

## 遺伝子概念の歴史的発展の実証的指導

筑波大学附属駒場中・高等学校

貝沼 喜兵 ・ 石川 秀樹

# 遺伝子概念の歴史的発展の実証的指導

貝 沼 喜 兵・石 川 秀 樹

## 1. 遺伝子概念の歴史

遺伝子概念が歴史的にどのように発展してきたのか概観してみよう。

### (1) 遺伝子概念の元祖はメンデル

メンデルは、エンドウの交雑実験を通して、彼の選択した7対の対立形質が、子孫に規則正しく伝えられることを発見した。この形質の伝わり方を説明するため次のように因子（後に遺伝子とあらためられた）を仮定しその行動から彼の発見した遺伝現象を説明しようとした。

1. 生物の表わす形質は2個の因子によって決定される。
2. この因子は、両親から1個ずつ与えられる。
3. 親から子に伝達される因子は安定で変化しない。
4. 生殖細胞が形成される時、この因子は分離しておのおの生殖細胞に入る。
5. もしある性質に関して2個の異なった因子があった際に、その一方の形質があらわれる。

メンデルの論文は、35年間ほとんど無視され、1900年の再発見を迎えるのであるが、この理由は、細胞学の未発達にあったと考えられている。

3人の学者の再発見によってメンデルの論文は多くの人達にその価値が認められたのである。

### (2) 遺伝子は染色体に存在する。

メンデルの仮定した遺伝子の行動と細胞分裂、受精、発生における染色体の行動の平行性から、遺伝子は染色体に存在するだろう示唆したのは Sutton (1902) であった。Sutton は、また、もし、細胞学的に染色体の自由配分を証明できるならば、独立の法則を細胞学的に実証したことになる」と述べた。Sutton の示唆は、その後、Carothers によってバッタを用いた実験(1903, 1917)によって実証された。

T. H. Morgan らは、*Drosophila* を用いて、三点実験で染色体地図を作成した(1920~1930)。

この時期の遺伝子は、形質発現の、突然変異の、組みかえの複合された単位であるとされていた。なお、この時期は、遺伝物質が何であるかは明らかにされていなかった。

Beadle & Tatum らは、*Neurospora Crassa* にX線を照射し多数の栄養要求性突然変異株を分離し、これらを用いた交雑実験を通して1つの遺伝子が1つの酵素を支配するとし、1遺伝子—1酵素説を提唱した。(1944)。

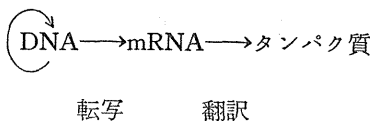
### (3) 遺伝子の本体はDNA

1928年、Griffithは、肺炎双球菌を用いて形質転換現象を発見した。しかし、転換物質が何であるかは証明できなかった。この現象は、その後何人かの研究者によって追究され、1944年、Averyらによって、DNAが遺伝物質であることが明らかにされた。

1953年、Watson & Crickは、DNAの二重らせんモデルおよび複製のモデルを提唱した。このモデルは、次の3つの研究がその土台を形成していたと考えられる。

1. GriffithからAveryらにいたる「DNAが遺伝子の本体である」ことの実証
2. WilkinsとFranklinらによるDNAのX線回折に関する研究(らせん構造を示唆する)。
3. ChargaffによるDNAの塩基分析の研究。

Watson & Crickのモデルは、DNAに関する研究、すなわち分子遺伝学の研究を刺激、促進し、次のようなセントラルドグマを形成した。



自己複製

### (4) 新しい遺伝子概念の提唱

分子遺伝学の研究材料は、大腸菌 (*Escherichia coli* = *E. coli*) や Bacteriophage (=phage 単にファージ) が主に用いられ、その優れた特徴からこの時期にふさわしい遺伝子概念の発展に大きく貢献した。

この時期に活躍したのは、S. Benzerである。彼は、 $T_2$  や  $T_4$  などのT偶数系ファージを用いて muton (突然変異単位), ciston (機能単位), recon (組みかえ単位) という新しい遺伝子概念を提起した。

