

平成 30(2018)年度 東北大学大学院

生命科学研究所博士課程前期 2 年の課程(10 月入学)入学試験  
及び

平成 31(2019)年度 東北大学大学院

生命科学研究所博士課程前期 2 年の課程第 I 期入学試験  
(一般選抜)

### 専門科目入学試験問題 ( 38 頁)

10 科目の選択科目より 1 科目を選択して解答しなさい。ただし、2 科目以上を解答しても構いません。その場合は解答した科目のうち、高得点の 1 科目の成績のみを評価の対象とします。

試験時間 1 時間 30 分 (13:30 ~ 15:00)

#### 解 答 上 の 注 意

- 問題冊子 1 部, 答案用紙 2 枚, 草案紙 1 枚が配付されます。
- 答案用紙は科目ごとに 1 枚を使用してください。1 枚の答案用紙に 2 科目以上の解答を書くことのないように注意してください。
- それぞれの答案用紙の指定欄に「受験番号」を記入してください。
- それぞれの答案用紙上部の指定欄に, 解答する専門科目の「番号」と「科目名」を記入してください。
- 解答が答案用紙の表面に収まらない場合は, 答案用紙の右下に「裏面に続く」と明記し, 裏面を使用してください。1 枚の裏表に収まらない場合には, 2 枚目の答案用紙を用いてください。
- 答案用紙が不足した場合には, 配付しますので, 挙手により申し出てください。
- 追加の答案用紙を使用する場合には, 1 枚目の答案用紙と同様に「受験番号」, 専門科目の「番号」, 「科目名」を明記した上で, 「2 枚目」であることを科目名の右側に明記してください。
- 試験終了後, 答案用紙を科目の番号順に机の上に揃えてください。問題冊子及び草案紙は持ち帰っても結構です。
- 途中で体調が悪くなった場合等は挙手により知らせてください。
- 印刷不明瞭な箇所についての質問以外には原則として答えられません。

## 専門科目目次

科目番号	専門科目	ページ
1	生物物理学	1- 4
2	有機化学	5- 8
3	生化学	9-12
4	分子・細胞生物学	13-17
5	動物発生・生理学	18-21
6	植物発生・生理学	22-25
7	脳・神経科学	26-29
8	進化生物学	30-32
9	生態学	33-35
10	微生物学	36-38

# 1. 生物物理学

(1) 次の文章 (i) ~ (iii) の空欄①~⑭に適切な語句や式を記入せよ。

(i) 電荷をもつ2つの分子の間に働く①相互作用のポテンシャルは、分子間距離を  $r$  として、 $r^{-1}$  に比例する。電荷をもたない分子同士であっても、それぞれの分子の電荷分布が均一ではなく②をもつ場合には、③相互作用による引力が働く。2つの分子が自由に回転する場合、③相互作用のポテンシャルは  $r^{-6}$  に比例する。電荷や②をもたない分子や原子の間にも引力が働く。これは④相互作用（あるいは④力）と呼ばれ、分子同士が近づいた時に互いに⑤が生じることで働く。④相互作用のポテンシャルも  $r^{-6}$  に比例する。③相互作用、④相互作用、さらに②と⑤の間に働く相互作用をまとめて⑥相互作用と呼ぶ。①相互作用は比較的遠距離まで働くため、遠距離の相互作用と呼ばれる。一方で、⑥相互作用は近距離の相互作用と呼ばれる。

(ii) 生体中で起こる様々な現象の原理や分子機構を解明するために生体分子の立体構造を決定する学問を構造生物学という。例えばタンパク質の立体構造を決定する手法として、⑦、⑧、NMR などがあるが、特に⑧の技術革新は目覚ましく、2017年のノーベル化学賞の授与にもつながった。⑧において、⑨線の照射による試料の損傷や⑩を抑えるために、試料を⑪した条件で観測を行う。得られた画像は二次元の透過像であるが、分子の配向に基づいて画像を分類し、⑫化することで、より高解像度の画像が得られ、それらを組み合わせることにより三次元構造を構築することができる。

【次ページへ続く】

(iii) 飛行時間型 (TOF 型) 質量分析器の原理を考える。まず、イオン化された対象物質に ⑬ をかけて加速する。対象イオンの質量を  $m$ , 受け取るエネルギーを  $E$  とすると、加速終了後の速度は ⑭ と表せる。⑭ の速度で等速運動するイオンが真空中で距離  $L$  を飛行して検出器に到達するまでにかかる時間は ⑮ であり、飛行時間から質量情報が得られる。ただし、 $E$  は対象イオンの ⑯ に比例するため、直接的に求められる値は ⑰ である。なお、生体高分子は非常に断片化しやすいため、その質量分析は ⑱ や ㉑ などの穏和なイオン化法の開発によって飛躍的に発展した。

(2) 次の (i) ~ (iii) の語句の中から 1 つを選び、数行程度で説明せよ。説明には、括弧内のすべての用語を用いよ。

(i) 熱機関の熱効率 (カルノーのサイクル, 高温の熱源, 低温の熱源, サイクル全体で系が行う仕事量)

(ii) アロステリック効果 (活性中心, 構造変化, ヘモグロビン, フィードバック阻害)

(iii) 蛍光の偏光解消 (偏光励起, 放出光, 運動性, 親和性測定)

【次ページへ続く】

(3) タンパク質への低分子の結合に関する次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

タンパク質 P には低分子 L の結合部位が 1 カ所存在する。平衡定数が  $K$  の場合、1 分子の P に結合した L の数  $\nu$  は式 1 で表される。

$$\nu = \boxed{\quad\quad\quad} \text{ (ア)} \quad \text{式 1}$$

タンパク質 Q には L の結合部位が  $N$  カ所存在する。全ての結合部位が互いに影響せず、平衡定数が全て  $K$  である時、Q に対する結合数  $\nu$  は式 2 で表される。

$$\nu = \boxed{\quad\quad\quad} \text{ (イ)} \quad \text{式 2}$$

ここで、結合部位にかかわらず L が 1 つ結合した全てのタンパク質を QL とすると、式 3 で示すみかけの反応の平衡定数  $K_1$  は式 4 で表される。



$$K_1 = \boxed{\quad\quad\quad} \text{ (ウ)} \quad \text{式 4}$$

問1 文章中の空欄 (ア) ~ (ウ) に当てはまる数式を  $[L]$  (遊離した L の濃度),  $K, N$  を用いて表せ。

【次ページへ続く】

問2 ホルミルテトラヒドロ葉酸合成酵素には  $\text{Mg}^{2+}$ -ATP の結合部位が複数存在する。その平衡定数と結合部位数を求めるために、 $\text{Mg}^{2+}$ -ATP の結合反応を検討し、 $v/[\text{Mg}^{2+}\text{-ATP}]$  を  $v$  に対してプロットしたところ (スキッチャード・プロット)、図1に示した直線的な相関を得た。式2から、この直線を表す式を導くと共に、結合部位数  $N$  を推定し、平衡定数  $K$  を有効数字2桁で求めよ。

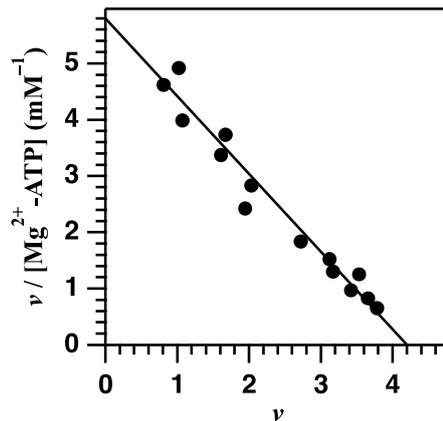


図1 ホルミルテトラヒドロ葉酸合成酵素のスキッチャード・プロット (Curthoys *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **246**, 6942 (1971)より改変)

