

# 生物と時間との関わりに着目した科学課題研究

田 中 福 人

The scientific research focusing on the relationship between life activity and time

Fukuto TANAKA

In this research project, I focused on the relationship between life phenomena and time. I used specialized knowledge for research guidance. Lectures by university professors were set up to promote understanding of chronobiology research. Typical research themes were investigation of flowering time and analysis of nyctinastic movement rhythm. In the course of research activities, there were some cases where research equipment was created and scarce plants were targeted for research. The research results obtained were highly evaluated at academic societies. Through the task research activities, the effects of improving problem-solving skills, scientific literacy, and presentation skills were seen for the students. Conducting research on circadian rhythm presents problems such as equipment issues and difficulties with data processing. However, I was able to clear these problems and proceed.

<キーワード> 時間生物学, 就眠運動, サーカディアンリズム

## はじめに

本校に赴任して科学課題研究の指導を任されたとき、最初に頭を悩ませたのはどのようなテーマで課題研究を進めていくことであった。当時（2007年）は現在のように課題研究の授業が広く浸透しておらず、科学系クラブ活動で研究活動を進めている学校はあったものの、カリキュラム上に明確に位置付けられた例は少なく、年間の指導に関して実践例が乏しい状況であった。また、現在の課題研究の指導実践例においては、研究テーマを探す際に、生徒自らが書籍やインターネット（Google Scholarなど）から探していくことが主流となっているが、当時は学術研究に対して気軽に中高生がアクセスできず、研究テーマを探す上でも指導教員の役割が大きい状況にあった。私は大学生の時に、昆虫を対象としたサーカディアンリズム（概日リズム）の研究を行っていたため、それに関連した内容であれば専門性が活かせると考え、「時間生物学」を研究指導の骨子となるキーワードとすることとした。

しかし、当時の高校生物の教科書（生物I）においては、サーカディアンリズムに関する記載はほぼなく、「刺激の受容と反応」の学習内容の「動物の反応と行動」の項目の中で、本文ではなくコラムとして掲載さ

れていた程度であった。そのため、生徒がサーカディアンリズムをテーマとした課題研究に興味を持つきっかけを作る必要性があった。

本校における科学課題研究の教育課程への導入当初、それを履修する生徒は本校の生命科学コース2年生に限られており、同コース1年生の生徒はその準備としてSSH学校設定科目「生命科学基礎」が設定されていた。その「生命科学基礎」の授業内で、時間生物学の講義を岡山大学大学院自然科学研究科の富岡憲治教授に行って頂き、課題研究のテーマを考えるきっかけとした。富岡氏による講義は、カール・フォン・リンネの研究成果等、時間生物学の初期の研究例に始まり、アクトグラムといった研究データの実際の解析例に加えて、動物生理学や遺伝学の最先端の内容も含まれていた。2017年のノーベル生理学・医学賞は、サーカディアン・リズム（体内時計）を生み出す遺伝子とそのメカニズムを発見した、米ブランダイス大学のホール（Jeffrey C. Hall）博士とロスバシュ（Michael Rosbash）博士、ロックフェラー大学のヤング（Michael W. Young）博士の3氏に送られたが、3氏が解明したper（period）遺伝子やtim（timeless）遺伝子の24時間周期で起こるフィードバックシステムについても富岡氏による講義で触れられていた。このような専門

的な講義の設定が、サーカディアンリズムの研究について生徒に興味を持たせる良いきっかけとなった。

### 研究の始まりは「花時計」

2007年から時間生物学の研究グループが立ち上がったが、最初のテーマは校内に生育する植物の開花時期をまとめていく「花時計」の作成であった。校内に生育する野草を観察対象とし、生徒にデジタルカメラを持たせて、始業前、業間、昼休み、放課後など、1時間間隔で花の開閉状況を写真に記録した。その結果、セイヨウタンポポ、カタバミ、オニタビラコ、オニノゲシ、カラスノエンドウ、ナガミヒナゲシ、ヒメジョオンについて開花時刻をまとめた花時計を作成することが出来た(図1)