その後、Jacob & Monod (1961) は、*E. coli* の糖の発酵現象の調節から mRNA 合成の単位として operon (調節単位) を提起し、遺伝子の主要な概念は出揃うことになる。

## 2. 生物IIで遺伝子概念の実証的指導を

生物IIの授業で、遺伝子概念の発展を歴史的にあとづける授業はできないだろうか。しかも実験を中心にすえて。筆者は、10年前から、微生物を用いた分子遺伝学的実験を生物あるいは生物IIの授業に導入する。試みを続けてきた。

筆者が、授業で実施している実験は次の通りである。

- (1) 形質転換 (DNAの塩基分析を含めて)
- (2) ファージの一段増殖
- (3) 単個菌によるファージ生産

- (4) フェージを用いた突然変異の誘起実験
- (5) シストランス相補性テスト
- (6) フェージの組みかえによる遺伝子地図の作成

筆者が、これらの実験を、歴史的発展と関連づけて指導しはじめたのは3年前ぐらいからである。

筆者の生物IIにおける、遺伝子概念の歴史的発展の指導計画は次の通りである。

- (1) Mendel の法則 (遺伝子概念の成立)
- (2) 染色体地図 (遺伝子は、染色体上に線上に配列するとして古典遺伝学の遺伝子概念)
- (3) 1 遺伝子—1 酵素説
- (4) 形質転換
- (5) フェージによる muton, Cistron recon Operon の指導

これらの実験を授業にどのように導入しているか。生徒実験の結果がどうなっているかなどを概要を述べてみよう。

### 3. 実験の目標, 原理, 方法, 結果など

#### 1. 形質転換

##### (1) 実験のねらい

枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の栄養要求性突然変異形質を用いて、DNAが遺伝子の本体であることを実証する実験である。同時に、DNA加水分解物のペーパークロマトグラフィー法による塩基分析を行なう。

##### (2) 実験原理

*B. subtilis* W<sub>23</sub> (wild) と Ys<sub>11</sub> (mutant) は次の遺伝形質をもつ。

Table. 1 *B. subtilis* の遺伝形質

	M	Ade <sup>-</sup>	Leu <sup>-</sup>	Arg <sup>-</sup>	A <sub>11</sub>	Cells/ml
W <sub>23</sub>	101	122	89	57	121	1.0×10 <sup>9</sup>
Ys <sub>11</sub>	0	0	0	0	47	4.7×10 <sup>8</sup>

すなわち、W<sub>23</sub><sup>ade<sup>+</sup>, leu<sup>+</sup>, arg<sup>+</sup></sup>, Ys<sub>11</sub><sup>ade<sup>-</sup>, leu<sup>-</sup>, arg<sup>-</sup></sup> である。

W<sub>23</sub> 生菌からDNAを抽出し、これを Ys<sub>11</sub> に加え選択培地で転換菌を検出する。

##### (3) 実験方法

生徒実験で生徒は次の実験を行なう。

- ① W<sub>23</sub> 生菌よりDNAの抽出
- ② DNA—加水分解物の塩基分析
- ③ CpYs<sub>11</sub> に W<sub>23</sub> DNA を処理し、転換菌の検出、対照実験区を設け、選択培地上で行なう。

(4) 実験結果

Table. 2 形質転換菌の検出

	10 <sup>-1</sup>		10 <sup>-2</sup>		備 考
I	3296	2808	448	638	CPY <sub>S11</sub> +W23DNA
II	0	0	/		CPY <sub>S11</sub> +DNase W23DNA
III	0	0			W23DNAonly
IV	0	0			CPY <sub>S11</sub> only

Ade<sup>-</sup> の選択培地

IIは、DNA加水分解酵素で処理した  
W23DNAを加えたもの

2. ファージの遺伝形質

(1) 実験のねらい

ファージを用いて遺伝子概念の指導をする前にファージの遺伝形質を調べ、定量方法を学ぶ。

(2) ファージの希釈と定量と遺伝形質

滅菌した生理食塩水で希釈し、大腸菌を指示菌とし、λプレートにまく。図1にファージの希釈方法と、Table 3 にファージの遺伝形質、Table 4 にファージの濃度測定の方法を示した。