問3 別のタンパク質  $R$  では複数の結合部位が互いに影響を及ぼすため、スキッチャード・プロットが図2の実線で表される曲線となった。この結合反応は正負いずれの協同性を持つと考えられるか、その理由を含めて答えよ。

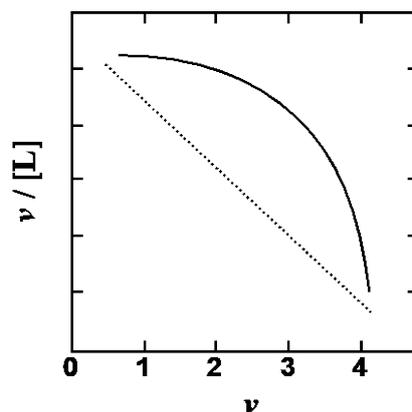


図2 協同性がある場合のスキッチャード・プロット

【生物物理学の問題はここまで】

専門科目

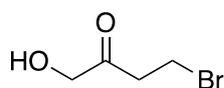
2. 有機化学

(1) 化合物 (ア) ~ (カ) について、以下の問いに答えよ。

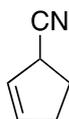
(ア) (*E*)-3,4-dimethyl-3-hexenoic acid

(イ) propyl (2*R*,3*R*)-2,3-dihydroxybutanoate

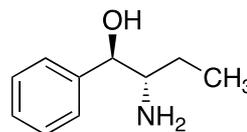
(ウ) *cis*-1-fluoro-4-methylcyclohexane



(エ)



(オ)



(カ)

問 1 (ア) ~ (ウ) の構造式を示せ。ただし、(ア) については二重結合の幾何異性が、(イ) と (ウ) については不斉炭素原子の立体配置が分かるように示せ。

問 2 (ウ) の最も安定な立体配座をいす形で示せ。また、その理由を「1,3-ジアキシャル相互作用」という語句を用いて簡潔に答えよ。

問 3 (エ) ~ (カ) の化合物名を英語で答えよ。ただし、(カ) は不斉炭素原子の立体配置が分かるように *R/S* 表記法を用いて示せ。

問 4 (カ) のすべての立体異性体の構造式をエナンチオマーとジアステレオマーに分けて示せ。

【次ページへ続く】

(2) 図 1 に示した電子イオン化法による質量スペクトル及び図 2 に示した<sup>1</sup>H-NMR スペクトルを与える化合物 (C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>) について、構造式を示し、根拠を説明せよ。ただし、それぞれのスペクトルから読み取れることを 1 つ以上答えること。

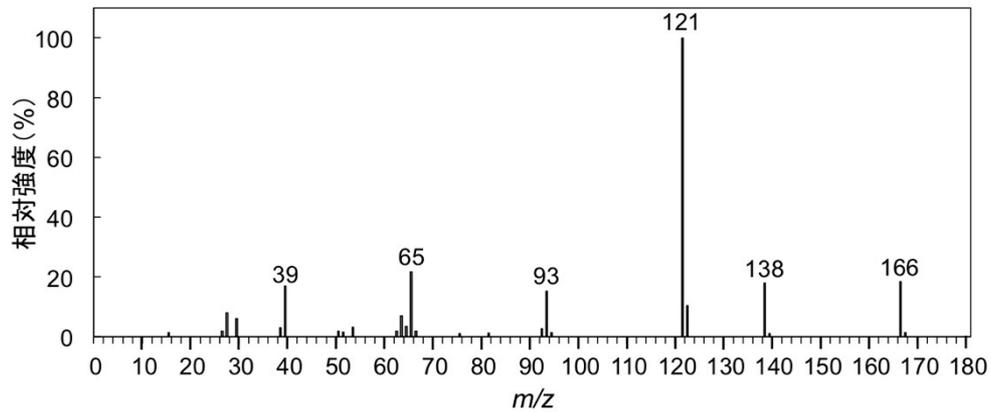


図 1 質量スペクトル

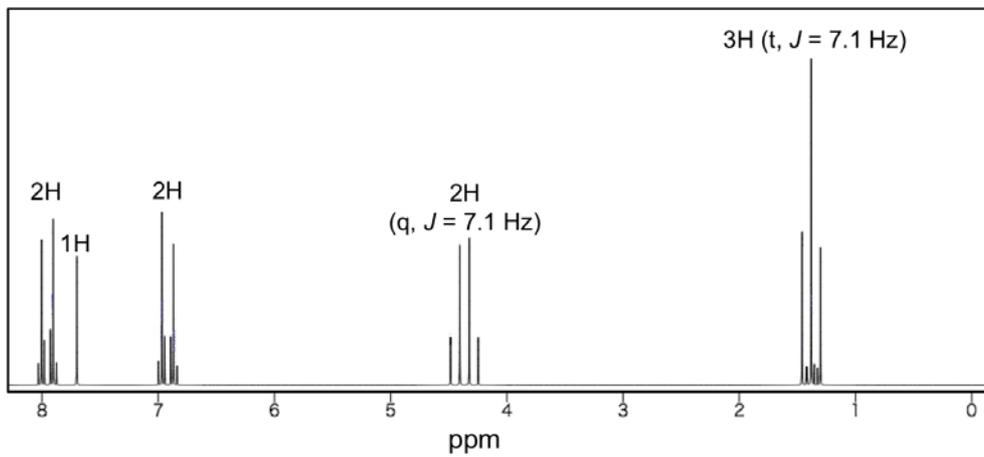
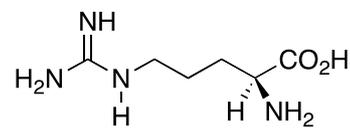


図 2 <sup>1</sup>H-NMR スペクトル (90 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

【次ページへ続く】

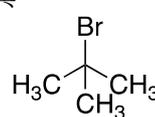
(3) 化合物 (キ) ~ (サ) について、以下の問いに答えよ。

問1 アルギニン (キ) は、タンパク質を構成する 20 種のアミノ酸のうちで最も塩基性が強い。側鎖のグアニジノ基がプロトン化された状態での共鳴構造を書け。

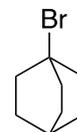


(キ)

問2 2種類の臭化アルキル (ク) と (ケ) は、エタノール溶媒中での加溶媒分解の相対反応速度が大きく異なる。その理由を説明せよ。



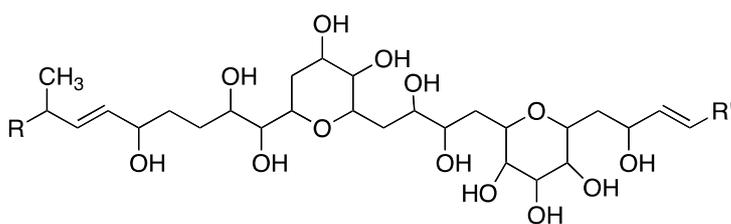
(ク)



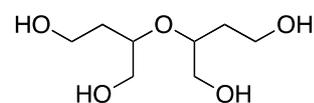
(ケ)

相対反応速度            1             $10^{-6}$

問3 天然由来の化合物 (コ) を過ヨウ素酸ナトリウム ( $\text{NaIO}_4$ ) で酸化し、生成物を水素化ホウ素ナトリウム ( $\text{NaBH}_4$ ) で還元したところ、化合物 (サ) が得られた。化合物 (サ) は、化合物 (コ) のどの部分構造に対応するか図示せよ。



