研究者、医師などで事業所ごとに構成される。

しかし、PCR 実験や制限酵素処理と電気泳動、シーケンシングなど組換えを伴わない遺伝子実験は、この規則には関わらず実験ができる。

教育目的組換え DNA 実験では、文部科学省の組換え DNA 実験指針の教育目的組換え DNA 実験指針に従って実施することにより安全委員会の設置は必要ない。

4. プラスミド pGLO の全塩基配列と遺伝子のタンパク質配列

GeneBank data より

GeneBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank>

1: U62637 Cloning vector PubMed, Protein, Related Sequences, Taxonomy

pBAD-GFPuv,
complete sequence

LOCUS CVU62637 5371 bp DNA SYN 14-AUG-1996

DEFINITION Cloning vector pBAD-GFPuv, complete sequence.

ACCESSION U62637

VERSION U62637.1 GI:1490531

KEYWORDS .

SOURCE Cloning vector pBAD-GFPuv.

ORGANISM Cloning vector pBAD-GFPuv
artificial sequence; vectors.

REFERENCE 1 (bases 1 to 5371)

AUTHORS Cramer, A., Whitehorn, E. A., Tate, E. and Stemmer, W. P.

TITLE Improved green fluorescent protein by molecular evolution using DNA

shuffling

JOURNAL Nat. Biotechnol. 14 (3), 315-319 (1996)

MEDLINE 98294348

REFERENCE 2 (bases 1 to 5371)

AUTHORS Cramer, A. and Kitts, P. A.

TITLE pBAD-GFPuv complete sequence

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 3 (bases 1 to 5371)

AUTHORS Kitts, P. A.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (28-JUN-1996) CLONTECH Laboratories, Inc.,
1020 East

Meadow Circle, Palo Alto, CA 94303-4230, USA

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..5371
/organism="Cloning vector pBAD-GFPuv"
/db_xref="taxon:50707"

gene complement(96..974)
/gene="araC"

CDS complement(96..974)
/gene="araC"
/note="PID: g455167"
/codon_start=1
/transl_table=11
/product="araC protein"
/protein_id="AAC53662.1"
/db_xref="GI:1490532"
/translation="MAEAQN DPLLPGYSFNAHLVAGLTPIE
ANGYLDF FIDRPLGMKG
YILNLTIRGQG VVKNQGREFVCRPGDILLFPPGEIHHYGRHP
EAREWYHQWVYFRPRA
YWHEWLNWPSIFANTGFFRPDEAHQPHFSDLFGQIIN
AGQGEGRYSELLAINLLEQLL
LRRMEAINESLHPPMDNRVREACQYISDHLADSNFDI
ASVAQHVCLSPSRLSHLFRQQ
LGISVLSWREDQRISQAKLLLSTTRMPIATVGRNVGFD
DQLYFSRVFKKCTGASPSEF
RAGCEEKVNDVAVKLS"

gene 1342..2061
/gene="gfpuv"

CDS 1342..2061
/gene="gfpuv"
/note="GFPuv is the GFP variant called 'cycle 3'; Allele:
AC2; green fluorescent protein variant"

```

/codon_start=1
/transl_table=11
/product="GFPuv"
/protein_id="AAC53663.1"
/db_xref="GI:1490533"
/translation="MASKGEELFTGVVPILVELDGDVNGHK
FSVSGEGEGDATYGKLT
LKFICTTGKLPVPWPTLVTTFSYGVCFSRYPDHMKR
HDFFKSAMPEGYVQERTISFK
DDGNYKTRAEVKFEGDTLVNRIELKGIDFKEDGNILG
HKLEYNYNSHNVYITADKQKN
GIKANFKIRHNIEDGSVQLADHYQQNTPIGDGPVLLPD
NHYLSTQSALS KDPNEKRDH
MVLLEFVTAAGITHGMDELYK"
gene 2636..3496
/gene="bla"
CDS 2636..3496
/gene="bla"
/function="confers resistance to ampicillin"
/codon_start=1
/transl_table=11
/product="beta-lactamase"
/protein_id="AAC53664.1"
/db_xref="GI:1490534"
/translation="MSIQHFRVALIPFFAAFCLPVFAHPETLV
KVKDAEDQLGARVGY
IELDLNSGKILESFRPEERFPMMSTFKVLLCGAVLSRV
DAGQEQLGRRIHYSQNDLVE
YSPVTEKHLTDGMTVRELCSAAITMSDNTAANLLTTI
GGPKELTAFLHNMGDHVTRL
DRWEPELNEAIPNDERDTTMPAAMATTLRKLLTGELL
TLASRQQIDWMEADKVAGPL
LRSALPAGWFIADKSGAGERGSRGIIAALGPDGKPSRI
VVIYTTGSQATMDERNRQIA