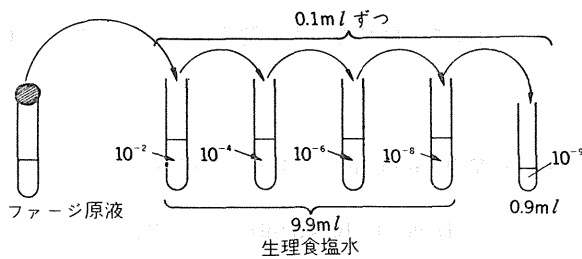


図 1 ファージの希釈方法

Table. 3 IIの遺伝形質

指示菌 ファージ	K 12(λ)	B S
T <sub>4</sub> +	小型プラーク	小型プラーク
r II	プラーク形成 せず	大型プラーク

Table. 4 ファージの定量

指示菌 ファージ	K12(λ)		B S		ファージ/ml
T <sub>4</sub> t(wild)	46	39	35	43	4.1×10 <sup>11</sup>
T <sub>4</sub> r II(mutant)	0	0	29	31	3.1×10 <sup>11</sup>

3. 一段増殖

(1) 実験のねらい

大腸菌に感染したファージの暗黒期（菌内に感染性のファージをつくるまでの時間）と潜伏期（感染後、溶菌してファージを放出するまでの時間）を知り、平均何個のファージを生産するか

など、ファージのライフサイクルを調べるため。2図の(4)が暗黒期(5)が潜伏期である。

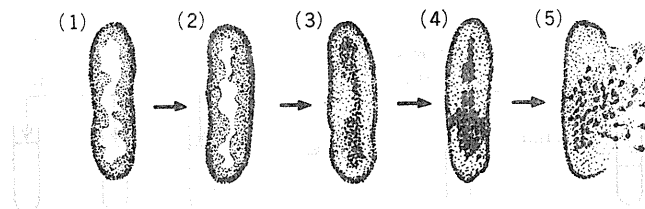


図 2 T<sub>4</sub>ファージ感染より溶菌までの形態的变化

[W. B. Wood, R. S. Edgar : Sci. Am, 1968 p. 155]

(1)ファージ吸着およびDNA放出, (2)宿主菌DNAの崩壊およびファージDNAの複製, (3)ファージ構造たんぱくの合成, (4)ファージ粒子完成, (5)溶菌およびファージ粒子の放出

## (2) 実験原理

大腸菌にファージを感染させると、ファージは、宿主菌にDNAを注入する。裸のDNAは、宿主菌がクロロホルムなどで溶菌されるとそのままでは感染力はないが、宿主菌のタンパク合成系を用いて完成された粒子をつくれば感染力をもつ(暗黒期)。そこで、大腸菌にファージを感染させ、定められた時間ごとにサンプリングし、そのままプレートにまいたのがA系列(潜伏期)、クロロホルムで溶菌したものB系列(暗黒期)、宿主菌当りの産生数を求めることができる。

Table. 5 一段増殖法の結果

時間 (分)	A 系 列			B 系 列		
	希釈	プラーク数	ファージ/ml	希釈	プラーク数	ファージ/ml
0	10 <sup>-2</sup>	311	3.1 × 10 <sup>5</sup>	10 <sup>-2</sup>	1	1.0 × 10 <sup>3</sup>
7	10 <sup>-2</sup>	345	3.5 × 10 <sup>5</sup>	10 <sup>-2</sup>	0	0
14	10 <sup>-2</sup>	340	3.4 × 10 <sup>5</sup>	10 <sup>-2</sup>	21	2.1 × 10 <sup>4</sup>
21	10 <sup>-2</sup>	368	3.7 × 10 <sup>5</sup>	10 <sup>-3</sup>	134	1.3 × 10 <sup>6</sup>
25	10 <sup>-3</sup>	32	3.2 × 10 <sup>5</sup>	10 <sup>-3</sup>	185	1.9 × 10 <sup>6</sup>
30	10 <sup>-4</sup>	25	2.5 × 10 <sup>6</sup>	10 <sup>-4</sup>	63	6.3 × 10 <sup>6</sup>
45	10 <sup>-4</sup>	81	8.1 × 10 <sup>6</sup>	10 <sup>-4</sup>	137	1.4 × 10 <sup>7</sup>
60	10 <sup>-4</sup>	321	3.2 × 10 <sup>7</sup>	10 <sup>-4</sup>	548	5.4 × 10 <sup>7</sup>