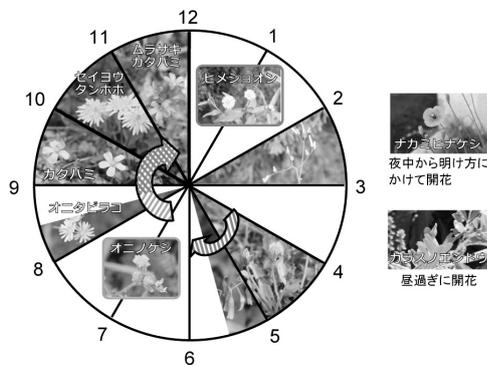


図1 校外周辺に生息する野草についての花時計

さらに、学校周辺に生息する野草のうち3種(オニノゲシ、ヒメジョオン、ムラサキカタバミ)を鉢に植え替え、温度25度、明暗(LD12:12)の環境条件下で、花の開閉状況を赤外線Webカメラで15分ごとに自動撮影した。実験を行った3種すべてにおいて花の開閉が見られたため、明暗12時間周期であれば温度一定条件下でも花の開閉は行われることが示唆された。さらに、セイヨウタンポポについては、恒明・恒暗それぞれの条件下でも花の開閉する個体が見られたことから、花の開閉に関しては体内時計が存在することも示唆された。

### 葉の就眠運動リズムの解析

花時計については、花期でないと実験を行うことが出来ないため、秋～冬にかけては新たな研究テーマを設定する必要があった。そこで、花時計の作成の際に観察したカタバミを研究対象とし、葉の就眠運動について解析することを次なるテーマとした。カタバミは3枚の小葉が同期するように動き、昼間は葉を上に向

けて拡げ、夜間は葉を垂れ下げる。この「就眠運動」については、時間生物学の研究においても歴史があるものである。就眠運動の研究については、数多くの先行研究があるため、差別化を図るために、「光受容体の所在」「光周期の変更による就眠運動の変化」「光の波長の違いによる就眠運動の変化」の3点に注目した。

まず、葉はどの部位で光を感じ、就眠運動を行うのかを調べるため、まわりを暗くしてムラサキカタバミの葉に局部的に光を照射した。その結果、葉緑体の多く分布する小葉ではなく、小葉の合わさる葉枕部分に就眠運動に関する光受容体が存在することが分かった。

次に、野外のカタバミとムラサキカタバミを鉢に植え替え、温度を20℃で一定にしたインキュベータ内に入れ、明暗12時間・6時間・3時間・1.5時間・1時間・恒暗といったさまざまな光周期のもとで就眠運動リズムの解析を行った。その結果、明暗12時間周期などの長い光周期を与えた場合では、光周期にほぼ同調して就眠運動を行ったが(図2)、明暗1.5時間周期などの短い光周期を与えた場合では、光周期に同調する一方で、体内時計による制御があらわれていることも確認した(図3)。

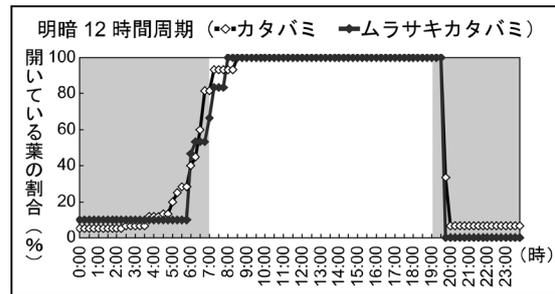


図2 明暗12時間周期での就眠運動リズム  
(□明期 ■暗期)

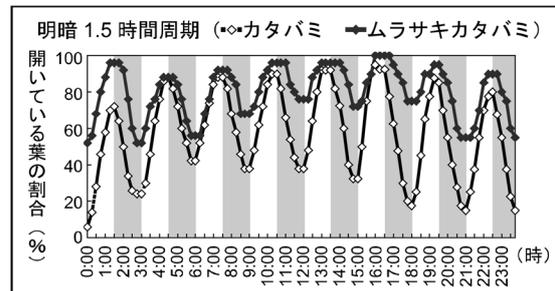


図3 明暗1.5時間周期での就眠運動リズム  
(□明期 ■暗期)

また、カタバミ科2種の間で就眠運動リズムを比較したところ、多くの場合に明確な差異は見られなかったが、明暗1時間周期の場合には、葉の大きなムラサキカタバミの方が就眠運動しにくいことを確認した。

