

先駆的な科学者・技術者の育成を目指す
授業展開と教材開発 その4

筑波大学附属駒場中・高等学校 理科
石川秀樹・梶山正明・真梶克彦・高橋宏和
仲里友一・濱本悟志・吉田哲也

先駆的な科学者・技術者の育成を目指す

授業展開と教材開発 その4

筑波大学附属駒場中・高等学校 理科

石川秀樹・梶山正明・真梶克彦・高橋宏和
仲里友一・濱本悟志・吉田哲也

本校は、平成14（2002）年度より文部科学省研究開発学校であるスーパーサイエンスハイスクール（SSH）の指定を受けている。研究開発課題「先駆的な科学者・技術者を育成するための中高一貫カリキュラム研究と教材開発」の下、理科ではこの課題達成に向けたカリキュラム研究と、それに合わせた教材の開発に5年計画で取り組んでいる。平成16年度までの三年間の成果として、新たに開発した実験教材について、詳しい内容を紹介する冊子（実験マニュアル）を2005年3月25日に発刊した。第四年次の今年度は、完成したこの実験マニュアルの概要を示し、さらに一部分を抜粋して紹介したい。

キーワード：スーパーサイエンスハイスクール、カリキュラム開発、教材開発、実験マニュアル

1 はじめに

本校は、文部科学省が平成14年度から実施したスーパーサイエンスハイスクール事業の指定校となる機会を得た。平成16年度までの三年間、「先駆的な科学者・技術者を育成するための中高一貫カリキュラム研究と教材開発」という研究開発課題を掲げ、大学や研究機関の先生方のご助言を頂きながら、新しい教材の開発とそれらを束ねたカリキュラムの検討を手がけてきた。特に、新しい実験機器を使った実験教材をいくつか開発できたことは大きな喜びであった。これらについては、SSHの各年次の報告書に書き記してきたが、限られた頁数のため実験方法などについてはあまり詳しい内容を紹介することができなかった。そこで三年次の平成16年度を終えるにあたって、別に冊子としてまとめようということになり、実験書「先駆的な科学者・技術者を育成するための理科実験～スーパーサイエンスハイスクール開発教材の紹介～」が完成した。

2 実験マニュアルの概要

平成16年度SSH予算の中から725,000円をかけてこの実験マニュアルを制作した（B5版・本文200頁・カラーカバー/カラー口絵10頁・色中扉4枚 600部）。

本文は、「物理分野」、「化学分野」、「生物分野」、「地学分野」の四科目別の構成とした。それぞれの実験の紹介を、解説と生徒用プリントに分け、解説は「はじめに」、「実験機器、材料、準備」、「実験の原理・方法」、「結果」、「発展・補足」、「参考文献」の各項目で構成した。生徒用プリントは、見開きで概観がわかるようにし、指導に際しての注意点等についてもここで参照できるようにした。また、各科目の最後の頁にはこの三年間のSSH予算で購入した備品のリストを付して、実験実施にはどんな機器が必要なのかが大まかに分かるように配慮した。この実験マニュアルの配布先は、SSH指定校、各教育研究機関、平成16年度、17年度の本校教育研究会理科研究協議会の参加者などとした。さらに、今後予定されている本校実験研修会の参加者にも配布を計画している。配布したSSH指定校からは、実験内容に関する問い合わせの他に、「同様の実験書を作成したいが、いくらぐらいの予算をかけたか」といった問い合わせを受けた。

3 目次と本文からの抜粋

次頁より、その目次（再構成したもの）と各分野からの抜粋を掲げる。備品のリストは化学分野のものを例として示す。

「先駆的な科学者・技術者を育成するための理科実験
 ～スーパーサイエンスハイスクール開発教材の紹介～」

目次

❖物理分野❖

弦の固有振動と弦楽器の秘密（解説）	真梶克彦・濱本悟志	(4)
（生徒用プリント）		(5)
（実験結果と評価）		(7)
気柱の固有振動と管楽器の秘密（解説）	真梶克彦・濱本悟志	(10)
（生徒用プリント）		(11)
（実験結果と評価）		(15)
音波の波長および伝播速度の測定（解説）	真梶克彦・濱本悟志	(18)
（生徒用プリント）		(19)
（実験結果と評価）		(21)
超音波の干渉実験と波長測定（解説）	真梶克彦・濱本悟志	(22)
（生徒用プリント）		(23)
（実験結果と評価）		(25)
交流における各素子のはたらきと LC 共振回路（解説）	真梶克彦・濱本悟志	(26)
（生徒用プリント）		(27)
（実験結果と評価）		(30)
レーザー光の回折と干渉（解説）	真梶克彦・濱本悟志	(32)
（生徒用プリント）		(33)
（実験結果と評価）		(36)
CD 記録面での反射光の干渉と溝の間隔測定（解説）	真梶克彦・濱本悟志	(38)
（生徒用プリント）		(39)
（実験結果と評価）		(41)
光電効果とプランク定数の測定（解説）	真梶克彦・濱本悟志	(42)
（生徒用プリント）		(43)
（実験結果と評価）		(45)
電子の粒子性と波動性（解説）	真梶克彦・濱本悟志	(46)
（生徒用プリント）		(47)
（実験結果と評価）		(50)
発光スペクトルと水素原子のエネルギー準位（解説）	真梶克彦・濱本悟志	(52)
（生徒用プリント）		(53)
（実験結果と評価）		(56)
プランク・ヘルツの実験（解説）	真梶克彦・濱本悟志	(58)
（生徒用プリント）		(59)
（実験結果と評価）		(62)
付：SSH 予算で購入した主な実験機器リスト		(64)

❖化学分野❖

高感量電子天秤を利用した気体の分子量測定（解説）	吉田哲也	(66)
（生徒用プリント）	吉田哲也	(68)
光と色ー吸収スペクトル測定入門ー（解説）	梶山正明	(70)
（生徒用プリント）	梶山正明	(72)
アルカンの光反応とアルケンの付加反応（解説）	梶山正明	(76)
（生徒用プリント）	梶山正明	(78)
エステル合成と赤外吸収スペクトルの測定（解説）	梶山正明	(80)
（生徒用プリント）	梶山正明	(86)
芳香族炭化水素の紫外可視吸収スペクトル（解説）	梶山正明	(90)
（生徒用プリント）	梶山正明	(92)
フェノールフタレインの退色反応速度（解説）	梶山正明	(94)
（生徒用プリント）	梶山正明	(96)
酸・塩基指示薬の変色域と電離定数（解説）	梶山正明	(100)
（生徒用プリント）	梶山正明	(104)
プラスチックの合成と赤外吸収スペクトルによる同定（解説）	梶山正明	(112)
（生徒用プリント）	梶山正明	(115)
付：SSH 予算で購入した備品リスト		(118)

❖生物分野❖

枯草菌の形質転換

1 枯草菌の形質確認(解説).....	石川秀樹	(120)
(生徒用プリント).....	石川秀樹	(122)
2 W23 DNA の抽出(解説).....	石川秀樹	(126)
(生徒用プリント).....	石川秀樹	(130)
3 Y12S の形質転換(解説).....	石川秀樹	(132)
(生徒用プリント).....	石川秀樹	(136)

遺伝子組換えに必要な基礎実験技術

1 プラスミドの抽出・制限酵素切断・電気泳動(解説).....	仲里友一	(138)
(生徒用プリント).....	仲里友一	(142)
2 リガーゼ反応・形質転換(解説).....	仲里友一	(146)
(生徒用プリント).....	仲里友一	(150)
塩基置換突然変異体を用いた転写調節因子の機能解析(解説).....	仲里友一	(155)
(生徒用プリント).....	仲里友一	(158)

形質転換体中の組換えDNAの検出

1 PCR を利用した検出(解説).....	仲里友一	(162)
(生徒用プリント).....	仲里友一	(166)
2 サザン・ハイブリダイゼーションを利用した検出(解説).....	仲里友一	(169)
(生徒用プリント).....	仲里友一	(174)

in situ ハイブリダイゼーションによる

ショウジョウバエ初期胚中のピコイド、オスカーRNA の検出	仲里友一	(180)
蛍光抗体を用いた微小管の観察.....	仲里友一	(184)
付：SSH予算で購入した備品リスト.....		(186)

❖地学分野❖

貝化石標本をもとにした生物の個体成長と個体変異の研究

生徒用プリント.....	高橋宏和	(188)
解説・補足.....	高橋宏和	(192)
図表.....	高橋宏和	(196)
デジタルカメラを用いた火成岩(深成岩)の色指数の測定		
解説.....	高橋宏和	(198)
付：SSH予算で購入した備品リスト.....		(200)

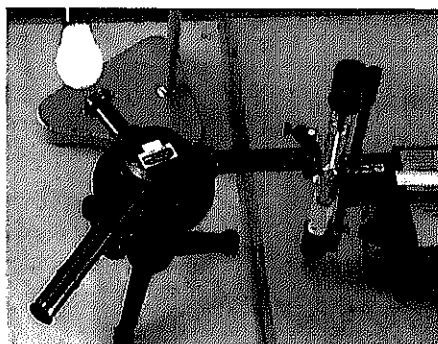
発光スペクトルと水素原子のエネルギー準位

理科物理実験室

1800年代には既に、希薄な気体は高電圧をかけ放電させると発光し、そのスペクトルは太陽光のように連続的ではなく離散的であることが知られていた。1913年、Niels Bohrは水素原子の電子軌道に関して、ある条件を満たす電子は電磁波を放出することなく安定した軌道を描くこと、その安定な状態は複数存在し、その間のエネルギーの差が放出あるいは吸収される光子であるとして、水素原子の発光スペクトルを理論的に解明した。(1922年ノーベル物理学賞) この実験では、分光器を使って気体の発光スペクトルを測定し、古典物理学では理解できなかった原子の構造の解明に大きく寄与した Bohr 理論に触れる。

1. 実験機器

- 分光器 KB-2 : SHIMADZU 129-50
- バルマーランプ : LEYBOLD 社
(SHIMADZU100-931)
- スペクトル管電源装置 : 光洋 2766
- スペクトル管 : 光洋
・ヘリウム管 ・ネオン管
- 白熱灯とスタンド



2. 実験の目的

- (1) 白熱灯が発する光が連続スペクトルであるのに対し、気体の発する光はその原子特有の離散的なスペクトルであることを、観察を通して知る。
- (2) 水素ガスの発光スペクトルを調べ、可視部にある4本の輝線スペクトルの波長を測定し、その規則性を検証する。
- (3) 測定結果をボーアの理論やド・ブロイの提唱から導き出した理論式と比較検討し、微視的世界解明のへ第一歩を踏み出す。

3. 実験の内容

- (1) 分光器を使って、白熱灯・ヘリウム管・ネオン管の発光する光のスペクトルを観察し、スケッチあるいは撮影する。
- (2) バルマーランプを使って、水素原子の輝線スペクトルの波長を測定し、実験式(バルマーの式)と比較して Rydberg 定数を算出する。
- (3) Bohr の量子条件およびド・ブロイの物質波の立場から、安定した電子の軌道半径および原子のエネルギー準位を理論的に求め、実験結果と比較検討する。

4. 実験を通して深まる物理的概念と理論

- ①プリズムの原理(白色光の分光)
- ②幾何光学(凸レンズを通る光の経路)
- ③等速円運動の運動方程式
- ④静電場中の荷電粒子のポテンシャルエネルギーとエネルギー保存
- ⑤光子のエネルギーと発光のメカニズム
- ⑥ボーアの量子条件とエネルギー準位
- ⑦ド・ブロイの関係式(粒子性と波動性)
- ⑧定常波と固有振動

5. 参考文献

- *朝永振一郎著「量子力学I」みすず書房
- *小出昭一郎著「量子論」裳華房
- *白井道夫著「物理化学」実教出版
- *「科学技術人名事典」共立出版
- *理科年表(国立天文台編：丸善)

実験プリント：発光スペクトルと水素原子のエネルギー準位

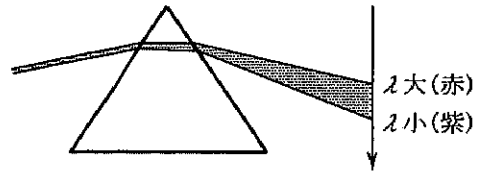
【実験の概要】

分光器を使って、白熱灯が発する光、高電圧により発光しているネオン・アルゴン・水素原子の光を観察し、その特徴を調べる。さらに、水素原子については輝線スペクトルの波長を測定し、その結果をバルマーの実験式およびボーア理論と比較検討して、ミクロの世界での規則性を知る。

【実験原理と支える理論】

(1) プリズムの原理

光は波長が短いほど屈折率が大きくなる。多くの波長を含む光がプリズムに入射した場合、入射面および出射面での2回の屈折により、それぞれの波長に応じて異なる角度に分散していく。



(2) 水素原子の発光スペクトル

実験より、次の規則性(式)が確認された。

$$\frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} = R \left(\frac{1}{m^2} - \frac{1}{n^2} \right) \quad \dots \textcircled{1}$$

($m < n$)

$R = 109677.578 \text{ cm}^{-1}$ (Rydberg 定数)

}	$n_2 = 1$: Lyman 系列	紫外部
	$n_2 = 2$: Balmer 系列	可視部
	$n_2 = 3$: Paschen 系列	赤外部
	$n_2 = 4$: Brackett 系列	赤外部

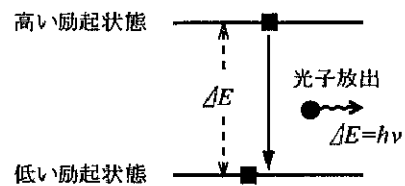
(3) Bohr の量子条件

古典電磁気学では、「加速度運動する電子はまわりの空間に電磁波を放出し、自らの運動エネルギーを失う」ため、原子核のまわりを回る安定した軌道は存在しないとされていた。1913年、Bohr は、「電子の角運動量が $h/2\pi$ の整数倍となる軌道だけが許される(定常状態)」という量子条件の下でのみ、水素原子の電子は安定した軌道となると提唱した。