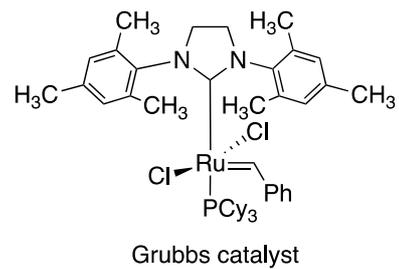
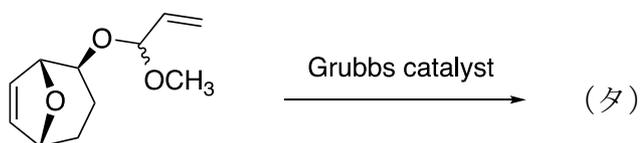
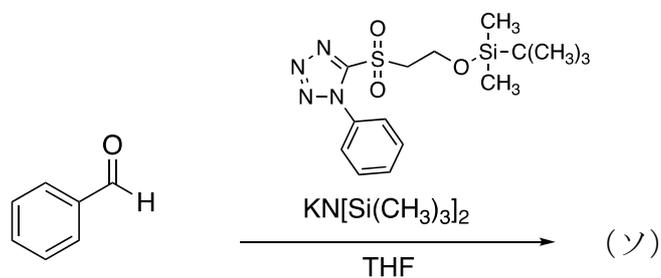
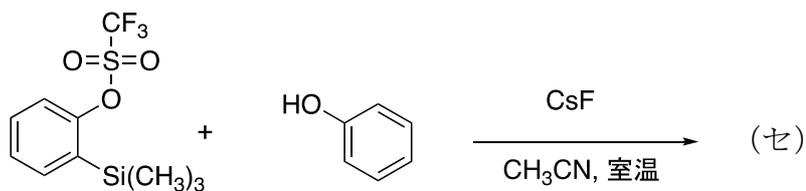
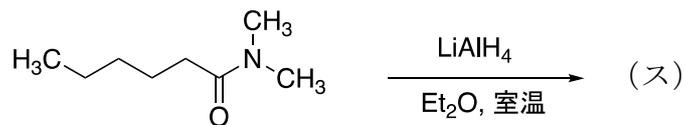
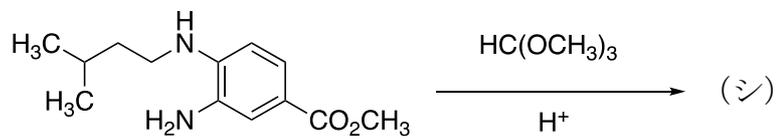
(コ)



(サ)

【次ページへ続く】

(4) 次の反応の主生成物 (シ) ~ (タ) の構造式を示せ。



## 専門科目

## 3. 生化学

(1) 真核生物の解糖系に関する以下の問いに答えよ。

問1 解糖系は細胞内のどこに存在するか。正しいものを1つ選べ。

- a. 核
- b. 細胞質ゾル
- c. ミトコンドリア
- d. リソソーム

問2 解糖系は多段階の酵素反応により、グルコースがピルビン酸に変換される代謝経路である。

- (i) 何段階の反応から構成されているか記せ。
- (ii) 1分子のグルコースは何分子のピルビン酸に変換されるか記せ。
- (iii) ピルビン酸の構造式を記せ。

問3 解糖系により1分子のグルコースがピルビン酸に変換されるまでに、何分子のATPを消費し、何分子のATPを生成するか。正しい組み合わせを1つ選べ。

- a. 1分子のATPを消費し、2分子のATPを生成する。
- b. 1分子のATPを消費し、4分子のATPを生成する。
- c. 2分子のATPを消費し、4分子のATPを生成する。
- d. 2分子のATPを消費し、8分子のATPを生成する。

問4 解糖系の次の反応のうち、生理的に不可逆な反応はどれか。正しいものを2つ選べ。

- a. グルコース  $\rightarrow$  グルコース 6-リン酸
- b. グルコース 6-リン酸  $\rightarrow$  フルクトース 6-リン酸
- c. フルクトース 6-リン酸  $\rightarrow$  フルクトース 1,6-ビスリン酸
- d. フルクトース 1,6-ビスリン酸  $\rightarrow$  グリセルアルデヒド 3-リン酸 + ジヒドロキシアセトンリン酸

【次ページへ続く】

問 5 解糖系によって生じたピルビン酸は、脱炭酸反応と補酵素 A (CoA) との結合によりアセチル CoA に変換され、クエン酸回路に導入される。クエン酸回路は細胞内のどこに存在するか。正しいものを 1 つ選べ。

- a. 核
- b. 細胞質ゾル
- c. ミトコンドリア
- d. リソソーム

問 6 嫌気条件が続くと、解糖系を動かすのに必要なある分子が枯渇してしまう。嫌気条件で解糖系を動かし続けるために、ピルビン酸を変換することで枯渇した分子を補充する反応が生物には備わっている。

- (i) 枯渇する分子名を記せ。
- (ii) 哺乳細胞における補充反応の名前と触媒する酵素名を記せ。
- (iii) 酵母における補充反応の名前を記せ。

【次ページへ続く】

(2) 次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

ラットのある臓器を破砕して生理的な条件で抽出した抽出物中に、繊維芽細胞を増殖させる働きがあるタンパク質Xが存在することが分かった。抽出物を (a)イオン交換クロマトグラフィー および (b)ゲルろ過クロマトグラフィーを含む数行程のカラムクロマトグラフィーにより分画し、最終的にタンパク質Xをほぼ精製することができた。(c)いくつかの解析から、タンパク質Xの分子量は40,000であり、システイン残基を介して結合した分子量15,000と25,000の2つのポリペプチドからなることが予測された。まず、精製したタンパク質Xのアミノ酸配列を決定し、タンパク質Xをコードする遺伝子を解析した結果、その解析から予想されるタンパク質Xの分子量は60,000であり、精製したものより大きかった。

このタンパク質のcDNAのクローニングを行い、タンパク質Xを組換えタンパク質として大腸菌に大量発現させて精製した。(d)この組換えタンパク質Xを繊維芽細胞に作用させて増殖させる働きを調べたところ、繊維芽細胞の増殖を全く促進しなかった。この組換えタンパク質Xに、タンパク質を精製したラットの臓器の抽出物を少量混合したところ、その混合物は繊維芽細胞の増殖を促進した。一方、同じ濃度のラットの臓器の抽出物のみを作用させたが、繊維芽細胞の増殖を促進しなかった。臓器の抽出物を混合する前は、タンパク質X由来の分子量60,000の1つのポリペプチドが検出され、臓器の抽出物を混合した後は、分子量15,000, 20,000, 25,000の3つのポリペプチドが検出された。分子量15,000と25,000の2つのポリペプチドを連結するシステイン残基を介した結合は、大腸菌からの精製の過程で生じることがわかっている。

問1 下線部(a)のイオン交換クロマトグラフィーによる分画方法の原理について説明せよ。

問2 下線部(b)のゲルろ過クロマトグラフィーによる分画方法の原理について説明せよ。

【次ページへ続く】

問3 下線部(c)の予測は、タンパク質Xを何らかの処理の後、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離し、その移動度から算出されるポリペプチドの分子量から得られたものである。

(i) タンパク質Xは2つのポリペプチドがポリペプチド内のシステイン残基を介して結合していた。これを予測できる実験方法を1つ記せ。

(ii) システインの構造式を記せ。鏡像異性体の区別は不要である。

問4 下線部(d)の内容から、タンパク質Xが生合成されてから繊維芽細胞を増殖させる働きを獲得する過程を予想して記せ。文中に次の括弧内の語句を用いること。(前駆体, プロセッシング)

問5 タンパク質Xの受容体として1回膜貫通型の膜タンパク質Yが同定された。受容体Yの細胞外ドメインを組換えタンパク質として発現させ、精製し、タンパク質Xと受容体Yの結合力を測定する実験を行った。一定量の受容体Yの細胞外ドメインを固相化し、そこにタンパク質Xの濃度を変化させて作用させ、受容体Yの細胞外ドメインに結合したタンパク質Xの量を測定した。その結果を下の表1に示す。この表1からグラフを作成し(定規などは使わず、フリーハンドでよい)タンパク質Xの受容体Yに対するおよその $K_d$ 値を記せ。

