

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K03167

研究課題名（和文）学校との協働による「菜の花しらべ」の展開に向けた実施モデルの構築に関する研究

研究課題名（英文）Development of practical case in environmental survey covered Brassica species applicable to school education program

研究代表者

西沢 徹（Nishizawa, Toru）

福井大学・学術研究院教育・人文社会系部門（教員養成）・教授

研究者番号：80414382

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：地域の学校と協働して行う環境調査である「菜の花調査」の実現に向けて、DNAマーカーによってアブラナ類の種判別を行う手法の開発を進めた。その結果、野生集団に葉緑体DNAの変異が存在していることが明らかになった一方で、種判別系の確立、特にセイヨウアブラナと在来アブラナの分子識別に関しては、課題が残った。さらにコロナ禍による活動制限の影響によって、学校現場との協働的活動や子どもたちが参加する活動は、計画通りに推進することができず、まだ途上であることから、後継となるテーマにおいて引き続き学校現場との協働体制の整備に取り組んでいく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、アブラナ類の野外集団に葉緑体DNA多型があることが明らかになって来た。この結果は、野生集団の多様性と分布の実態解明に関する研究へと進展が見込まれる上に、群落構成種の種判別を確実に行うことができれば、国内の生物多様性保全の見地からも重要な意味を持つ。輸入された種子（ナタネ）のこぼれ落ちに起因する遺伝子組換えセイヨウアブラナの環境影響が懸念されている。本研究の成果を発展させて、アブラナ類の種判別をおこなう技術を確立し、広い地域で環境調査を実施するモデルケースを提示することができれば、国内の環境保全に関する政策や調査手法の向上にも貢献が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Analytical methods using DNA polymorphisms were developed to achieve an environmental survey covered Brassica species. As a result, genetic diversity of cpDNA in feral populations were detected, but genetic polymorphisms which allow species identification were not sufficient. We are half way down the road to construct the practical program, which cooperates with regional schools and children, due to the COVID-19 pandemic.

研究分野：植物系統分類学，生物教育

キーワード：アブラナ類 生物教材 DNAマーカー 環境調査 理科教員養成 生物教育

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

平成 29 年に告示された学習指導要領では、子どもたちが「物事を捉える視点や考え方」を働かせる過程を通じて、資質・能力を育むことが目標として示された。生命領域では特に「多様性と共通性の視点で捉えること」が自然の事物・現象の「見方」として重視されている。

春に黄色い花を咲かせるアブラナ類は「菜の花」と総称される一方で、河川敷などに見られる実際の群落（いわゆる菜の花畠）は、主に、アブラナ、セイヨウアブラナ、カラシナの 3 種から構成されている。これらの植物には、それぞれ 4 枚の萼片と花弁、6 本の雄しべ、1 本の雌しべという、花のつくりに“共通性”がある。一方、これらの 3 種は、混生して同所的に生育する場合も多く、群落の種構成に“多様性”を保ちながら存在している。このためアブラナ類は、「菜の花しらべ」のような、身近な自然観察に主眼を置いた学習プログラムの題材として、活用する価値が高いと考えている。

構想している「菜の花しらべ」は、学校と大学が協働して取り組む身近な環境調査プログラムである。しかし、3 種のアブラナ類は互いに近縁でよく似ている。一般的には、花の大きさや茎への葉の付き方で区別するが、外部形態の変異も大きく、特にアブラナとセイヨウアブラナの識別が困難な場合が多い。そこで、このプログラムの実現に向けて、DNA レベルで種の判別を可能にすることがまず必要である。その上で、DNA 解析による種の判別を担う大学と、野外調査の実施主体となる学校との連携体制を整備していくことが次のステップとして必要になる。