さらに、あてる光の波長を変えることにより、葉の就眠運動にどのような影響があるかを調べるために、

赤・青・緑の3色の蛍光灯を使って、温度一定・様々な光条件下で就眠運動リズムの解析を行った。その結果、青色光をあてた場合に、白色光とほぼ同じリズムで就眠運動を行うことを確認した。なお、これらの研究成果は第53回日本学生科学賞中央最終審査において入選1等を受賞した。

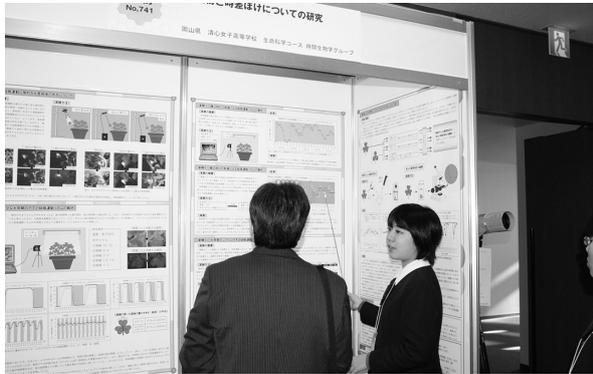


図4 第53回日本学生科学賞中央最終審査 審査風景

### 希少植物を研究対象に、計測機器も自作

課題研究のテーマにオリジナリティを持たせるために、身近な植物ではなく、希少植物にも着目して研究対象とした。具体的に研究対象としたのは、環境省レッドリストで絶滅危惧Ⅱ類に指定されているデンジソウ(田字草,学名:*Marsilea quadrifolia* L.)である。デンジソウは夏緑性の水生シダ植物であり、水田や沼などの流れのない水域で生育する。周りの環境により地上葉と浮き葉の2種類の小葉をつけることが知られているが(図5,6),このうち、就眠運動を行うのは地上葉である。



図5 地上葉



図6 浮き葉

さらに、これまでの写真を撮って目視で葉の開閉を判断するといった方法ではなく、より客観的なデータの取得を目指すため、独自の就眠運動計測装置の作製にも着手した。作製した就眠運動記録装置の計測原理は図7のようである。

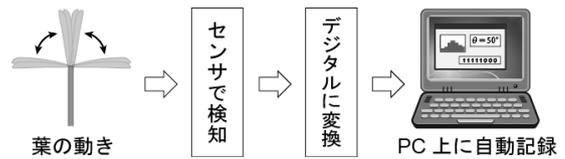


図7 就眠運動の測定原理

また、就眠運動記録装置の「記録方法」「必要な材料」「作製手順」「記録ソフト」の詳細について順に記載する。

#### I. 就眠運動の記録方法

- 1 葉に向けてフォトリフレクタを配置する。
- 2 フォトリフレクタから赤外線が照射される。
- 3 照射した赤外線が葉に反射する。
- 4 反射した赤外線をフォトリフレクタが受光する。  
※フォトリフレクタは赤外線の受光量により、出力電圧を変化させる性質を持ち、受光量が多いほど、出力電圧が大きくなる。
- 5 フォトリフレクタからの出力電圧をコンパレータで電源からの電圧と比較し、「1」か「0」のデジタル信号に変換する。
- 6 5のデジタル信号をUSB接続入出力モジュールでパソコンに送信する。
- 7 パソコン上の自作のソフトウェアで記録する。
- 8 記録データをもとに表計算ソフトでグラフを作成する。

#### II. 装置作製に必要な材料

- ・赤外線フォトリフレクタ (TPR-105F) (図8左)
- ・コンパレータ (NJM2901N) (図8中)
- ・USB接続入出力モジュール (USB-IO2.0) (図8右)
- ・カーボン抵抗      ・ジャンパワイヤ
- ・ブレッドボード
- ・6極4芯モジュラーローゼット, プラグ, ケーブル
- ・2.1mm標準DCジャック      ・ピンヘッド
- ・スイッチングACアダプター 5V2A
- ・マイクロUSBケーブル
- ・プラスチック容器 (加工が可能なもの)