表1

タンパク質 X の濃度 (nM)	0.5 nM	1 nM	5 nM	10 nM	50 nM
タンパク質 X の結合量 (測定値)	7	12	32	39	47

【生化学の問題はここまで】

(1) 次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

真核生物の核ゲノムを構成する DNA には、それぞれの染色体を複製し、娘細胞への分配に関わる配列として、1 つの ( ア ), 2 つの ( イ ), 多数の ( ウ ) がある。核ゲノムを構成する DNA の複製は、(a)高い精度で行われるため、多細胞で構成される真核生物の多様な細胞種は、特殊な細胞を除き同一のゲノム配列をもつことになる。同一のゲノム配列をもつ多細胞生物の細胞に多様な細胞種があるのは、発現する遺伝子の組み合わせが異なるためである。遺伝子発現の調節は、DNA からタンパク質にいたる(b)いくつもの段階で調節されている。そのうち転写調節では、転写因子による制御が重要な役割を果たしているが、それに加えてクロマチン構造の制御も重要な役割を果たすことが明らかになりつつある。(c)クロマチン構造が高度に凝集したゲノム領域では、転写因子の DNA へのアクセスが困難であるため転写が抑制される傾向にある。逆に、クロマチン構造の弛緩したゲノム領域では、転写が促進される傾向にある。クロマチン構造の凝集や弛緩は(d)DNA やヒストンの化学修飾によって調節されており、分化した細胞のクロマチン構造の状態は、基本的に細胞分裂を経ても娘細胞に受け継がれる。第二世代や第三世代の(e)新型シーケンサーの開発に伴い、DNA やヒストンの化学修飾が生じているゲノム領域を解析する手法も開発されている。

問 1 ( ア ) ~ ( ウ ) に当てはまる語句を記せ。

問 2 下線部 (a) の高い精度の DNA 複製を支える機構のうち、DNA ポリメラーゼが持つ特性によるものについて、その名称とそれを支える酵素活性を含めて記述せよ。

問 3 下線部 (b) の遺伝子発現調節の段階について、転写調節以外の段階を 3 つ記せ。

【次ページへ続く】

問 4 下線部 (c) のクロマチン構造が高度に凝集したゲノム領域は何と呼ばれるかを記せ。また、この領域に関連するゲノム配列を文章中の ( ア ) ~ ( ウ ) の中から選び記号で答えよ。

問 5 下線部 (d) について、クロマチン構造の凝集につながる DNA の化学修飾の例を、化学修飾を受ける塩基名と合わせて記せ。また、クロマチン構造の弛緩につながるヒストンの化学修飾の例を、化学修飾を受けるヒストンの種類およびアミノ酸の位置と名称を合わせて記せ。

問 6 下線部 (e) の新型シーケンサーを用いて DNA もしくはヒストンの化学修飾が生じているゲノム領域を解析する手法の名称を 1 つ記し、その原理について説明せよ。

【次ページへ続く】

(2) 次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

真核細胞は、原核細胞とは異なり核を持ち、遺伝物質が核膜により細胞質から隔てられている。また、真核細胞はオルガネラと呼ばれる膜で包まれた様々な<sup>(f)</sup>細胞小器官を持ち、複雑な細胞内膜系を発達させているだけでなく、細胞の形態を保つため、繊維状構造を持つ<sup>(g)</sup>細胞骨格を有している。

細胞は細胞膜により外界から隔てられているため、直接細胞膜を通して栄養物質の取り込みや不要な分子などの排出を行うことができない。このため、真核生物は分泌経路を用いて様々な物質を細胞外へと排出している。まず、(エ)で合成される分泌タンパク質は、(オ)を通して(エ)の内腔側へと挿入される。その後、分泌タンパク質は小胞を介して(カ)へ輸送され、(キ)修飾などを受ける。最終的に、分泌タンパク質は(ク)にて<sup>(h)</sup>分泌小胞へと積み込まれ、細胞膜と融合することで内容物が細胞外へと放出される。

問1 (エ)～(ク)に当てはまる語句を記せ。

問2 下線部 (f) について、下記(i), (ii)に示した小器官の中で構成の異なるものをそれぞれ1つ選び、その理由を記せ。

- (i) 核, ミトコンドリア, ペルオキシソーム, 葉緑体, オートファゴソーム
- (ii) リボソーム, 中心体, 核小体, 紡錘体, リソソーム

問3 下線部 (g) について、真核細胞には3種類の細胞骨格が存在している。微小管とアクチンフィラメント以外のもう1つの細胞骨格の名称とその構成分子の例を一つあげよ。

【次ページへ続く】

問4 下線部 (h) について、次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

分子量が同じタンパク質 A および B を含む分泌小胞を単離し、タンパク質分解酵素で処理した後に、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で解析した (図1, レーン 3, 4)。その結果、タンパク質 A はタンパク質分解酵素で処理後に泳動度が増大したが (図1, レーン 1, 3), タンパク質 B の泳動度には変化は見られなかった (図1, レーン 2, 4)。また、タンパク質分解酵素で処理する前に界面活性剤で処理した場合には、タンパク質 A および B のバンドはいずれも消失した (図1, レーン 5, 6)。

タンパク質 A および B はそれぞれどのようなタンパク質と考えられるか記せ。またそのように考えた理由も説明せよ。

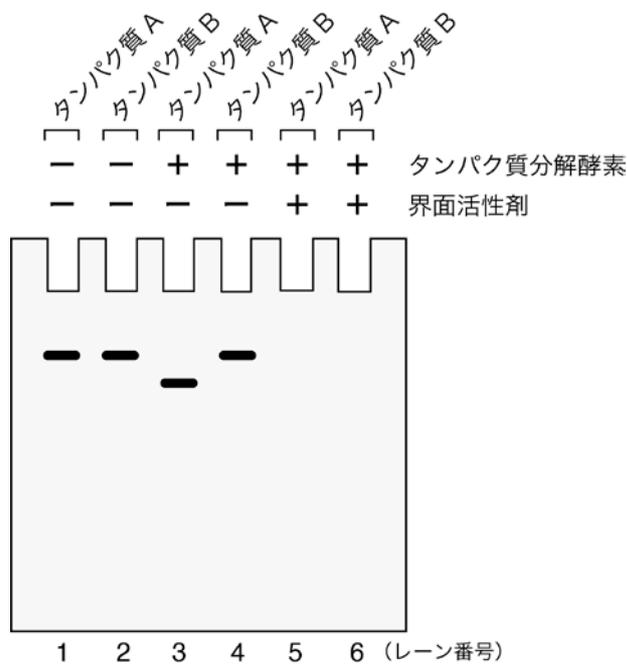


図1

【次ページへ続く】

(3) 次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

アフリカツメガエルの卵母細胞は、減数分裂前の DNA 複製を完了した状態で停止している。ステロイドホルモンであるプロゲステロンの刺激により、卵母細胞は(i)減数第一分裂を開始し、巨大な二次卵母細胞と小さな(ケ)を生み出す。この過程は卵成熟とよばれる。二次卵母細胞は減数第二分裂中期で停止するが、受精によって分裂が再開し、減数第二分裂に続いて卵割が開始する。(j)初期卵割の細胞周期はおもに(コ)期と(サ)期の繰り返しからなり、(シ)期や(ス)期はほとんど存在しない。

増井禎夫らは、プロゲステロン処理した卵母細胞の細胞質を未成熟な卵母細胞に注入すると卵成熟を誘導することを見出し、その活性を持つ因子を成熟促進因子(Maturation Promoting Factor, MPF)と名付けた。さらに、MPF活性は卵母細胞だけではなく、受精後の胚にも存在することが報告された。(k)MPF活性は受精後すぐに低下するが、(サ)期の直前に急激に増加し、(サ)期の終わりにまた急激に減少してゼロになる。後に、MPFは精製され、触媒サブユニットである(セ)と調節サブユニットである(ソ)からなるタンパク質複合体であることが明らかになった。

