

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月10日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500823

研究課題名（和文）生命科学リテラシー向上のための実験教材の開発

研究課題名（英文）Development of Laboratory Experiments for Enhancing Life Science Literacy

研究代表者

浅賀 宏昭（ASAGA Hiroaki）

明治大学・商学部・教授

研究者番号：80231877

研究成果の概要(和文):本研究では、生命体の保存の難しさおよび生命体由来のタンパク質それぞれの分子に固有の性質および機能があることを理解させるための実験系の開発を中心に行った。生命体の低温保存の困難さを体感できる実験教材の開発として、イクラや除殻したウズラ卵の凍結解凍実験を行う際の条件について調べた。等張の緩衝液に漬けた卵の凍結解凍後では卵のほとんどが破裂したが、グリセロール等を含む緩衝液中に浸した多くの卵は凍結解凍後に破裂しなかった。これに加えて、私たちは生きている細胞であるマウスの腹腔マクロファージを用いて、凍結解凍の条件を検討した。凍結解凍処理後、通常の培養液中の多くのマクロファージは破裂していたが、凍結保存用の溶液中の大多数のマクロファージは破裂せずに培養皿に接着していた。細胞の「活き」は培養皿への接着状態から把握できるので、これらを組み合わせた実験は、細胞の低温保存の困難さを示すために適切と思われる。次に、タンパク質それぞれの分子に固有の性質および機能があることを理解させるための実験に関しては、私たちは幅広スライドガラスを用いてゲル電気泳動法を改良し、そして、それを複数の酵素の同時検出のためのザイモグラフィーに応用した。この他に、DNAの可視化等の実験についても改良もしくは実施方法に関して再検討を加えた。

研究成果の概要(英文): In this study, we have mainly developed some experiments for demonstration of difficulty of the preservation of living cells and for demonstration of each protein molecule having specific function. First, as for the experimental teaching materials which can demonstrate difficulty of the cryopreservation of the living things, we examined the condition of thawing as well as freezing of salmon and quail eggs. After freezing and thawing, the eggs which soaked in isosmotic buffer solution ruptured, whereas the majority of the eggs which soaked in the glycerol-containing isotonic buffer solution did not rupture. In addition, we tested the conditions of thawing as well as freezing of mouse macrophages as the living cells. After freeze and thaw treatment, the many macrophages in culture medium ruptured, whereas the majority of the macrophages in the special medium for cell cryopreservation did not rupture and attached to the dish. Since the vitality of the macrophages can be grasped from the state of their attachment to dish, these combined experiments seem to be adequate for the demonstration of difficulty of the cryopreservation of cells. Secondly, with regard to the experimental teaching materials for demonstration of each protein possessing specific function, we improved the method of gel electrophoresis by using wide sized slide glasses. And then, we utilized it for zymography which is detectable some kinds of enzymes at the same time. Some other popular experimental teaching materials, such as DNA visualization and so on, were also improved or reconsidered in this study.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	1,500,000	450,000	1,950,000

研究分野：科学教育

科研費の分科・細目：科学リテラシー

キーワード：細胞、酵素、タンパク質

1. 研究開始当初の背景

21世紀が生命科学の世紀だと言われて久しいが、生命科学およびその関連分野の研究は、なおも加速度を伴って医学はもとよりその他多くの方面に向かって発展しつつある。そしてそれを基に開発された多くの技術が、私たちの社会に様々な形で入り込んできている。ところが、それらを一般市民が学ぶ機会はあまりない。この主な理由は、生命科学およびバイオテクノロジーの研究の最前線が急速に進んでいくのに対し、ほぼすべての市民が社会に出る前に受ける教育の現場（小学校～高校）において扱われる「理科」、「生物（学）」などの教科・科目の内容は、授業時間数が限られていることもあり、あまり変わることがない（変えることや増やすことが困難である）からである。従って、毎年、我が国だけでも推定で数十万人の、生命科学リテラシーの乏しい市民が誕生している計算になる。また、高校や大学において、生物学、農学、医学などの専門分野に進まない生徒・学生に向けた、生命科学リテラシーを向上させるために特化した実験教材は乏しいという問題もあった。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、深刻化しつつある上記の問題の解決に向けて一石を投じるべく、生命科学リテラシー向上のために特化した実験教材の開発を行うことにした。特に、生命体の保存の難しさ、および生命体由来のタンパク質それぞれの分子に固有の性質および機能があることを理解させるための実験系の開発を中心に行うこととした。