(4) 原子の発光のメカニズム

原子は高い励起状態から低い励起状態や基底状態に移るとき、そのエネルギー差 ΔE に等しい光子を発する。

$$\Delta E = h\nu = hc/\lambda \quad \dots \textcircled{2}$$



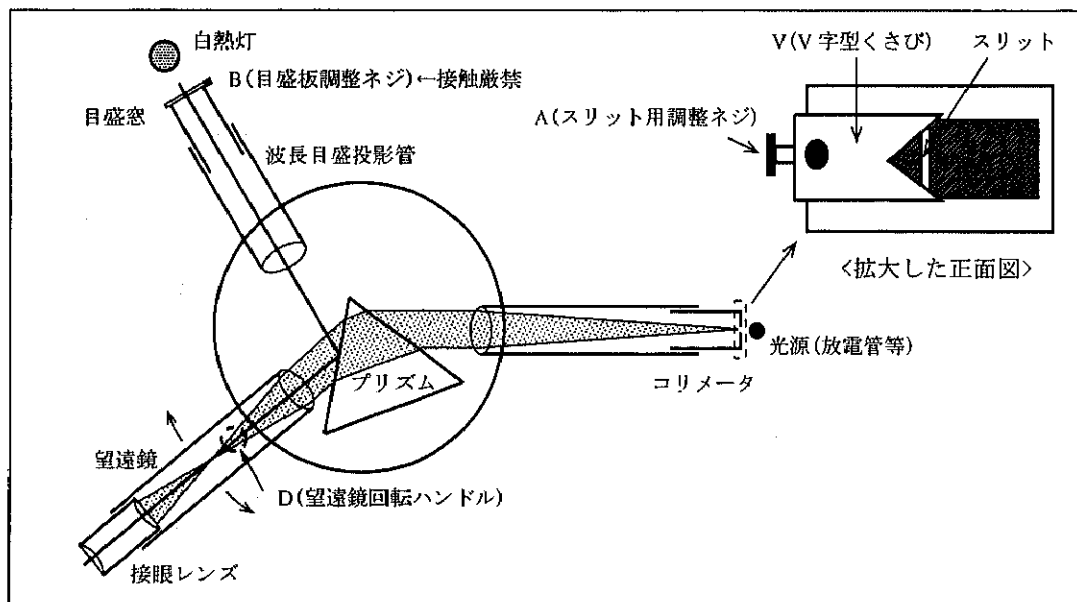
(5) ド・ブロイの関係式

1923年に De Broglie は、波動とされていた光が粒子の性質を示すならば、逆にすべての粒子が波動の性質を示すとして、次の関係式を提唱した。(1929年ノーベル物理学賞受賞)

粒子	<関係式>	波動
エネルギー ε	$\varepsilon = h\nu$	振動数 ν
運動量 p	$p = h/\lambda$	波長 λ

【実験方法】

- (1) 下図のように分光器を机の上にセットし、コリメータの先端にあるスリット(光波の入口)の前に光源として白熱灯を置く。
- (2) 望遠鏡を覗きながら、像(スペクトル)がよく見えるように接眼レンズ($f=8.7\text{mm}$)の位置を決める。そのときのスペクトルの様子を観察する。
- (3) スリットの前に光源(スペクトル管用電源内のヘリウム管)をできるだけ近づけて置き、スペクトル管用電源のスイッチを入れ、ヘリウム管を放電させる。
- (4) 望遠鏡を覗きながらシャープな輝線が現れるように、ヘリウム管の位置、接眼レンズの位置、スリットの幅と長さを調整する。なお、V字型くさび V でスリットの長さを、スリット用調整ネジ A でスリットの幅を調整するが、スリットの幅を大きくすれば明るいぼけた線が、小さくすれば暗くシャープな線が見える。
- (5) 目盛窓に白熱灯を適当な距離に近づけて目盛板を投影し、発光スペクトルと波長を示す目盛りが同時に見えるようにする。なお、調整済みの目盛板調整ネジ B には触れない。
- (6) スペクトルの様子を簡単にスケッチあるいは写真撮影する。
- (7) 光源をネオン管に取り替えて同様の実験を行い、スペクトルの様子を簡単にスケッチあるいは写真撮影する。
- (8) 水素原子の発光スペクトルを詳しく調べるために光源としてバルマーランプを使用し、同様の実験を行う。
- (9) スペクトルの輝線を4本探してスケッチあるいは写真撮影した後、各輝線の波長を読み取って記録する。なお、波長を読む際は、輝線が中央で観測できるように望遠鏡回転ハンドル D を適宜回す。



【課題】

(1) 実験方法(2)の白熱灯の観察結果をまとめる。

(2) 実験方法(6)のヘリウムスペクトルの観察結果をまとめる。



(3) 実験方法(7)のネオンのスペクトルの観察結果をまとめる。

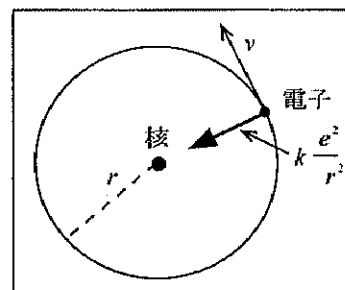


(4) 実験方法(9)の水素原子(バルマーランプ使用)のスペクトルの観察結果をまとめる。また、観察した光の波長を測定し書き込む。



(5) 実験原理の実験式①から、人の目で観察可能な光($\lambda=380 \sim 770\text{nm}$)の n_2 と n_1 を計算で求める。

(6) 水素原子を、「原子核(電荷量 $+e[\text{C}]$)を中心に電子(質量 $m[\text{kg}]$ 、電荷量 $-e[\text{C}]$)が半径 $r[\text{m}]$ で等速円運動している」と考え、Bohr の量子条件から、許される半径 $r[\text{m}]$ とそのときのエネルギー $E[\text{J}]$ を求める。



(7) Bohr の量子条件を、ド・ブロイ波の立場から解釈する。

(8) 実験原理(4)の式②と課題(6)の結果から、発光スペクトルの波数 $1/\lambda[\text{m}^{-1}]$ を示す理論式を求める。また、求めた理論式から Rydberg 定数 $R[\text{m}^{-1}]$ を算出する。ただし、 $k=8.988 \times 10^9[\text{Nm}^2/\text{C}^2]$ 、 $m=9.108 \times 10^{-31}[\text{kg}]$ 、 $e=1.602 \times 10^{-19}[\text{C}]$ 、 $c=2.998 \times 10^8[\text{m/s}]$ 、 $h=6.625 \times 10^{-34}[\text{JC}]$

(9) 水素の発光スペクトルの測定値から Rydberg 定数を算出し、課題(8)で理論的に求めたときの値と比較検討する。

各輝線	波長 $\lambda[\text{nm}]$	波数 $1/\lambda[\text{m}^{-1}]$	$(1/2^2 - 1/n^2)$
H α ($n=3$)			
H β ($n=4$)			
H γ ($n=5$)			
H δ ($n=6$)			

6. 実験結果の実例

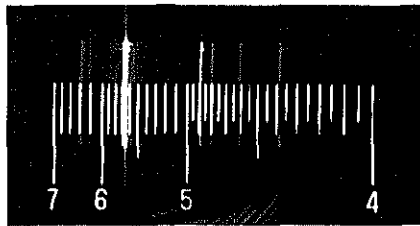
(生徒の実験レポートを中心に)

(1) 白熱灯の発光スペクトル

左から右に向かって「赤橙黄緑青藍紫」が連続的に並び、白熱灯はすべて波長の光を含んでいることが分かる。

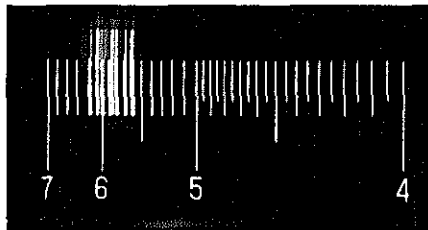
(2) ヘリウムの発光スペクトル

約 10 本の輝線が確認され、特定の波長の光だけを含んでいることが分かる。



(3) ネオンの発光スペクトル

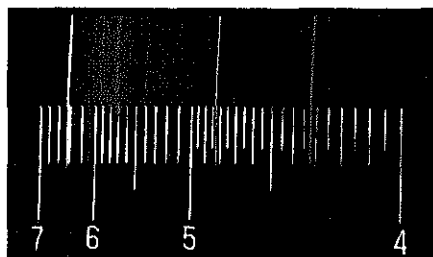
数多くの輝線が確認される。特に、赤～緑(可視光の波長の長い部分)に多くの輝線が集中して現れる。



(4) 水素の発光スペクトル

4 本の輝線が確認される。最も波長の短い(最も右側)の輝線が最も暗い。他にも薄い線が存在しているが、管内に含まれていた水蒸気からの光と考えられる。

H α H β H γ H δ



H α =648nm : 赤 H β =484nm : 青緑
H γ =432nm : 藍 H δ =409nm : 紫

(5) 可視部での輝線の m_2 と m_1 の算出

$$\text{式①により, } \frac{1}{m_2^2} - \frac{1}{m_1^2} = \frac{1}{\lambda R}$$

$R=1.097 \times 10^7$ 、 $380 \times 10^9 < \lambda < 770 \times 10^9$ より

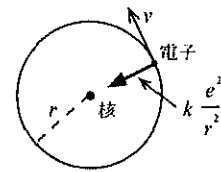
$$\frac{1}{3^2} < 0.118 < \frac{1}{m_2^2} - \frac{1}{m_1^2} < 0.240 < \frac{1}{2^2}$$

この不等式は、 $m_2=2$ かつ $m_1=3 \sim 6$ の場合のみ成り立つ。

(6) 電子に関して運動方程式を立てると、

$$m \frac{v^2}{r} = k \frac{e^2}{r^2}$$

$$\therefore v = e \sqrt{\frac{k}{mr}} \quad \dots \text{③}$$



水素原子のエネルギー E は、電子の運動エネルギーと静電気力のポテンシャルエネルギーの和なので、

$$E = \frac{1}{2} m v^2 - k \frac{e^2}{r} \quad \dots \text{④}$$

式③を式④に代入し v を消去すると、

$$E = -\frac{1}{2} k \frac{e^2}{r} \quad \dots \text{⑤}$$

式④と⑤から、半径 r が決まれば電子の運動は確定することが分かる。しかし、Newton 力学だけでは半径 r は決定できず、Maxwell の電磁気学は加速度運動する電子は電磁波を放出しながらエネルギーを失うことを示す。この2点を解決したのが「Bohr の量子条件」である。

式で表すと、 $m v \cdot r = n \cdot (h/2\pi) \quad \dots \text{⑥}$

式③を⑥に代入して半径 r を決定すると、

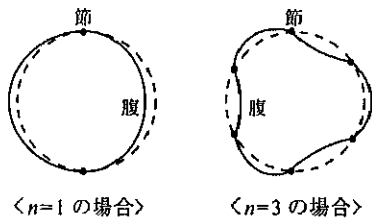
$$r = \frac{h^2}{4\pi^2 k m e^2} \cdot n^2 \quad \dots \text{⑦}$$

式⑦を⑤に代入すると、

$$E = -\frac{2\pi^2 k^2 m e^4}{h^2} \cdot \frac{1}{n^2} \quad \dots \text{⑧}$$

(7) 式⑥をド・ブロイの関係式を使って変形すると、 $2\pi r = n(h/mv) = n\lambda$

この式より、電子の物質波が軌道上で定常波となり、水素原子が安定な状態(定常状態)になると解釈できる。



(8) 実験原理(4)の式②と式⑧から、

$$\frac{hc}{\lambda} = \frac{2\pi^2 k^2 m e^4}{h^2} \left(\frac{1}{n_1^2} - \frac{1}{n_2^2} \right)$$

$$\frac{1}{\lambda} = \frac{2\pi^2 k^2 m e^4}{ch^3} \left(\frac{1}{n_2^2} - \frac{1}{n_1^2} \right) \dots \textcircled{9}$$

実験式①と理論式⑨を比較して、

$$R = \frac{2\pi^2 k^2 m e^4}{ch^3} \dots \textcircled{10}$$

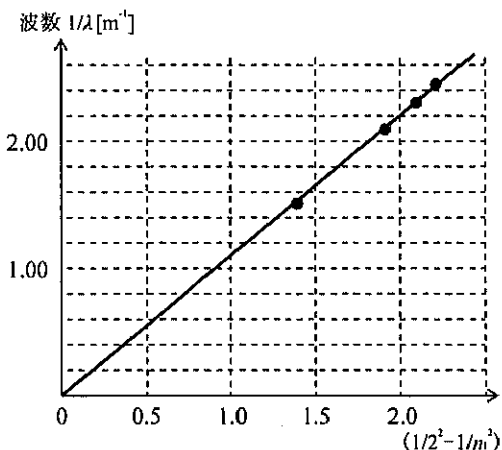
右辺に各数値を代入すると、

$$R = 1.097 \times 10^7 \text{ m}^{-1}$$

(9) 実験方法(9)の実験結果をまとめると、

各輝線	波長 λ [nm]	波数 $1/\lambda$ [m^{-1}]	$(1/2^2 - 1/n^2)$
H α ($n=3$)	648	1.54×10^6	0.1389
H β ($n=4$)	484	2.07×10^6	0.1875
H γ ($n=5$)	432	2.31×10^6	0.2100
H δ ($n=6$)	409	2.44×10^6	0.2222