これまでの先行研究において、DNA マーカー（DNA の塩基配列の違いを利用して種を識別するためのツール）の開発に取り組み、葉緑体 DNA を対象にした解析方法（PCR で増幅した DNA の断片長を比較する SSLP 法や、制限酵素で処理した PCR 増幅断片の長さを比較する CAPS 法）によって、カラシナを識別することに成功した。一方、アブラナとセイヨウアブラナの識別も一部で可能としたが、判断に迷う個体もまだ残されていた。これは、自然群落では種内変異（各個体の個性の幅）が大きいことや雑種個体が存在しているためであると考えられる。アブラナとセイヨウアブラナの識別を確実にする点では、DNA マーカーの解像度を増強する（すなわち、複数のマーカーを開発すること）と、雑種性の検定が可能な核 DNA マーカーを開発することが課題として残されていた。その上で、菜の花しらべの実現に向けて、子どもたちの興味を喚起する動機付けの内容や、適切な調査手法と項目の設定など、子どもたちの目線に立った問題点を洗い出し、調査主体となる学校との連携体制の在り方についても、具体的に検討する必要があった。

2. 研究の目的

これまでは「アブラナ」という一つの種が教材として主に扱われてきたが、「群落を構成する種類」という視点から捉え直すことによって、植物の多様性を学ぶための教材としての価値を新たに見いだすことができる。例えば、似た菜の花同士を観察して違う特徴を見つけ出す（比較する能力の育成）、アブラナ以外の菜の花のなかまが生育しているか調べる（定性的）、群落内のそれぞれの構成種の割合を調べて地域間で比較する（定量的）など、発達段階に応じた様々な「菜の花しらべ」の実施項目が想定できる。本研究では、単一の植物として扱われがちな「菜の花」を、多様性を包含する総体として再認識し、その成果を生物教材や環境調査の題材として還元することを目指している。

そこで本研究では、構想している「菜の花しらべ」の実現に向けて、次の 2 つの課題に重点をおいて取り組み、学校と大学との協働による環境調査の実施モデル構築を目指す。

(1) 自然群落を構成する 3 種のアブラナ類について、DNA マーカーを用いて種の判別を確実に可能とする系を確立する。先行研究で成功したカラシナを除く、アブラナとセイヨウアブラナを識別できる DNA マーカーを開発することが喫緊の課題であり、引き続きマーカーの開発に最大限注力する。さらに、雑種性が疑われる試料の分析にも対応できるように、核 DNA マーカーの開発も行う。

(2) 野外調査を担う機関（学校）と DNA による種の判別を行う機関（種の分析センター、福井大学）との連携による調査実施体制を整備する。ここでは特に、教育学部附属学校園や CST（コア・サイエンス・ティーチャー：地域の中核的な理科教員）養成・支援事業で提携している拠点校と協働して野外調査を実験的に実施し、大学との連携体制や実施主体となる学校側での運用上の課題を明らかにする。

3. 研究の方法

種判別系を確立するためには、DNA マーカーによって、アブラナとセイヨウアブラナの識別を確実に可能とする DNA マーカーの開発が最大の目的である。カラシナについては、外部形態から容易に他の 2 種との識別が可能であることが多い上に、既に先行研究においてカラシナ特異的 DNA マーカーは捕捉していることから、本研究ではアブラナとセイヨウアブラナの判別系を確立することが一番の目的となる。このため、DNA マーカーによる種の判別技術によって、アブラナとセイヨウアブラナの識別を補完する系の確立が求められている。

先行研究で、核及び葉緑体 DNA を対象とした分子マーカーの開発に着手しており、一部、汎用可能なマーカーの捕捉に成功している。しかし、自然群落に存在する遺伝的変異を検出するためにはまだ解像度が不足している。そこで種判別系を確立する点では、先行研究でスクリーニングされたマーカーの候補領域の中から新たなマーカー遺伝子座を捕捉する、既存のマーカーや新たに捕捉するマーカーを用いて野生集団から得られた試料の解析を行い、より多型的な遺伝子座を探索する、の2点に注力し、DNA マーカーによる種判別、特にアブラナとセイヨウアブラナの識別能力を増強する。