3. 研究の方法

生命体の保存の難しさを理解させるための実験系の開発においては、生物由来のタンパク質や多糖類でできたゲル（ゼラチンゲル、寒天ゲル、グルコマンナンゲル＝コンニャ

ク）を生体組織モデルとして、またサケの卵（イクラ）や、予め食酢や酢酸でカラを溶かしておいたウズラの卵を細胞モデルとして、液体窒素やドライアイスなどを利用して凍結解凍実験を行い、その条件について検討した。また、生きている細胞としては、マクロファージを、予めチオグリコレートブロスに腹腔に注射しておいたマウスの腹腔から採取し、これについても同様な凍結解凍を行い、その条件、ならびに解凍後の同細胞の状態の確認方法および培養方法、培養後の顕微鏡観察等の方法について検討した。

生体由来のタンパク質それぞれの分子に固有の性質および機能があることを理解させるための実験系の開発では、かつて筆者が開発した「スライドグラスを用いたポリアクリルアミドゲル電気泳動法」（浅賀・井上、『生物教育』30, 107-115, 1990；浅賀・井上、『化学と教育』40, 700-701, 1992）をさらに改良することを検討した。特にゲル電気泳動の方法およびその後のザイモグラフィによる酵素の分析方法について検討した。担体としてのゲル素材（ポリアクリルアミドまたはアガロース）や、ゲルの大きさや形、電気泳動実験装置、様々な酵素（アミラーゼ、プロテアーゼ、セルラーゼ等）の活性の検出方法などについても検討した。

以上の他の生命科学リテラシーに関連した実験等についても、文献的な調査を行い、実験方法の改良や、新たな実験・実習の提案、ならびに実験の実施方法についての再検討などを行った。

4. 研究成果

(1) 生命体の保存の難しさを理解するための実験の開発

今回の研究で用いた生体高分子より成るゲルは、いずれも凍結解凍後にひび割れや変形が生じることを肉眼で観察できることを確認した。ただし、小さすぎるとそれを確認

することが困難である一方で、大きすぎると凍結と解凍に時間がかかりすぎるので、大きさを検討したところ、1辺が2 cmの立方体程度のサイズが良いことが判った。イクラや、食酢や酢酸で除殻したウズラ卵の凍結解凍実験では、等張の緩衝液に漬けた卵の凍結解凍後では卵のほとんどが破裂したが、10%程度のグリセロールやトレハロースを含む緩衝液中に浸した多くの卵は凍結解凍後に破裂しないことを確認した。以上を組み合わせた実験は、実験器具の乏しい小・中学校でも容易に実施できる上、凍結解凍による生物体のダメージを肉眼で容易に観察でき、学習者の視覚に訴えることができる点で有用であろうと思われる。

マウスの腹腔マクロファージの凍結解凍の条件を検討するにあたっては、その細胞の初代培養のために、大型および中型のプラスチックコンテナ（半透明のポリプロピレン製）、ビニルチューブ、家庭用エアコンプレッサー、小型フィルター（孔径0.22 μ m）、プラスチックシリンジなどの材料を用いて簡易型クリーンベンチおよび簡易型CO₂インキュベーターを自作した。これは実際に用いて、通常のクリーンベンチやCO₂インキュベーターと同様に使用できることを確認した。次にこれを用いて、マクロファージの凍結解凍実験を行い、凍結解凍処理の後においては、通常の培養液中の多くのマクロファージは破裂していたが、ジメチルスルホキシドを含む細胞凍結保存用の溶液中の大多数のマクロファージは破裂せずに、その後さらに培養すると培養皿の底に接着・伸展していることが位相差顕微鏡で確認できた。高校などでは位相差顕微鏡が常備されていないこともあるかと推測できたので、そのような環境下においては、風乾後、ギムザ染色を施すことによって通常の光学顕微鏡でも確認ができることを確認した。マクロファージの「活き」は培養皿への接着の状態から形態的に把握できる。すなわち、「活き」が悪いと接着・伸展しないので、これらを組み合わせた実験は、細胞の低温保存の困難さを示すために、適していると考えられる。また、従来、このような動物細胞の初代培養実験は、非常に高価かつ大がかりな装置が必要とされてきたが、今回、廉価な材料を組み合わせで作った装置で実施可能であることを示すこともできたので、設備に乏しい高校などの教育現場においても期待できる実験教材を開発できたと考えている。