問1 (ケ)～(ソ)に当てはまる語句を記せ。

問2 下線部(i)に関して、減数第一分裂は、減数第二分裂や体細胞分裂とどのような違いがあるか、染色体の構造変化と関連づけて説明せよ。

問3 下線部(j)に関して、初期胚の細胞周期がこのような特徴を示す仕組みを説明せよ。

問4 下線部(k)のようにMPF活性が変化するメカニズムを簡潔に説明せよ。

問5 受精直後の受精卵を i) タンパク質合成阻害剤, ii) DNA 複製阻害剤, iii) 微小管重合阻害剤のいずれかで処理すると、下線部(k)のMPF活性変化にはどのような影響が生じるか、それぞれについて理由とともに述べよ。

【分子・細胞生物学の問題はここまで】

(1) 次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

神経堤細胞は、脊椎動物の胚発生過程に現れる、多分化能を有した細胞である。神経堤細胞は発生初期において外胚葉性の表皮と神経板の境界に生じる上皮構造に由来するが、のちに脱上皮化して胚の内部を移動し、さまざまな細胞に分化する。

問1 一般的に、上皮組織を構成する上皮細胞は、さまざまな方法で周囲の細胞や組織と結合する。以下の(i)～(iii)の上皮細胞の結合様式にはたらく接着装置に関わる分子として、最も適したものを(a)～(e)から1つずつ選んで記号で答えよ。

- (i) 密着結合
- (ii) デスモソーム
- (iii) 細胞－細胞外基質結合

(a)インテグリン, (b)デスミン, (c)クローディン, (d)カドヘリン, (e)コネキシン

問2 脱上皮化した神経堤細胞の一部は体節の皮筋節と硬節のあいだを移動するが、このとき神経堤細胞は常に体節の前方半分のみを移動し、体節の後ろ側は移動しない。体節が神経堤細胞の移動経路を規定している可能性が考えられるが、体節の前方のみを神経堤が移動することに対して、体節が必要かつ十分であることを示すためにはどのような実験をおこなえばよいか。脊椎動物胚を用いた実現可能な実験を必要条件および十分条件それぞれについてあげ、どのような結果になった場合に体節が必要あるいは十分である可能性が示唆されるか、それぞれ簡潔に述べよ。

【次ページへ続く】

問 3 神経堤細胞の移動の分子メカニズムについて、以下の問いに答えよ。

- (i) 問 2 に示した体節の神経堤細胞の移動に対して、**ephrin** と **Eph** (**ephrin** 受容体) の 2 つのタンパク質の相互作用が貢献している。ニワトリ胚において、**ephrin B1** は体節の後方半分に局在しており、神経堤細胞上の **EphB3** と相互作用してはたらいっている。**ephrinB1** と **EphB3** は神経堤細胞の移動に対してどのような作用をもっていることが仮説として考えられるか、これらのタンパク質の性質・機能を考慮して簡潔に述べよ。
- (ii) (i)の仮説を実証するためにどのような実験をすればよいか、ニワトリ胚を用いた実現可能な実験を 1 つあげ、どのような結果になった場合に仮説が実証されるか、簡潔に述べよ。

問 4 神経堤細胞は移動後に、移動した先でさまざまな細胞に分化する。神経堤細胞に由来する細胞として最も適切な組み合わせを、以下の中から 1 つ選び番号で記せ。

- ① 眼の色素細胞と視神経のグリア細胞
- ② 横隔膜と舌筋の筋細胞
- ③ 体幹部の運動神経と交感神経
- ④ 頭部の運動神経と交感神経
- ⑤ 四肢に投射する感覚神経とシュワン細胞

問 5 神経堤細胞のようにさまざまな細胞に分化できる細胞は幹細胞とよばれるが、一般的に幹細胞は多分化能をもつ以外にどのような性質をもつか、分化能以外の幹細胞の特徴を 2 つあげ簡潔に述べよ。

問 6 遺伝子 **X** は、発生初期には神経堤細胞特異的に発現し、さらに発生後期では細胞種 **A** に特異的に発現する。このことについて、以下の問いに答えよ。

- (i) 遺伝子 **X** が細胞種 **A** にも発現していることは、細胞種 **A** が神経堤細胞に由来することを示す証拠として不十分である。その理由を述べよ。
- (ii) ある細胞種 **A** が神経堤細胞に由来することを示すためには、どのような実験をおこなえばよいか。ゼブラフィッシュにおいて **Cre-ER/loxP** システムを用いた実現可能な実験について簡潔に述べよ。

【次ページへ続く】

(2) 次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

遺伝子ノックアウト (gene knockout) は、発生学をはじめとするさまざまな分野で用いられ、遺伝子の機能欠損による表現型解析からその遺伝子の機能を理解する目的で使われてきた。しかし、近年、簡便で応用範囲の広いゲノム編集 (genome editing) 技術に注目が集まっている。

ゲノム編集とは、塩基配列特異的なヌクレアーゼを用いてゲノム上の任意の塩基配列、任意の標的遺伝子を改変する新しい技術である。ヌクレアーゼとしては、(ア)、(イ)、CRISPR/Cas9 の3種がおもに用いられている。

CRISPR/Cas9 システムでは、切断したい標的塩基配列に相補的な配列を含む guide RNA と DNA 切断酵素 Cas9 ヌクレアーゼタンパク質により、ゲノム上の任意の配列を二本鎖切断する。二本鎖切断が導入されると、非相同末端連結によって修復されるが、修復エラーによって、切断部に欠失や挿入などの変異が導入される。変異が遺伝子内に起こり、フレームシフト変異となれば、遺伝子が破壊される。

問1 哺乳類における従来の遺伝子ノックアウトの手法を、以下の用語を全て使って記せ。

ES 細胞, 胚盤胞, 生殖系列, 相同組換え, ヘテロ, ホモ

問2 (ア), (イ) に当てはまるものを2つ、以下から選べ (順不同)。

Exonuclease I, Zinc Finger Nuclease, S1 nuclease, Ribonuclease H,  
Transcription Activator-Like Effector Nuclease, BAL31 nuclease, Nuclease P1

問3 従来の遺伝子ノックアウト法に比べて、CRISPR/Cas9 システムの利点と欠点を述べよ。

【次ページへ続く】

(3) 次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

動物の筋肉を大きく分けると組織学的に(ウ)と(エ)に分類される。骨格筋は(ウ)であり、内臓筋は(エ)である。しかし、皮筋、舌筋、横隔膜のような内臓筋の一部は(ウ)である。また、骨格筋は、その収縮特性、代謝などから(オ)と(カ)に分類される。(オ)は、すばやく収縮し、大きな力を発揮できるが、持久力に乏しい。(カ)は、ゆっくりと収縮する筋肉で、強い力を出すことはできないものの、持久力に優れ、姿勢保持などに関わる。(オ)、(カ)は、その色からそれぞれ(キ)、(ク)ともよばれ、収縮の基盤となるエネルギー代謝が異なっている。

問1 (ウ)～(ク)に当てはまる適切な語句を書け。

問2 (オ)と(カ)のエネルギー代謝の特徴について、それぞれ以下の中から必要な用語を使って説明せよ。用語は何度用いてもよい。

有酸素、 無酸素、 解糖系、 糖、 脂質、 ミトコンドリア、  
酸化的リン酸化、 ピルビン酸

【動物発生・生理学の問題はここまで】

(1) 植物細胞に関する次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

植物の形態形成においては、個々の細胞の分裂面の位置・方向と、分裂後の形状変化（細胞成長）が重要な役割を果たしている。

植物の体細胞分裂では、細胞分裂に入る前に、表層微小管が細胞核の周囲の表層に集まり、(ア)を形成する。(ア)は細胞分裂の進行に伴い消失するが、細胞質分裂時には(ア)のあった位置に(イ)が形成され、この(イ)が遠心的に親細胞壁に達するまで拡大することで、親細胞が2つの娘細胞に分けられる。<sup>(a)</sup>(ア)の位置が分裂面を示すことから、植物細胞では細胞分裂が開始する前に、すでに分裂面が決定していると考えられている。(イ)の形成自体は、微小管を主成分とする細胞質分裂装置である(ウ)によって行われる。<sup>(b)</sup>(ウ)は膜小胞を輸送するためのレールとして機能していると考えられている。

