

校長室だより

令和7年12月2日発行

第
90
号

発行責任者
白梅学園高等学校長

武内 彰

共学共高

大腸菌の遺伝子組換え！ 光る大腸菌を作ろう！

11月下旬、3年生の生物の授業を参観した。というのもK先生が、大腸菌の遺伝子組換え実験を行うからだ。この実験は、大腸菌が自然界ではもっていない遺伝子（DNA）を取り込んで、その新しい遺伝情報を大腸菌内で現れるようにする実験で、「遺伝子組換え実験」と言われているものだ。自然界に存在しない大腸菌をつくりだすことになるので、カルタヘナ法という法律の下で厳格に行わなければならない。当然のことながら、実験を行うためには申請も必要になる。

この実験では、「pGLO バクテリア遺伝子組換えキット」を用いる。このキットでは、GFP（Green Fluorescent Protein）というタンパク質の遺伝子を大腸菌に導入する。この遺伝子は蛍光を発するオワンクラゲのDNAから切り取ってきたものである。オワンクラゲが暗いところで蛍光を発することができる原因是、この遺伝子があるからなのだ。実験を進めることによって、大腸菌がもっていないGFP遺伝子を発現させて、紫外線を当てると明るく緑色に光るタンパク質つくりだすのである。（うーーん、なかなか難しい）

大腸菌は主染色体とは別に、独立して自分で増えることのできる小さな環状のDNA分子（これをプラスミドという）をもっている。この実験で用いるpGLOプラスミドは蛍光を発するGFPというタンパク質遺伝子と抗生物質アンピシリンに耐える遺伝子をもっており、このpGLOが大腸菌の中に取り込まれときに、そこにアラビノースという糖があると、蛍光を発するのである。大腸菌が新しい遺伝子を取り込んだ後、培養される抗生物質入り寒天培地の中に、アラビノースが含まれていると蛍光を発し、含まれていないと蛍光は見られないるのである。

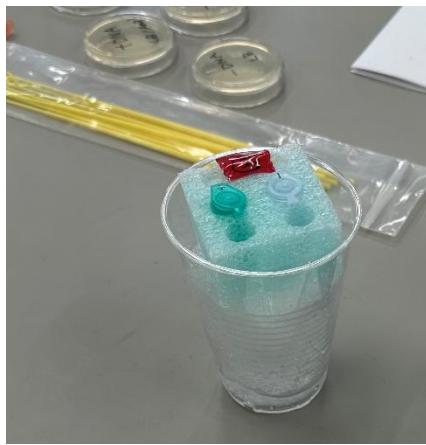
さあ、実験の開始である。K先生は生徒たちが前時につくった寒天培地を返却する。寒天培地のプレートは各班で次の4枚を使う。

- ① LB培地（大腸菌を培養するための栄養豊富な培地）を1枚
- ② LB培地に抗生物質アンピシリンを加えた培地を2枚
- ③ LB培地に抗生物質アンピシリンと糖アラビノースを加えた培地を1枚