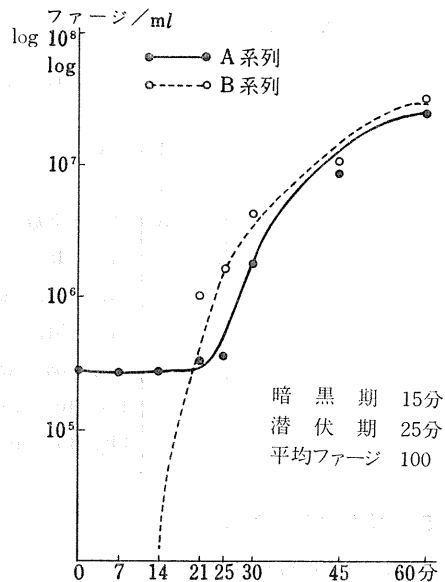


図 3 一段増殖

## 4. 単個菌からのファージ産生

### (1) 実験のねらい

1個の大腸菌に1個のファージが感染して一体何個のファージに増殖するのだろうか、その広

がりかどうかを調べる。

(2) 実験原理

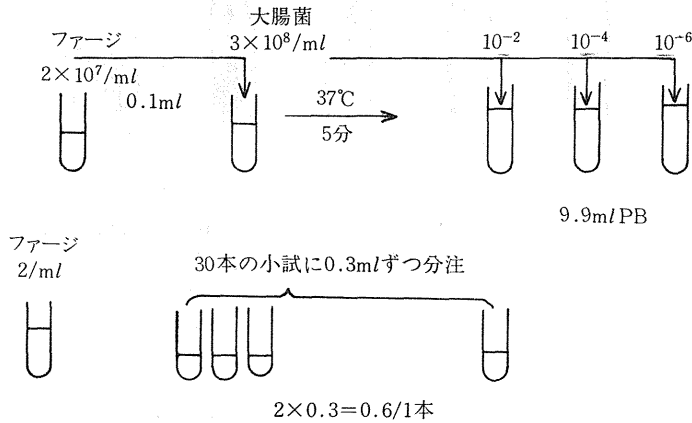


図 4 単個菌からファージ産生の原理

ファージ濃度を 2 個/ml に希釈したものを、0.3 ml ずつ30本の小試に分注する。1本の試験管当たり 0.6 個になる。10本の小試験管でファージの存在するのが平均6本、ファージのないのが4本ということになる。こうすると、大腸菌1個当りのファージ産生数を求めることができる。これをポアソン分布で検討することができる。

(3) 実験結果

Table. 6 実験の結果

1	ファージ濃度	$1.4 \times 10^7$
2	プラークのないプレート	67枚
3	プラーク数の分布	53枚
		17, 18, 24, 25, 25, 29, 29, 30, 31,
		31, 32, 36, 40, 41, 41, 42, 43, 44,
		46, 51, 51, 53, 54, 56, 57, 57, 62,
		64, 68, 69, 70, 71, 74, 77, 82, 95,
		101, 105, 108, 118, 120, 124, 138, 139, 141,
		149, 153, 164, 167, 169, 233, 256, 435,

5. 突然変異の誘起

(1) 実験のねらい

$T_{4r^+}$ (wild) に  $NaNO_2$  を処理し突然変異を起させ rII 変異株を分離する。この実験を通して突然変異の生ずる根拠と rII を分離できる根拠を理解させ、 muton について考察させる。