植物の細胞成長において、体積増加は吸水によるものであるが、<sup>(c)</sup>その方向と速度は、細胞を覆う細胞壁によって制御される。細胞を覆う細胞壁が均等な力学的性質を持つ場合、細胞は等方性の(エ)成長をするが、細胞壁が不均一な力学的性質を持つ場合は、非等方性の(エ)成長をする。<sup>(d)</sup>また細胞成長には、細胞の一部が突出して伸びる先端成長と呼ばれる成長様式もある。多くの植物細胞は、これら2つの様式を組み合わせた複合成長をすることで、より複雑な形の細胞を形成する。

問1 (ア)～(エ)に入る最も適切な語句を記せ。

問2 下線部(a)について、植物細胞では、細胞分裂の開始前に細胞分裂面の位置が決定していることを示すための実験を考え、その方法と期待される結果を説明せよ。

問3 下線部(b)について、植物の細胞質分裂には小胞輸送システムが必須であるが、この理由を説明せよ。

【次ページへ続く】

問4 下線部(c)について、細胞成長の方向を決める要因として、細胞壁を構成するセルロース微繊維の配向も重要な役割を果たすことが知られている。細胞成長の方向とセルロース微繊維の配向の関係を説明せよ。

問5 下線部(d)について、以下の問いに答えよ。

- i) 先端成長だけで成長する植物細胞の名前を1つ記せ。
- ii) 先端成長では、伸長に必要なタンパク質などを突出部から分泌しているが、このような分泌のことを一般に何と呼ぶかを記せ。
- iii) 先端成長においてアクチン重合を促進するための制御因子を1つ記せ。

【次ページへ続く】

(2) 植物の成長に関する次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

植物の花茎や根は、重力に応答して屈曲伸長する重力屈性を示す。この成長運動には植物ホルモンのオーキシンが関与し、特にその輸送方向の制御が重力屈性発現時に起こるオーキシンの偏差分布に重要な役割を果たすことが知られている。

問1 重力屈性以外の屈性を3つ答えよ。

問2 オーキシンは、細胞分裂にも関与する。細胞周期に関与するオーキシン以外の植物ホルモンを2つ答えよ。

問3 オーキシンの極性輸送について、括弧内の語句を用いて説明せよ。(細胞内外の pH, 排出, 取り込み)

問4 植物の根を横倒しにした場合に、重力刺激の感受からオーキシンの偏差分布までどのようなことが起こっていると推定されているか、括弧内の語句を用いて説明せよ。(アミロプラスト, オーキシン極性輸送体)

問5 オーキシンによって下流の遺伝子の発現が調節される機構を、括弧内の語句を用いて説明せよ。(Aux/IAA, ARF, TIR, プロテアソーム)

【次ページへ続く】

(3) 次の A と B の文章を読み、以下の問いに答えよ。

A. バラ科の植物に多く発生する病気として、根などにコブを形成する根頭がんしゅ病がある。これは土壌細菌であるアグロバクテリウムが、植物に感染してクラウンゴール腫瘍を誘発するためである。この腫瘍形成には、アグロバクテリウムがもつ T-DNA が植物染色体に転移し、組み込まれることが必要である。

問1 アグロバクテリウムによる植物細胞への遺伝子導入方法について、括弧内の語句を用いて説明せよ。(Ti プラスミド, T-DNA 領域, vir 領域, オーキシシン, サイトカイニン)

問2 アグロバクテリウムを用いた植物の形質転換技術が広く用いられている。植物に遺伝子を導入する手法としては、他にパーティクルガン法もあるが、これらの技術を比較してメリットとデメリットを答えよ。

B. 植物は、花茎を形成するための茎頂分裂組織と根を形成する根端分裂組織を有する。両組織ともに幹細胞を有し、細胞分裂を活発に行って常に新たな細胞を生み出している。

問3 シロイヌナズナの茎頂分裂組織または根端分裂組織について、いずれかの組織を選んで、その構造について、括弧内の語句を用いて説明せよ。(形成中心, 幹細胞)

【植物発生・生理学の問題はここまで】

## 7. 脳・神経科学

(1) ヒトの聴覚に関する次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

内耳にある巻貝の形状をした感覚器官である（ア）の内部に存在する、有毛細胞およびらせん神経節細胞は、(a)空気の振動である音を電気信号へと変換する。有毛細胞で機械的な刺激を電気信号へと変換する分子は、有毛細胞の感覚毛にある機械刺激感受性イオンチャンネルと考えられている。感覚毛に機械的な刺激がかかると(b)K<sup>+</sup>イオンが細胞内に流入し、細胞膜の脱分極をおこす。細胞膜の脱分極は、電位依存性 Ca<sup>2+</sup>イオンチャンネルを開口し、細胞内への Ca<sup>2+</sup>イオンの流入をおこす。流入した Ca<sup>2+</sup>イオンは、(c)有毛細胞とらせん神経節細胞との間のシナプスにおいて、有毛細胞からのグルタミン酸の放出を誘発する。有毛細胞からの入力を受けるらせん神経節細胞は、脳幹の（ア）神経核、上オリーブ核を経て中脳（イ）丘へ情報を送る。中脳からは、視床の（ウ）体へ中継され、大脳皮質の（エ）葉にある一次聴覚野へ伝達される。以上の(d)求心性の聴覚処理経路では、らせん神経節細胞から一次聴覚野まで、最も鋭敏に反応する周波数である特徴周波数の高低順に神経細胞が分布する、周波数地図がみられる。高次聴覚野では、一次聴覚野に送られた情報をさらに処理することで、(e)高度な音声情報処理を行っている。例えば、聴覚入力された連続した音声を適切に区切り、単語として特定の情報と対応させることなどが行われている。

問1 文章中の（ア）～（エ）の空欄に当てはまる語句を記せ。

問2 下線部(a)について、内耳において、音の情報は周波数ごとの音圧情報に分けられる。それぞれの有毛細胞は、特定の周波数の音に最も敏感に反応し脱分極する。関わる分子は相同なのに、それぞれの有毛細胞が特定の周波数の音のみに反応する理由を述べよ。

問3 脳内の多くの神経細胞では、K<sup>+</sup>イオンの細胞内への流入は過分極をおこす。下線部(b)について、有毛細胞でK<sup>+</sup>イオンの細胞内流入により脱分極がおこるのはなぜか。細胞内のイオン濃度は相同の場合、考えられることを述べよ。

【次ページへ続く】

問4 下線部(c)について、有毛細胞とらせん神経節細胞間のシナプスはリボンシナプスと呼ばれる構造をとる。この構造では、アクティブゾーンが入り組んだ構造をしており、その近辺にシナプス小胞が多数 繫留<sup>けいりゅう</sup>されている。感覚受容細胞においてリボンシナプス構造がしばしば認められるが、このような構造を取ること、感覚入力を電気信号に変換する上で、どのような利点があるか述べてよ。

問5 下線部(d)について、上行性の神経投射のみでなく、大脳皮質から下位の領域へ多くの神経投射があることが知られる。例えば、大脳皮質から視床へ多くの投射がある。大脳皮質から感覚受容に関わる下位領域への投射が、どのような機能を果たすか述べてよ。

問6 下線部(e)について、ヒトの高次聴覚野の1つにウェルニッケ野と呼ばれる部位がある。「ことば」の能力に関するウェルニッケ野の機能について、ブローカ野の機能と比較して述べてよ。

