

シロイヌナズナ機能欠損変異体を用いた 高等学校生物「花の形態形成」単元の授業開発

井村 有里・木内 葉子・森中 敏行

抄録：近年の生命科学の急速な進歩を反映し、大学受験において分子生物学や発生遺伝学に関する出題が増加傾向にある一方で、突然変異体を用いる発生遺伝学の分野は、教科書や動画だけの学習に終わり、実物を見たことがない生徒が多い。本研究は、高校生物の「花の形態形成」単元について、モデル植物シロイヌナズナの花器官形成遺伝子の機能欠損変異体を用いた授業の取り組みについて提案するものである。

キーワード：高校生物、シロイヌナズナ、ABC モデル、機能欠損変異体

1. 研究の背景

「生物」は、平成 21 年の学習指導要領の改訂で、近年の生命科学の急速な進歩を反映した内容の 1 つとして、植物生理学分野「花の形態形成」の単元が新たに加わった。一方で、古典的な遺伝学分野「遺伝」の単元は基礎的な内容が中学校へ移行したことに加えて、高校では大部分が発展的な内容として扱われている。現代的な分子生物学分野「発現と発生」の単元は大腸菌や動物のモデルを扱う。それぞれの単元は単独で取り上げられることが多く、生徒達はこれら遺伝子配列から形質の決定までの過程を含む、生物の形態形成に関わる複数の単元の相互関係を見落としがちである。また、近年、大学受験において分子生物学や発生遺伝学に関する出題が増加傾向にある一方で、突然変異体を用いる発生・分化の分子発生遺伝学の分野は、教科書や動画だけの学習に終わり、実物を見たことがない生徒が多い。

平成 30 年告示の新学習指導要領高等学校理科では、「生徒自身が観察、実験を中心とした探究の過程を通じて課題を解決したり、新たな課題を発見したりする経験を可能な限り増加させていくことが重要」とされている。また、「自然の事物・現象を、質的・量的な関係や時間的・空間的な関係などの科学的な視点で捉え、比較したり、関係付けたりするなどの科学的に探究する方法を用いて考える」という「理科の見方・考え方」を働かせることの必要性に加えて、「探究の過程を通して、自然の事物・現象を科学的に探究するために必要な資質・能力を育成する必要があること」が示されている。特に生物では、「生物学の基本的な概念や原理・法則の理解を深めさせるとともに、科学的に探究する力や科学的に探究しようとする態度を養うことが大切である」とされている。

そこで本研究では、植物研究の現場で用いられているモデル植物の一種シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を題材として扱うことによって、少し難しい専門的教科書内容について生徒達がより理解を深めることに加え、研究現場の取り組みに近い授業を展開し、「花の形態形成」の単元と「遺伝」・「発現と発生」の複数の単元の理解を総合的に深めることを目的とする。

シロイヌナズナはアブラナ科植物の一種で、実験室内で容易に栽培でき、播種から約 1 ヶ月で花芽をつけはじめ、多量の種子をつけることから、モデル生物として利点が多い。1980 年代からモデル植物として注目されはじめ、90 年代中頃には広く用いられるようになり、キンギョソウやイネ、トウモロコシとともに、花の発生過程を含む多くの研究が進められてきた。

花は植物の生殖器官であり、花をつける時期の決定や、花の形態形成は生存戦略上重要な発生過程である。植物の種類ごとに特定の条件が整うと、それまで葉を形成していた茎頂分裂組織から、花器官が分化する。多くの被子植物の花は、同心円状の 4 つの領域から構成され、外側から中心に向かって 4 つの花器官、がく片、花弁、おしべ、めしべ（心皮）が配置している。

花器官形成に関わる遺伝子の研究は、変異原処理したシロイヌナズナの突然変異体を用いて 1980 年代から行われてきた。形態や発生パターンが野生型とは異なる変異体を単離し、その表現型（形態や性質）から、変異を受けた遺伝子の機能を推定する、というものである。多くの場合、突然変異体の表現型は、ある遺伝子の機能が失われたもしくは弱くなった結果現れたものであり、潜性形質として遺伝する。いくつかの変異

