

2022年度 日産財団理科教育助成 成果報告書

テーマ：中学校理科の授業における PCR 法を用いた身近な河川環境分析

学校名：創価中学校

代表者：江間宏治

報告者：渡邊啓子

全教員数： 56 名

全学級数・児童生徒数： 15 学級・628 名

実践研究を行う教員数： 5 名

実践研究を受けた学級数・児童生徒数： 10 学級・420 名

※ご異動等で現職の方では成果発表が難しい場合、上記代表者または報告者による代理発表を可といたします

1. 実践の目的（テーマ設定の背景を含む）

中学校理科における3年生の学習内容として「DNA」という言葉は教科書に掲載されているものの、細胞や染色体と結び付けてイメージしづらい状況がある。また、発展的な内容としてブロッコリーからの DNA 抽出実験が教科書に掲載されているが、得られた「白いもや」が DNA であることを確かめる方法については掲載されておらず前年度に生徒とオレンジジュースからの DNA 抽出実験を行ったが、得られたものが本当に DNA なのか、生徒は、いまいち納得できていない様子であった。一方で、近年、新型コロナウイルスの検出手法として有名になった遺伝子関連の言葉に「PCR」があるが、その原理は高校生物基礎で学習する範囲であることや、学習してもそれを用いた実験を行う機会がないため、中学生が言葉の意味を理解することや、自分達の生活の中で具体的にどのように役立っているのかを実感することはほとんどない。そこで、中学校理科において実際に、①ブロッコリーやオレンジジュースから抽出した DNA を PCR で増幅し電気泳動で可視化して存在を確認することと、応用編として②環境 DNA や PCR を用いて学校周辺の河川に生息する生物の調査を行うことで、これらを通して最終的に③身近な環境について生徒が興味を持ち、環境保全につなげていくことを本研究テーマの目的とした。

上記の実践により、実験に対して新しい原理を学び、興味を持って積極的に取り組むことや、生徒が自分で工夫して課題解決を目指すだけでなく、他者と協力してお互いの意見を尊重しながら課題を乗り越えてゆけるようにしたい。

2. 実践にあたっての準備（機器・材料の購入、協力機関等との打合せを含む）

【教職員との連携】企業からの助成金を頂いての教育実践は本校初であり、事務局との連携やルール作りにかかる時間がかった。高額な機器や材料は協力者より貸与して頂き、後日、購入可能なものは助成金で購入した。校内授業研究会の分科会で理科教員以外にも実践内容を共有し、理科会では定期的に進捗状況を共有した。

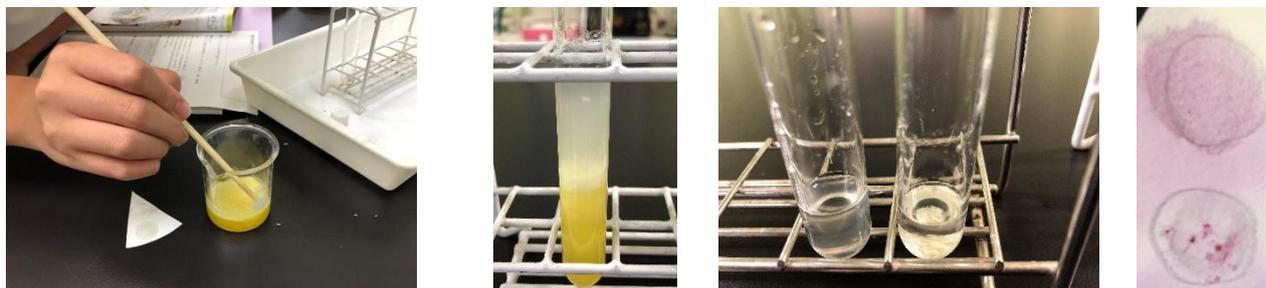
【専門家の協力】環境 DNA 解析について、創価大学工学部の黒沢則夫教授にサポート頂いた。相談のみならず、校内の池のプランクトン調査実習を開催して頂いた。高額な機材を貸与して頂いた。

【環境調査地点の検討】申請時は玉川上水の試料採取を予定したが、深さがあり採取可能な場所を見つけることが困難であった。また、高度処理水流入前の場所は学校から離れており、多くの生徒を連れていくことも困難であった。そこで、学校に近くて安全に試料採取ができる、玉川上水と並行する新堀用水に変更した。

