

理科・環境教育助成 成果報告書

第2回 期間：2004年11月～2005年10月

氏名：光永伸一郎

所属：国立大学法人上越教育大学

課題名：発芽した植物のなかではいったい何が起こっているのか観てみよう

1. 課題の主旨

発芽という段階は、本来、独立栄養生物である植物が、われわれヒトと同じ従属栄養生物として存在する極めて特殊な状態である。すなわち、われわれが種子に蓄えられた貯蔵物質を食物として摂取し、日常生活を営むためのエネルギーを得ているのと全く同じように、植物は自らその種子に蓄積した物質を分解・燃焼し、発芽のためのエネルギーを獲得しているわけである。この生物に共通するエネルギー獲得の過程を、簡単な実験教材を利用してうまく説明できないものかと考え、本課題の提起に至った。

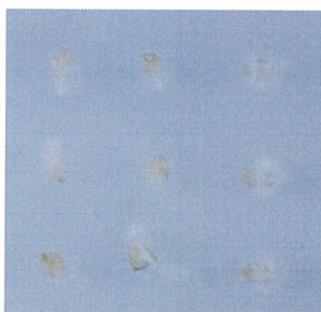
実験材料としては、単子葉類のモデル植物であるイネを利用した。イネは日本人の主食でもあるため、本課題を進めるうえで最適な材料と判断した。発芽の際、イネは胚乳に蓄えた貯蔵デンプンを、アミラーゼを用いて分解している。この過程を視覚的に示すことのできるいくつかの実験教材について検討した。

2. 活動状況

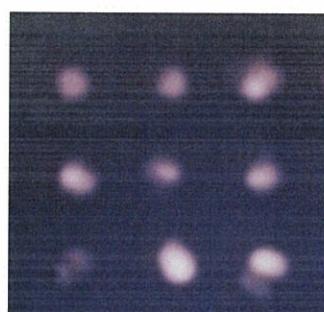
平成16年11月～平成17年2月：アミラーゼによるデンプン分解を可視化するための実験系の検討

発芽の際、イネは大量のアミラーゼを合成し、胚乳の貯蔵デンプンを分解する。デンプンが分解される様子を観察する場合は、ヨウ素-デンプン反応を利用するのが適当である。

そこで、まず、シャーレに0.2% (w/v) のデンプンを含む2%寒天プレートを作成した。種子を横半分に切断し、胚のある側を2日間発芽させた後、切断面を下にプレートに置いた（図1）。37°Cのインキュベーター内に2時間放置した後、ヨウ素-ヨウ化カリウム溶液を用いて染色した。その結果、合成されたアミラーゼが染み出し、デンプンが分解された部分を白色スポットとして検出することができた（図2）。



(図1)



(図2)

また、乾燥種子についてはスポットが検出されないことから、本実験系を利用することにより、アミ

ラーゼが発芽に伴い新たに合成されるという事実を理解することも容易である。

平成 17 年 3~6 月：アミラーゼが胚組織から分泌されていることを可視化するための実験系の検討

デンプンを含む胚乳組織はすでに死んだ細胞であり、役割としては単なる貯蔵庫に過ぎない。これに対して、胚を中心としたいわゆる糠と呼ばれる部分は生きた組織であり、発芽の際に重要な役割を果たしている。アミラーゼが合成されるのもこの部分である。そこで、アミラーゼが胚組織から分泌されている様子を観察するための実験系についても検討した。

スライドグラス上に 1% (w/v) のデンプンを含む 8% アクリルアミドの薄膜を作成した。2 日間発芽させた種子を縦半分に切断し（図 3），切断面を下に薄膜上に置いた。40 分間放置した後、ヨウ素-ヨウ化カリウム溶液を用いて染色した。デジタル顕微鏡を用いて観察した結果、デンプンが分解された部位、すなわちアミラーゼが分泌されている胚組織を特定することができた（図 4）。



（図 3）



（図 4）

平成 17 年 7 月：特別授業のための実験材料の準備

平成 17 年 7 月 26 日（火）：平成 17 年度「附属中学校わくわく大学ウイーク」特別授業の実施

特別授業のタイトルは、本課題と同じく「発芽した植物のなかではいったい何が起こっているのか観てみよう」とした。

発芽したイネのなかではアミラーゼによるデンプン分解が行われていることを説明した。また、アミラーゼの合成をはじめとするすべての生命現象の背景には遺伝子の発現があることから、DNA に関しても簡単な説明を加えた。実際に発芽したイネの緑葉から DNA を単離・抽出し（図 5），DNA 上に存在するアミラーゼ遺伝子のスイッチがオンになることにより、その合成が開始されることを説明した。

また、DNA 上にはその他にもさまざまなスイッチが存在しており、光がないと葉緑体を発達させるスイッチが入らずに黄化すること（図 7），酸素がないと根を形成するスイッチが入らず芽だけが伸びること（図 8），などを通常の発芽種子（図 6）との比較のもとに説明した。



（図 5）



（図 6）



（図 7）



（図 8）

平成 17 年 8~11 月：実験教材の再現性についての確認作業

特別授業に用いた実験教材について、その再現性についての確認を行った。授業における反省点なども十分に検討した後、学術論文としてまとめる計画である。

3. 結果

デンプン性種子であるイネを実験材料に用いた点は、「生物に共通するエネルギー獲得の過程を簡単な実験教材を利用して説明する」という本課題の目的を達成するためにはきわめて有効であったと考える。すなわち、日々、われわれは白米を食べて、そこから生活活動のためのエネルギーを得ているわけであるが、イネの場合もそれと全く同様に白米に相当する部分を分解し、自ら芽を伸ばすためのエネルギー源としている、という説明をスムーズに行うことができた。

また、身近な酵素であるアミラーゼを用いた点も効果的であったと考える。動物と植物という違いはあるものの、ヒトもイネもアミラーゼという共通の酵素を用いてデンプンを消化しており、この点を強調することにより生物における普遍性の一端を紹介できたものと考える。

遺伝子スイッチの説明の際に用いた DNA についても、実際にイネから単離したもの用いたことにより、生徒に与える印象も大きかった。植物材料を用いたことにより、黄化、根の成長阻害といった形態の異なるサンプルを示すことができた点も良かった。

いずれの実験、観察においても、生徒が興味をもって積極的に取組んでくれたことが印象に残った。

4. 今後の課題と発展

今後、本課題を発展させることを考えた場合、イネ形質転換体の利用が効果的であると考える。モデル植物であるイネは、さまざまな形質転換体を容易に作成することができる。

たとえば、今回の遺伝子スイッチの説明においては、黄化、根の成長阻害といった形態的変化と関連させた説明を行ったが、アミラーゼ遺伝子の代わりにレポーター遺伝子を組み込んだ形質転換体を作成することにより、実際にアミラーゼ遺伝子の発現している胚組織（すなわちスイッチが入っている部位）を、特異的に着色して示すことができる。

これによって、遺伝子発現及びデンプン分解に関する理解がさらに深いものになるとともに、顕微鏡による観察もさらに有効的な手段となる。

5. 発表論文、投稿記事及び当財団へのご意見など

(文献) S. Mitsunaga, M.A. Kashem, M. Ohshima and T. Mitsui: Regulatory mechanisms of α -amylase expression in germinating rice seeds. *Current Topics in Plant Biology*, 5, 15-38 (2004).