(2) 実験原理

DNAを構成する塩基は、 $NaNO_2$  の作用で下図のように変換し (AT→GC, GC→AT) たり、





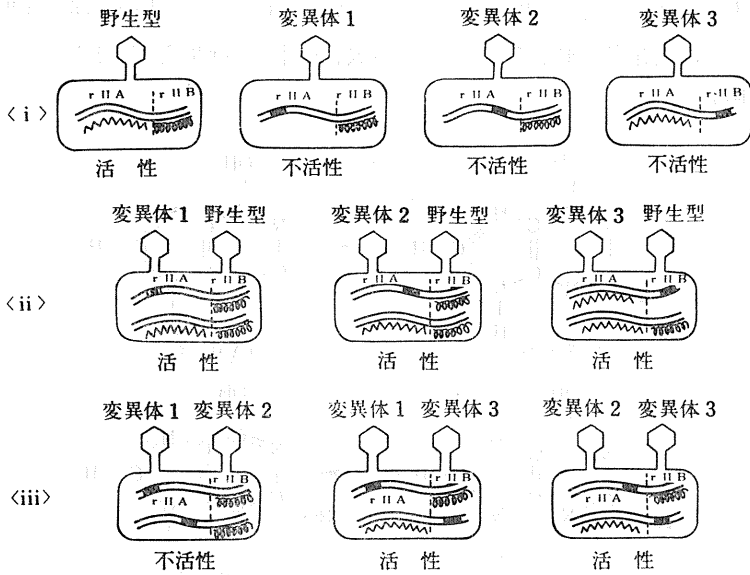
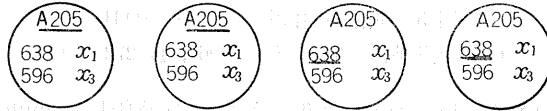


図 7 大腸菌 K-12 株における T<sub>4</sub>rII の相補性 (S. BENZER : Scientific American, 206, 70, 1962 にもとづき改変)

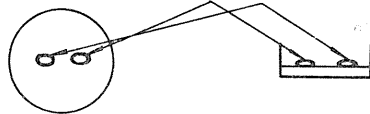
### (3) 実験方法

次に実験方法の手順を図 7 に示す。

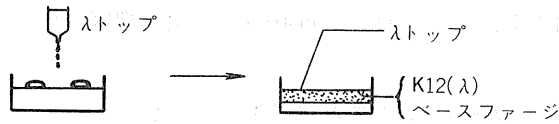
- ① λ プレートに記号をつける



- ② K12(λ) とベースファージを分注する  
ベースファージ K12(λ)



- ③ λ トップを加えて表面を分散固化させる



- ④ トップファージをスポットする

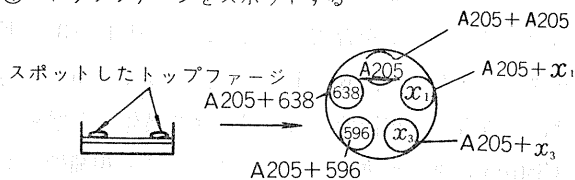


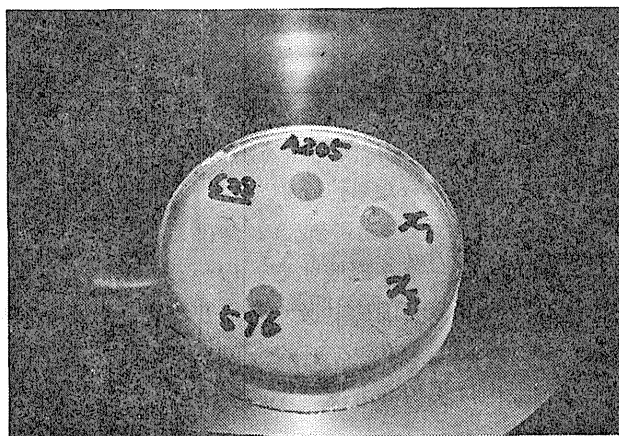
図 7 シス・トランステストの実験の手順

(4) 実験結果

Table 7 と写真 1 に結果を示した。A205 (A), 596 (A), 638 (B) は標準変異株で,  $X_1$  と  $X_3$  は, 生徒実験で分離した変異株でこの実験で,  $X_1$  は Acistron,  $X_3$  は Bcistron にそれぞれ欠陥のある rII であることがわかる。写真 1 は, ベースフェージが 638 (B) であり, A205, 596,  $X_1$  が相補性があり Acistron に欠陥のある変異株であることを示している。