【生徒の理解を深める】選考委員の先生方からの助言に基づき、PCR 法がブラックボックス化しないような工夫を検討した。追加で行った DNA のビーズストラップ作りはインターネットで発見し、生徒が楽しく取り組み、実際に手を動かすことや視覚的にもわかりやすく構造や増幅を理解できると考え実施した。

3. 実践の内容

7月には中学2・3年生の理科の授業（約400名）でブロッコリーやオレンジジュースからのDNA抽出を行った。8月には生物部で玉川上水沿いの本校の通学路となっている遊歩道（通称：哲学者の道）で見られる動植物の調査を行い、その結果をまとめて「わたしの自然観察路コンクール」へ応募した。



図：オレンジジュースからDNAをとり出している様子。

DNAは水に溶けるがエタノールには溶けないため「白いもや」のようなものとして浮かんでくる。右端の図は、とり出したDNAをろ紙にのせ、酢酸オルセイン溶液で染色後、水につけて背景色を薄めてDNAを見やすくしたもの。

9・10月には水試料を採取し、その中に溶けている色々な生物のDNA（環境DNA）の解析を行った。



10月には創価大学の黒沢則夫教授をお迎えし、希望者で校内の池のプランクトン調査を行った。池の水をプランクトンネットでろ過後、顕微鏡で観察したところ、意外にも線虫やクマムシが見つかり、初めて見る生物に生徒は驚いていた。その後、中学2年生が同大学の研究室を訪問する機会があり、PCR酵素を作る微生物について郷田秀一郎教授よりお話を伺ったことで、生徒達はより一層興味を深めた様子であった。



PCRの原理は視覚的に理解しやすいよう、手作り模型やイラスト、アニメーションを活用する工夫をした。また、生徒が楽しく興味を持って学べるように2023年2月にはビーズでDNAストラップを作製した。その際にDNAの構造やRNAとの違い、DNAからタンパク質が作られるまでの過程も説明した。また、10月の環境DNA解析で得られた結果と、環境指標となる生物とを照らし合わせて現場環境の様子を考察し、技術や美術の授業で学んだ知識を活かして希望者でリーフレット作成に取り組んだ。



4. 実践の成果と成果の測定方法

【申請時に予定していた成果の測定方法】中学校理科の授業において、①効果的な DNA の確認手法が確立できたかどうか、②環境 DNA を用いた身近な環境分析が可能かどうか、③約半年間の活動を通して生徒の成長や自己肯定感の向上に貢献できたかどうか、主に以下の4つの視点から評価を行う。

1) 身近な植物から抽出した DNA が、「本当に DNA であること」を生徒が納得できるような実験結果が得られたか。2) 環境 DNA を用いた分子生物学的手法による環境評価について、生徒が原理を理解し、積極的に活動に取り組むことができたか。3) 実験や活動に対して、他者と協力して取り組むことができたか、また実験がうまくいかなかった場合には創意工夫して改善方法を見出す工夫ができたか、他者へわかりやすい説明をする工夫ができたか、という視点で生徒が自らの行動を振り返る。4) 近隣の学校の方が、身近な環境に興味を持つことができたかどうか。

上記について、アンケートによる評価を実施する。

【成果物】

生徒と作製したリーフレットの写真を右に掲載する。こちらを両面印刷して本校や他校の生徒へ配布することで啓発活動につなげる。また、活動の成果をアピールすることで生徒が他者に対し役に立っているという実感や自己肯定感の向上につながったと感ずる。

→【申請時に予定していた成果の測定方法】②③を達成

【事前・事後アンケート結果】

授業の前後で生徒へアンケート調査を実施した。PCR の意味について、授業前にはほとんどの生徒が「コロナ検査」や「わからない」と回答していたのに対し、授業後には「ポリメラーゼ連鎖反応」や「DNAを増やす技術」と回答した生徒が増加した（下図 左のイメージマップを参照）。

また「理科が好きか?」、「理科が得意か?」、「理科で学んだことが生活の中で役に立っていると思うか?」について5段階評価の結果、全ての質問について授業後には最も良い5が約2倍に増加したことから実践の効果が得られたと考えられる（下図 右のグラフを参照）。環境 DNA を用いた生物調査の結果、試料採取時に目視で確認できなかった生き物を検出することができた。

生徒からは実物を見てみたい、継続して調査をしたいとの声があり、興味を持つことができた様子である。
→【申請時に予定していた成果の測定方法】③や2)を達成

PCR法を応用した環境調査をやってみた!