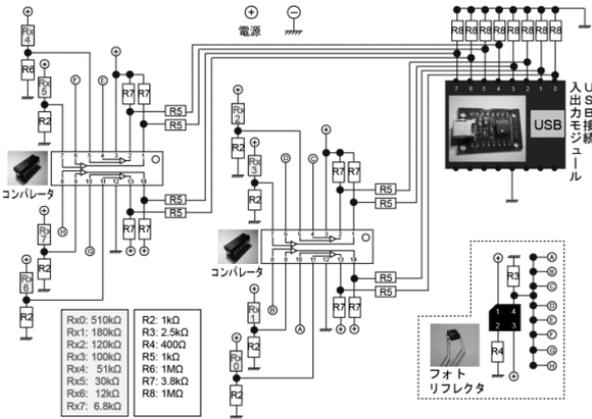
図8 装置作製に必要な材料

### III. 装置の作製手順

- 1 ブレッドボード上に各材料を図9のように接続し、測定基板を作製する。

※この回路でコンパレータは、電源からの電圧（=電源電圧）とフォトリフレクタからの出力電圧（=センサ電圧）を比較し、電源電圧が上回れば「1」を、センサ電圧が上回れば「0」を出力する。「0°」、「10°」、「20°」、「30°」、「40°」、「50°」、「60°」、「70°」、「80°〜」の9段階の葉の角度（図10）を記録するため、コンパレータを8回路使用し、異なる抵抗を用いて電源電圧を8つに細分化した。こうすることで、例えば、センサ電圧がほぼ0mVの場合（葉の角度が80°〜）は、どのコンパレータ回路も電源電圧がセンサ電圧を上回るため、「11111111」が出力される。センサ電圧が各コンパレータ回路の電源電圧を上回るごとに1が0に変わっていき、葉が最もよく開いたとき（角度が0°）の場合は、「00000000」が出力される。

- 2 赤外線フォトリフレクタをモジュラーケーブルにはんだ付けして接続し、プラスチック容器の壁に埋め込んだモジュラーローゼットを介して1の測定基板に取り付ける（図11）。
- 3 1のUSB接続入力モジュールと記録用パソコンとをマイクロUSBケーブルで接続する。