縦軸に波数 $1/\lambda$ [m^{-1}]を横軸に $(1/2^2 - 1/n^2)$ をとり、グラフにまとめると、



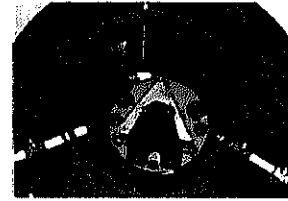
グラフから、各測定値は原点を通る直線上に並ぶことが分かる。このグラフの傾きが Rydberg 定数に相当するので、

$$R = 1.10 \times 10^7 \text{ m}^{-1}$$

この値は、Bohr の量子条件をもとに理論的に算出した値と一致する。

7. 評価

(1) 使用した分光器は、本体部分の蓋を外すと内部の構造が見える仕組みになっている。



プリズムでの2回の屈折で光を分けることと、プリズム表面の反射を利用して波長の目盛りを映し出している工夫が理解できる。

(2) 分光器の調整、特に目盛りの調整は、かなりの時間を費やして事前に教員側で行った。本来ならば生徒達の手で行うべきであるが、無理であると判断した。

(3) 二原子分子の水素では発光スペクトルに水素分子の影響が現れることが懸念される。それを解消したのがバルマーランプである。バルマーランプは、水をイオン化した後に水素原子に発光させている。そのため、多少のノイズは入るが水素原子の輝線スペクトルが明瞭に測定できる。

(4) 当初、輝線スペクトルはスケッチさせる予定であった。ところが、デジカメやカメラ付携帯電話が多くの生徒に普及している。思い切って利用することにした。

(5) この実験は、実験式を求めるばかりでなく、理論面との統合が大きな目的である。運動方程式と等速円運動(力学的面)、静電場のポテンシャルエネルギーを含んだ系のエネルギー(電磁気学面)、定常波と固有振動(波動面)等の概念が不可欠で、教室で学んだ物理の基礎概念を総合的に活用する高校課程の総決算と呼べる実験である。

高感量天秤を用いた気体の分子量測定

吉田 哲也

旧課程において分子量の測定は、理想気体の状態方程式を利用するものが、化学 I B の早い段階で扱われていたが、新課程では化学 II になってしまった。化学を学習していく際に、相対質量としての分子量の概念は大変重要であり、出来れば早い時期に実験を通して修得させたい。そこで、本校では空気の平均分子量を利用して、試料気体の分子量を相対質量として求める実験を実施している。通常の実験で用いられる感量が 10mg の電子天秤で気体の分子量測定をするには、水上置換等で多量の気体を捕集する必要がある。また、水蒸気圧の補正も必要となる。このため、短時間で複数の気体を取り扱い分子量を比較するのは難しい。そこで、SSH で導入した感量 1mg の電子天秤を使用し、盛口氏の開発した方法¹⁾を利用することでスモールスケール化による実験時間の短縮を図り、複数の試料気体を扱っている。この実験は、化学 I 「物質の構成」で扱うことが出来る。

1. 準備

電子天秤(メトラー・トレード社製, 最大秤量 210g, 感量 0.001g), プラスチック製注射器(50 ml, テルモ社製), 三方コック(テルモ社製, R 型), マイティーパック(1800 ml, マルエム社製), シリコンチューブ, 釘, 各種気体(窒素, 酸素, 二酸化炭素, 空気)

注射器への細工

注射器のピストンを 50 ml まで引き、ピストン部分にマジックで印をつける。次に、ピストンを引き抜き、熱した釘を押し当てて穴を開ける。また、印刷された目盛りは消えやすいので、本の表紙を保護する透明シール(ブッカー)等を貼る。

三方コックについて

流体(液体や気体)の流れる方向を必要に応じて、三方向に調節出来る製品である。レバー上に書いてある「OFF」の方向の流れが遮断出来る。図 1 は上方向への流れを遮断している状態である。今回はマイティーパック側と注射器側の双方につけた。三方コ

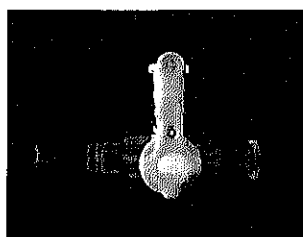


図1 三方コック

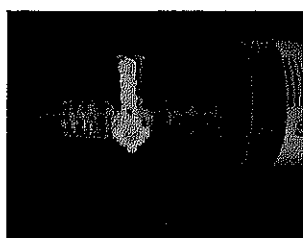


図2 ロックコネクター付き

ックは複数個連結出来る構造であり、マイティーパックには図 1 のタイプ(三方コック A とする)を、注射器側には図 2 のタイプ(ロックコネクター付き、三方コック B とする)を使用することで、はずれるのを防いだ。

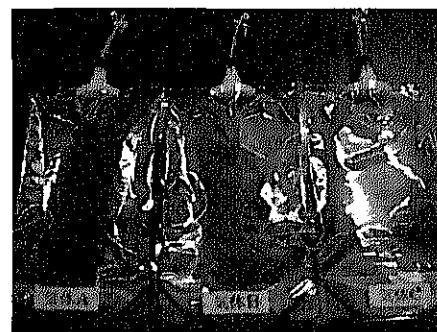


図3 気体を封入したマイティーパック

2. 方法

(1) 注射器の質量測定

- ①注射器と三方コックを接続し、OFF レバーを注射器側へ向けて閉じる。
- ②ピストンの釘穴があけてある部分まで、ピストンを強く引き、釘を差し込んでピストンを固定する。このとき、ピストンを引きすぎて抜かないように注意する。このとき注射器内は真空になっていると考える。この操作は、気体の質量測定時の浮力補正*のために行う。補正した場合は、約 0.06g 軽く表示される。
*流体中の物体には、その物体の体積と同体積の流体の質量分の浮力が働く(アルキメデスの原理)
- ③電子天秤の風防の上部を開け、②の注射器を静かに垂直に立ててのせ、精確(正確)に質量を測定する (M6)。

(2) 空気の質量測定

① (1) ③で質量を測定した注射器の OFF レバーを真横に向けて開き、注射器の中に空気を入れる。

②空気の入った注射器の質量を同様に測定する(Ⅳ)。このとき、釘の位置が注射器内に真空を作ったときと同じ位置にあることを確認する。ゆるんだ状態では、注射器内の気体の質量が正確に比較で

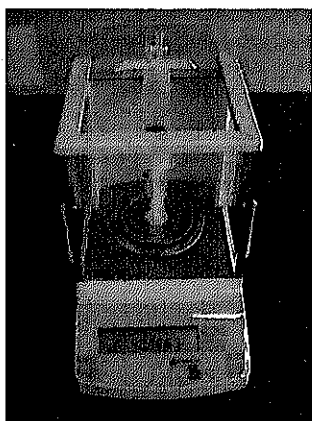


図4 秤量の様子

きなくなる。(Ⅳ - Ⅳ6) が注射器内に入った空気の質量である。

(3) 各種気体の質量測定

①釘をはずして注射器内の空気を完全に追い出してから、マイティーパック側の三方コック A と注射器側の三方コック B を接続する。さらにロックコネクターを利用して三方コック同士をしっかりと接続する。

②三方コック A と B の OFF レバーを横へ向けて、空気と同体積になる(釘穴のところ)までマイティーパック内の気体を注射器に取る。マイティーパック内に空気が混入することがないように、三方コック A の OFF レバーをマイティーパック側へ向けて閉じてから、注射器をはずし、釘をはめて注射器の質量を測定する(Ⅳ)。 (Ⅳ - Ⅳ6) が注射器内に入った気体の質量である。

③釘をはずし、注射器内の気体を完全に排出してから、別の気体を使って同様の操作を繰り返す。

3. 結果

今回の実験では 3 種類の気体(CO₂、N₂、O₂)について物質名は示さず、気体 A、気体 B、気体 C とし、分子量の値から推定させた。分子量の計算においては、アボガドロの法則により「同数個の分子の質量比=分子量の比」を利用した。空気の平均分子量を 28.8 として計算す

ると、気体 A (CO₂)は、42.7 ~ 46.3、気体 B (N₂)は、27.3 ~ 29.3、気体 C (O₂)は、30.8 ~ 33.4 となり、概ね誤差は 5 % 以内に収まっている。分子量が正確に求められ、注射器から排出する際に特に注意を要しない気体であることから、ほとんどの生徒が気体を正しく推定出来た。但し、窒素の分子量が 28.0 と空気の値に近いので失敗したと勘違いをする生徒がわずかながらいた。下表はあるクラスの測定の結果である。

表 高感量電子天秤を用いた気体の分子量測定

班	W _{air}	W _A	W _B	W _C	分子量A	分子量B	分子量C
1	0.06 g	0.09 g	0.057 g	0.067 g	43.2	27.4	32.2
2	0.06 g	0.09 g	0.058 g	0.066 g	43.2	27.8	31.7
3	0.059 g	0.09 g	0.058 g	0.065 g	43.9	28.3	31.7
4	0.058 g	0.086 g	0.056 g	0.062 g	42.7	27.8	30.8
5	0.058 g	0.087 g	0.056 g	0.065 g	43.2	27.8	32.3
6	0.057 g	0.085 g	0.056 g	0.065 g	42.9	28.3	32.8
7	0.059 g	0.091 g	0.058 g	0.065 g	44.4	28.3	31.7
8	0.056 g	0.09 g	0.057 g	0.065 g	46.3	29.3	33.4
9	0.056 g	0.085 g	0.054 g	0.061 g	43.7	27.8	31.4
10	0.057 g	0.086 g	0.054 g	0.061 g	43.5	27.3	30.8
11	0.059 g	0.088 g	0.059 g	0.065 g	43.0	28.8	31.7
平均値	0.058	0.088	0.057	0.064	43.6	28.1	31.9

4. 発展・補足

今回の注射器を用いる方法は、盛口氏によって開発されたものである¹⁾。今回の実験では、気体の状態方程式を使えないので、空気の平均分子量との比によって各気体の分子量を算出させた。このことで、むしろ生徒には分子量というものが相対質量であることを強く認識させることが出来た。なお、マイティーパックにあらかじめ気体を取っておくことで、気体の無駄な放出がなくなる。

この実験の後に気体が発生する実験を行うと、生徒から「分子量を測定しましょう」という発言が出てくる。気体の同定に分子量を用いることが出来るという認識が定着したようだ。

5. 参考文献

- 1) 盛口 襄, いきいき化学明日を拓く夢実験 (1994)
- 2) 山本 進一, 化学と教育, 48, 760(2000)
- 3) 化学教育研究会編, 授業に役立つ化学実験のくふう, 大日本図書 (1992)

化学実験

高感量天秤を用いた気体の分子量測定

2005年__月__日__曜日 1年__組__番 氏名__

目的 アボガドロの法則(「同温・同圧・同体積中には気体の種類に関係なく、同数個の気体分子が含まれる」)を利用して、種々の気体の分子量(モル質量)を測定し、それぞれの気体の分子式を推定する。

準備 プラスチック製注射器(50mL)、三方コック、釘、電子天秤(測定精度1mg)、各種気体、マイティーパック(三方コック、シリコンチューブ付き)等

操作

1. 注射器の質量測定

- (1) 三方コック(図1)を注射器につけ、OFFレバーを注射器側へ向ける。
- (2) ピストンを50mLの目盛り以上まで思い切り引っ張る。引っ張ったままの状態、班員にピストンに開いている穴に釘を入れてもらい、ピストンを固定する(図2)。
※ ピストンを引きすぎて抜かないように気をつける。
- (3) ピストンを固定したあと、注射器の質量 W_0 [g] を0.001gの桁まで電子天秤で精確(正確)に測定する。 ※ このときの注射器内部は、真空と考えてよい。

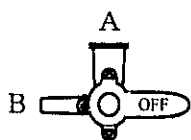


図 1

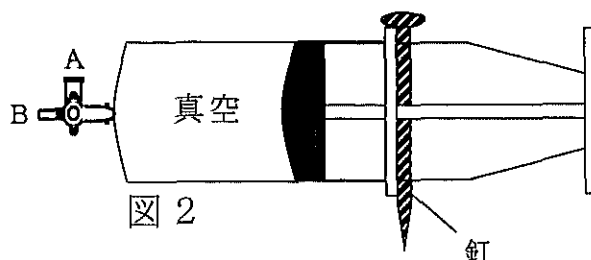


図 2

2. 空気の質量測定

- (4) (3)の釘を差し込んだまま、OFFレバーをA側に向けて注射器側を開く(図3)。コックの先端から注射器に空気が V [L] 入ってくる。OFFレバーを注射器側へ向けた状態で、質量 W_1 [g] を0.001gの桁まで電子天秤で精確に測定する。「 $W_1 - W_0$ 」が空気の質量である。

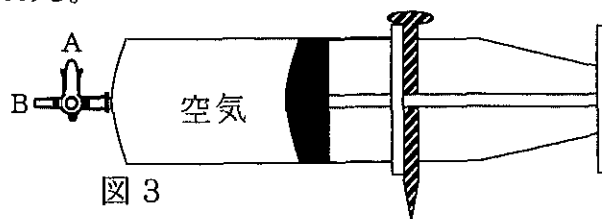


図 3

3. 各種気体の質量測定

- (5) 釘をはずしてピストンを押し、注射器内の気体を全て出す。OFFレバーをA側に向け(図3)、三方コックにシリコンチューブをつないでから、マイティーパック側

生徒実験用プリント

のOFFレバーをA側へ向ける。ピストンを引いてマイティーパック内の気体をV [L]以上とる。マイティーパック側へOFFレバーを向けてから、注射器をシリコンチューブからはずす。再び釘を差し込んで、少しピストンを押し、気体の体積を(2)と同じにしてから注射器側にOFFレバーを傾けて閉じ、質量 W_2 [g]を0.001gの桁まで電子天秤で精確に測定する。「 $W_2 - W_0$ 」が気体の質量である。

