

■教育論文■

シリカ膜カラムによる米ゲノム DNA 抽出実験の 大学生向け動画教材の開発

内田美重^{1,2} コンタウィクリスティンアイコ¹ 呂 虹橋¹ 内田英伸^{1,3,4}

Video Teaching University Students Genome DNA Extraction
from Rice Using the Silica Membrane Column

Yoshie Uchida^{1,2}, Khristine Aiko Contawi¹, Hongqiao Lu¹
and Hidenobu Uchida^{1,3,4}

¹ Department of Food Business, School of Health and Human Life, Nagoya Bunri University, Inazawa City, Aichi 492-8520, Japan

² Present address: Graduate School of Environmental and Human Sciences, Meijo University, Nagoya City, Aichi 468-8502, Japan

³ Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Yokohama City, Kanagawa 221-8686, Japan

⁴ To whom correspondence should be addressed. E-mail: uchida.hidenobu@nagoya-bunri.ac.jp

Abstract: It is important to encourage university students to study laboratory classes to identify food plants with molecular biological techniques. The authors of the present report, created a video to teach genome DNA extraction from rice using the silica membrane column. In this video, every experimental step was displayed on a large monitor behind the presenter explaining these steps successively. Based on the responses of students who watched this video, we consider that this teaching material can be used online for university students to prepare for their laboratory classes.

Keywords: iPad, iMovie, genome DNA, video, silica membrane column

序論

食用植物の分子同定は食の安全・安心を保証する上で重要である。例えば、モチ米とウルチ米の判別¹⁾や、品種の識別²⁾など日本の食品表示制度に関係する事項や、海外の遺伝子組換え品種の混入の判別が³⁾PCRにより解析できる。しかし、高校で基礎生物、生物を学ばずに大学に進学した学生に、基礎的な分子生物学の実験をどう教えるかは難しい問題である。

身近な食用植物からゲノム DNA を抽出する方法を教えるため、ブロッコリーなどからゲノム DNA の抽出方法を高校生徒に伝える理科教材が検討されており^{4,6)}、その動画もインターネット上で視聴できる⁷⁾。この実験はフェノール・クロロホルム抽出とエタノール沈殿による抽出法⁸⁾を簡便化したものである。一般に DNA を沈殿、遠心して回収すると、酵素反応を阻害する多糖類が混入することがある。この問題は CTAB 法⁹⁾やグアニジン塩酸・塩化セシウム密度勾配法¹⁰⁾による精製を行うことで改善

できる。一方、Qiagen DNeasy Plant Mini Kit^{11, 12)}や ANIMOS MonoFas Food Kit^{13, 14)}や Nippon Gene GM Quicker2 kit^{12, 15, 16)}などによるスピンカラムクロマトグラフィーを用いた方法であれば、短時間に、少量の試料からゲノム DNA が抽出できるため、高校生向けの理科教材になっている^{14, 17)}。しかし、我々の知る限り、スピンカラムクロマトグラフィーでゲノム DNA 精製法を日本語で解説する動画は、研究経験のある人向けと思われるもの¹⁸⁾ぐらいしか見当たらず、また、大学生の教育を意識した動画教材は見当たらない。

近年、理科の科目を受験せずに食品学系の大学に入学する学生が増え、理科実験への関心を高める教材を開発することは重要になっている。そこで、本研究では、身近な食用植物からゲノム DNA を抽出する方法を動画で教える教材を開発することとし、その教材が、高校での実験経験がほとんどなかった

大学生の興味を引き付けたか、アンケートで調べた。

材料と方法

ゲノム DNA 抽出実験

実験材料は大学の近くで入手できるものを選んだ。具体的には、スーパーマーケットで購入した愛知県産のコシヒカリとたかやまもちにした。それぞれ 1.6g ずつを乳鉢内ですりつぶし、ニッポンジーン社の GM Quicker 2 キットを用いゲノム DNA を抽出した。同キットはコメ粉サスペンションを RNase、Proteinase K、アミラーゼの各酵素で処理し、ゲノム DNA 画分に混入しうる成分を分解した後、ゲノム DNA をシリカ膜のスピンカラムに吸着させ、精製するシステムである¹⁵⁾。

実験ビデオの編集方針

動画時間を短縮するため、重複部分と待ちをできるかぎり削除した。コメ粒のすり潰し工程、マイクロピペットを用いた GM quicker2 キット¹⁵⁾ 溶液のピペッティング操作の繰り返し、恒温槽でのインキュベートと高速微量遠心機の待ち時間をカットした。また、実験をした講師が学生に語りかけ、視聴学生の興味を引き付けることとした。