生徒たちは以下の操作手順を行う。

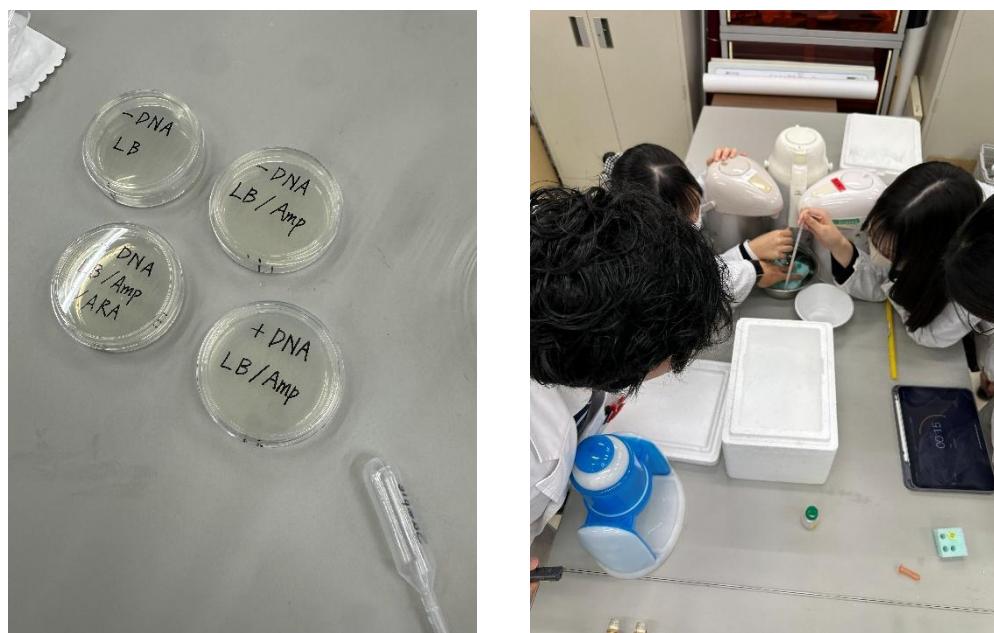
- ① 緑色のマイクロチューブに「+DNA」、青色のマイクロチューブに「-DNA」とペンで書き、チューブラックに差す。
- ② Bu と書かれた形質転換溶液の入ったチューブからピペットで溶液を $250\mu\text{L}$ リットルずつとり、それぞれ「+DNA」「-DNA」チューブに加える。
- ③ 「+DNA」と「-DNA」のマイクロチューブを氷上に置く。
- ④ 植付け用ループを用いて、大腸菌が入ったスタータープレートから大きさが 1.5 mm 程度の大腸菌コロニー（群れたもの）を 4, 5 個すくい取る。それを「+DNA」チューブの底まで入れて、指でこすり合わせるようにループの棒部分を回して先端のループについている大腸菌を溶液に溶かす。「-DNA」チューブについても同様に行う。



- ⑤ ここで、試しに pGLO プラスミド溶液に UV ライトを当ててみると、溶液は光らない。つまり、DNA 自体は光らないことが確認される。
- ⑥ pGLO プラスミド溶液にループの輪の部分がすべて浸るように入れる。シャボン玉を創るときのように輪の部分に溶液の膜を張らせる。このときの量が $10\mu\text{L}$ リットルである。その状態で、「+DNA」チューブにループを入れ、チューブのふたを閉めて氷上に戻す。「-DNA」チューブにはこの操作は行わない。



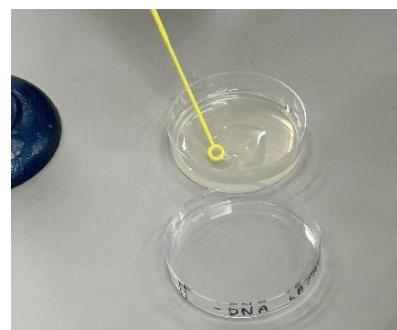
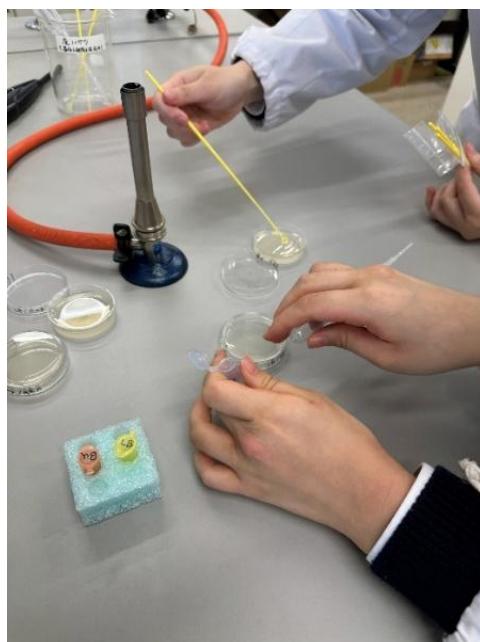
- ⑦ マイクロチューブを氷上で 10 分間放置する。
- ⑧ その間に、4 枚の寒天培地プレートの底面にそれぞれサンプル名を記入する。
「LB プレートには、-DNA LB」
「LB+アンピシリンには、+DNA LB/Amp と -DNA LB/Amp の 2 枚」
「LB+アンピシリン+アラビノースには、+DNA LB/Amp/ARA」
- ⑨ 次に、ヒートショックを行う。生徒 2 名が協力して、お湯と温度計を使って 42°C ちょうどのお湯を用意してくれた。そこに氷上に置いておいたマイクロチューブをラックに差したまま、50 秒間つけるのである。ここは 42°C で 50 秒間をしっかりと守る必要があるようだ。K 先生が強調している。