新型コロナウイルス感染症の検査で有名になった言葉に「PCR」がありますがその意味や原理について学びましょう!

PCRとは? Polymerase Chain Reaction(ポリマーゼ連鎖反応)のこと

ポリメラーゼとは? 合成酵素(こくそ)

代表的なものにはDNAポリメラーゼ(ほとんどの場合、DNAポリメラーゼ)のThermus aquaticus(Taq)から取られたポリメラーゼ(高温でも失活にはならず)

何を合成する? DNA/RNA

DNA/RNAとは? Deoxyribonucleic acid = デオキシリボ核酸
Ribonucleic acid = リボ核酸の略

DNAは生物をつくるために必要な遺伝子です。細胞の核の中や、染色体の中にある(遺伝子の集合、ゲノム)は含む。

DNA/RNAの抽出方法

DNA/RNAの抽出方法は、タンパク質を除去するために煮くもや、その他の成分も除去する。DNA/RNAが溶け出す部分があるが、少しの塩酸(塩素の塩化物)を加えて抽出する。

DNA/RNAの抽出方法

DNA/RNAの抽出方法は、タンパク質を除去するために煮くもや、その他の成分も除去する。DNA/RNAが溶け出す部分があるが、少しの塩酸(塩素の塩化物)を加えて抽出する。

PCRの反応条件

PCRの反応条件は、DNAポリメラーゼの活性を高めるために、95℃で1分間加熱し、55℃で1分間冷却し、72℃で1分間延伸する。これを30回繰り返す。

PCRの結果の確認方法

PCRの結果の確認方法は、アガロースゲル電気泳動によるDNAの可視化です。DNAの長さによって異なるバンドが現れます。

PCR法を応用した事例

PCR法を応用した事例は、環境DNAを用いた生物調査です。環境DNAを用いて、生き物の存在を確認することができます。

環境DNA解析をやってみた!

環境DNA抽出 → PCRで調べたいDNAを増やした(今回は環境DNA) → データベースと照らし合わせた(DNAの長さは約33塩基対) → コロニーPCRで確認

試料から得られた環境DNAの解析結果

データベースとの照合で推定された種	相対割合	DNA検出数
カマツ	99.681	440
コノメダマツ	98.101	218
コノメダマツ	100	189
コノメダマツ	100	166
コノメダマツ	98.387	163
コノメダマツ	100	146
コノメダマツ	98.718	97
コノメダマツ	100	87
コノメダマツ	99.042	74
コノメダマツ	100	71
コノメダマツ	100	63
コノメダマツ	99.681	62
コノメダマツ	98.071	61
コノメダマツ	100	59
コノメダマツ	99.361	57
コノメダマツ	98.077	55
コノメダマツ	100	54
コノメダマツ	99.361	54
コノメダマツ	99.042	53
コノメダマツ	100	51
コノメダマツ	100	50

※環境DNA解析の結果、環境DNA解析結果がPCRの結果と一致したものを検出した。

【結果と考察】

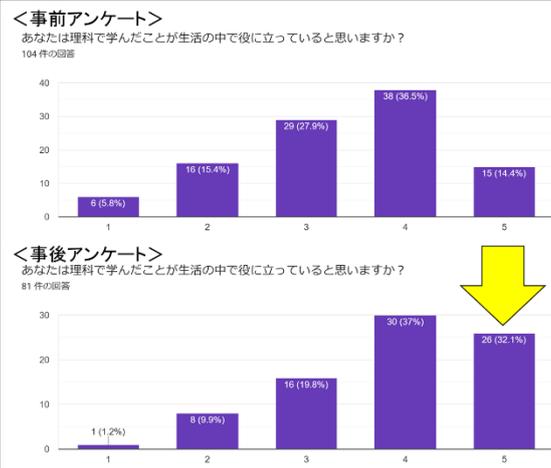
カマツとコノメダマツを環境DNA解析でも検出することができた。
PCR法を用いた解析方法は、この場所でも適用できると考えられる。