※葉の角度を9段階（0°～80°以上）に分け、各段階によって異なるセンサからの出力電圧から定めたしきい値に合わせて、抵抗値（Rx0～Rx7）を設定。

図9 測定基板の回路図

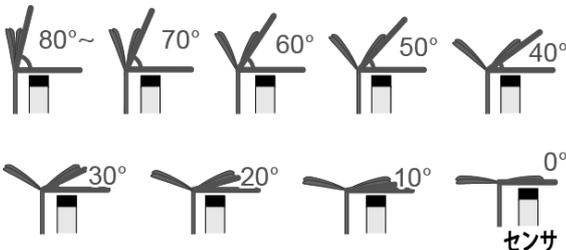


図10 葉の角度の模式図

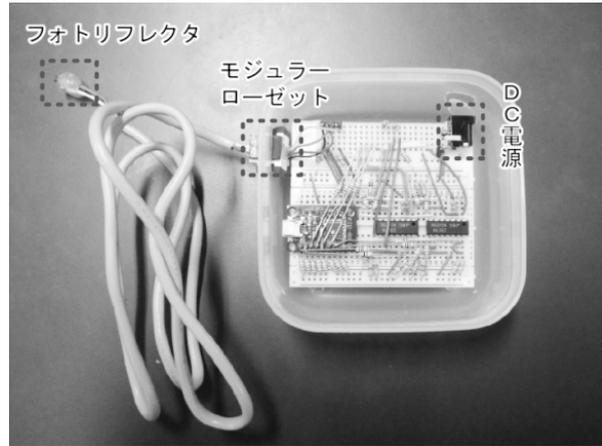


図11 完成した測定機器

### IV. 記録ソフト

パソコンに出力したデータを記録するためのソフトはVisual Basicを用いて自作した。作成したソフトのフローチャートを図12に示す。

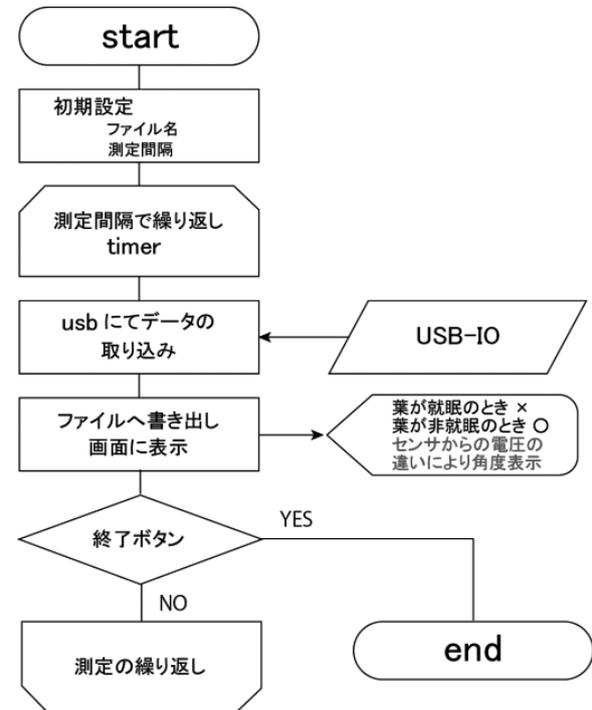


図12 記録ソフトのフローチャート

作製した機器を用いて就眠運動リズムを測定する際、光・温度条件を調節できるインキュベータを用いた。インキュベータ内の環境条件は、図13に示す①～⑧とし、1分毎の葉の角度を測定した。光波長は赤・青・緑の3色のLED蛍光灯をそれぞれ用いることで変化させた。測定は、恒暗条件においては2日間、それ以外の条件では3～4日間継続して行った。

	温度	光周期 (■ 明期 □ 暗期)	光源
条件①	20℃	明期: 暗期=12:12 0 7 19 24(時)	白色
条件②	20℃	明期: 暗期=12:12 0 9 21 24(時)	白色
条件③	20℃	明期: 暗期=12:12 0 11 23 24(時)	白色
条件④	20℃	明期: 暗期=6:6 01 7 13 19 24(時)	白色
条件⑤	20℃	恒暗 0 24(時)	なし
条件⑥	20℃	明期: 暗期=12:12 0 7 19 24(時)	赤色
条件⑦	20℃	明期: 暗期=12:12 0 7 19 24(時)	緑色
条件⑧	20℃	明期: 暗期=12:12 0 7 19 24(時)	青色

【それぞれの光源における光量子量】 ※光源から20cm離れたところで測定  
 白色光: 66 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、赤色光: 87 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、青色光: 59 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、緑色光: 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$   
 【それぞれの光源における照度】 ※光源から20cm離れたところで測定  
 白色光: 7389 lux、赤色光: 3428 lux、青色光: 2547 lux、緑色光: 6225 lux

図13 就眠運動リズムの測定条件

上記の条件でデンジソウの就眠運動リズムの測定を行い、得られたデータのうち、就眠運動リズムの特徴が顕著に表れたものをグラフで示した(図14)。全てのグラフにおいて、縦軸は葉の角度(=葉の開き具合)を3点移動平均をとって表し、横軸は時間で表している。また、グラフの背景は、明期を白、暗期を灰色で表している。

図14より、明期に葉が開いている様子から、就眠運動は光傾性によるところが大きいことが示唆された。しかし、条件③④の結果から、あまりに自然条件下と異なる環境の場合、それに同調しにくいと考えられる。

条件⑤の結果から、恒暗条件下であっても就眠運動が行われたが、これは体内時計によるものであると考えられる。また、条件⑥~⑧の結果から、光波長による就眠運動の影響は、赤色光による影響が最も弱く、青色光による影響が最も大きいことが示唆された。

条件①~④、⑧のときでは、「明期開始後、一度葉を開くが、その直後に閉じる現象」が見られた。この現象は、葉が開き終わった後の時間帯、時間でいうと明期開始後3~5時間後に起きている。条件⑤のような恒暗条件下では見られないといったことから考えると、この現象は、デンジソウの体内時計によって引き起こされるものではなく、外部の光環境の影響で、引き起こされる現象であると考えられる。また、異なる光波長では青色光のみでこの現象が確認されたので、青色光受容体タンパク質の関与が推察された。