(6) 気体の種類を変えて、気体Aから気体Cについて、(5)の操作を繰り返す。

結果 この実験の条件では、空気と各種気体について圧力・体積および温度は同じであると考える。アボガドロの法則によれば、注射器内の気体分子の数は全ての気体について同数個であるといえる。したがって、各気体の質量比を、それぞれの気体の分子量比と考えることになる。すなわち、次の比例式が成り立つ。

$$W_{\text{air}} : W_A = M_{\text{air}} : M_A$$

なお、空気の平均分子量 M_{air} は、成分比を $N_2 : O_2 = 4 : 1$ として考え計算せよ。原子量は、 $N=14.0$ $O=16.0$ とせよ。

$$W_0 = \underline{\hspace{2cm}} \text{ g} \quad W_1 = \underline{\hspace{2cm}} \text{ g} \quad W_{\text{air}} = W_1 - W_0 = \underline{\hspace{2cm}} \text{ g}$$

$$\text{気体 A} \quad W_2 = \underline{\hspace{2cm}} \text{ g} \quad W_A = W_2 - W_0 = \underline{\hspace{2cm}} \text{ g}$$

$$\text{分子量 } M_A \underline{\hspace{2cm}}$$

$$\text{気体 B} \quad W_2 = \underline{\hspace{2cm}} \text{ g} \quad W_B = W_2 - W_0 = \underline{\hspace{2cm}} \text{ g}$$

$$\text{分子量 } M_B \underline{\hspace{2cm}}$$

$$\text{気体 C} \quad W_2 = \underline{\hspace{2cm}} \text{ g} \quad W_C = W_2 - W_0 = \underline{\hspace{2cm}} \text{ g}$$

$$\text{分子量 } M_C \underline{\hspace{2cm}}$$

考察

- ・ アボガドロによって、「アボガドロの法則(アボガドロの分子説)」が提唱されるまでの原子説からの流れについて調べよ。
- ・ 実験結果から、各気体について分子式と物質名を推定せよ。
- ・ 原子量から求められる分子量と測定値との誤差について考えよ。
- ・ 1. でピストンを引いて質量を量る意味について考えよ
- ・ その他、独自の考察

付:SSH予算で購入した備品リスト <化学分野>

品名	メーカー	商品名型番	主な用途
フーリエ変換型赤外分光光度計	サーモエレクトロン	AVATAR330-T	赤外分光分析, 有機化合物の分析
ATR装置(Geクリスタル)	サーモエレクトロン		赤外分光分析 (赤外分光光度計に装着)
アルドリッチ アルコール・フェノール・エステル・ ラクトン・無水酸・ポリマースペクトル ライブラリー	サーモエレクトロン		有機化合物の分析 (データベースライブラリ)
赤外分光光度計用KBr錠剤成型器	サーモエレクトロン	0016-125	赤外吸収スペクトル測定用KBr 錠剤の成型
紫外可視分光光度計 フォトダイオードアレイ型	那珂インストルメンツ	Gene SpecⅢ × 2台 Gene SpecⅤ × 1台	紫外可視分光分析
ノート型パソコン	EPSON	EdiCube BN100 × 2台	紫外可視, 赤外分光光度計制御用
ノート型パソコン	DELL	Inspiron 300m	紫外可視分光光度計制御用
プリンター	EPSON	PM-740 × 2 PX-G900	スペクトルデータ等出力用
超音波洗浄機	AS-ONE	US-4	実験器具の洗浄, 有機合成実験用
OHAUS電子天秤	メラー・トレド	AR2130	試料の精密測定
OHAUS電子天秤	メラー・トレド	ARB120 × 3	試料の質量測定
防水pHメーター+電気伝導度電極	HORIBA	カスタニー-ACT	水質検査用, 酸・塩基実験用
pHメーター	HANNA	ピッコロ2 × 12	酸・塩基実験用
ハンディ型紫外線ランプ	フナコシ	UVGL-25 × 6	薄層クロマトグラフィー等の蛍 光観察用
大型有機化学模型	丸善	G II	有機化学講義用

塩基置換突然変異体を用いた転写調節因子の機能解析

仲里友一

近年まで、細胞のもつ様々な遺伝子発現調節機構が解明されてきた。転写調節因子による転写段階での遺伝子発現制御は、大腸菌ラクトース・オペロンの解明から紐解かれた。その分子機構は、情報保存物質としての DNA と、機能物質としてのタンパク質とが相互作用する代表例として、分子遺伝学上重要な概念の一つとなっている。ここで紹介する生徒実験は、BioRad 社が、開発・販売している教材「Biotechnology Explorer バクテリア遺伝子組換えキット」の応用実験である。筆者は、このキットに含まれるプラスミド pGLO にコードされている調節因子 AraC タンパク質の遺伝子内の一塩基を置換したプラスミドを作成し、導入した大腸菌変異体株を作成した。GFP の発現により、この調節因子に施した塩基置換がどのような効果をもつか確認し、調節因子中のある特定のアミノ酸配列が、タンパク質の立体構造に与える影響についても考察する実験である。

1. 実験機器・材料・準備

大腸菌組換え変異体株 (*araC* 野生型も含めて 4 系統) の一晚培養液、滅菌 1% 食塩水、LB 寒天培地溶液 (1.5% 寒天入り LB 培地)、アンピシリン保存溶液 (30mg/ml)、アラビノース保存溶液 (200mg/ml)、グルコース溶液 (200mg/ml)、小型スチロールシャーレ、滅菌ポリプロピレン・チューブ、湯煎用恒温水槽、ボルテックスミキサー、ループ棒、培養用恒温器、UV ランプ、ハザードバッグ、消毒用アルコール入りスプレー

2. 実験の原理・方法

まず、pGLO プラスミドの *Cla*I 部位から *araC* 遺伝子のある側へ数えて 358 番目の塩基 A を G、C、T に置換した変異型プラスミドを、PCR 等の遺伝子工学の基礎的技術を利用してそれぞれ個別に作成した (図 1)。

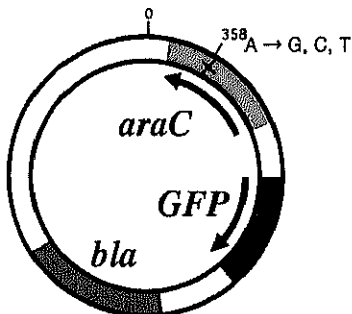


図 1 AraC 変異型プラスミド

これらを、それぞれ大腸菌へ形質転換した。これにより *araC* 遺伝子の 206 番目のアミノ酸がロイシン (358A) から、セリン (358G)、トリプトファン (358C)、停止 (358T) に置換された変異型 AraC タンパク質を持つ組換え体が得られることになる。

AraC タンパク質は、アラビノースを結合させるポケットを中心に持ち、さらに二量体形成にも関わる β -バレル構造を N 末側に、DNA との結合領域を C 末側にもつ複雑な立体構造を取っている。アミノ酸置換を起こさせた場所は、この C 末側に見られる DNA 結合モチーフ (Helix-Turn-Helix 構造) の中程に位置している (図 2)。

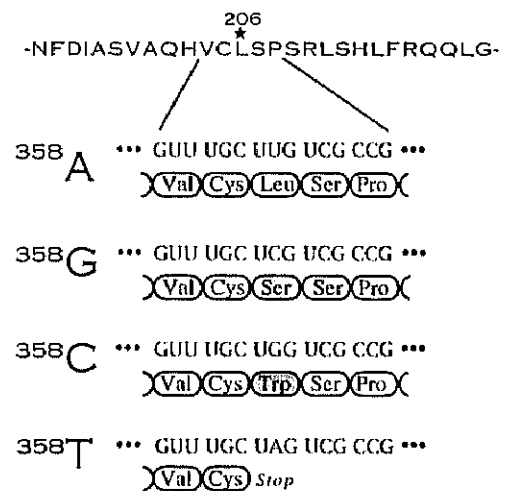


図 2 塩基置換による AraC のアミノ酸置換

なお、HB101 等、遺伝子工学の実験によく用いられる大腸菌宿主の多くは、アンバー・サプレッサー変異を持つ。このため、アンバー変異（停止）の検出の際、宿主の遺伝子型には十分注意する必要がある。筆者は、変異型プラスミドの作成過程では、HB101 を利用してクローニングし変異型プラスミド DNA の確認を行い、その後は、アンバー・サプレッサー・フリー系統の MV1184 にリクローニングして実験に用いた。

生徒実験では、野生型も含めて 4 系統株の大腸菌を、アンピシリンを含む 4 条件（アラビノースとグルコースともになし、アラビノースのみあり、グルコースのみあり、アラビノースとグルコースともにあり）の 4 種類の LB 寒天培地に多数のコロニーが現れるように希釈してまく。一晚培養後のコロニーの発光レベルの違いを調べて、*GFP* 遺伝子の発現レベルを確認する。

(1) 講義：実験計画と方法

この実験の前に、ラクトース・オペロンの転写制御については、CAP タンパク質によるカタボライト・リプレッションの機構も含めて授業で扱っておくようにする。その上で、AraC タンパク質の機能について、ラクトース・オペロンでのリプレッサーの働きと対比させながら説明する。特に、AraC タンパク質が転写抑制を行うリプレッサーとしてだけではなく、アクチベーターとしても働くことに重点をおく。

また、実験では、組換え体を扱うことになるので使用済みの実験材料の扱いなどの点についても注意を促さなければならない。

なお、生徒には考察課題の参考のために pGLO の *araC* 遺伝子領域の塩基配列や、AraC タンパク質のアミノ酸配列などの情報をまとめた補足資料も配付する。ここから変異による *GFP* 遺伝子の転写調節と発光レベルなど、実験結果をある程度予測させる。配布する 4 系統の大腸菌は実験操作中はすべて系統名番号のみで示し、変異型の種類は発光レベルの確認が済んでから明かすようにする。

(2) 生徒実験

A. 寒天培地作成プレートの作成

予め用意しておいた LB 寒天培地溶液（オートクレーブで滅菌後、約 70°C の恒温水槽で保温し続ける）とアンピシリン、アラビノース、グルコースの保存溶液を使って、アラビノースとグルコースともに含まない培地溶液、アラビノースのみ含む培地溶液、グルコースのみ含む培地溶液、アラビノースとグルコースともに含む培地溶液を、4 本の滅菌ポリプロピレン・チューブ内で作る。そして、それぞれ 4 枚ずつ小型スチロールシャーレに分注して寒天培地を作成する。寒天が十分に固まる時間を確保するために、実験のアウトラインだけを説明後、直ちに寒天培地作成を行うと授業の進行がスムーズになる。

B. 大腸菌 4 系統株の希釈

アンピシリンだけを含む液体 LB 培地を用いて 37°C で一晚培養した大腸菌 4 系統の懸濁液を原液とし、滅菌 1% 食塩水で ×1/100 倍希釈液、×1/10000 倍希釈液を順次作る。よくボルテックスミキサーで攪拌する。

C. 4 系統株のプレーティングと培養

各々の系統につき、4 種類の培地に一晚培養液の ×1/10000 倍希釈液を 10 μℓ ずつたらし、ループ棒で一面に塗り広げる。37°C で一晚培養後、UV ランプにかざして現れたコロニーの発光の度合いを比較する。

3. 結果

各培地上に現れるコロニーの発光レベルは下の表のようになる（+ の数は発光の強さを表す）。

変異型	培地	-	+ara	+glu	+ara +glu
358A	Leu	-	+++++	-	-
358G	Ser	-	++++	-	-
358C	Trp	-	+	-	-
358T	stop	-	-	-	-

野生型のAraCタンパク質をもつもの(206番目のアミノ酸はロイシン)では、アラビノースのみを加えた培地でコロニーが発光するが、アラビノースがない培地や、グルコースが存在する培地では発光しない。これは、グルコースによるカタボライト・リプレッションがかかり、GFPの転写が活性化されないためと考えられる(図3参照)。

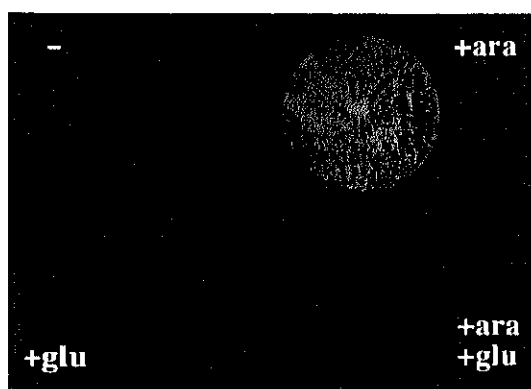


図3 野生型AraCをもつ場合のGFP発現調節

206番目のコドンが停止となったものはどの培地上でも発光が見られない。それ以外の系統はいずれもアラビノースのみを加えた培地上だけで発光が確認できる(口絵7参照)。発光のレベルは、野生型のもの(ロイシン)が最も強く、次いで、セリンに置換したものである(野生型と殆ど同じ程度か若干弱い)。トリプトファンに置換したものは、微かな発光が確認できる程度である。

206番目のアミノ酸ロイシンがセリンへ置換した場合には、207番目のアミノ酸もセリンであることからAraCタンパク質の立体構造に大きな変化を与えていないのではないと思われる。一方、トリプトファンへのアミノ酸置換は、DNA結合モチーフ(Helix-Turn-Helix構造)中の α -ヘリックス構造を大きく変え、DNA結合作用に多大な影響を及ぼしているものと推測される。停止コドンへと置き換わった変異AraCタンパク質では、Helix-Turn-Helix構造のほぼ中央で途切れた、野生型よりも短いペプチド鎖になるものと予想される。このため、この調

節因子のDNA結合能が失われたために、GFP遺伝子発現のアクチベーターとして、殆ど機能していないものと考えられる。

4. 発展・補足

今回の実験では4種類のLB培地の違いを生徒に確認させたいためにアラビノースやグルコースの添加を実際に生徒に行わせる流れになっている。培地作成を予め教師が行っておくことで時間的な余裕を作り、その代わりに4種類のpGLO変異型プラスミドを形質転換させる実験にしてもよいだろう。