問7 人工内耳は失聴・難聴などの聴覚障害をもつ患者に使われる医療機器で、マイクで收音し解析した音の周波数に応じて、内耳に留置した電極から、らせん神経節細胞に電気刺激を与えるものである。装着直後は人工的な合成音を知覚するのみであるが、徐々に言葉が聞き取れるようになる。一方で、人工内耳を装着しても、大人では幼児ほどは言葉を聞き取る能力は回復しないことが知られるが、その理由を述べてよ。

【次ページへ続く】

(2) 次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

我々は昼に活動し、夜に眠る。このように昼夜の明暗サイクルに対応し、周期的に制御された行動、生理現象のことを総称し(オ)という。(オ)は実にさまざまな生物においてみられ、一日におけるショウジョウバエの羽化やマウスの活動のタイミングの制御などに関わる。<sup>(f)</sup>その分子の実体に関する最初の報告は、米国の Seymour Benzer らによるもので、(カ)と呼ばれる単一遺伝子上の変異がハエの羽化リズムを長くしたり短くしたりすることであった。その後の研究により、(カ)およびパートナー分子は、ショウジョウバエから哺乳類まで保存された転写因子ネットワークの重要な一員であることが明らかとなっている。<sup>(g)</sup>(オ)は明暗サイクルがなくとも内因的に生じるが、その周期は実際の日長とは微妙にずれている。このずれを<sup>(h)</sup>光によって是正するメカニズムを(キ)という。哺乳類の脳では、視床下部にある(ク)核がこれらの制御中枢であると考えられている。<sup>(i)</sup>視床下部におけるニューロンは、互いにギャップ結合や<sup>(j)</sup>神経ペプチドを介したシグナル伝達によって密なネットワークを形成しており、電気的活動や遺伝子発現が(オ)に従って高い同期性を示すことが知られている。

問1 文章中の(オ)～(ク)の空欄に当てはまる語句を記せ。

問2 下線部(f)について、Seymour Benzer らのアプローチはフォワードジェネティクスであった。フォワードジェネティクスについて説明せよ。

問3 下線部(g)について、(カ)およびそのパートナー分子 CRY または TIM の転写量は自律的かつ周期的に変動する。その機構を述べよ。

問4 下線部(h)について、夜間に光を浴びると(カ)の転写/翻訳量の日周期の位相が変化する。この仕組みをハエまたは哺乳類において説明せよ。

【次ページへ続く】

問 5 下線部(i)について、(ク)核のニューロンの電氣的活動は単離した状態でも日周性のある振動を示す。このようなニューロンを一般に何というか。また単離した状態でも振動するメカニズムを以下のキーワードを用いて説明せよ。

(キーワード： 神経興奮性,  $K^+$ チャンネル)

問 6 下線部(j)について、視床下部ニューロンの多くは神経ペプチドを含有しており、様々な機能に関わる。このような視床下部に由来する神経ペプチドの例を1つあげ、その生理機能を述べよ。

【脳・神経科学の問題はここまで】

(1) 集団の遺伝的構造に関する以下の問いに答えよ。

問 1 ある種のカエルについて、1 つの野外集団で、ゲノム上で離れた位置にある 3 つの SNP (Single Nucleotide Polymorphism) サイトの遺伝子型を調べた。その野外集団から 200 個体を採集し、ゲノム配列を特定後、それら SNP サイトの遺伝子型を調べた。3 つの SNP サイトを X, Y, Z としたとき、それぞれの SNP サイトでの遺伝子型頻度を表 1 に示した。SNP サイト X, Y, Z での G の集団中での頻度を記せ。

表 1 調査した SNP サイトで観察された各遺伝子型の個体数

	遺伝子型		
	GG	GA	AA
SNP サイト X	32	96	72
SNP サイト Y	64	96	40
SNP サイト Z	4	36	160

問 2 SNP サイト X では、G と A が集団中に自然選択で維持されている。このとき、遺伝子型 GG, GA, AA の相対的適応度はどのようにであると予測できるか。変異が自然選択で維持される 2 つの異なる可能性について、それぞれの遺伝子型の適応度の相対的大小関係を記せ。

問 3 SNP サイト Y では、遺伝子型 GG, AG, AA の適応度に違いはみられない。今後、長期間にわたって、この変異はどのように変化すると予測されるか記せ。

問 4 SNP サイト Z では、遺伝子型 GG の適応度は、GA と AA に比べて生存率が 5%低下している。GA と AA の適応度は違いがない。適応度が低下しているにもかかわらず、G が集団中に変異として存在する理由を記せ。

【次ページへ続く】

(2) 植物の分布と気候変動に関する次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

気候は絶えず変動しており、温暖化と寒冷化を繰り返してきた。植物にとって、温度は分布を決定する大きな要因であり、気候変動に伴って分布の縮小と拡大を繰り返してきたと考えられる。およそ(ア)年前の最終氷期極大期には、現在、北半球の温帯域に見られる植物は今よりも低緯度地域に分布を移していたはずで、(a)その後の温暖化に伴って分布が北上して、現在に至っている。また、寒冷期には生育に適さなかったと思われる比較的高緯度な地域に(b)レフュージア (refugia, 避難地) があって、そこに集団が残存していたらしいことが現生集団の遺伝構造から分かっている。このような(c)気候変動に伴う分布の縮小と拡大は、植物の種分化も引き起こしたと考えられている。一方、近年の急速な地球温暖化は生物多様性にとって大きな脅威であり、(d)現状のまま温暖化が進むと多くの生物が絶滅すると予想する研究者が多い。

問1 文中(ア)に入る数字として最も近いものは次のうちどれか。

(i) 5,000      (ii) 10,000      (iii) 20,000      (iv) 50,000      (v) 100,000

問2 下線部(a)について、分布の北上に伴って、最も高緯度に位置する集団と最も低緯度に位置する集団の遺伝的多様性にはどのような違いが生じたのかをその理由とともに述べよ。

問3 下線部(b)について、どのような証拠からレフュージアの存在が示唆されているのかを述べよ。

問4 下線部(c)について、気候変動によってどのように種分化が引き起こされたと考えられるかを述べよ。

問5 下線部(d)について、なぜそのようなことが予想されるのかを述べよ。

【次ページへ続く】

(3) 次の文章を読み、以下の問いに答えよ。

絶滅危惧種は、気候変化による環境の悪化や外来種の影響、乱獲などによって分布や個体数が減少し、絶滅の可能性が高まっている種である。<sup>(e)</sup>個体数が極端に少なくなると、配偶者の探索が難しくなったり、配偶行動を示さなくなるなどの理由で繁殖率が低下することがあり、さらに個体数の減少を招く。野外での集団の存続が困難と考えられる絶滅危惧種は、室内などでそれを人工繁殖により維持する必要がある。人工繁殖には可能な限り多くの個体数から始める必要がある。人工繁殖により維持されている絶滅危惧種は、それを野外へ再導入することが目標となる。

問1 下線部(e)の現象を何と呼ぶか、記せ。

問2 人工繁殖に使用する種の初期個体数が少ない場合に生じると考えられる問題について記せ。

問3 人工繁殖個体を野外に再導入する場合には、人工繁殖を行う期間をなるべく短くすることが進化生物学的に望ましいとされる。それはなぜか、記せ。

問4 ある絶滅危惧種の集団がまだ野外に存続している状況で、それと同じ種の人工繁殖集団を野外に戻す場合、注意すべき点を2つ記せ。

【進化生物学の問題はここまで】

## 専門科目

## 9. 生態学

(1) 植生遷移に関する以下の問いに答えよ。

問1 一次遷移と二次遷移とは何か，両者の違いに着目して説明せよ。

問2 一般に，二次遷移で初期段階に侵入してくる植物が，光合成についてどのような性質をもつか，後期段階に侵入してくる植物と比較して説明せよ。

問3 東北地方の低標高地域と九州地方の低標高地域において，一般的にどのような機能群に属する種が極相林を構成するか，それぞれ答えよ。また，それぞれにおける代表的な極相林構成種を1種ずつ記せ。