体の表現型と、多重変異体の表現型から遺伝的相互作用を調べ、着目する発生現象の遺伝的モデルを構築していくのが発生遺伝学である（平野・阿部 2018）。『ABCモデル』は、ある器官が他の器官へと置き換わる変異体の解析によって提唱された発生モデルの1つであり、1989年にMeyerowitz研究室から論文が発表されて以降、その仕組みが明らかにされてきた。花器官の分化を制御する遺伝子は、A、B、Cの3つのクラスに分類され、それぞれの遺伝子の組み合わせにより、花の同心円状の4つの領域（外側から領域1、2、3、4）を形成する。

このような研究の経緯から、本研究で取り上げる「花の形態形成」単元は、機能欠損変異体を用いる、という発生遺伝学の手法にも触れる良い教材の1つとなり得る。研究で用いる機能欠損変異体 *apetala1 (ap1)*、*pistillata (pi)*、*agamous (ag)* は、すべて1塩基置換の変異体であり、遺伝子組み換え体ではないため、一般の教育現場でも利用が可能である。

高等学校の授業で研究の過程をたどらせるためには、授業時間や高等学校段階での生徒の知識量など、高等学校の特性を整理したうえで、大学などの研究機関とは異なるデザイン・アプローチが必要である。本研究は、高校生物の「花の形態形成」単元について、モデル植物シロイヌナズナの花器官形成遺伝子機能欠損変異体を用いた授業の取り組みについて提案するものである。機能欠損変異体の花器官の観察の授業実践について報告し、高等学校の通常授業の中で、本物を用いて研究の追体験をさせることの利点・問題点についても整理する。

2. 授業のデザイン

上に述べた背景から、授業展開をデザインすると、生徒たちの学習の過程は次のようになる。

第1段階：野生型と機能欠損変異体の花の形態を観察・比較することによって、花器官形成のメカニズム（ABCモデル）が考案されるまでの過程を部分的に体験する。

第2段階：野生型の花を形成する個体から収穫した種子から、野生型の花を形成できない個体が分離することを観察し、生殖に不利な変異が集団内で維持されうる仕組みを考察・理解する。

第3段階：野生型の花を形成する個体の遺伝子型は、教科書で扱われている検定交雑ではなく、次世代の表現型の分離比や、PCRによる遺伝子型の決定により簡便に考察できることを学習する。

第1段階では、1時間の授業で、野生型の花と機能欠損変異体の花の形態を比較し、野生型の花にある器官が、変異体の花では他の器官に置き換わっている、もしくは欠損していることを観察させる。学習指導要領では「発生と遺伝子発現については、2種類程度の動物を例にして、発生における細胞の分化が遺伝子の発現調節に起因することの概要を扱う。」とされており、動物の発生現象との類似性にも気づかせたい。考察は授業時間内にできることが望ましいが、家庭学習としても良い。播種と植物体の準備は予め教員が行うが、授業時間に余裕があれば、マイクロピペットを扱う練習として、播種を体験させることも想定できる。

第2段階では、1時間は費やさずに、野生型の表現型をしめす（野生型の花を形成する）個体と、機能欠損変異体が約3:1の割合で出現することを確認させる。中学校理科で既習のメンデルの法則を思い出させ、生殖に関わる遺伝子の機能欠損変異が、集団内で維持されうる仕組みを考察・理解させる。考察はグループなどの活動とすることも想定できる。また同時に、次世代でも機能欠損変異の表現型を観察するために、機能欠損変異をヘテロで維持する必要があることを認識させ、第3段階へとつなげる。

第3段階では、野生型の花を形成する個体のうち、機能欠損変異をヘテロに持つ個体を抽出し、次世代に機能欠損変異をホモに持つ個体を得ることを目的とする。まず、野生型の花を形成する個体の遺伝子型を特定する方法を生徒達に考えさせる。ここでは、検定交雑が挙げられることが予想されるが、その操作の困難さも考えさせる。次に、研究現場では、1個体から得られた種子の一部を数十粒播種・育成して表現型の分離比の観察が行われていること、時間短縮のために、DNA抽出とPCR法を用いて植物体の遺伝子型を特定することを紹介する。学習指導要領では「遺伝子を扱う技術について、その原理と有用性を理解すること。」が求められていることから、操作の原理を再確認することにより、知識の定着を図る。授業時間は、1時間でDNA抽出とPCR反応の準備、次の1時間でPCR反応物の電気泳動、という過程を想定している。PCR反応のプライマーや反応条件の検討は今後の課題である。