```


EIGASLIKHW"

BASE COUNT 1369 a 1368 c 1300 g 1334 t

ORIGIN

```

   1  atcgatgcat  aatgtgcctg  tcaaatggac  gaagcagga  ttctgcaaac
cctatgctac
  61  tccgtcaagc  cgtcaattgt  ctgattcggt  accaattatg  acaacttgac
ggctacatca
 121  ttcacttttt  cttcacaacc  ggcacggaac  tcgctcgggc  tggccccggt
gcatttttta
 181  aatacccgcg  agaaatagag  ttgatcgta  aaaccaacat  tgcgaccgac
ggtagcgata
 241  ggcatccggg  tggtgctcaa  aagcagcttc  gcctggctga  tacgttggtc
ctcgcgccag
 301  cttaagacgc  taatccctaa  ctgctggcgg  aaaagatgtg  acagacgcga
cggcgacaag
 361  caaacatgct  gtgcgacgct  ggcgatatca  aaattgctgt  ctgccaggtg
atcgctgatg
 421  tactgacaag  cctcgcgtac  ccgattatcc  atcgggtggat  ggagcgactc
gttaatcgct
 481  tccatgcgcc  gcagtaacaa  ttgctcaagc  agatttatcg  ccagcagctc
cgaatagcgc
 541  ccttcccctt  gcccggcggt  aatgatttgc  ccaaacaggt  cgctgaaatg
cggctggtgc
 601  gcttcatccg  ggcgaaagaa  ccccgattg  gcaaatattg  acggccagtt
aagccattca
 661  tgccagtagg  cgcgcgagc  aaagtaaacc  cactggtgat  accattcgcg
agcctccgga
 721  tgacgaccgt  agtgatgaat  ctctcctggc  gggaacagca  aaatcacc
cggtcggcaa
 781  acaaattctc  gtcctgatt  ttcaccacc  ccctgaccgc  gaatggtgag
attgagaata
```

841 taacctttca ttcccagcgg tcggtcgata aaaaaatcga gataaccgtt
 ggcctcaatc
 901 ggcgttaaac ccgccaccag atgggcatta aacgagtatc ccggcagcag
 gggatcattt
 961 tgcgcttcag ccatactttt catactcccg ccattcagag aagaaaccaa
 ttgtccatat
 1021 tgcacagac attgccgtca ctgcgtcttt tactggctct tctcgctaac
 caaacggta
 1081 accccgctta ttaaaagcat tctgtaacaa agcgggacca aagccatgac
 aaaaacgcgt
 1141 aacaaaagtg tctataatca cggcagaaaa gtccacattg attatttga
 cggcgtcaca
 1201 ctttgctatg ccatagcatt ttatccata agattagcgg atcctacctg acgcttttta
 1261 tcgcaactct ctactgtttc tccatacccg ttttttggg ctagaaataa ttttgttaa
 1321 cttaagaag gagatataca tatggctagc aaaggagaag aacttttcac
 tggagttgtc
 1381 ccaattcttg ttgaattaga tggatgatgtt aatgggcaca aattttctgt
 cagtggagag
 1441 ggtgaagggtg atgctacata cggaaagctt acccttaaat ttatttgcac
 tactggaaaa
 1501 ctacctgttc catggccaac acttgcact actttctctt atggtgttca atgcttttcc
 1561 cgttatccgg atcatatgaa acggcatgac ttttcaaga gtgccatgcc
 cgaaggttat
 1621 gtacaggaac gcactatatac tttcaaagat gacgggaact acaagacgcg
 tgctgaagtc
 1681 aagtttgaag gtgataccct tgtaatcgt atcgagttaa aaggtattga
 ttttaaagaa
 1741 gatggaaaca ttctcggaca caaactcgag tacaactata actcacacaa
 tgtatacatc
 1801 acggcagaca aacaaaagaa tggaatcaaa gctaacttca aaattcgcca
 caacattgaa
 1861 gatggatccg ttcaactagc agaccattat caacaaaata ctccaattgg
 cgatggccct
 1921 gtccttttac cagacaacca ttacctgtcg acacaatctg ccctttcgaa