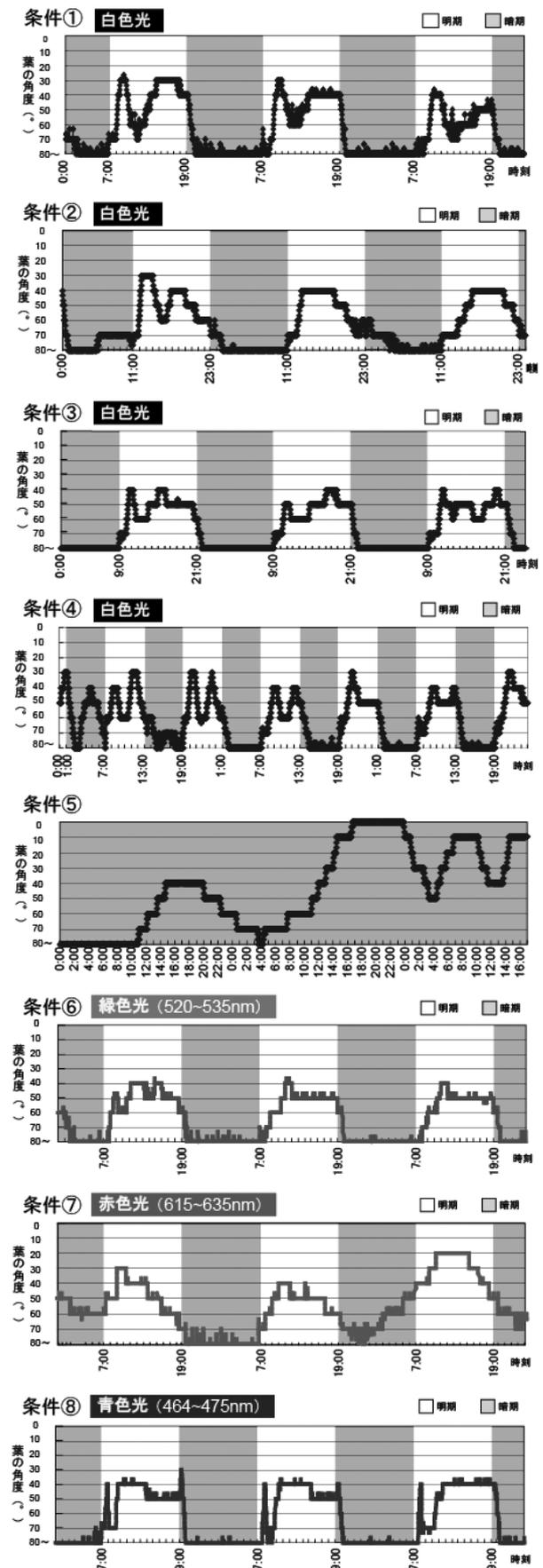


図14 各条件におけるデンジソウの就眠運動リズム

## 学会発表・全国レベルの研究発表会で高く評価

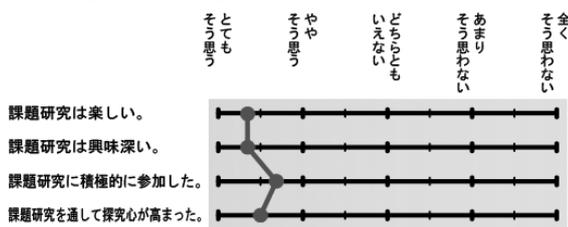
デンジソウを対象とした就眠運動の研究は他に例がなく、また、測定機器を自作したという点も、中等教育における科学研究としては高い評価を受けた。そのため、以下の学会、研究発表会等で受賞を果たし、本校の時間生物学の研究が全国的に広く知られることに繋がった。

- ・第53回日本植物生理学会「高校生生物研究発表会」・優秀賞
- ・日本植物学会第77回大会高校生研究ポスター発表・優秀賞
- ・中四国地区生物系三学会合同大会（岡山大会）・植物分野最優秀プレゼンテーション賞
- ・平成26年度スーパーサイエンスハイスクール生徒研究発表会・独立行政法人科学技術振興機構理事長賞
- ・第62回日本生態学会高校生ポスター発表「みんなのジュニア生態学」・最優秀賞
- ・第59回日本学生科学賞 中央最終審査・科学技術政策担当大臣賞