(2) タンパク質それぞれの分子に固有の性質および機能があることを理解させるための実験

生命体由来の一つの試料から、複数の種類の酵素を検出しやすくするために、大きめの病理組織検体用に使用されている幅広スラ

イドグラスを用いて、ゲルサイズのうち幅を大きいサイズに変更することによりゲル電気泳動法の改良を行った。これにより、例えば、1つの実験試料に含まれるアミラーゼとプロテアーゼなど複数の酵素の同時検出のためのザイモグラフィーの実験およびそのタンパク質としての検出が容易に実施可能になった。この実験の試料については、ヒトの唾液のほか、薬局で購入可能な消化剤や、乾燥状態で販売されている米麴、食虫植物（ネペンテス属およびサラセニア属）の消化液、あるいは未熟な食用果実の抽出液などが適していることを確認した。生体から採取した試料には、多数の基質特異性を持つ酵素が含まれているのが常である。これらの酵素はタンパク質が本体であり、それぞれ固有の物理化学的な特性を持つが、これは本実験においては電気泳動の移動度の違いとしても容易にかつ同時に検出できるため、この実験はタンパク質（この場合は酵素タンパク質）それぞれが固有の性質と機能を持つことを示すことができる教材として優れていると考えられる。また、電気泳動担体としてのゲルについて検討したところ、酵素活性のみを検出するためにはアガロースでもポリアクリルアミドでもほぼ同様に使えることを確認した。ただし、タンパク質検出のための色素染色（クマシーブリリアントブルーR250染色、アミドブラック染色など）においては、ポリアクリルアミドの方が結果の鮮明さにおいて優れていることを確認した。ポリアクリルアミドは、その材料となるアクリルアミドに毒性があるためこれまでも議論があったが、ゲル作製を指導者が行うなどの配慮をした上で、目的に応じてアガロースゲルと使い分けるのが良いと結論した。

(3) その他

近年、良く行われるようになったDNAの可視化実験については、通常よく使われるプロテアーゼであるプロテイナーゼKやパパンなどに代えて、食虫植物であるネペンテス属の消化液をそのまま用いることができることを確認した。この食虫植物は、日本国内でも入手しやすくなってきており、室内であれば冬を越させて一年以上栽培できる。一般に、試薬としてのプロテアーゼは、少量でも高価であり、また失活しないように管理して保存することも煩わしいので、実験材料としてのプロテアーゼの新しい供給源として、ネペンテス属の食虫植物は有効であると思われた。

また、学習者本人のアルコール代謝にかかわるアルデヒド脱水素酵素2型（ALDH2）の遺伝子の一塩基多型（SNP）が容易に推測できるエタノールパッチテスト（いわゆるアルコールパッチテスト）の実施方法について、追試や文献調査等を行って再検討し、

実施にあたっての結果の伝え方や解説に関する注意点などをまとめた。これは、生命科学リテラシーという視点からエタノールパッチテストを検討した数少ない研究であると思われる。

最近、食材に含まれる機能性成分が次々と明らかにされ、さまざまな特定保健用食品（トクホ）なども開発されて話題となっている。そこで、発がん抑制作用や抗老化作用などの機能があるとされる成分を含む食材を集めて、新しい食事のメニュー作りに大学生や大学院生に取り組みさせた。これは実際に調理も試みさせた。この取り組み自体が、食品に含まれる機能性成分を学ぶための有効な実験・実習教材と成りうることを示すことができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ① 浅賀 宏昭, *Nepenthes*消化液を用いたDNAの可視化実験, 明治大学教養論集, 査読なし, 2013 (印刷中)
- ② 浅賀 宏昭, 生命科学実験教材としてのエタノールパッチテスト—遺伝子型まで推定できる意義と実施上の注意点の再検討—, 明治大学大学院教養デザイン研究科紀要, 査読なし, Vol. 5, 2013, pp. 77-92
- ③ 金生谷 達也, 一色 拓人, 小西 あさみ, 浅賀 宏昭, カレーの保健機能について—がん予防および抗老化作用が期待できるカレーの試作の実践報告—, 実践生物教育研究, 査読なし, Vol. 53, 2012, pp. 8-15

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅賀 宏昭 (ASAGA HIROAKI)
明治大学・商学部・教授
研究者番号：80231877