Table. 7

トップ ベース	A 205	596	638	$x_1$	$x_3$	判定
A 205	—	—	+	—	+	A
	—	—	+	—	+	
596	—	—	+	—	+	A
	—	—	+	—	+	
638	+	+	—	+	—	B
	+	+	—	+	—	
$x_1$	—	—	+	—	+	A
	—	—	+	—	+	
$x_3$	+	+	—	+	+	B
	+	+	—	+	+	



写 真

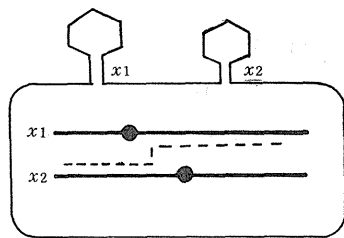
7. 組みかえ実験による遺伝子地図作成

(1) 実験のねらい

rII 変異株 3 株を用いて三点実験法により遺伝子地図を作成させ, recon について考察させる。

(2) 実験原理

大腸菌 B 株に混合感染した rII 変異株  $X_1$  と  $X_2$  は 8 図のように交さし, 組みかえ体をつくる。



大腸菌B株

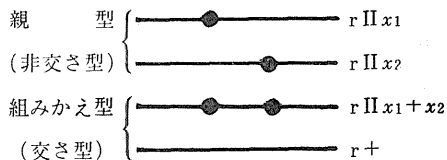


図8 混合感染による組みかえ体の形成

rII は、BS を指示菌とするプレートにプラークを形成するが、K12(λ) ではプラークを形成しない。これに対して組みかえにより r+ を生じ、これは K12(λ) でプラークを形成する。

組みかえ率は次のようにして求めることができる。

$$\begin{aligned} \text{組みかえ率} &= \frac{\text{組みかえフェージ}}{\text{全フェージ}} \times 100 \\ &= \frac{\text{K12}(\lambda) \text{ プレート上のプラーク数} \times 2}{\text{BS プレート上のプラーク数}} \times 100 \end{aligned}$$

交さ率は、変異が接近しているよりも、離れている方が、大きい。

### (3) 実験方法

次の三点実験を計画した。

#### ① 混合フェージの準備 (いずれも rII (A))

A (A205×N55)

B (A205×596)

C (N55×596)

#### ② 大腸菌 BB を増殖し、 $3 \times 10^8/\text{ml}$ を調整する。

③ 大腸菌に混合フェージを接種し、一定時間保温し、希釈後、60分間培養し、A~Cについて組みかえ率を調べる。

### (4) 結果

#### II 増殖フェージ数

区分	指示菌	dil.		10 <sup>-2</sup>		10 <sup>-3</sup>		10 <sup>-4</sup>		フェージ/ml(備考)
A	BS	/		376	420	38	46	/		4.4×10 <sup>6</sup> (全フェージ)
	K12(λ)	40	50	4	*	/		/		4.5×10 <sup>4</sup> (組み換え体)
B	BS	/		440	272	38	41	/		4×10 <sup>6</sup>
	K12(λ)	84	67	8	7	/		/		7.5×10 <sup>4</sup>
C	BS	/		256	284	33	23	/		2.8×10 <sup>6</sup>
	K12(λ)	107	93	6	9	/		/		1.0×10 <sup>6</sup>

\* λ top, フェージ接種忘れ

24枚

#### III 接種親フェージ数

フェージ	dil.		10 <sup>-7</sup>	フェージ/ml
A 205	210	164		1.87×10 <sup>9</sup>
N 55	128	156		1.42×10 <sup>9</sup>
596	160	152		1.52×10 <sup>9</sup>