agatcccaac
 1981 gaaaagcgtg accacatggt ccttcttgag ttgtaactg ctgctgggat
 tacacatggc
 2041 atggatgagc tctacaaata atgaattcga gctcgggtacc cggggatcct
 ctagagtcga
 2101 cctgcaggca tgcaagcttg gctgttttg cggatgagag aagattttca
 gcctgataca
 2161 gattaaatca gaacgcagaa gcggtctgat aaaacagaat ttgcctggcg
 gcagtagcgc
 2221 ggtggtcca cctgaccca tgccgaactc agaagtgaac cgccgtagcg
 ccgatggtag
 2281 tgtgggtcc cccatgagc agtagggaac tgccaggcat caaataaaac
 gaaaggctca
 2341 gtgcaaagac tgggccttc gttttatctg ttgtttgtcg gtgaacgctc
 tcctgagtag
 2401 gacaaatccg ccgggagcgg atttgaacgt tgcgaagcaa cggcccggag
 ggtggcgggc
 2461 aggacgcccg ccataaactg ccaggcatca aattaagcag aaggccatcc
 tgacggatgg
 2521 cctttttgcg tttctacaaa ctctttggtt atttttctaa atacattcaa atatgtatcc
 2581 gctcatgaga caataaccct gataaatgct tcaataatat tgaaaaagga
 agagtatgag
 2641 tattcaacat ttccgtgtcg cccttattcc cttttttgcg gcattttgcc ttctgtttt
 2701 tgctcaccca gaaacgctgg tgaaagtaaa agatgctgaa gatcagttgg
 gtgcacgagt
 2761 gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt gagagttttc
 gccccgaaga
 2821 acgtttcca atgatgagca cttttaaagt tctgctatgt ggcgcggtat
 tatcccgtgt
 2881 tgacgccggg caagagcaac tcggtcgccg catacactat tctcagaatg
 acttggttga
 2941 gtactacca gtcacagaaa agcatcttac ggatggcatg acagtaagag
 aattatgcag
 3001 tgctgccata accatgagtg ataactgc ggccaactta cttctgacaa

cgatcggagg

3061 accgaaggag ctaaccgctt tttgcacaa catgggggat catgtaactc
gccttgatcg

3121 ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc aaacgacgag cgtgacacca
cgatgcctgc

3181 agcaatggca acaacgttgc gcaaactatt aactggcgaa ctacttactc
tagcttcccg

3241 gcaacaatta atagactgga tggaggcgga taaagttgca ggaccacttc
tgcgctcggc

3301 ccttccggct ggctggttta ttgctgataa atctggagcc ggtgagcgtg
ggtctcggc

3361 tatcattgca gcactggggc cagatggtaa gccctcccgt atcgtagtta
tctacacgac

3421 ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc gctgagatag
gtgcctcact