上に述べた学習の過程は、第3段階のPCRによる遺伝子型の特定を、第1段階の観察の前に行うことも想定できる。生徒の思考過程と理解の深度を分析し、授業の組み立ては今後検討を進めたい。

3. 授業実践

本稿では、第一段階の機能欠損変異体の花器官の観察について、授業実践を報告する。

人工気象器が使用できる時期と育成規模の制約もあり、2022年1月に、高校3年生選択生物の受講生で、「花の形態形成」単元を既習の生徒12名を対象に、70分で実施した。授業展開を表1に示す。ag変異体は種子が発芽しなかったため、今回は野生型 (*Landsberg erecta* (Ler)), *pi*, *apl*の花器官を観察した。植物育成用ポットにバーミキュライトを入れ、その上にフィートモスを置き、播種した。22℃、長日条件（照明あり16時間、照明なし8時間）下で育成し、播種後3週間で抽苔をはじめた。播種後4週間で複数個の花が形成されたため、観察に供した。

表1 授業過程

学習活動	留意点
モデル生物, シロイヌナズナの説明 (5分) ・モデル生物とは ・シロイヌナズナの花器官の構造	モデル植物を扱うにあたり、モデル生物の条件や例について説明する。花器官の断面図から、野生型のシロイヌナズナの花器官の構造を理解させる。
野生型, <i>pi</i> , <i>apl</i> の花器官を実体顕微鏡下で分解, 観察 (25分～35分) ・機能欠損変異体とは ・機能欠損変異体の遺伝子型 ・実体顕微鏡下で花器官を観察・分解	発生分子遺伝学の研究における遺伝子機能欠損体の意義について理解させる。観察する変異体について、それぞれの遺伝子が欠損しているかプリントに記入させる。変異体を観察する前に、野生型の花器官を十分に観察させる。それぞれの花器官について、外側の器官から順番に分解させ、位置と数を確認させる。
考察 (15分) ・遺伝子と形成される器官 ・ABCモデル図	観察事実から、欠損している遺伝子が欠損している器官の形成に必要であることを考察させる。A, B, C遺伝子の関係性について考察させる。