また、実際の菜の花しらべの実施様態を考えると、多数の検体を DNA マーカーによって検定する状況が考えられることから、簡便な PCR ベースの変異検出法による分析環境を整備することも必要であった。今回の助成によって、開始初年度から微量成分分光光度計を新たに導入することが叶い、その結果、極めて微量な容量で核酸溶液の濃度測定を行うことが可能となった。野外から採取したアブラナ類の検体試料について、濃度測定時のロスを最小限に抑えることができる上に、簡便な操作で測定できることから、PCR の鋳型となる DNA 試料を効率よく調整できる体制が整った。

福井市周辺からの検定試料は従来から行っており、マーカーの解像度判定用検体として DNA の精製を行う。微量の葉片試料からの DNA 精製は Plant Genomic DNA Extraction Miniprep System (VIOGENE 社製)を用いたカラム精製によって行った。一方、福井市以外の県内各地域や、福井県外の野生集団試料はまだ十分ではないことから、本研究において試料収集を予定していた。

一方、構想している菜の花しらべは、子どもたちが参加する、地域と協働した環境調査活動であることから、子どもたちが主体的に活動することができる調査項目の選定や、子どもたちの目線から見た安全な野外活動の在り方、学校現場との協働活動を円滑に進める上での課題点の洗い出しなど、教育学部附属学校園や CST 拠点校の協力を得て、実際の子どもたちとの協働活動も実施する計画であった。

4. 研究成果

研究実施期間の大部分は、新型コロナウイルス感染症の感染拡大に伴うさまざまな制約を受けることとなった。対外的な活動や移動の自粛、学校現場における感染防止対策の徹底方針を受けて、特に学校現場との協働的活動や、子どもたちが参加する活動は、計画通りに推進することができず、まだ途上となっている。また、広域からの新たな検体試料の採集も計画通りには進まず、既存試料の分析に頼るところが大きかった。福井市以外から得られた県内既存試料は鯖江市と敦賀市において採取したものを供与した。県外の地域において採取された既存試料は、岐阜県、京都府、石川県、富山県の地域から得られたもので、これらの中の一部を用いて DNA 精製を行い、マーカーの多型性評価と種判別の可能性について検討を行った。

核 DNA の 3 領域を対象に、野外から得られた試料間で遺伝的多型が認められるかを二つの方法で解析した。PCR-SSLP 法で解析した結果、1 領域で変異が認められたものの、外部形態から推定される種の特徴とは一致せず、この遺伝子座は種判別の目的には供与できないことが分かった。一方、これらの領域(PCR 産物)を制限酵素で処理した後に分子量を比較する PCR-RFLP 解析では、3 遺伝子座で多型が認められた。既存試料を用いて多型性を検定した結果、地域集団ごとに特徴的なハプロタイプが出現する傾向が認められた。まだ分析試料数が少ないことから種判別の適性までは検証できなかったが、地域集団間での遺伝的多様性解析への展望が認められることから、引き続き、これらの遺伝子座の解析を行う予定である。

葉緑体 DNA では 4 領域を対象に、PCR-SSLP 法で解析を行った。その結果 3 遺伝子座で多型が認められ、それぞれの遺伝子座で認められたハプロタイプをもとに各試料の遺伝子型(Multi Locus Haplotype)を求めた結果、14 種類の遺伝子型が認められた。このうちの幾つかにおいて、在来アブラナに特異的な遺伝子型が認められたことから、種判別への供与の可能性が見出されている。コロナ禍による制約によって、得られた野外試料が少ないことから、今後も収集を続けるとともに、既存試料の分析をさらに進めることによって在来アブラナ特異的遺伝子型の存在頻度に関する情報をさらに収集し、葉緑体 DNA マーカーによる種判別系の確立を目指す予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

2020年度 ひらめき ときめきサイエンス ~ ようこそ大学の研究室へ ~ KAKENHI「小・中学校の新しい理科実験授業を開発しよう」実施。
 2020.8.6~8.7. 福井大学文京キャンパス。
 講義内容及び教材研究の題材として、本研究の成果の一部を活用。

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)		備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関