3481 gattaagcat tggtactgt cagaccaagt ttactcatat atactttaga
ttgatttacg

3541 cgccctgtag cggcgcatta agcgcggcgg gtgtggtggt tacgcgcagc
gtgaccgcta

3601 cacttgccag cgccctagcg cccgctcctt tcgctttctt cccttccttt
ctcgccacgt

3661 tcgccggctt tccccgtaa gctctaaatc gggggctccc tttagggttc
cgatttagtg

3721 ctttacggca cctcgacccc aaaaaacttg atttgggtga tggttcacgt
agtgggcat

3781 cgccctgata gacggtttt cgcccttga cgttggagtc cacgttcttt
aatagtggac

3841 tcttgtcca aactggaaca aactcaacc ctatctcggg ctattctttt
gatttataag

3901 ggattttgcc gatttcggcc tattggttaa aaaatgagct gatttaacaa
aaatttaacg

3961 cgaattttaa caaaatatta acgtttacaa tttaaagga tctaggtgaa
gatcctttt

4021 gataatctca tgaccaaaat cccttaacgt gagttttcgt tccactgagc

gtcagacccc
 4081 gtagaaaaga tcaaaggatc ttcttgagat ctttttttc tgcgcgtaat
 ctgctgcttg
 4141 caaacaaaaa aaccaccgct accagcggg gttgtttgc cggatcaaga
 gctaccaact
 4201 cttttccga aggtaactgg cttcagcaga gcgcagatac caaatactgt
 ctttctagt
 4261 tagccgtagt taggccacca cttcaagaac tctgtagcac cgcctacata
 cctcgctctg
 4321 ctaatcctgt taccagtggc tgctgccagt ggcgataagt cgtgtcttac
 cgggttggac
 4381 tcaagacgat agttaccgga taaggcgcag cggtcgggct gaacgggggg
 ttcgtgcaca
 4441 cagcccagct tggagcgaac gacctacacc gaactgagat acctacagcg
 tgagctatga
 4501 gaaagcgcca cgcttcccga agggagaaag gcggacaggt atccggtaa
 cggcagggtc
 4561 ggaacaggag agcgcacgag ggagcttcca gggggaaacg cctggtatct
 ttatagtctt
 4621 gtcgggtttc gccacctctg acttgagcgt cgattttgt gatgctcgtc
 agggggggcgg
 4681 agcctatgga aaaacgccag caacgcggcc ttttacggt tcctggcctt
 ttgctggcct
 4741 tttgctcaca tgttcttcc tgcgttatcc cctgattctg tggataaccg tattaccgcc
 4801 tttgagttag ctgataccgc tcgccgcagc cgaacgaccg agcgcagcga
 gtcagtgagc
 4861 gaggaagcgg aagagcgcct gatgcggtat tttctccta cgcacatctgt
 cggatattca
 4921 caccgcatat ggtgcactct cagtacaatc tgctctgatg ccgcatagtt
 aagccagtat
 4981 aactccgct atcgctacgt gactgggtca tggctgcgcc ccgacacccg
 ccaacacccg
 5041 ctgacgcgcc ctgacgggct tgtctgctcc cggcatccgc ttacagacaa
 gctgtgaccg

5101 tctccgggag ctgcatgtgt cagaggtttt caccgtcatc accgaaacgc
gcgaggcagc

5161 aaggagatgg cgccaacag tccccggcc acggggcctg ccaccatacc
cacgccgaaa

5221 caagcgctca tgagcccga gttggcgagcc cgatcttccc catcgggtgat
gtcggcgata

5281 taggcgccag caaccgcacc tgtggcgccg gtgatgccgg ccacgatgcg
tccggcgtag

5341 aggatctaattctcatgtttgacagcttatc

5. 米国における遺伝子教育の歴史

米国におけるバイオ産業と遺伝子工学の歴史

1970-1980 年代前半

遺伝子工学技術が確立し、産業への利用開始 バイオ産業への遺伝子工学技術導入

1980 年代後半

医薬品分野での生物製剤製造、DNA 鑑定、遺伝子診断遺伝子治療、組み換え植物等への応用開始

1990 年代

遺伝子工学技術はバイオ産業の「産業革命?・基盤技術」となりゲノムプロジェクト・オーダーメイド医療・組換え食品等に広く利用されるようになった。

米国高校における遺伝子教育の歴史

1980 年ごろ

学校で習う生物学に比べ実社会でのバイオテクノロジー技術の進歩の差が顕著になった。

このため 「大学に進学する人、バイオ産業界に入る人、一般社会となる人」 全ての人に対する一般教養としてのバイオテクノロジー教育／遺伝子教育の必要性が高校教員、大学教員、産業人から議論が沸いてきた。

ギャップを埋めるため、新カリキュラムの必要性高校教員の中から草の根的に発生した。米国では、元々高校教員が大学で研修を受ける土壌ならびに大学と企業の産学協同の関係もあった。

1985 年ごろ

大学研究者と高校教員による共同カリキュラムの創造が始まった。

Stanford Univ.などの大学での高校教員の遺伝子教育トレーニング (AP teachers workshop) が開始され教員と地域企業との交流 (産学共同の機運) が始まった。

1980 年代後半

カリキュラム開発に対する国の助成

1990 年

初のバイオテクノロジー教科書 "DNA-SCIENCE" が発売された。

1995 年

遺伝子教育が NATIONAL BIOLOGY SYLLABUS (指導要領) に掲載

Biotechnology Explorer 開発・販売

Bio-Rad Laboratories - Stanford University 共同開発

参考 URL :

カリフォルニア高校教員コンソーシアム

<http://www.babec.org/default.htm>