検出された環境DNAは、カマツとコノメダマツのDNAであった。
PCR法を用いた解析方法は、この場所でも適用できると考えられる。

PCR法を用いた解析方法は、この場所でも適用できると考えられる。

＜事前アンケート：イメージマップを作ろう＞
PCRという言葉に関連して、思い浮かぶ言葉などを書いて(描いて)下さい。

＜事後アンケート：授業後にイメージマップを作ろう＞
PCRという言葉に関連して、思い浮かぶ言葉などを書いて(描いて)下さい。



5. 今後の展開（成果活用の視点、残された課題への対応、実践研究の可能性や発展性など）

- ・環境 DNA を用いた河川環境分析についてまとめたリーフレットを作成し、3月下旬に印刷物が完成した。今後、近隣の学校や東京都小平市環境政策課の方や、市民団体、生物クラブ連盟所属校、同じ学校法人の他校等へ配布することで、PCRに関する理解の普及と共に、環境保全についての意識を高めることができる。
 - ・申請時に予定していた、生徒による東京生物クラブ連盟の「生物研究のつどい」での発表や、教員による日本理科教育学会等での DNA 確認方法について、研究成果発表に間に合わなかったため、来年度以降に報告または論文発表をする。
 - ・また、申請時に予定していた以下の振り返りアンケートについても、インフルエンザ感染拡大防止の学級閉鎖に伴い、計画が遅れたことで残された課題となっている。新年度以降に実施を予定している。
- <申請時に予定していた振り返りアンケートの一部>
- 3) 実験や活動に対して、他者と協力して取り組むことができたか、また実験がうまくいかなかった場合には創意工夫して改善方法を見出す工夫ができたか、他者へわかりやすい説明をする工夫ができたか、という視点で生徒が自らの行動を振り返る。
 - 4) 近隣の学校の方が、身近な環境に興味を持つことができたかどうか。
- ・実践研究の可能性として、PCRの機械や試薬が高価であり、中学での普及が難しいと感じたことから、申請時の評価視点「①効果的な DNA の確認手法の確立」について継続して検討する。
 - ・実践研究の発展として、近隣の学校や東京都小平市環境政策課の方、地域の市民団体とも情報交換をしながら、学校周辺の河川について、継続して調査を実施していく予定である。

6. 成果の公表や発信に関する取組み

※ 研究会等での発表や、メディアなどに掲載・放送された場合もご記載ください

- ・創価学園 自然環境教育研究所 夏季研修会（創価学園法人本部、札幌創価幼稚園、創価小学校、創価中学校、創価高等学校、関西創価小学校、関西創価中学校・関西創価高等学校、外部講師が参加）での実践報告「外部機関からの研究助成等を活用した取り組み」（2022年7月27日）
- ・創価中学校ホームページに記事を掲載した。2022年10月14日掲載【校内「一滴の池」のプランクトン調査を行いました。】<https://tokyo-junior.soka.ed.jp/news/2022/10/14/3213/>
- ・創価学園 自然環境教育研究所 報告書 通巻第65号掲載「自然体験を通して育む生命の尊厳」（2023年3月1日発行）
- ・リーフレットを作成した（2023年3月下旬発行）。今後、近隣の学校や東京都小平市環境政策課の方や、市民団体、生物クラブ連盟所属校、同じ学校法人の他校（札幌、東京、関西）等へ配布する。

7. 所感

本活動は公益財団法人日産財団2022年度理科教育助成により実施しました。生徒が普段の授業ではなかなか経験することのできない貴重な体験をすることができ、大変に充実した活動となりました。また、生徒の理科に対する興味・関心の向上に加えて、学んだことが生活の中で役に立っているとの実感の高まり、自己肯定感の向上につながるなど高い教育的効果も得られました。関係各位に厚く御礼申し上げます。実践につきまして、ご協力頂いた創価大学理工工部部の黒沢則夫教授、郷田秀一郎教授、活動全般に対して協力頂いた理科・技術・美術・授業改革研究部・事務局等の本校の教職員の皆様に感謝申し上げます。今後もより良い授業作りに尽力し、生徒と共に得られた成果を継続して発信することで、環境保全にも貢献して参ります。