(2) 生物資源の利用に関する次の文章を読み，以下の問いに答えよ。

漁獲圧のない状態ではロジスティック成長する水産生物資源について考える。漁獲圧の存在下では，この生物資源の個体群動態は次の数理モデルによって表される：

$$\frac{dN}{dt} = r \left( 1 - \frac{N}{K} \right) N - Y$$

ここで  $N$  は個体群密度， $r$  は内的自然増加率， $K$  は環境収容力， $Y$  は漁獲による死亡量（漁獲量）を表している。漁獲量  $Y$  は次の式で表される：

$$Y = qEN$$

ここで  $q$  は漁獲効率， $E$  は漁獲努力量を表す。

問1 平衡状態におけるこの生物の個体群密度  $N^*$  を，漁獲努力量  $E$  の関数として表せ。

【次ページへ続く】

問2 平衡状態における漁獲量  $Y^*$  を最大にする漁獲努力量  $E_{opt}$  を求め、 $q$ 、 $K$ 、 $r$  などのうち必要な変数を用いて表せ。

問3  $E > E_{opt}$  の範囲では、漁獲努力量  $E$  を減らすことで、平衡状態における漁獲量  $Y^*$  をかえって増加させられる場合がある。漁獲努力量を減らしているにも関わらず漁獲量が増える理由を説明せよ。

(3) 以下の問いに答えよ。

問1 マッカーサーとウイリソンは、生物の生活史特性が進化する仮説として  $r$ - $K$  選択説を唱えた。表1は、 $r$  選択により進化してきた生物種 ( $r$  選択種) と  $K$  選択により進化してきた生物種 ( $K$  選択種) の各形質や特性を定性的に比較し、記したものである。表1の (ア) ~ (セ) に該当する語句を答えよ。

形質または特性	$r$ 選択種	$K$ 選択種
内的自然増加率	(ア)	(イ)
成長速度	速い	遅い
繁殖開始年齢	(ウ)	(エ)
卵サイズ	(オ)	(カ)
産卵数	(キ)	(ク)
寿命	(ケ)	(コ)
分散能力	(サ)	(シ)
競争能力	(ス)	(セ)

問2 テイルマンらは、ミネソタの草原に多数の方形区を設定し、各方形区に1~24種の草本植物の種子をまいてその成長を観察した。その結果、多くの種数をまいた方形区ほど草本植物全体の生産量は高くなったという。その原因を2つあげ、なぜそれが原因となるのかそれぞれ説明せよ。

【次ページへ続く】

問3 ハッチンソンは、物理的に均一な空間である水中に多数の植物プランクトン種が生息しているのは競争排除則に矛盾していると疑問を投げかけた。実際、湖沼で採集した水を顕微鏡で観察すると、実に多くの植物プランクトン種が観察される。なぜ、物理的に均一な空間である水中に多数の植物プランクトン種が生息できるのだろうか。考えられる原因を2つあげ、それぞれについて説明せよ。

【生態学の問題はここまで】

(1) 次の 1)~10) の文章の正誤を判定し、それぞれ「○」「×」で解答せよ。

- 1) 細菌のプラスミドは薬剤耐性遺伝子を類縁細菌間に伝播するため臨床上非常に重要である。薬剤耐性遺伝子以外を伝播させるプラスミドはこれまでに見つかっていない。
- 2) 細菌のレプリコンは多くの場合環状であるが、中には線状のレプリコンも存在する。
- 3) 人類が化学工業で製造した天然には存在しない化合物は、自然界の微生物にとっては異質なものであり、微生物によって分解されることはない。
- 4) 細菌の薬剤耐性機構のうち、pUC18 など遺伝子工学で用いられるベクターで選択マーカーとして用いられているアンピシリン耐性遺伝子による耐性機構はアンピシリンの細胞外への排出である。
- 5) プラスミドの接合伝達は、プラスミド上のランダムな場所から開始する。
- 6) 地球上の様々な環境に微生物が存在している。様々な環境由来であっても微生物はいずれも通常大腸菌を培養するのに用いるのと同じ栄養培地で純粋培養が可能である。
- 7) オートクレーブ処理により、雑菌由来の DNA を完全分解することができる。
- 8) ある大腸菌株のジェノタイプに $\Delta(lac-proAB)$ と書かれている。これはラクトースオペロンとその転写に関わる 2 つのプロモーターが欠損していることを示す。
- 9) アンピシリン耐性マーカーを有するプラスミド DNA で大腸菌を形質転換しアンピシリンで選択した。培養 3 日目にプレートを観察すると 1 日目には見られなかったコロニーが、1 日目に見られていたコロニーの周辺に多数観察された。これらはいずれもプラスミド DNA を保持しているが、何らかの理由で生育が遅れたクローンである。
- 10) ファージとは細菌に感染するウィルスのことである。

【次ページへ続く】

(2) 物質 A を変換する機能を持つ細菌 a 株を単離した。a 株は大腸菌とは分類学的な系統が異なり，本機能を有する他の細菌株はみつかっていない。以下の問いに答えよ。

問 1 下線部はどのような方法で明らかにできるか，簡潔に説明せよ。

問 2 a 株の細胞抽出液から物質 A の変換活性を有する酵素タンパク質 b を精製した。この結果を踏まえて，酵素 b をコードする遺伝子 c を取得するにはどのような方法が考えられるか，述べよ。

問 3 酵素 b を精製せずに遺伝子 c を取得するアプローチとして，a 株とは異なる細菌株に a 株の全 DNA ライブラリーを導入し，目的の活性を有するクローンを取得する方法が考えられる。

- 1) このようなアプローチにおいて，全 DNA ライブラリーを導入する宿主としてどのような細菌株が適しているか，述べよ。
- 2) 取得した遺伝子 c から活性を示す酵素 b を大腸菌株内で大量に発現させるためには，どのような点に注意する必要があるか，述べよ。

問 4 a 株が細菌ではなく，カビや酵母の場合，上記問 3 の方法ではうまくいかない可能性が高い。その理由を簡潔に述べよ。

問 5 上記問 3 の方法以外で，酵素 b を精製せずに遺伝子 c を同定するアプローチとしてどのような方法が考えられるか，述べよ。

【次ページへ続く】

(3) 細菌の形質転換に関連する以下の問いに答えよ。

問1 細菌が外部から DNA を獲得する手段として3種類が知られており、うち1つは「自然形質転換」である。他の2つをあげ、それぞれについて説明せよ。

問2 目的の DNA 断片が細菌細胞に形質転換によって取り込まれたかどうかを確認するために、Polymerase Chain Reaction (PCR) 法が用いられることがある。次のキーワードを用いて PCR 法の原理を説明せよ。その際、DNA 鎖の向きについても言及せよ。

キーワード：鋳型，プライマー，DNA ポリメラーゼ，Tm 値

問3 DNA 断片をベクター上にクローニングしたい時、両者を連結処理した DNA で、ある遺伝子型の大腸菌を形質転換した後、選択に用いる抗生物質に加えて、イソプロピル- $\beta$ -D-チオガラクトピラノシド (IPTG) と 5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル- $\beta$ -D-ガラクトピラノシド (X-Gal) とを含む寒天培地上で生育する白色のコロニーを選択する「ブルー・ホワイトセレクション」法が用いられることがある。なぜ、白色コロニーを選択すると良いのか、本手法の原理に基づいて説明せよ。

問4 自然界から分離される細菌のゲノムは多様である。自然界の細菌のゲノムが多様化し、また多様性が維持されている理由には、各環境に適した遺伝子型を保有する系統が優先的に生き残る「自然選択」や、細菌が自然形質転換などの手段によって獲得可能な DNA のレパトリーが制限される「隔離」の影響があると考えられている。「隔離」の機構として考えられることをあげ、説明せよ。

【微生物学の問題はここまで】