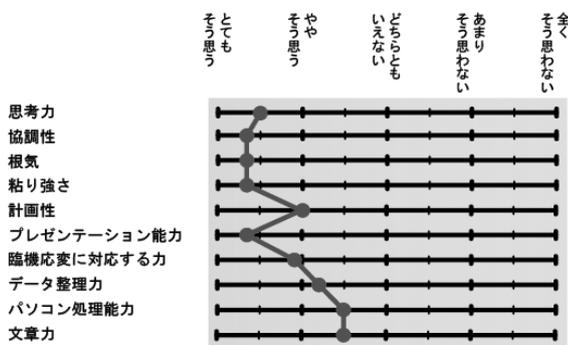
## 課題研究の効果

平成25～26年度に研究活動を行った生徒に対して取ったアンケート結果を図15に示す。この研究活動を通して、特に以下のⅠ～Ⅲの点において、生徒への教育上の効果があったと考えられる。

### ■「課題研究」の 授業について



### ■「課題研究」で身につけた能力について



※ グラフは、「とてもそう思う」を5、「ややそう思う」を4、「どちらともいえない」を3、「あまりそう思わない」を2、「全くそう思わない」を1とし、アンケート対象生徒6名の平均値で表している。

図15 アンケート結果

## Ⅰ. 問題解決能力の向上

図15より、研究活動を進める中で生徒は様々な能力を身につけた。また、就眠運動記録装置の作製は失敗の連続だったが、生徒は、装置が動かない原因を色々と考えては、修復する作業を幾度となく繰り返し、粘り強さや問題解決能力が向上させていった。

## Ⅱ. 科学的リテラシーの向上

研究活動を通して、「科学への興味・関心」が高まったことは図15より明らかである。また、実験を行い、結果を考察し、成果をまとめ上げていく中で、自然界に関する知識や科学自体に関する知識といった「科学的知識」や、現象を科学的に説明するといった「科学的方法」が身についたと考えられる。また、研究の後半では、科学的な疑問に対し、生徒達は自発的に更なる実験計画を立て、研究を深めていった。このような例からも、本研究が生徒の科学的リテラシーを向上させたことは明らかである。

## Ⅲ. プレゼンテーション能力の向上

様々な学会、研究発表会に参加し、発表することで、生徒のプレゼンテーション能力が向上した。向上したプレゼンテーション能力の内容については、発表に向けて、発表資料や・必要な模型の制作するところから、発表当日の話し方まで、非常に多岐にわたっている。

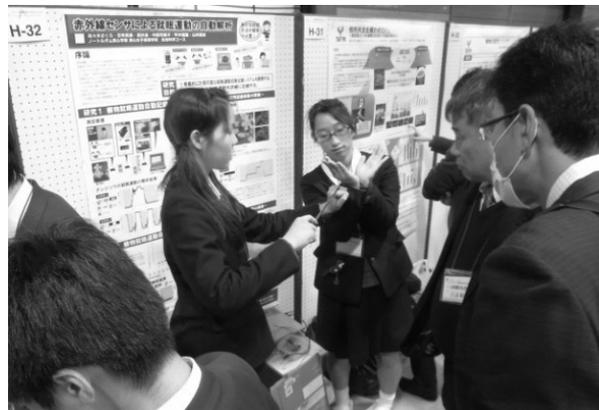


図16 学会ポスター発表（第55回日本植物生理学会年会）

## 年間の研究指導の流れ

高校2年時は週2時間の「生命科学課題研究」の時間を用い、高3時はカリキュラムに「課題研究」が設定されていないので、放課後等の空き時間を利用して、クラブ活動として研究を進めた。得られた研究成果を外部の研究発表会で発表するためのプレゼン指導も並行して行った。平成25～26年度の指導の流れを図17に示す。指導においては、生徒の主体的な活動となるよう、教員が指示を出しすぎないことを特に心が