動画編集の機器とソフトウェア

本研究では講師が理科実験室にてコメ粒からゲノム DNA を抽出し、三脚に固定した iPad で撮影助手がビデオ撮影した (図 1)。ここでは講師と撮影助手が所有する 2 台の iPad を使用した。それらは、第 6 世代、システムバージョン 16.6 (容量 32G)、iCloud+ストレージ 50G のものと、第 8 世代、システムバージョン 16.5 (容量 32G)、iCloud+ストレージ 50G のものである。必要に応じ、実験操作の手元を拡大して撮影するため、三脚の 2 脚を固定したまま残りの脚を持ち上げ、iPad を実験机に接近させ撮影を行った。また、ファイルのサイズが大きくならないようにするため撮影時間は 4 秒 (7M の MOV ファイル) ~ 3 分 33 秒 (39M の MOV ファイル) とした。34 ファイルについて、前述の通り繰り返し工程を削除、1 本のファイルにつなげた。ビデオ編集にはソフトウェア iMovie (バージョン 3.0) を使用した。手元動画のファイルは Microsoft OneDrive 経由で Windows PC に転送、外付けハードディスクにバックアップ保存した。その後、スタジオ (図 2) にて講師の解説動画を撮影 (図 3)、手元動画と合わせ 12 分 3 秒 (28M の MP4 ファイル) のビデオ教材とした。

撮影した手元画像



iPad で実験操作を撮影



図 1. 手元動画の撮影. 左写真: iPad で撮影した像の例. 右写真: iPad を三脚に固定, 像を撮影する様子. クローズアップ像を撮影したいときには, 三脚を実験者側に傾けた.

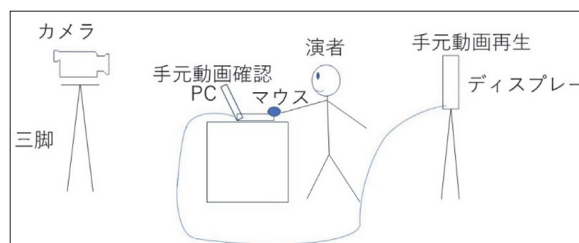


図 2. スタジオでの解説動画の撮影. 演者はノート PC と背面の大型ディスプレイで手元動画を再生, 正面のカメラが演者と背面のディスプレイの手元動画を同時に撮影した.



図 3. スタジオで録画した解説動画. 乳鉢・乳棒で各コメ粒をすり潰した. すり潰しの途中部分は動画編集段階で削除した.



図 4. スピンカラムへ上清をアプライする場面の手元動画. カラムをマイクロチューブに載せ (スタンド右側のチューブ), その上に回収した上清をアプライした.

ビデオでのゲノム DNA 抽出実験の進行

各工程のおおよその開始時刻と作業内容は以下の通りである。

0:02 実験紹介。

0:43 手元動画を解説する動画。

- 1:12 コメ粒のすり潰し（図3）。
 1:40 サンプルの秤量。
 2:48 バッファのピペッティング（試料と各酵素液との混和）。
 4:45 恒温槽での加温（各酵素処理による不純物の分解）。
 6:00 マイクロチューブの遠心。
 7:14 上清回収（固形残渣の除去）。
 8:28 スピナカラムへの上清のアプライ（図4）。
 8:34 カラムへのDNA吸着、洗浄、カラムからの溶出（遠心）。

撮影した解説動画は名古屋文理大学健康生活学部フードビジネス学科の学生10名に見せ、アンケートをとった（表1）。各質問内容を4段階で回答してもらい、最後に自由記述で意見・感想を書いてもらった。

表1. 視聴学生へのアンケート

1	高校等で実験の授業はどれくらいありましたか。 □たくさんあった、□まあまああった、□少ししかなかった、□ほとんどなかった。
2	動画はいかがでしたか。 □大変よい、□まあまあ良い、□あまり良くない、□とても良くない。
3	動画は理解できましたか。 □とてもよく理解できた、□比較的良好理解できた、□あまり理解できなかった、□まったく理解できなかった。
4	動画を見て、実際に実験をしてみたいと思いましたか。 □大変そう思う、□ややそう思う、□あまりそう思わない、□まったくそう思わない。
5	動画は大学生が興味を持つ内容だと思いますか。 □大変そう思う、□ややそう思う、□あまりそう思わない、□まったくそう思わない。
6	ご意見や感想がありましたら、ご自由にお書きください。