6枚

IV 宿主菌数

dil.	10 <sup>-6</sup>	Cells / ml
E. coli BS	22 28	2.5 × 10 <sup>8</sup>

2枚

(iii) 加えた親ファージ数

$$\left. \begin{array}{l} \text{A. A205 } 1.87 \times 10^{10} \\ \text{B. N 55 } 1.42 \times 10^{10} \\ \text{C. } 596 \ 1.56 \times 10^{10} \end{array} \right\} \times 1/2 \times 10^{-4} \longrightarrow \left\{ \begin{array}{l} 9.5 \times 10^5 \\ 7.1 \times 10^5 \\ 7.8 \times 10^5 \end{array} \right.$$

(iv) m. o. i.

$$\text{A. A205} = \frac{9.5 \times 10^5 - 1.5 \times 10^5}{2.3 \times 10^5} \doteq 3.5$$

$$\text{B. N 55} = \frac{7.1 \times 10^5 - 1.5 \times 10^5}{2.3 \times 10^5} \doteq 2.4$$

$$\text{C. } 596 = \frac{7.8 \times 10^5 - 1.5 \times 10^5}{2.3 \times 10^5} \doteq 2.7$$

(v) 増殖ファージとその組換え率

A. a ファージ全数  $4.4 \times 10^6$

b 組換え体総数  $4.5 \times 10^4 \times 2$

c 組換え率  $\frac{9.0 \times 10^4 \times 100}{4.4 \times 10^6} = 2.4\%$

B. a ファージ全数  $4.0 \times 10^6$

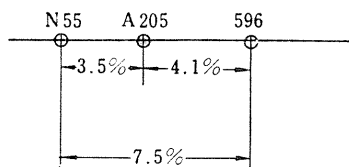
b 組換え体総数  $7.5 \times 10^4 \times 2$

c 組換え率  $\frac{1.5 \times 10^5 \times 100}{4.0 \times 10^6} = 3.75\%$

C. a ファージ全数  $2.8 \times 10^6$

b 組換え体総数  $1.0 \times 10^5 \times 2$

c 組換え率  $\frac{2.0 \times 10^5 \times 100}{2.8 \times 10^6} = 7.2\%$



4. 学習調査

1. 調査のねらいと実施の概要

遺伝子概念の歴史の学習を実験を中心に実施した。このような指導では、それぞれの概念や実験が、はたして生徒にどの程度理解されたのかが問題になる。そこで、生徒の理解度を知るために学習調査を実施した。

学習の終わった直後の3月に都合で実施できず、約4ヶ月後の7月6日に実施した。明日から期

末考査のはじまる前日の放課後で、高三という学年の特徴もあり、調査を受ける側の生徒に心理的ストレスがあったようだ。調査時間は、別に区切らず、できた生徒から帰らせるようにした。ほとんどの生徒は30～40分の間に提出した。

調査数は27名であった。対象者数は35名であるから77%の調査率となる。

## 2. 調査問題とその正答率

別紙プリントを参照していただきたい。

## 3. 問題の分析

正答率50%以下の問題についてその原因について分析してみた。

問題1 菌の遺伝形質 (33%)、遺伝形質として利用されるものとの混同があったらしい。糖の発酵性 (33%)、抗生物質に対する抵抗性 (15%) にそれがうかがわれる。

問題10 実験変異の誘起 (26%) 亜硝酸ナトリウムと硝酸ナトリウムの錯覚したらしい。

また、ウイルスに発癌性ウイルスがあるということ、形質導入という現象の存在などは生徒の理解をこえているようだ。

問題16 cistron (48%)、学習した時点から4ヶ月たっていることは大きいようだ。recon との錯覚もある。

問題18 組みかえ率 (26%) 一部に計算方法を忘れたもの、またAだけ計算してBとCを計算しないで適当に答えたことなどが考えられ、明日からのテストを意識していたようだ。

問題19 recon (44%) cistron との混同のさらに前問と同じ理由があてはまる。

問題20 operon (37%) これについては実験していないので理解が他にくらべ困難のようだ。

## 4. 結論

実験学習の後の4ヶ月の経過、期末テストの直前という時期、あらかじめ準備させたのでなく抜き打ち的にテストまがいの調査だったことを考慮すれば、一部の問題で正答率が50%を割ったが大半の問題について高率の正答率がでている。したがって、実験の内容および概念について生徒の理解度は十分高く、指導のねらいは達成させたと考えている。