また、敢えてアンバー・サプレッションの現れるHB101に変異型araC遺伝子を導入した組換え体を用いて、生徒の予想を覆す結果を示し、ナンセンス変異を抑制するサプレッサー突然変異について紹介したり、生徒に調べさせたりするのも面白い。

※この実験は、2004年度(2005年1月)高校2年生の授業で実施した。また、pGLOの変異型プラスミドを作成する実験についても、2004年度(2004年12月~2005年1月)高校2年生(総合学習「基礎分子生物学」ゼミ)で希望者対象に実施した。

5. 参考文献

- Biotechnology Explorer pGLO Bacterial Transformation Kit Manual, Bio-Rad
 J.D.Watson *et al*, Molecular Biology of the Gene, 5th ed., The Benjamin / Cummings Publishing Company, Inc. (2004)
 R.W.Old & S.B.Primrose, Principles of Gene manipulation : An Introduction to Genetic Engineering, 5th ed. Blackwell Science Ltd. (1994)
 谷口武利編、PCR実験ノート、羊土社(1997)
 駒野徹編、PCR実験マニュアル 原理から応用まで、学会出版センター(2002)

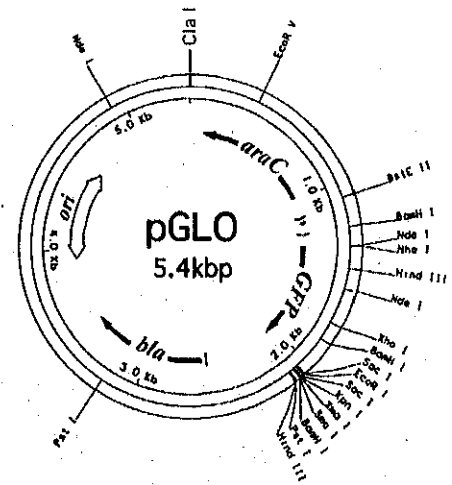
分子遺伝学実験1 塩基置換突然変異体を用いた転写調節因子の機能解析

2004年度 高2生物 担当：仲里

1. 実験のアウトライン

アラビノースという単糖の存在によって転写調節がなされている大腸菌のオペロン（アラビノースオペロン）のしくみを、塩基置換突然変異体の形質発現によって確かめる。最近、遺伝子発現の解析や多細胞生物の細胞標識などに、Green Fluorescent Protein (GFP) と呼ばれるタンパク質が広く使われるようになった。このGFPは、生物発光するオワンクラゲの一種、Aequorea victoria から分離された発光タンパク質の遺伝子を、アメリカ・カリフォルニアのMaxgen Inc.というバイオテクノロジー会社がより強い光を発するようにアミノ酸置換などで改良したものである。GFPは、その特徴的な構造から紫外線を照射するとそのエネルギーを吸収し、吸収されたエネルギーは緑色の光となって放出される。

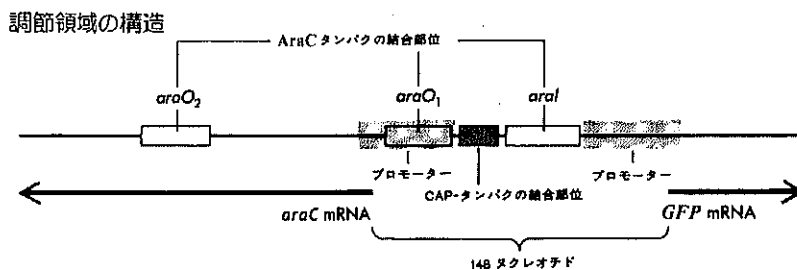
BioRad社の開発したプラスミドpGLO（全長5,371bp）には、アンピシリン耐性遺伝子（*bla*）、アラビノースオペロンのプロモーターに直結されたGFP遺伝子、アラビノースオペロン転写調節因子*araC*遺伝子がコードされている。このプラスミドを大腸菌内に導入すると、アンピシリン耐性を獲得した形質転換体となり、さらに、アラビノースオペロンの制御下でGFPを発現する組換え体となる。今回の実験では、このpGLOプラスミドと、その*araC*遺伝子領域のある特定の一塩基だけを置換した変異型プラスミドを導入した形質転換体を使って、どのような条件下でこのプロモーターが機能するか、また、一塩基の置換がどのような効果をもたらしているのかを紫外線ランプの下でのGFPの発光を指標にして調べるのが大きなねらいである。



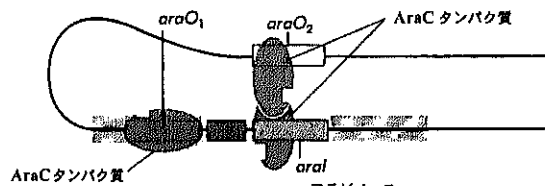
[pGLOプラスミドの制限酵素地図]

- ori … 複製開始点
- *araC*, *GFP*, *bla* 遺伝子の矢印は転写方向

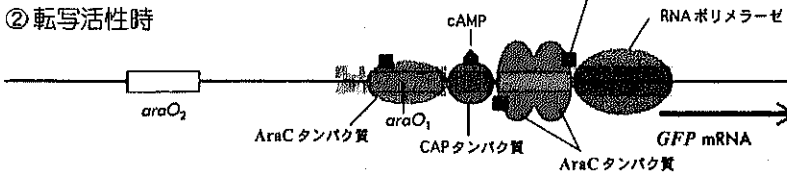
2. アラビノースオペロンについて



① 転写抑制時



② 転写活性時



アラビノースは、栄養源としても炭素源としても大腸菌に利用可能であるが、アラビノースが存在しない場合には、その代謝に必要ないくつかの酵素は作られてこない。これらのアラビノース代謝酵素群3つの遺伝子は1つのオペロンを成しており、一括して転写されるよう調節されている。pGLOでは、このアラビノースオペロンのオペレーターを含む転写調節に関わるプロモーターによって転写が制御されるようにGFP遺伝子が直結されている。ここで、アラビノースオペロンの転写調節に重要な役割をもつのが、AraCタンパク質である。AraCタンパク質は、アクチベーターであるだけでなくリプレッサーでもあり、リプレッサーとしては、2つの異なる作用をする。

AraCタンパク質は、アラビノースオペロンにある調節領域の3つの部位、*araI*、*araO1*、*araO2* に結合できる。中央にある*araO1* は、遺伝子*araC*のプロモーターと重複しており、細胞内に十分なAraCタンパク質が蓄積したときに、mRNAの合成を抑制するためだけにはたっている。*araI* と *araO2* は、CAP結合部位と関連をもちながら、mRNA の転写の抑制と活性化を媒介する。アラビノースが細胞内に存在していない

と、離れた所にある *araI* と *araO2* に結合したAraCタンパク質どうしは二量体となって、DNAをループ状にすると考えられている。この抑制型の構造をとると、プロモーターにおけるRNAポリメラーゼを活性化することができない。しかし、アラビノースが結合すると、抑制型二量体を形成していたAraCタンパク質どうしは離れてループがほどける（別形態の二量体を形成して*araI* に結合すると考えられている）。この状態で、さらにグルコースが存在しない場合には、細胞内cAMP濃度が高くなり、CAP結合部位にCAPが結合して、AraCタンパク質がRNAポリメラーゼを活性化するのを助け、隣接したプロモーターからmRNA合成が開始する。

3. pGLOに導入した一塩基置換について

別紙（補足資料1）にpGLOの塩基配列の一部を示した。制限酵素*ClaI* 認識部位を1として、1300塩基対までのDNA塩基配列が記されている。今回の実験では、358番目の塩基Aを、T、G、Cに置換した変異型プラスミドを導入した形質転換体を用いる。これにより、*araC*遺伝子の塩基配列が一塩基だけ変わった変異の影響が確かめられる。*AraC*タンパク質のアミノ酸配列等その他の事項については、補足資料2に記してある。

4. 操作方法

A. 4種類の寒天培地プレートの作成

- (1) 滅菌済みの50ml用PPチューブ4本を用意し、それぞれに「-」「ara」「glu」「ara, glu」と記入する。滅菌済みSシャーレ16枚を用意し、4枚ずつにも「-」「ara」「glu」「ara, glu」と記入し、4種類×4枚ずつに分ける。
- (2) LB培地溶液を加えて40mℓにしたときに終濃度がちょうど0.1mg/mℓとなるように、4本すべてのPPチューブにアンピシリン保存溶液（30mg/mℓ）を加える。
- (3) LB培地溶液を加えて40mℓにしたときに終濃度がちょうど6mg/mℓとなるように、「ara」チューブと「ara, glu」チューブにアラビノース保存溶液（200mg/mℓ）を加える。
- (4) LB培地溶液を加えて40mℓにしたときに終濃度がちょうど6mg/mℓとなるように、「glu」チューブと「ara, glu」チューブにグルコース保存溶液（200mg/mℓ）を加える。
- (5) まず、「ara, glu」チューブに、65℃以上に保温しておいたLB寒天培地溶液を、チューブの外側にある40mℓの目盛りのところまで入れる。すぐにキャップをしつかりと締めて、チューブを3～5回上下逆さにして混合し、「ara, glu」と書いたSシャーレ4枚に10mℓずつすばやく分注する。手際よくやらないと培地がチューブの中で固まってしまうので注意する。
- (6) 他の「glu」「ara」「-」についても、同様にLB寒天培地溶液を40mℓ加えて手際よく混合し、対応する4枚のSシャーレに分注する。1種類ずつ行うこと。やむを得ず作業を中断するときには、LB寒天培地溶液が固まらないように、65℃以上に設定してある恒温槽にビンごと入れて保温しておく。
- (7) 寒天が固まるまで、シャーレを静置する。

B. 大腸菌4系統株の希釈

- (1) マイクロチューブ8本を用意し、系統株の名前と希釈率（ $\times 10^{-2}$ か、 $\times 10^{-4}$ ）を記入する。
- (2) 8本のマイクロチューブすべてに、1%食塩水を990 μ ℓずつ入れる。
- (3) 各系統株について、「 $\times 10^{-2}$ 」と書いたチューブに一晚培養液を10 μ ℓ入れてふたをし、5秒間ボルテックスミキサーで攪拌する。直ちに、「 $\times 10^{-4}$ 」と書いたチューブに、今、作成した「 $\times 10^{-2}$ 」チューブの懸濁液を10 μ ℓ入れて、ふたをし、5秒間ボルテックスミキサーで攪拌する。

C. 大腸菌4系統株のプレーティングと培養

- (1) 4種類のプレート「-」「ara」「glu」「ara, glu」の中央に、各系統株の $\times 10^{-4}$ 希釈懸濁液を10 μ ℓずつ滴下し、直ちにループ棒を使って、滴下した大腸菌懸濁液を寒天培地の表面全体に塗り広げる。
- (2) プレートは蓋をして裏返し、4枚ずつ積み上げ、ビニルテープでまとめる。クラス名と班名（代表者名）をビニルテープに記入して、逆さにしたまま37℃のインキュベーターで翌日まで保温する。
- (3) 翌日以降、プレートを実験室の光の下で観察しそれぞれの様子（コロニーの数、色など）を確認する。その後、部屋を暗くして小型UVランプを照射して観察する。暗室で観察しても良い。UVランプの光は長時間直視しないように気を付けること。コロニーの発光状態について詳細に記録する。

注意！：組換え体を含んでいると思われる培地、実験器具などは必ず指定された場所に出すこと。（滅菌処理した後に廃棄する） 汚染が疑われる手や実験機、実験器具などは直ちにアルコール消毒すること。

結果と考察・課題

実験年月日 _____ ~ _____

2年 組 番 (班) 氏名 _____

16枚のプレートの記録

(UVランプを照射したときの発光の強さ、コロニーによって異なる場合はその数や割合なども記録する)