結果と討論

学生へのアンケート

アンケートの第1問、「高校等で実験の授業はどれくらいあったか」への回答結果（「ほとんどなかった」、「少ししかなかった」、「たくさんあった」）ごとに、第1問から第5問への回答をグラフに示した（図5）。その結果、「高校での実験はほとんどなかった」と回答した学生は、「動画の感想」、「動画の理解」、「実験したくなかったか」において、「大変よい」、「とてもよく理解できた」、「大変そう思う」（青色）と最高点の回答が多かった。以上の結果から、本研究の動画教材は高校で理科実験の機会が少なかったと感じていた学生に実験に対する興味を持たせ、実際にやって

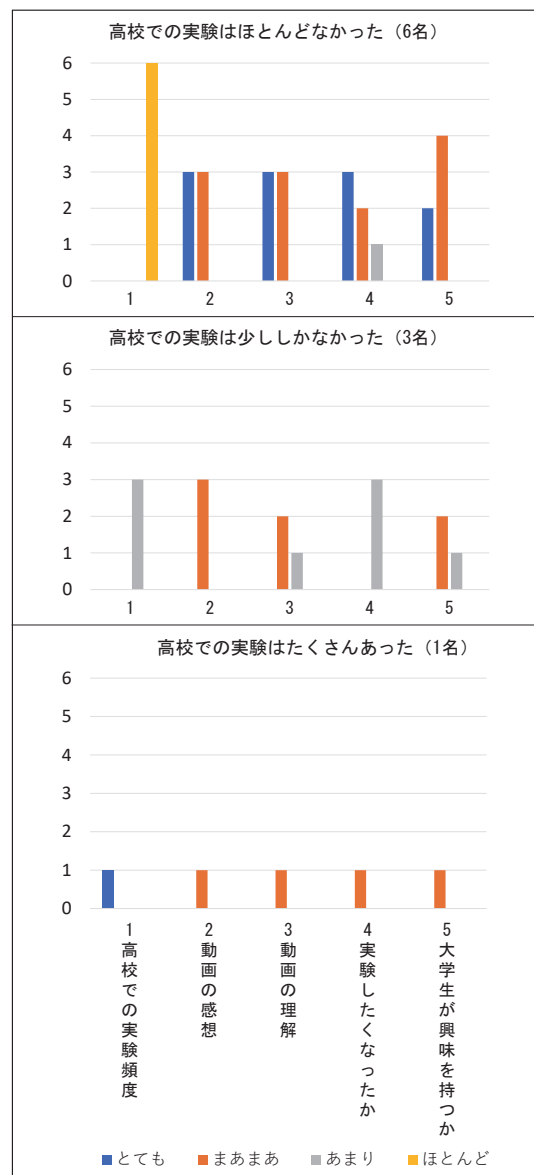


図5. アンケート結果. 第1の質問「高校で実験の授業がどれくらいあったか」に「ほとんどなかった」、「少ししかなかった」、「たくさんあった」と回答した学生について、表1の第1問から第5問の質問への回答数を表示した。グラフの縦軸は人数を、横軸は質問内容を示した。

みたくさせるものであったと考えられる。動画の中で講師が視聴者に語りかける工夫をしたのが良かったのかもしれない。「高校での実験は少ししかなかった」と回答した学生は、「ほとんどなかった」（黄色）と回答した学生より実験の経験が多かったと考えられるグループである。このグループの学生は、「動画の感想」、「動画の理解」に関しては、「高校での実験はほとんどなかった」と回答したグループと比べて、「まあまあ」、「比較的良好」(橙色)という、最高点ではないがやや高い点がみられる傾向があった。しかし、「実験をしたくなかったか」の質問に対し、「あまりそう思わない」(灰色)と回答した者が多かった。これらの学生が実験をしたくなるためには、本教材

表 2. 意見・感想 (自由記述)

1	実験している様子を撮影してくれて分かりやすく感じた。
2	実験をしている様子を見れてよかった。
3	とてもよかった。
4	字幕があるととても分かりやすくなる。

のように食品を扱った学生実験実習に、食物学、食品安全学、食品衛生学、食品加工学、官能評価などの科目の知識を繋げる必要があるのではないだろうか。

また、自由記述では、「実験をしている様子を見れてよかった」、「字幕があるととても分かりやすくなる」、「とてもよかった」、「実験している様子を撮影してくれて分かりやすく感じた」という回答が得られた (表 2)。

今後の展望

ゲノム DNA 抽出用の「研究者向けキットを利用」することの利点は短時間で大学レベルの実験を経験できることにありとされている¹⁴⁾。また、「実験動画」は、遠隔地での利用が可能な教材である。これらのことから、本研究で開発した動画教材は大学生が自宅で実験実習を予習する教材として活用できると考えられる。今後、その教育効果について調べたい。