けた。

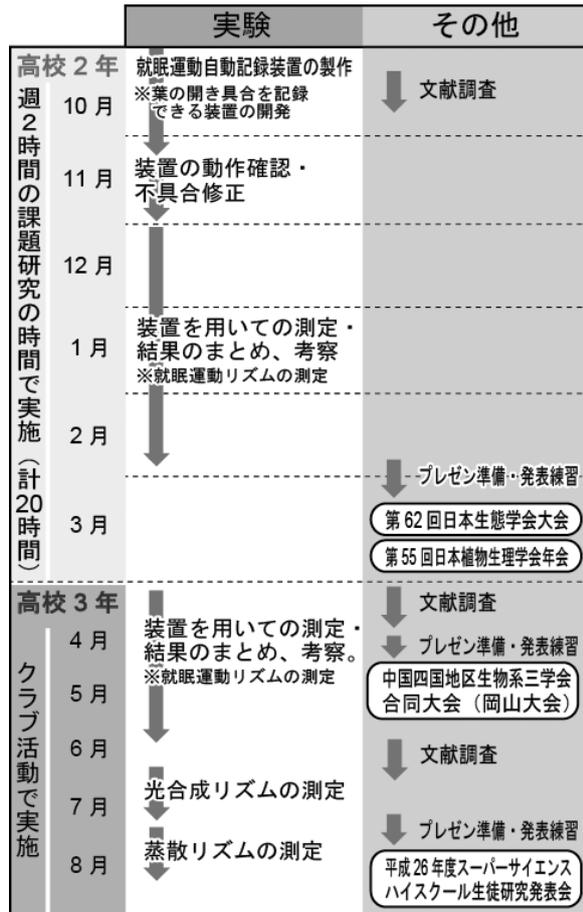


図17 研究活動の流れ

### サーカディアンリズムの研究を高校で行う難しさ

生命活動と時間との関連については、一般的には「体内時計」という用語で説明されており、身近なテーマの一つである。しかし、これを研究テーマと定める際には、いかに恒常的な条件を整えるかが重要である。ある生命現象が概日時計によるものであることを明らかにしたい場合、外部環境の変化を限りなくゼロに抑えなければならない。具体的に、温度と光条件については最低限制御した上で実験を進めなければならないので、恒温器や光源タイマーが必須となる。全国的に課題研究の授業が拡がってきているが、サーカディアンリズムについての研究が少ない理由の一つは機器整備の問題があると考えられる。

また、因果関係がはっきりしている研究については、高校生が取り組んでも結論が明快になりやすい。例えば、「ある肥料を加えて育てる実験区と、加えない対象区との間で、植物の成長がどのように変わるか」といった実験系では、得られた結果から導かれる結論が

とても分かりやすい。しかし、サーカディアンリズムの研究は、外部環境の変動を一定にした上で、目的とする生命現象にリズムが見られるかどうかを調べるといのがセオリーである。サーカディアンリズムそのものは生物が元来持っているものであると考えられているため、そのリズムをなくすという実験系をつくることは非常に困難である。大学であれば、遺伝子ノックアウトなどの技術により、サーカディアンリズムをなくした突然変異体を得ることが可能であるが、高校では実験設備や研究倫理の面からハードルが非常に高い。ゆえに、ある生命現象をサーカディアンリズムの面から紐解いていくのは、それを明らかにするための実験系の設定がネックになるケースが考えられる。

さらに、サーカディアンリズムの研究を行う場合、何日間も連続してデータを取り続けることが必要となる。高校は大学と異なり、日中は教科の授業を受けているし、授業で課題研究を設定しているケースでも、毎週同じ時間帯に設定されている。つまり、同じ時間帯のデータしか取れないという難しさがある。その課題をクリアするためには、データを自動記録するシステムを構築しなければならず、本校でもカメラのインターバル撮影や開発した就眠運動自動記録装置などを駆使してこの課題をクリアした。そうして得られたデータは膨大な数となり、それらを解析するのも苦労を重ねた。1つのグラフを作成するのに、何百枚という写真を確認するという作業も必要であったが、こういった地道な努力が必要とされるのも、サーカディアンリズムの研究の特徴である。

このように、「実験機器の整備」「実験系の難しさ」「膨大なデータ処理」といった点が、高校でサーカディアンリズムの研究を行う上でのハードルとなっている。しかし、これらのハードルをクリアして研究を進めてきた実績が本校にはあり、今回は研究内容の一端を紹介させて頂いた。また、1日の中で行われる周期をもった活動を追う事で、その生物の生態を深く理解することにも繋がる。ゆえに今後も新たなテーマを見つけ、研究を進めていきたいと考えている。なお、時間生物学の課題研究を進めるにあたり、岡山大学自然科学研究科の富岡憲治教授には研究手法や研究結果の考察についてのアドバイスを頂いた。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

## 参考文献

- 1) 田中福人 (2014) 東レ理科教育賞 受賞作品集.  
植物就眠運動の詳細解析と多面的な考察