系統株名 \ 条件	「-」	「ara」	「glu」	「ara, glu」

1. 補足資料を参考にして、pGLO中に含まれるaraC遺伝子の場所（DNA鎖の上下どちら側の鎖の情報か、翻訳開始や翻訳終止はどこか等）を詳細に示せ。資料中のDNAの塩基番号をそのまま利用して良い。
2. 上側の配列の358番目の塩基Aを、T、G、Cに置換した場合、AraCタンパク質のアミノ酸配列はどのように影響を受けると予想されるか。何番目のアミノ酸が何から何に変わる等、それぞれについて示せ。
3. 野生型のAraCを持つ場合（358番目の塩基はA）、GFPの転写調節はどのように行われていると考えられるか。DNA、AraCタンパク質、CAPタンパク質、アラビノース、cAMP、RNAポリメラーゼ等の状態がわかるように図示し、説明せよ。また、実験結果は予想と食い違わないか。
4. 358番目の塩基がTに変わったときの変異型AraCを持つ場合、GFPの転写調節は野生型AraCに比べてどのように変わったか。実験結果から説明せよ。
5. 358番目の塩基がGに変わったときの変異型AraCを持つ場合、GFPの転写調節は野生型AraCに比べてどのように変わったか。実験結果から説明せよ。
6. 358番目の塩基がCに変わったときの変異型AraCを持つ場合、GFPの転写調節は野生型AraCに比べてどのように変わったか。実験結果から説明せよ。
7. 野生型AraCタンパク質と比較して、3種類の変異型AraCに見られるアミノ酸配列の変化は、それぞれ、このタンパク質の立体構造にどのような影響を与えていると考えられるか、また転写調節因子としての機能にどのような影響を与えていると考えられるか推測せよ。
8. その他

```

1      10      20      30      40      50      60      70      80      90      100
5'-ATCGATGCAT AATGTGCCTG TCAAATGGAC GAAGCAGGGA TTCTGCAAAC CCTATGCTAC TCCGTCAAGC CGTCAATTGT CTGATTCGTT ACCAATTATG
3'-TAGCTACGTA TTACACGGAC AGTTTACCTG CTTGTCCTCT AAGACGTTTG GGATACGATG AGGCAGTTTC GCAGTTAACA GACTAAGCAA TGGTTAATAC

150
ACAACCTTGAC GGCTACATCA TTCACTTTTT CTTACAACCC GGCACGGAAC TCGCTCGGGC TGGCCCCGGT GCATTTTTTA AATACCCCGC AGAAATAGAG
TGTGAACTG CCGATGTAGT AAGTGAAAAA GAAGTGTGG CCGTGCCTTG AGCGAGCCCG ACCGGGGCCA CGTAAAAAAT TTATGGGGCC TCTTTATCTC

250
TTGATCGTCA AAACCAACAT TGCACCCGAC GGTGGCGATA GGCATCCGGG TGGTGCTCAA AAGCAGCTTC GCCTGGCTGA TACGTTGGTC CTCGCGCCAG
AACTAGCAGT TTGGTTGTGA ACGCTGGCTG CCACCGCTAT CCGTAGGCC ACCACGAGTT TTCGTCGAAG CGGACCGACT ATGCAACCAG GAGCGCGGTG

350
CTTAAGACGC TAATCCCTAA CTGCTGGCGG AAAAGATGTG ACAGACGCGA CGGCGACAAG CAAACATGCT GTGCGACGCT GGCATATCA AAATTGCTGT
GAATTCTGCG ATTAGGGATT GACGACCGCC TTTTCTACAC TGTCTGCGCT GCCGCTGTTT GTTTGTACGA CACGCTGCGA CCGCTATAGT TTTAACGACA

450
CTGCCAGGTG ATCGCTGATG TACTGACAAG CCTCGCTGAC CCGATTATCC ATCGGTGGAT GGAGCGACTC GTTAATCGCT TCCATGCGCC GCAGTAACAA
GACCGTCCAC TAGCGACTAC ATGACTGTTT GGAGCGCATG GGTAATAGG TAGCCACCTA CCTCGCTGAG CAATTAGCGA AGGTACGCGG CGTCATTGTT

550
TTGCTCAAGC AGATTTATCG CCAGCAGCTC CGAATAGCGC CCTCCCTT GCCCGCGGTT AATGATTTGC CCAAACAGGT CGCTGAAATG CGGCTGGTGC
AACGAGTTTC TCTAAATAGC GGTCGTCGAG GCTTATCGCG GGAAGGGGAA CGGGCCGCAA TTAATAAACG GGTGTTGTTCA GCGACTTTAC GCCGACCAGC

650
GCTTATCCCG GCGGAAAGAA CCCCCTATTG GCAAATATTG ACGGCCAGTT AAGCCATTCA TGCCAGTAGG CGCGCGGACG AAAGTAAACC CACTGGTGAT
CGAAGTAGGC CCCTTTCTT GGGGCATAAC CGTTTATAAC TGCCGGTCAA TTCGGTAAGT ACGGTCATCC GCGCGCCTGC TTTCAATTGG GTGACCACTA

750
ACCATTGCGG AGCCTCCGGA TGACGACCGT AGTGATGAAT CTCTCTGCC GGGAACAGCA AAATATCACC CGGTCGGCAA ACAAATTCCT GTCCTGATT
TGGTAAGCGC TCGGAGGCCT ACTGCTGGCA TCACTACTTA GAGAGGACCG CCCTGTGCTG TTTATAGTGG GCCAGCCGTT TGTTAAGAG CAGGGACTAA

```

(生徒用プリントより抜粋)

AraCアミノ酸配列

```

MAEAQNDPLL PGYSFNAHLV AGLTPIEANG YLDFEIDRPL GMKGYILNLT IRGQGVVKNQ      60
GREFVCRPGD ILLFPPGEIH HYGRHPEARE WYHQWVYFRP RAYWHEWLNW PSIFANTGFF      120
RPDEAHQPHF SDFGQIINA GQEGRYSEL LAINLLEQLL LRRMEAINES LHPPMDNRVR      180
EACQYISDHL ADSNFDIASV AQHVCLSPSR LSHLFRQQLG ISVLSWREDQ RISQAKLLLS      240
TTRMPIATVG RNVGFDQLY FSRVFKKCTG ASPSEFRAGC EEKVNDAVK LS

```

※下線部197～216アミノ酸の部分は、DNAへの結合を担うヘリックス-ターン-ヘリックス構造(H-T-H Motif)を取ると考えられている。(ヘリックス=αヘリックスの略、らせん構造。ターン=ペプチド鎖が大きく折れ曲がり屈曲しているところ)

※N末側の大部分は、まとまってβバレル構造を取り、中心部にアラビノースが結合するポケットを形作る。また、このβバレル構造全体が、AraCタンパク質どうしの結合(二量体形成)に影響している。

(βバレル構造=βシート構造でできた面がやや曲がって取り囲むようにしてできたタル型の構造、GFPタンパク質全体もβバレル構造を取る。)

(生徒用プリントより抜粋)

貝化石標本をもとにした生物の個体成長と個体変異の研究

高橋宏和

速水 (1969)、速水・松隈 (1971) により、古生物学実習の1例として、化石の計測と統計についての初歩的な理論と実践がなされた。そこでは、種の個体成長や個体変異の検討に役立つ、生物測定の目的と意義を理解し、合わせて種の同定と個体群間の関係について考察する授業が展開された。ここでは、1993年より本校で行われてきた中学3年生の総合選択学習、通称テーマ学習の講座として10年来指導してきた内容を、高校生向けにより深くかつ平易な実験にまとめてみた。

1. 実験機器

ミットヨ製 電子ノギス CD-20C
インプットツール IT-005D
コネクティングケーブル 959149
オフィス 2000 (XP) 搭載パソコン一式

2. 実験試料

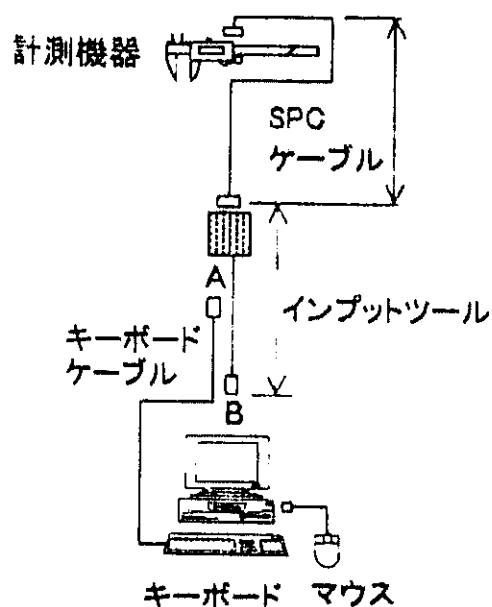
千葉県市原市瀬又の葎層(約 30 万年前の間氷期の地層)と千葉県印旛郡印旛村鶴巻・吉高の木下層(約 12~13 万年前の最終間氷期の地層)より産出する貝殻を使用する。

3. 実験の目的

電子ノギスを貝化石標本に当てて、それぞれの貝殻の殻長・殻高・殻幅を計測し、その値をコンピュータ内に開かれている表計算ソフト(エクセル)の集計表のセルに入れる。次に、多量に計測した値をもとに、グラフ機能を使って散布図や回帰直線を表示する。最後に、それぞれの貝化石種の相対成長の様子や個体変異の幅について研究・考察したり、殻長・殻高・殻幅のうちの2つの変数を選んで相関係数を求め、相関の度合いを調べる。

4. 作業手順

(操作 1) 班ごとに計測機器を作業できるように配線する。(図1)



(図1) 計測機器配線図

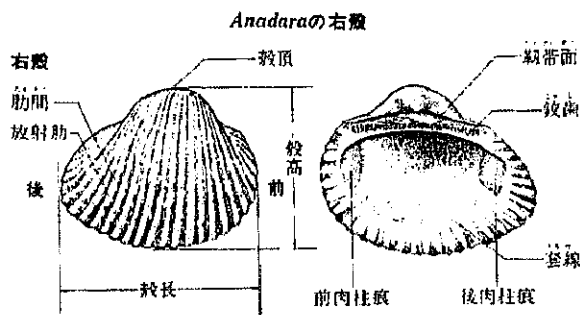
(操作 2) コンピュータを起動させ、ディスプレイ上のマイコンピュータのアイコンを経由して、フロッピーディスクのファイル(貝の名称)を開く。

★ 注意: このエクセルのファイルはマクロを含んでいるため、警告が出てくるので、「マクロを有効にする(E)」を左クリックで選択する。

(操作 3) ディスプレー上に集計表が出てきたら、貝殻の計測を開始する。

電子ノギスに貝殻標本を当てて、それぞれの貝の殻長・殻高・殻幅を計測し、その値をコンピュータに送る。

〔計測部位〕 《例》サルボウ

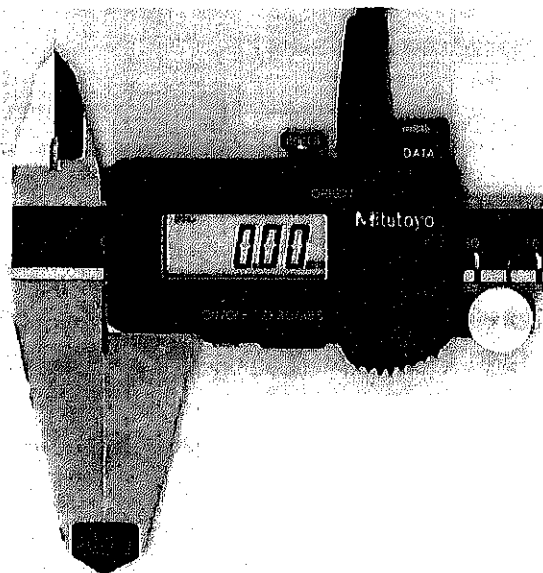


〔方法〕①電子ノギスのスイッチ(図2の左の水色ボタン)を押して電源を入れ、液晶画面に数字が表示されたら、ゼロ調整用のスイッチ(図2の右の白色ボタン)を押して、外側用測定面を閉じた状態での数字の表示を0.00mmにする。

②貝殻の測定部位にノギスの当てる時に、その当て方に注意する。左手で貝殻をつかみ、右手に持つノギスのローラーを親指で、外側用測定面を移動させながら貝殻をはさむ。

☆ 殻長・殻高・殻幅の順番に測定する。

③測定値を確定したら、コネクティングケーブルのDATA ボタン(オレンジ色)を押して、コンピュータにその値を送る。



(図2) 電子ノギスの表示・操作部

サルボウ			
殻長	殻高	殻幅	放射肋の数
53.69	40.56	17.99	30
52.61	39.7	16.4	32
57.79	49.18	18.94	31
70.22	56.37	25.08	33
67.33	52.82	23.57	31
47.58	35.64	16.68	32
49.92	38.33	16.75	33
49.34	36.79	15.09	29
43.13	33.15	13.12	31
62.09	48.08	21.33	31
47.93	36.1	15.08	34
59.33	42.81	19.49	29
61.17	46.73	22.16	29
41.92	34.17	14.21	31
57.87	45.71	17.71	34
54.64	41.05	18.9	31
54.44	40.05	18.1	31
50.72	39.31	17.29	30
49.08	33.37	15.15	34
37.02	29.82	12	29
63.49	50.22	21.06	33
59.27	44.88	18.91	36
55.27	47.14	19.4	32
37.97	31.5	14.16	32
17.49	13.66	6.32	32
39.7	31.32	12.95	33
41.46	33.26	13.33	32
43.48	34.36	14.23	29
59.86	44.87	20.57	29

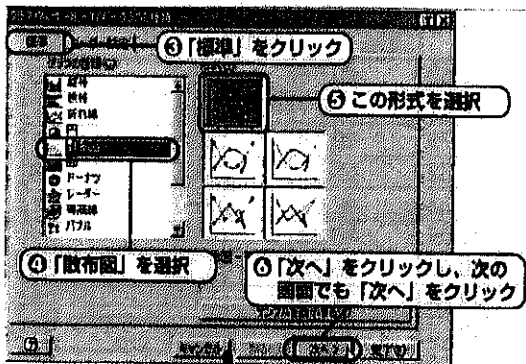
(表1) サルボウの計測値

④画面のセルに測定値が表示されたら、キーボードのリターンキーを押して、次の部位の測定を行う。

⑤1つの貝殻について測定し終わったら、マウスを使って、次の行の先頭のセルに移動させ、次の貝殻の測定を行う。測定を終えた貝殻の内側に、測定値が入力された表の行番号を鉛筆で記録しておく。

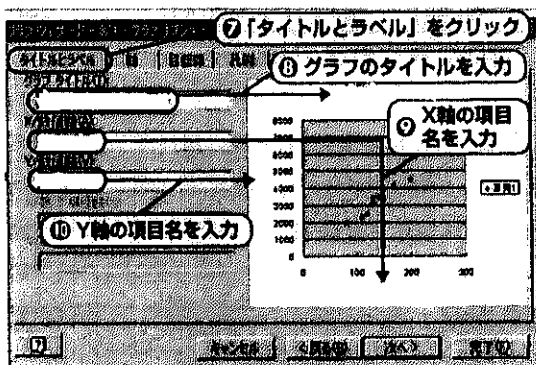
(操作 4) 貝殻の測定値の入力が終了したら、以下の手順で、データの散布図を作成する。

- ①グラフにするデータの範囲を選択する。
- ②「グラフウィザード」のマークをクリックする。
- ③次の「標準」の画面を確認する。(図3)