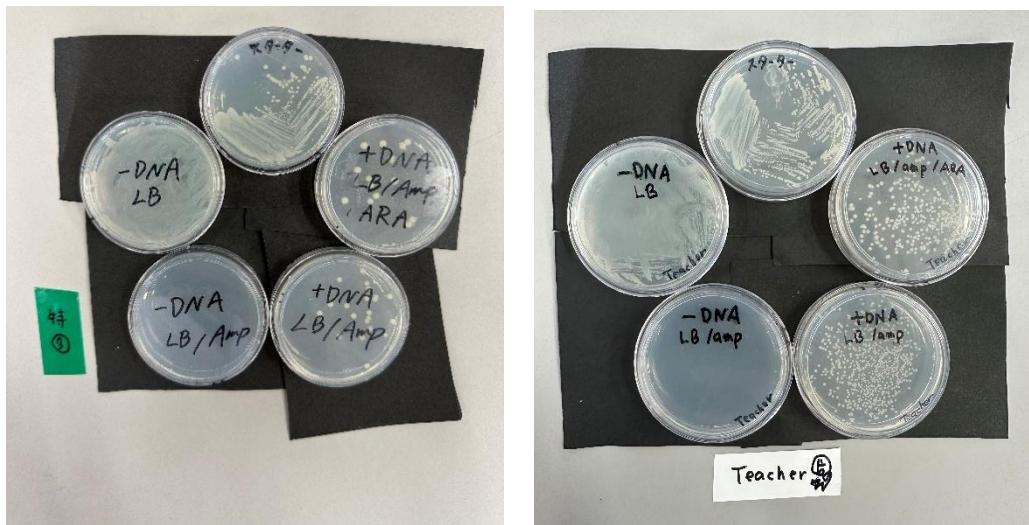
- ⑩ さらに、マイクロチューブを氷上で2分間置き、実験台の上に戻す。DNAの入った緑色のチューブとDNAの入っていない青色のチューブのそれぞれに、ピペットでとったLB培地を 250μ リットル加えて、10分間放置する。ここからの作業はガスバーナーの火をつけてその近くで行う。これは無菌状態で行う必要があるからだ。



- ⑪ チューブを手で持ち、タッピング（軽く指でたたく）して溶液を混ぜる。
⑫ 新しいピペットで大腸菌サンプルを 100μ リットル吸い取り、4枚のプレートにそれぞれ条件に合うように滴下する。
⑬ それぞれのプレートのふたを開けてから、植付け用ループを使って、先端の輪を培地表面と平行に滑らせるように大腸菌サンプルを広げる。その後、ふたを閉める。
⑭ 4枚のプレートに大腸菌サンプルを広げたら、プレートを裏返して積み上げ、テープでくくり、クラス班名を記入して、 37°C に保たれたインキュベーターに入れる。