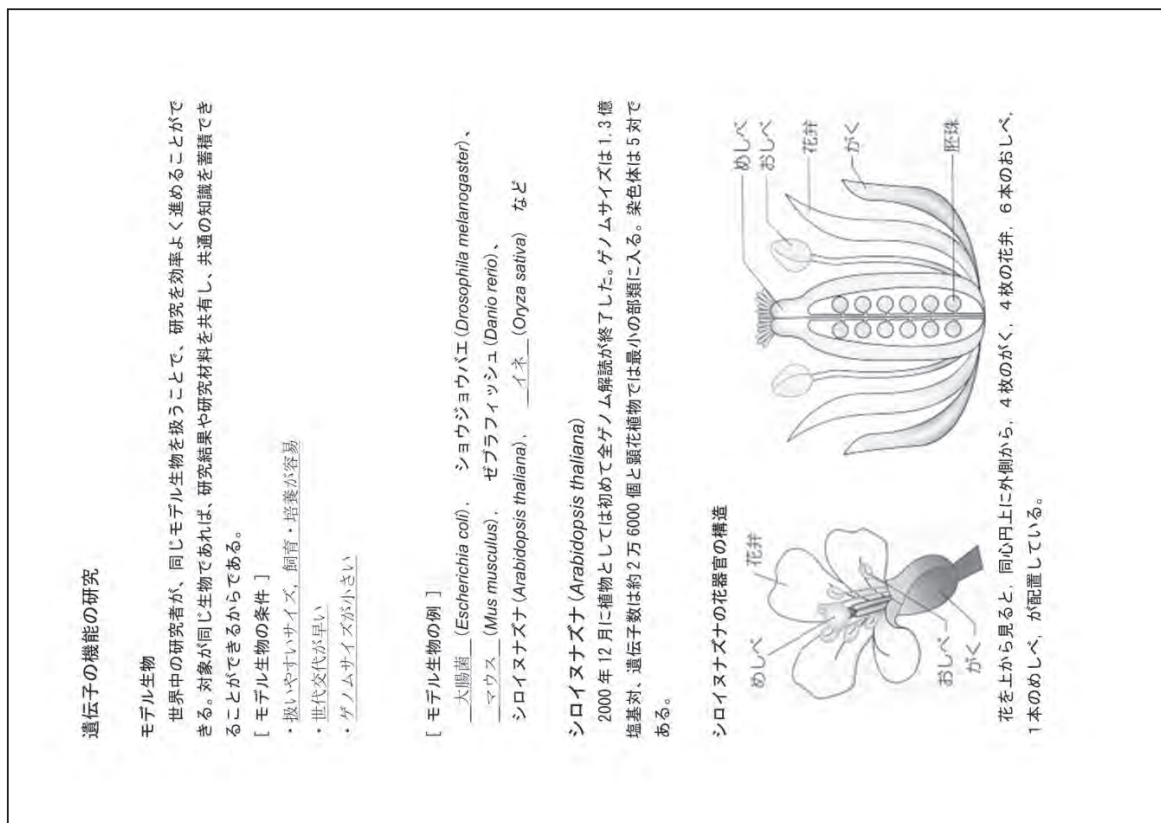


図1 プリント1

シロイヌナズナの花の観察

【目的】 シロイヌナズナ (*Arabisidopsis thaliana*) の花器官形成調節遺伝子機能欠損変異体の花の形態を観察し、花器官形成の仕組みを考察する。

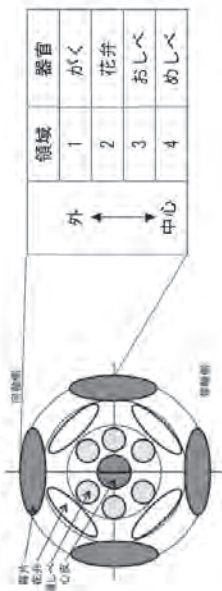
【準備物】 シロイヌナズナ 野生型 Ler、変異体 *apetala1(ap1)*、*pistillata (pi)*、*agamous (ag)*、シャーレ、はさみ、ピンセット、キッチンペーパー、実体顕微鏡

【観察】

(1) 野生型の観察

野生型の花を1つシャーレにとり、実体顕微鏡を用いて花の形態を観察する。

上から見た図



(2) 変異体の観察

機能欠変異体の花を1つシャーレにとり、実体顕微鏡を用いて花の形態を観察する。

系統	<i>apetala1(ap1)</i>	<i>pistillata (pi)</i>	<i>agamous (ag)</i>
遺伝子	A	B	C
観察できる器官	めしべ おしべ めしべ	がく めしべ	がく 花弁 がく
ない器官	がく、花弁	花弁、おしべ がく、めしべ	おしべ、めしべ
ある器官	めしべ、おしべ	がく、花弁	がく、花弁