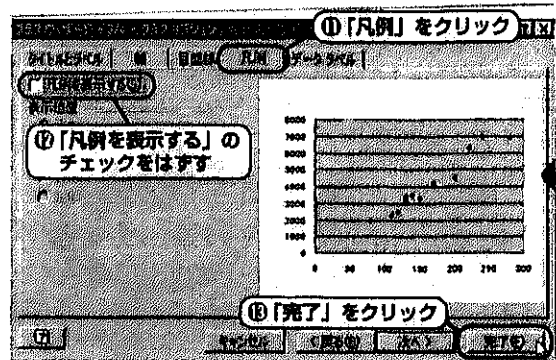
(図3) 散布図の選択

- ④画面左側の「グラフの種類」の中の「散布図」を選択する。
- ⑤画面中央の「形式」の1番上の形式を選択する。
- ⑥画面右下の「次へ」をクリックする。
- ⑦次の画面が「タイトルとラベル」であることを確認する。(図4)
- ⑧グラフのタイトルを入力する。(例)アカガイの殻長と殻高の関係
- ⑨X軸の項目名を入力する。(例)殻長
- ⑩Y軸の項目名を入力する。(例)殻高



(図4) グラフのタイトルとラベル

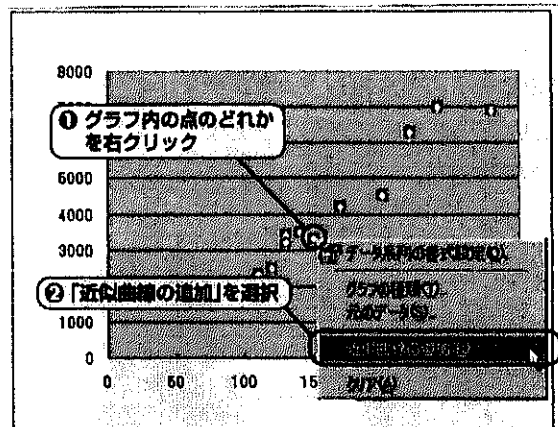
- ⑪画面中央の「凡例」をクリックする。(図5)
- ⑫「凡例を表示する」のチェックをはずす。
- ⑬画面右下の「完了」をクリックする。



(図5) グラフの凡例

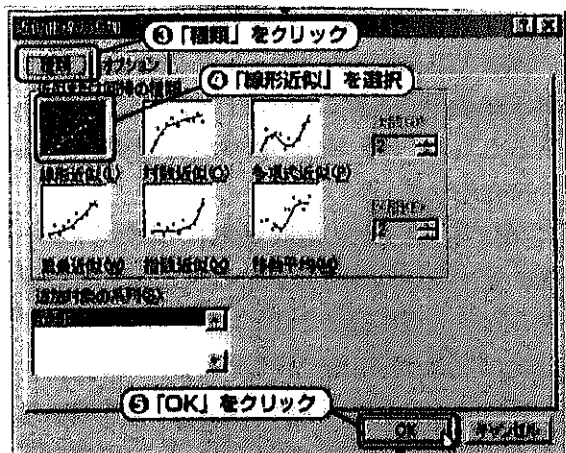
(操作 5) 散布図が完成したら、以下の手順で、グラフの点を直線に置き換える。

- ①散布図の点の上で右クリックする。
- ②「データ系列の書式設定」のメニューが表示されるので、「近似曲線の追加」を選択する。(図6)



(図6) 近似曲線の追加

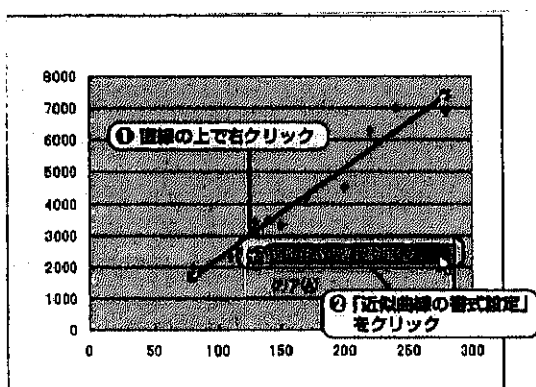
- ③次が「種類」の画面であることを確認する。(図7)
- ④「近似または回帰の種類」の欄内の「線形近似」を選択する。
- ⑤画面右下の「OK」をクリックする。すると、傾向を表す直線が入る。



(図7) 線形近似の選択

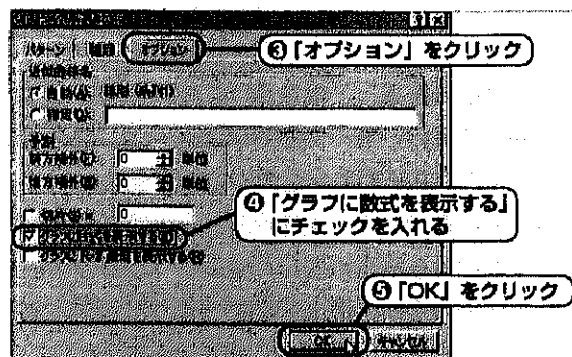
(操作 6) 散布図に直線を入れたら、以下の手順で直線を表す式を求める。

- ① 直線の上で右クリックする。(図8)
- ② 「近似曲線の書式設定」をクリックする。



(図8) 近似曲線の書式設定

- ③画面の上の行の「オプション」をクリックする。(図9)
- ④画面下方の「グラフを数式に表示する」にチェックを入れる。
- ⑤画面右下の「OK」をクリックする。

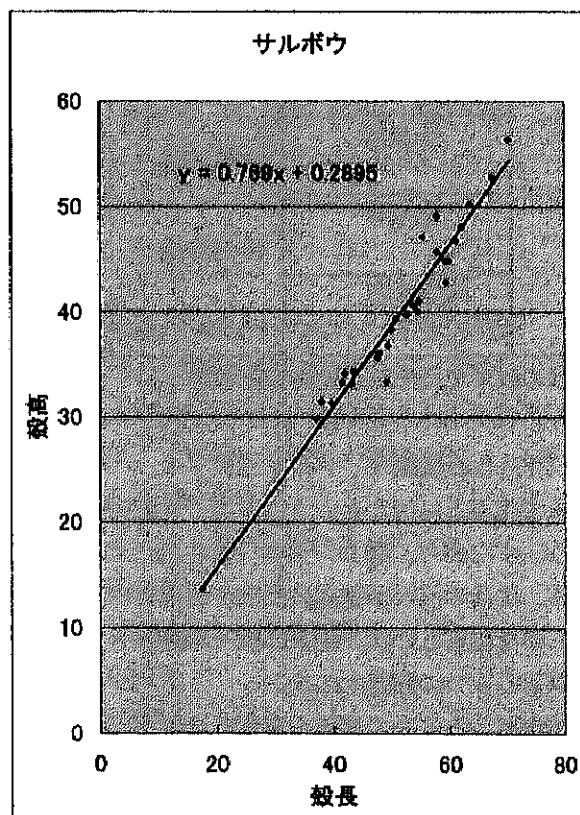


(図9) グラフ内の数式の表示

5. 考察

(図10)は、表1のデータをもとにしたサルボウの殻長と殻高の関係を表す近似直線である。ばらつきが少なく両者の間に強い正の相関関係があることがわかる。

また、直線の傾きが約 0.77(1 以下)なので、殻高は殻長に対して劣成長であると言える。



(図10) サルボウの殻長と殻高の関係

<補足>貝殻計測に至るまでの授業展開

貝殻計測の授業は、高校地学Ⅰの選択者が受講する課題研究の一部である。以下、そこに至るまでの授業内容とその展開を簡単に紹介する。

貝殻の計測では、千葉県北部に分布する下総層群より産出する貝化石を使用する。下総層群は、更新世後期の氷河性海面変動ともなう海進―海退サイクルによって堆積した地層で、表1のように区分されている。特に、最終間氷期の堆積物からなる木下層は、今のところ貝化石を最も採集しやすい地層である。

(表1) 下総層群層序区分

下 総 層 群	常総層	10 万年前
	木下層*	
	横田層	20 万年前
	清川層*	
	上泉層	30 万年前
	藪層*	40 万年前
地藏堂層		

*はこれまで貝化石を採集した地層

(1) 化石概論

まず化石とは何かということで、化石の定義を行う。すなわち、過去の生物（古生物）の遺骸や遺体、生活の痕跡が地層の内部や表面に保存されたものを化石という。化石にはその産状と成因から以下の5つに分類される。

- ①体化石：古生物の遺骸や遺体の全部または一部が化石となったもの。(例) さんご、二枚貝、三葉虫など
- ②柔らかい組織の化石：特別の条件で動物の皮膚や筋肉、内蔵などの柔らかい組織が保存されたもの。(例) シベリアの水づけのマンモス、こは

く中に封じこめられた昆虫など

- ③置換または交代された化石：古生物の遺骸や遺体の組織や構成物質が他の化学物質で置き換えられたもの。(例) 樹木の組織がSiO₂で置換された珪化木など
- ④印象化石：古生物の遺骸や遺体（またはその一部）そのものは失われても、その形だけが地層の内部や表面に保存されたもの。(例) くらげ、恐竜の皮膚、始祖鳥の羽毛など
- ⑤生痕化石：古生物が生活していたときに残した痕跡が地層の表面や内部に保存されたもの。(例) 海棲生物の巣穴、恐竜の足跡、排泄物など

さらに、全ての古生物の遺骸や遺体が化石として保存されるのではなく、古生物が化石として残るためには、古生物の死後、その遺体がすみやかに堆積物におおわれて、分解されずに保存されなければならないことを指摘する。

次に化石の役割について、示相化石と示準化石の2つを説明する。

示相化石とは、化石となった古生物と現在の生物を比較し、その生活状態から地層の形成された環境を知るのに役立つ化石をいう。(たとえばリーフをつくるようなサンゴの化石は温暖で浅い海域を示す。)なかでも特に限定された条件(特殊な条件)に適応した生物が示相化石としての利用価値が高いが大きいということになる。(たとえばオオノガイは内湾の泥質な海底を示す。)ただし、そのためにはそれらの化石が死後運搬されずに元の生息地に近い所で化石になることが必要であることを強調する。

示準化石とは、地層の形成された地質時代を決めたり、離れた地域の地層の新旧関係を比べる(対比)のに使われる化石をいう。示準化石になる生物は、進化の速度が速くて、短い期間しか生存せずに地球上から消えてしまったもので、広い地域の地層の中から、ある限られた地質時代の地層に限って産出する。(たとえば海流によって広く運ばれる浮遊性有孔虫など)地質時代の区分と代表的な示準化石、地層の対比の方法などについて、図表を使用して説明する。

(2) 貝化石の採集

貝化石の採集地は、千葉県印旛郡印旛村鶴巻(木下層：図1)および吉高(木下層)、市原市瀬又(藪層)などである。

(3) 貝化石の同定と分類

貝類の分類形質について生徒に理解させるために、まず、以下のような生物の分類と系統に関する簡単な説明を行う。

地球上には長い間の進化の結果おびただしい種類の生物が生活している。現存の生物は、普通4つのグループに大別される。すなわち、ウイルス、細菌、植物、動物である。

生物を似ている点と違っている点に基づいて整理することを分類という。初めは、薬になる植物、香料になる植物に分けるような、人為的な基準による分類、人為分類が行なわれていたが、次には生物自体がもつ形質をもとにした自然分類が考えられるようになった。

自然分類では、さらに進化論が考え出されてからは、生物の類縁関係や生物が進化してきた道筋(系統)に基づく系統分類が問題にされるようになった。系統分類を行なうためには、現在生きている生物の特徴を比べるだけでは不十分で、化石生物を調べるとともに、発生の過程や分子遺伝学などの研究によって、進化の道筋を明らかにする必要がある。

生物の系統を木の幹と枝のように図示したものが系統樹であるが、現在ではいろいろな系統樹が様々な観点から作られている。

分類の基本単位となるものを種という。種は形態的に似ていて、互いに交配したときに子孫を残しうる生物の集団とされている。よく似た種を集めて属とし、さらに似た属を集めて科、同様にして目綱門界といった分類の段階が設けられている。

18世紀の中頃、スウェーデンのリンネは、生物を区別する分類法を提案した(1758年)。彼は種を表すのに、ラテン語で属名と種小名を列記した二名法を考え出し、現在広く使われている。たとえばヒトの属名は *Homo*、種小名は *sapiens* なので、ヒトは *Homo sapiens* と呼ばれる。

次に貝類の中で最も系統的に分類されている二

枚貝類の分類方法と分類形質について説明する。

二枚貝類を貝殻の特徴で分類する場合、最も重要なのは殻のかみ合わせ部分、歯の発達状態や配列状態である。他に殻の外形、大きさ、表面装飾、内面の套線など様々な分類基準がある。特に歯の形がよく似ているアカガイとタマキガイについて、両者の相違点を説明し、区別できることを示すと良い。

以上のことを説明した後で、貝化石のクリーニングおよび整理、貝化石の同定・分類とラベルの作成を行う。

まず貝殻に付着した砂や泥など針やブラシを使って採集した貝化石からきれいに取り除く(クリーニングという)。

クリーニングした後、鑑定・分類を行なう。ほとんど現生種なので、先に説明した貝の分類基準を参考にしつつ、図鑑を利用すればだいたい鑑定できる。

貝の鑑定には以下の図鑑などが役に立つ。

原色日本貝類図鑑(吉良哲明著、保育社)

続原色日本貝類図鑑(波部忠重著、保育社)

Revision of Yokoyama's Type Mollusca (大山桂著、日本古生物学会)