謝辞

本研究を進めるにあたり、名古屋文理大学の木村亮介准教授、堤浩一准教授、神奈川大学の井上和仁教授にご協力をいただいた。この研究は、2022 年度の「名古屋文理大学図書情報センターの動画作成支援講座」、2021～2023 年度の「名古屋文理大学の学長裁量枠 I (908001)」、2021～2022 年度の「物質・デバイス領域共同研究拠点」の共同研究プログラムの助成を受けたものです。本教材に報告した動画は名古屋文理大学の教育動画コンテンツである。開示すべき Conflict of interest (COI) 状態はない。

付記：本論文は 2023 年 9 月 23 日に開催された日本理科教育学会第 73 回全国大会（高知大会）において発表した内容¹⁹⁾に加筆、修正を行ったものである。

文献

- 1) 岸根雅宏, 奥西智哉 (2011) DNA マーカーによる糯米検出法. *日本食品科学工学会誌* **58**: 26-29.

- 2) 大坪研一 (2014) 米の品質評価, 品種判別および加工利用に関する研究. *応用糖質科学* **4**: 93-102.
- 3) 厚生労働省医薬・生活衛生局食品安全部監視安全課長 (2006) 安全性未審査の米国産遺伝子組換え米 (長粒種) の混入について, 報道発表資料, 厚生労働省ホームページ. [<https://www.mhlw.go.jp/houdou/2006/08/h0819-1.html>].
- 4) 森田保久 (2003) 身近な DNA 抽出実験. *理科の教育* **52**: 34-36.
- 5) 加藤良一, 平方慶太, 長田隼人, 鈴木隆 (2006) 生物教育教材としての DNA の抽出. *山形大学教職・教育実践研究* **1**: 39-42.
- 6) 庄野邦彦, 長谷川雅美, 道上達男, 最上善広, 渡邊雄一郎, 他 (2016) *新訂版 基礎生物*. 実教出版, 東京.
- 7) 東京バイオテクノロジー専門学校 (2023) いろんなものからの DNA 抽出. [<https://www.bio.ac.jp/archives/movie/3930>].
- 8) Sambrook J, Fritsch EF and Maniatis T (1989) Appendix E: Commonly Used Techniques in Molecular Cloning. In: *Molecular Cloning a Laboratory Manual, 2nd edition*, Cold Spring Harbor Lab. Press, E.1-E.39.
- 9) Murray MG and Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl. Acids Res.* **8**: 4321-4325.
- 10) Sambrook J, Fritsch EF and Maniatis T (1989) Analysis and Cloning of Eukaryotic Genomic DNA, In: *Molecular Cloning a Laboratory Manual, 2nd edition*, Cold Spring Harbor Lab. Press, 9.14-9.23.
- 11) QIAGEN (2020) DNeasy Plant Handbook, 07/2020.
- 12) 吉川ひとみ, 板宮裕実, 杉田律子 (2015) 市販キットによるコメの品種識別. *分析化学* **64**: 661-667.
- 13) アニモス (2021) Mono Fas 研究用試薬キット Food Kit アレルゲン検査用 取扱説明書 (第 1 版).
- 14) 針谷桃華, 橋場美穂, 甲斐由理子, 押鐘浩之 (2023) 高等学校の授業実態に即した分子生物学実験の実践と考察. *神奈川工科大学研究報告 A 人文社会科学編* **47**: 29-37.
- 15) ニッポンジーン (2023) GM Quicker2 -GMO DNA Extraction Kit for Rice, Canola, and Potato-, マニュアル version 3.0, [https://www.nippongene.com/siyaku/product/extraction/tds/tds_gm-quicker2.pdf].
- 16) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長 (2012) 安全性未審査の中国産米及び米加工品の検知法について. 食安監発 0528 号 第 2. [https://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/other/2012/dl/120528_1.pdf].
- 17) 末本哲雄, 田中清裕, 金井俊輔, 笠原茂佳, 石上歩, 池田紘美 (2007) DNA 鑑定を題材とした大学院生中心の出前授業—企画と実施, 留意事項について—. *高等教育ジャーナル* **15**: 27-44.
- 18) ビリユー企画 (2023) キアゲンキットでの環境 DNA 抽出方法. [<https://biryu-kikaku.com/qiagen-method/>].
- 19) 内田美重, コンタウィクリスティンアイコ, 呂虹橋, 内田英伸 (2023) 動画教材の開発 PCR (polymerase chain reaction) によるモチ米・ウルチ米の識別 (1/3) ~ゲノム DNA の抽出~. *日本理科教育学会全国大会発表論文集* **21**: 221.