学年 組 番 氏名

【考察】

(1) それぞれの花器官の形成に必要な遺伝子は何か。

領域	1	2	3	4
器官	がく	花弁	おしべ	めしべ
形成に必要な遺伝子	A	A, B	B, C	C

(2) それぞれの機能欠損変異体の花器官では、どこでの遺伝子が機能しているか。

① *apetala1(ap1)*

領域	外	中心
器官	めしべ	おしべ
遺伝子	C	B, C

② *pistillata (pi)*

領域	外	中心
器官	がく	めしべ
遺伝子	A	C

③ *agamous (ag)*

領域	外	中心
器官	がく	花弁
遺伝子	A	A, B

(3) A 遺伝子と C 遺伝子はどのような関係にあるか。
拮抗しあう関係

(4) それぞれの花器官を決定する仕組みは

領域	1	2	3	4	3	2	1
器官	がく	花弁	おしべ	めしべ	おしべ	花弁	がく
制御機構	A → C		B		C → A		

【感想】

図2 プリント2

観察を行う前に、プリント 1 の武田（2012）の花式図（花の横断面図）を用いて、花器官が模式的に 4 つの領域に分けられ、外側から領域 1 にがく片 4 枚、領域 2 に花弁 4 枚、領域 3 におしべ 6 本、領域 4 にめしべ（心皮 2 枚）が形成されることを確認した（図 1）。観察の記録に用いるプリントは、Bowman et. al. (1991) の Table 6 を参考に作成した（図 2）。図中の明朝体の部分と、太枠四角で囲った領域は、生徒が記入する内容と部分をあらわす。生徒達はシロイヌナズナを初めて観察するため、変異体の花器官にも「4 つの領域がある」ことが判別できる可能性が低いことが予想された。そのため、観察結果を記入する欄は、花器官の外側と中心側だけ示し、領域を区切る点線などは用いず、自由に記入できるように大きな空欄にした。「考察 (2)」も同様に大きな空欄にした（図 2）。

花器官の観察の際は、乾燥を避けるために、シャーレに蒸留水で湿らせたキッチンペーパーを敷き、その上で花を分解させた。生徒達にとっては、実体顕微鏡下でピンセット 2 本を用いる操作も初めてであり、花器官が切れたり変形したりする生徒もいた。しかし、すぐに操作に慣れ、観察が進むにつれて、1 つの花を短時間で分解できるようになっていた。生徒の感想にも「分解が難しくて器用さが求められた」、「ピンセットにひっついて並べにくい！！」という記述があった。

考察は、まず、欠損した遺伝子が欠損した器官の形成に必要であることを考察させた（考察 (1)）。次に、観察した表現型から、それぞれの変異体の花器官のどの領域でどの遺伝子が機能しているか考察させた（考察 (2)）。そして、A 遺伝子と C 遺伝子の拮抗関係を考察させ（考察 (3)）、ABC モデルと花器官の形成の仕組みについて考察させた（考察 (4)）。

ap1 が弱いアレルのため、がく片のような構造が観察できてしまった。観察結果の部分で、外側の領域に「めしべ」が見えると想定し直して、次の考察に進ませた。今後の観察には *ap1*; *ap2* の二重変異体を用いるなど、系統の検討が必要である。生徒達の記述を図 3 に示す。器官を外側から分解・観察できたことがわかる。

(2) 変異体の観察
機能欠変異体の花を 1 つシャーレにとり、実体顕微鏡を用いて花の形態を観察する。

系統		① <i>apetalal</i> (<i>ap1</i>)	② <i>pistillata</i> (<i>pi</i>)	③ <i>agamous</i> (<i>ag</i>)
遺伝子	A	—	+	+
	B	+	—	+
	C	+	+	—
観察できる器官	領域外	がく がく おしべ めしべ	がく がく めしべ	がく 花弁 がく
	中心			
ない器官		花弁、がく	おしべ、花弁	おしべ、めしべ
ある器官		がく、おしべ、めしべ	がく、めしべ	がく、花弁

(2) 変異体の観察
機能欠変異体の花を 1 つシャーレにとり、実体顕微鏡を用いて花の形態を観察する。

系統		① <i>apetalal</i> (<i>ap1</i>)	② <i>pistillata</i> (<i>pi</i>)	③ <i>agamous</i> (<i>ag</i>)
遺伝子	A	—	+	+
	B	+	—	+
	C	+	+	—
観察できる器官	領域外	めしべがく 4 枚大 1 枚小 おしべ 花弁 (B) 2 枚 おしべ 6 めしべ 1	4 枚のおしべ 9 枚のおしべ めしべ	がく 花弁 がく
	中心			
ない器官		がく、花弁	おしべ、花弁	おしべ、めしべ
ある器官				

図 3 観察結果の生徒の記述

生徒の感想から、「今回ぐらいヒントを与えてくれている場合は考察が簡単にできそうだ」、「(2) から考察するのは案外できるように思います。」など、プリントの発問で、機能欠変異体の花器官の観察事実から、遺伝子の機能への考察を誘導できていたことがわかる。

他方で、考察 (3) で A 遺伝子と C 遺伝子の関係性を考察する際に、生徒達から「拮抗」という言葉が出てこず、「お互いに抑制しあう」のような発言があった。今後は、用語の扱いにも配慮したい。