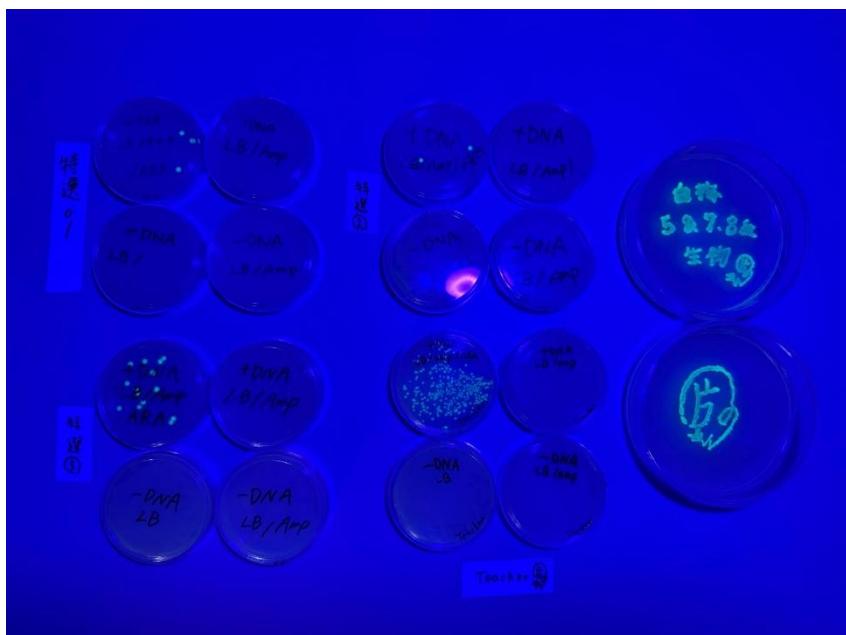


- ⑯ 一晩インキュベーターの中において、次の授業時に 4 枚のプレートを取り出す。
- ⑰ 4 枚のプレートを観察し、大腸菌コロニーの有無などを観察、スケッチする。
コロニーが観察できたのは、+DNA と記入された 2 枚のプレートのみであった。
-DNA の LB プレートは抗生素質が入っていないので、自然界にいる大腸菌が大繁殖しているのも分かる。



- ⑱ 次に、手製の暗室（？）に 4 枚のプレートを入れ、UV ライトを当てた時に蛍光がみられるかどうかを確認する。UV ライトを当てると、観察している生徒たちから歓声が上がる。「ずっと見ていられる」と言う生徒もいる。蛍光が見られるということは、大腸菌で遺伝子組換えが行われ、自然界には存在しない大腸菌へと形質転換したことを示す。そのプレートは言うまでもなく、「+DNA LB/Amp/ARA」であった。
この後、生徒たちは自分たちプレートから形質転換効率を計算する。生徒たちの結果は $1.3 \times 10^2 \sim 1.1 \times 10^3$ [/ μg] であった。ちなみに K 先生の行った実験では 1.5×10^3 [/ μg] と最も高い結果となった。





形質転換した大腸菌のコロニーをつま
ようじで突いて、「LB/Amp/ARA」の →
プレートに文字を書くことにより、文
字を光らせることも可能である。

なかなか大変な実験であったが、私が以前に校長として勤務していた都立高校で実施したことがある。その学校は、文部科学省からSSH（スーパーサイエンスハイスクール）の指定を受けていたので、実験装置なども比較的よくそろっていたし、予算も豊富であった。K先生のリサーチによると、国内でこの実験を行う高校は、数えるほどしかないようだ。白梅生たちは貴重な体験をしたと言えよう。彼女たちに進路希望を聞いてみると、看護・医療系と栄養系への進学を希望する生徒が多くかった。3年間最後の授業として、K先生からの熱いメッセージが送られる。生徒たちは姿勢を正して、その言葉を受け止めていた。

（共学共高とは：本校のディプロマポリシー（育てたい生徒像）の一つで、「共に学び、共に高め合う」生徒の姿を表す）