標本はきちんと整理箱に入れて、ラベルを添える。

(4) 地層が形成された当時の環境の推定

貝化石の同定・分類ができたなら、採集した貝化石からどのようなことが推定できるかを考えさせるために、まず採集した貝の種類のリスト(表2)を生徒に作成させる。

表2のリスト内の記号は以下の通り。

①緯度分布

Pは太平洋、Jは日本海を表す。

②生息深度

N0：潮間帯

N1：潮間帯から20~30m

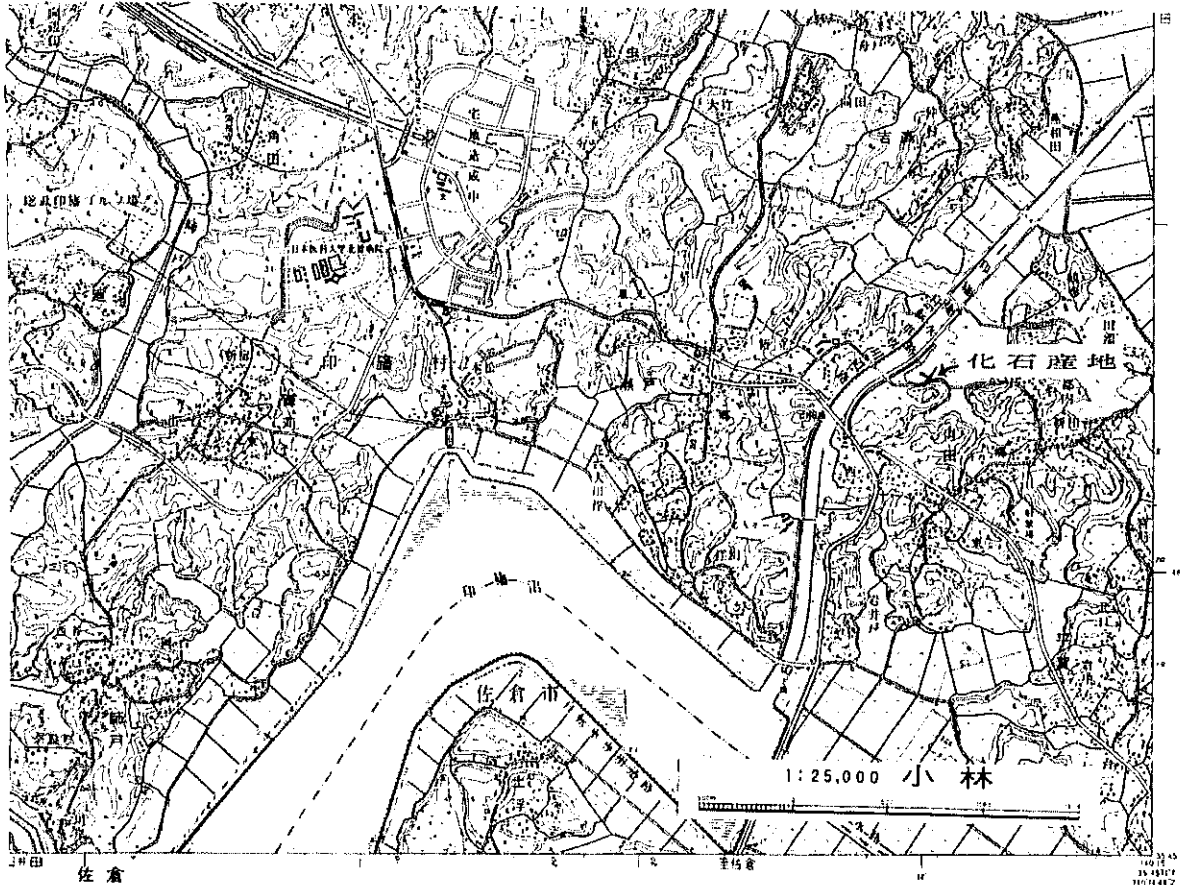
N2：20~30mから50~60m

N3：50~60mから100~200m

N4：100~200m

B：深海区(200m以深)

③底質



(図1) 化石産地：千葉県印旛郡印旛村鶴巻、木下層

種名	学名	左殻の枚数	右殻の枚数	緯度分布	生息深度	底質
タマキガイ	<i>Glycymeris vestita</i>	0	1	P31-35, J -40	N ₁₋₃	S, m S
サルボウ	<i>Anadara subrenata</i>	2	2	P26-40, J -41	N ₀₋₁	m S, s M
バカガイ	<i>Nacra sulcataria</i>	4	5	P31-41	N ₀₋₁	S, m S
ハマグリ	<i>Xeretrix lusoria</i>	1	1	P31-39, J -43	N ₀₋₁	S, m S
カガミガイ	<i>Dosinia japonica</i>	3	2	P31-42, J -43	N ₀₋₁	m S, s M

() 組 () 番 (氏名)

(表2) 採集した貝化石のリスト

種名	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40	42	44	46	48	50	52	54
タマキガイ									—											
サルボウ								—												
バカガイ									—											
ハマグリ									—											
カガミガイ									—											

()組 ()番(氏名)) ★各種の共通緯度・・・北緯 (31) 度～ (35) 度

(表3) 産出する貝化石種から推定された古緯度表

種名	N ₀	N ₁	N ₂	N ₃	N ₄	B
タマキガイ						
サルボウ	—					
バカガイ	—					
ハマグリ	—					
カガミガイ	—					

()組 ()番(氏名)) ★各種の共通する生息深度・・・ (N₁) , 底質: (mS)

(表4) 産出する貝化石種から推定された古深度表

G : れき質底

M : 泥底 (sM : 砂質泥底)

R : 岩れき底

S : 砂底 (mS : 泥質砂底、shS : 貝殻砂底)

貝は底生動物なので、気候(水温)や生息深度など地層が堆積した環境を復元するのに役に立つ示相化石になりうる。そこで、縦軸に貝の種名、横軸に貝が現在分布している緯度や生息深度をとったグラフを生徒に書かせる。全ての貝に共通する生息緯度や深度の範囲から貝の堆積した環境を明らかにし、現在のどのような場所に相当するのかを考察させる。また、産出する貝化石種から推定された古緯度表(表3)と深度表(表4)を提出させる。

まとめとして、貝化石層を堆積させた約12万年前の最終間氷期に起こった下末吉海進の概要と当時の古環境を説明する。すなわち、当時は古東京湾と呼ばれる内海が関東平野一帯に広がっており、房総半島から伸びるバリアー島(メキシコ湾沿岸で見られる海岸地形)の内側に発達した三角州の前面に形成された地層であることを示す。

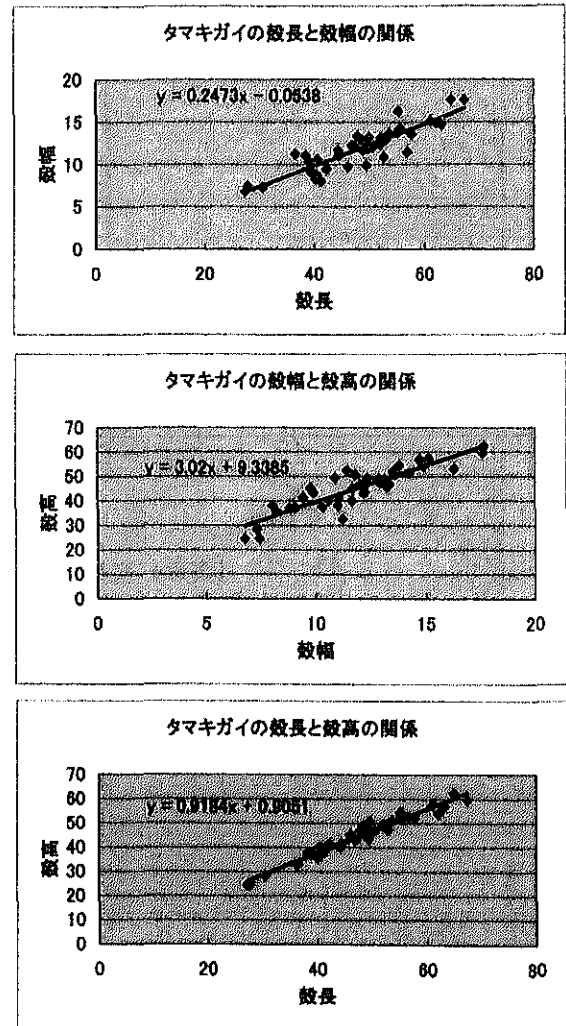
(5) 貝殻の計測と相対成長のグラフの作成

ここで、電子ノギスを使用した貝殻標本の計測に入る。相対成長のグラフを作成し、回帰直線も求めさせる。例として、エゾタマキガイの場合、殻長(横軸)と殻高(縦軸)のグラフでは直線の傾きがほぼ1になり、殻長と殻高の相関性は高いが、殻幅との相関性はデータの散らばり具合からあまり高くないことがわかる。(図2)

成長に関係の深い2つの変数間の関連性を調べることで、すなわち相対成長の調査は個体の成長の傾向を知るだけでなく、分類学、進化学、生態学的に重要な意義があるので、ぜひ実施して欲しい。

(注)電子ノギスによる計測の原理を生徒に理解させるために、アナログノギスの使い方を説明して、二枚貝の殻長、殻高、殻幅の3つを計測させることをお勧めする。また、いろいろな成長段階を示す多くの個体から、平均的な成長傾向を調べる平均成長の調査方法を試み、アナログ的にグラフの縦軸と横軸に殻長、殻高、殻幅の3つのうち

2つを選び、計測値をプロットして散布図を作成させる。見当をつけて引いた直線と、表計算ソフトの最小2乗法による回帰直線の方程式とを比較検討してみるのも良い。



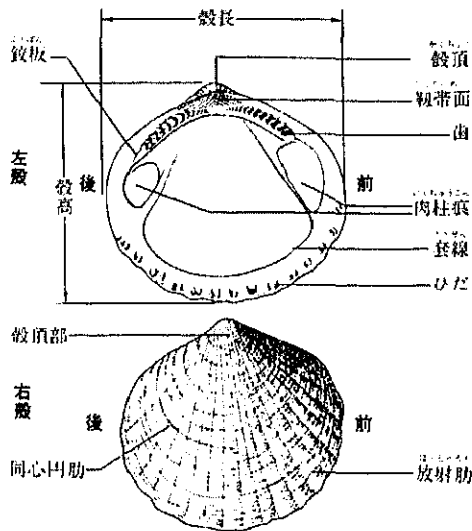
(図2) タマキガイでの各計測値の関係

(6) 種の個体変異の調査

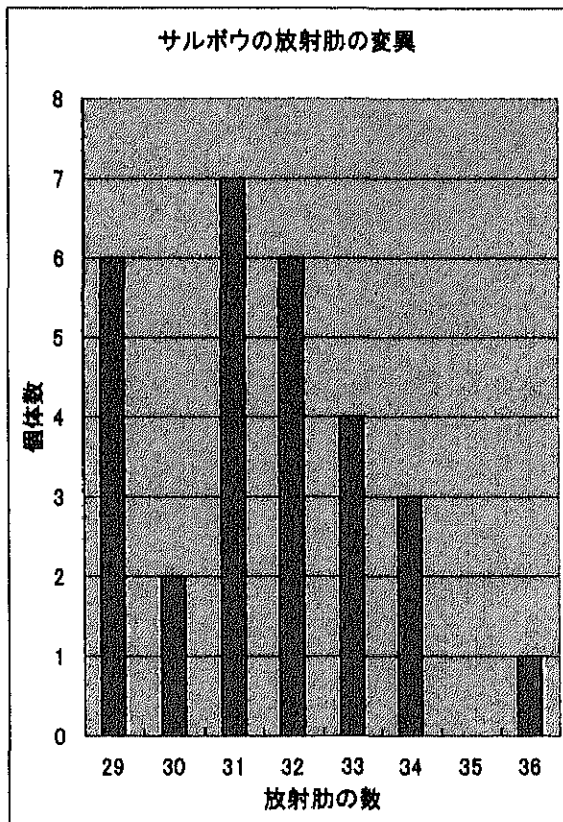
いくつかの形質をもとに種の個体変異の幅を調べて、生物種はどのように分類されているかを確認する。たとえば、二枚貝の放射肋の本数などの形質をグラフの横軸に、個体数を縦軸に取り、それぞれの種の個体変異の幅を調べる。

形質の例として、エゾタマキガイの放射肋の本数、歯の数、内側のひだなどを示す(図3)。サルボウ、イタヤガイ、トウキョウホタテについては放射肋の数と頂角の大きさについてヒストグラムを作成し、それぞれの個体変異を確認させる。

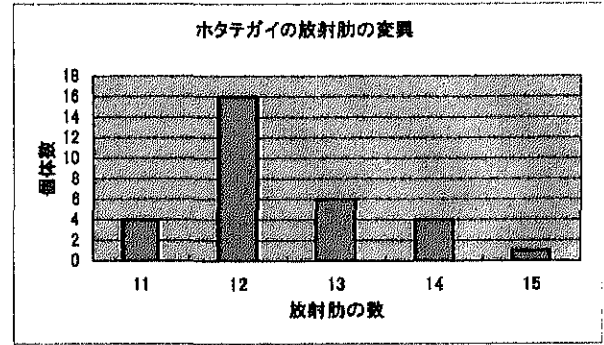
サルボウの放射肋の数の変異幅について図4に、
トウキョウホタテの放射肋の数の変異幅について
図5に示す。



(図3)エゾタマキガイの形質と計測部位



(図4)サルボウの放射肋の個体変異



(図5)トウキョウホタテの放射肋の変異幅

サルボウの放射肋の数はふつう 32 本前後(29
~34 本)であるが、図5を見るように1つだけ離れ
た36本の個体がある。これはおそらくサトウガイ
という別種であると判断される。一方、トウキョ
ウホタテは、図6に見られるように放射肋を12本
個体の数が最も多く、正規分布に近い形なので、
これらは同一種であると考えられる。

(発展) 底生有孔虫の観察

貝化石をクリーニングした後の砂をふるいにか
けて、中粒砂(粒径で0.5mmくらい)を取り分け、
その中から実体顕微鏡で底生有孔虫を探し出させ
て、その形をスケッチさせる。また、底生有孔虫
の種類を調べさせ、その種から推定される環境と
貝化石による結果と比較させる。



湾の中央部付近の海底に生息する種



沿岸の海底の砂に生息する種

(図6) 主な底生有孔虫