考察 (4) で ABC モデルを考察する際には、「A」、「C」を横に描かず、「A」、「B」、「C」を縦にそれぞれ描く生徒がいた（図 4）。これは、考察 (3) で A 遺伝子と C 遺伝子の拮抗関係を考察したのに対し、B 遺伝子の位置づけが不明確であったことが原因と考えられる。生徒の感想には、「(4) の書き方がよくわからない」、「制御機構を書くのは難しい」という記述もあったことから、考察 (3) と (4) の間にもう 1 段階思考の過程をもうける必要があることがわかった。生徒の感想の中には、「二重変異体の形質もわかった方が、B 遺伝子が「独立」していることが理解しやすいかもしれない。でも混乱する可能性もある。」という記述もあったことから、生徒達に他にどのような実験が必要か考えさせる、二重変異体の花器官の花式図を載せる、などの思考の過程を追加することを検討したい。

(4) それぞれの花器官を決定する仕組みは

領域	1	2	3	4	3	2	1
器官	がく	花弁	おしべ	めいしべ	めいしべ	おしべ	花弁
制御機構	A	A	C	C	B	B	A

(4) それぞれの花器官を決定する仕組みは

領域	1	2	3	4	4	3	2	1
器官	がく	花弁	おしべ	めいしべ	おしべ	おしべ	花弁	がく
制御機構	A	B	C	C	B	B	A	A

図4 考察(4)の生徒の記述

他の生徒の感想には、「遺伝子を『A, B, C』という表記ではなく、『○, △, □』など他の文字や記号を用いる方が良い」という意見もあった。遺伝子名の表記については今後検討したい。

また、「実際に見ると理解が深まった」、「いつも図や写真で見るだけだったので、楽しかったです。」と、シロイヌナズナの観察が有意義であったことがうかがえた。

4. 高等学校において分子発生遺伝学の実験を行う利点と問題点

授業デザインと実践を通して、本物を授業に取り入れる利点と問題点について整理する。

最大の利点は、本物に触れるワクワク感である。シロイヌナズナを見た生徒はその小ささと扱いにくさに驚き、マイクロピペットを手にした生徒は初めての器具に喜び、操作の難しさに戸惑う。そして、何度も観察や操作を重ねて、知識の1つとして理解を深めていくのである。

それに対して、1つ目の問題点は、植物の育成環境の制御が難しいことである。大学などの研究室では植物育成用の人工気象器もしくは植物育成用の部屋を用いるため、23℃、長日条件下で育成すれば「播種から約1ヶ月で花芽をつけはじめる」など生育の予想ができ、関連する実験を計画することができる。それに対し、一般の国公立高校には人工気象器などはなく、校舎内の自然環境下で授業日に合わせて花を咲かせるのは不可能である。以前、本校舎でも廊下で栽培を試みたが、冬には気温が低いため生育速度が遅く、猛暑では矮化し、花の観察まで到達せず、失敗した。

2つ目の問題は、45～50分の授業時間内に説明や観察などを収めないといけないことである。大学などの研究室では1つの作業に数時間をかけても次の作業を調整したりして問題はないのに対し、学校は時間割が決まっているため授業の延長はできない。2時間連続の授業にすることも可能であるが、時間割変更の必要性があり、他科目への影響も大きい。また、作業時間の短縮のために、料理番組のように次の過程のものを予め準備しておくことも想定できるが、費用と場所、何より教員の負担が大きくなる。

3つ目の問題は、分子生物学実験の設備・備品、費用がないことである。大学などの研究室では設備・備品、費用が充実しているのに対し、一般の国公立高校には設備も費用もない。研究費を取得しようとしても、一般の教員個人が応募できるのは多くて数十万円（科研費の近年の交付最大金額は54万円）であり、PCRの機器や、1クラス約40名の生徒の人数分のマイクロピペットなどの備品や高価な試薬は購入できない。本研究では、SSH（スーパー・サイエンス・ハイスクール）の費用で人工気象器を購入し、観察を実施することができた。また、学校が提携する業者の中には、分子生物学に用いる試薬を扱う経験が少なく、発注、見積もり、納品までかなりの時間を要することも問題である。

5. 今後の展望

授業デザインの検討と授業実践から見えた利点と問題点を踏まえ、今後の研究の課題を挙げる。

まず、今回用いた機能欠損変異体は、より多くの生徒達に観察させたい。4人班で、野生型と変異体3種を順番に観察させると、準備する植物体の数を少なくすることができる。また、人工気象器のない学校で観察を行う場合は、他施設の人工気象器でシロイヌナズナを育成した後、花芽が抽苔する時期に対象校へ植物体を移動させることが望ましい。来年度以降に本学附属高校の他校舎で実施を試みたい。

実体顕微鏡下でのシロイヌナズナの花の観察は慣れるまでに時間を要する。生徒の感想の中には「シロイヌナズナの大きさが予想より遙かに小さくて驚いた」、「分解がかなり難しかったです」という記述もあったことから、まず同じアブラナ科の菜の花などで分解と観察の練習をしてから、シロイヌナズナの観察に取り組むことが良いと考えられる。菜の花などの入手方法や授業の時間配分も含めて今後検討したい。

PCRの条件検討は近日中に実施予定である。

また、来年度は、ABCモデルを初めて学習する生徒に対して一連の授業を実施し、考察の誘導や、「花の形態形成」・「遺伝」・「発現と発生」の複数の単元の理解の深化を図りたい。

6. おわりに

教科書に記載されている事柄は、科学者達の研究の（失敗や）発見の積み重ねの成果である。ABCモデルは、1989年にアメリカのMeyerowitz研究室から発表され、世界中の研究者を驚かせ、大きな関心を集めた。探究の過程をたどらせることを通して、予想を立て、それに合う結果を得る喜び、異なる結果が出る驚きを味わうことのできる授業となるよう、今後も検討を続けていきたい。

謝辞

京都大学大学院生命科学研究科荒木崇教授、理化学研究所バイオリソース研究センター実験植物開発室から種子を分与いただきました。京都大学大学院生命科学研究科富田由妃氏からシロイヌナズナの栽培方法のご助言をいただきました。大阪教育大学鈴木剛教授、附属高等学校平野校舎岡本圭史教諭から授業デザインや生物教育についてご助言いただきました。石巻専修大学理工学部中川繭准教授から分子生物学実験の情報をご教示いただきました。厚く御礼申し上げます。

研究助成

この研究は、次の研究助成を受けました。

2013年度科研費奨励研究（課題番号：26909007）「シロイヌナズナ変異体を用いた複数単元理解のための教材および指導法の開発」

2021年度財団法人青松会中学高校新教育研究助成「シロイヌナズナを用いた高等学校生物「花の形態形成」単元の授業開発」

2021年度バイテク情報普及会高校生科学教育大賞 審査員特別賞

参考文献

Bowman, J. L., Smyth, D. R. and Meyerowitz, E. M. (1989) Genes directing flower development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 1(1): 37-52

Bowman J. L., Smyth D. R. and Meyerowitz, E. M. (1991) Genetic interactions among floral homeotic genes of *Arabidopsis*. *Development* 112: 1-20

武田征士 (2013) 花びら作りの分子メカニズム; *Plant Morphology* 25: 95-99

中川繭, 高橋香穂理 (2019) 花器官形成に働くクラス A, B, C 遺伝子が欠損したシロイヌナズナ変異体の花式図の作成; *生物教育* 60(2): 58-65

平野博之・阿部光知 (2018) 「花の分子発生遺伝学 遺伝子のはたらきによる花の形づくり」裳華房

啓林館 文部科学省検定済教科書 高等学校理科用 生物

第一学習社 スクエア最新図説生物 neo

A Class about ABC model with *Arabidopsis* loss-of-function mutants

IMURA Yuri ・ KIUCHI Yoko ・ MORINAKA Toshiyuki

Abstract: In this study, we propose a class about ABC model of *Arabidopsis*; how the genes establish organ number and pattern in the flower. Our students observed the flowers of wild-type and loss-of-function mutants and described the structure of flowers. We gave some questions to the students to consider which gene specify the identity of each of the floral organs.

Key Words: biology, ABC model, *Arabidopsis*, loss-of-function mutants