

平成 29 年度 入学 試験 問題

生物科学専攻

専門科目

[注意事項]

- 試験開始の合図があるまで、この問題冊子を開いてはならない。
- 解答には、必ず黒色鉛筆（または黒色シャープペンシル）を使用すること。

[以下、特に重要]

- 問題冊子 1 冊と答案用紙 4 枚が配られているか確かめること。過不足がある場合は挙手して監督者に知らせること。
- 問題は全部で 11 問ある。問題の内訳は以下の通りである。
 - 第 1 問～第 4 問：分子生物学・細胞生物学・生化学・遺伝学の問題
 - 第 5 問～第 7 問：生物化学・生物情報科学分野の問題
 - 第 8 問～第 11 問：動物学・植物学・人類学分野の問題これら 11 問の中から任意の 4 問を選択して解答せよ。
- 選択した 4 問の解答を答案用紙 1 枚ずつに分けて記入すること。
- 各答案用紙およびグラフ用紙の所定欄に受験番号および氏名を必ず記入すること。
- 各答案用紙の問題番号欄に問題番号をひとつだけ記入すること。なお、第 9 問と第 11 問には複数の選択問題が含まれている。これらの問を選んだ場合には、答案用紙にいずれの選択問題を選択したかを明記し、全体を 1 枚の答案用紙に収めて解答せよ。
- 答案用紙の科目名の欄には、「専門科目」と記入すること。
- 答案用紙の裏面も使用する場合は、表面にその旨明示すること。ただし、答案用紙は上部区切り線で綴じられるので、区切り線より上部は使用しないこと。
- 答案用紙には、解答に関係のない文字、記号、符号などを記入してはならない。
- 解答しない場合でも答案用紙及びグラフ用紙には受験番号、氏名、および問題番号を記入して提出すること。
- 答案用紙を草稿用紙として絶対使用しないこと。草稿用紙は問題冊子にあるが切り離さないで用いること。また問題冊子の余白は自由に使ってよい。
- 試験時間は 2 時間 30 分である。原則として試験終了時間まで席を離れるることは許さない。

この問題冊子は試験終了後に回収する。以下の欄に受験番号と氏名を記入すること。

受験番号		氏名	
------	--	----	--

草稿用紙

[第1問]

次の文を読み、以下の問1～7に答えよ。

肝臓(liver)の肝細胞(hepatocyte)において強く発現している、ある遺伝子Xの機能を明らかにするために、ノックアウトマウスを用いた解析を行おうと考えた。Xを全身で欠損するマウスは胎生致死(embryonic lethal)となることが既に知られていたので、Cre-loxP系を利用して、肝細胞において特異的にXを欠損するコンディショナルノックアウトマウスを作製することにした。

Creは^(a) P1ファージのゲノムにコードされる部位特異的組換え酵素(site-specific recombinase)であり、^(b) loxPと呼ばれる特定の標的配列同士の間での組換え反応を触媒する。まず、Creを肝細胞において特異的に発現させるために、肝細胞特異的に発現する遺伝子Lの^(c) プロモーターおよびエンハンサーを含む転写調節領域を用いて、その下流にCre遺伝子をつなぎDNAコンストラクトを作製した(図1)。これをマウスの受精卵に注入してゲノム中に組み込み、トランスジェニックマウス系統を作製した。得られた複数の系統を、^(d) Creの組換え酵素活性をモニターするためのレポーターマウス系統(図2)と交配し、レポーター遺伝子の発現を調べることで、^(e) 目的どおりに肝細胞特異的なCreの活性を示す系統(L-Cre Tg)を選抜した。

一方で、遺伝子Xの、あるエクソンの両脇にloxPを1つずつ挿入したマウス系統を別に作製した(X^{fl/fl}マウス；図3)。なお、ここではloxPが挿入された遺伝子Xの対立遺伝子(allele)をX^{fl/fl}、野生型の対立遺伝子をX^{+/+}と表記する。

^(f) L-Cre TgマウスとX^{fl/fl}マウスとを交配することで、肝細胞において特異的にXを欠損するコンディショナルノックアウトマウスの作製を行った。

交配により、肝細胞特異的にXをホモで欠損するマウス(L-Cre Tg; X^{fl/fl})が誕生した。このマウスを解析したところ、肝細胞の増殖に異常が認められた。さらに^(g) これと類似の表現型が、肝細胞特異的にXをヘテロで欠損するマウス(L-Cre Tg; X^{fl/+})の肝細胞においても観察された。

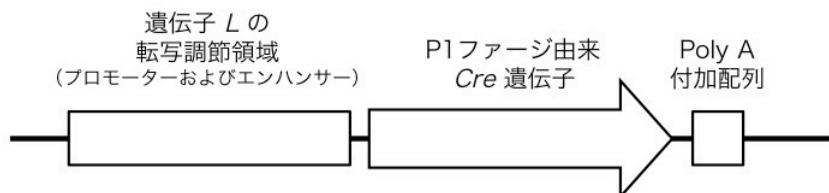


図1. 肝細胞特異的にCreを発現させるためのDNAコンストラクト。

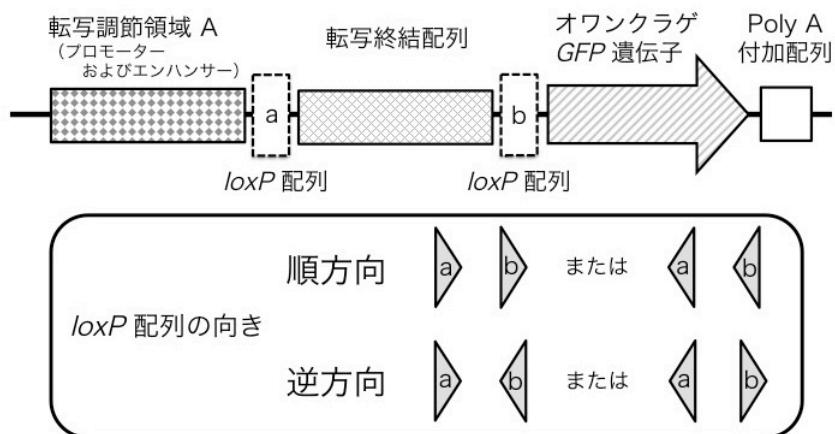


図 2. Cre の活性を評価するためのレポーターマウスのゲノム中に組み込まれている DNA コンストラクト。

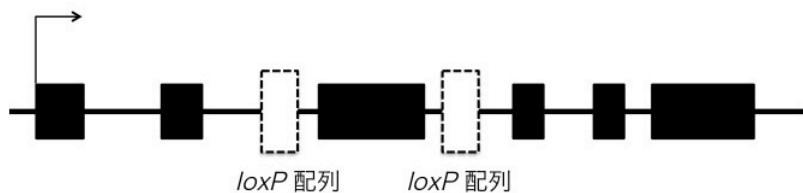


図 3. X^{flox} マウスにおける X 遺伝子座の模式図。■は X 遺伝子のエクソンを、[---]は $loxP$ 配列の挿入位置をそれぞれ示している。

問 1. 下線部 (a) について。以下の文中の [ア] および [イ] に入る最も適切な語を記せ。

ファージとは、[ア] に感染する [イ] のことである。

問 2. 下線部 (b) について。 $loxP$ は、下記の 34 塩基からなる配列である。二重下線を付した 8 塩基の部分に相補的な塩基配列を、5' および 3' の方向がわかるように記せ。

5'-ATAACTTCGTATAATGTATGCTATACGAACAGTTAT -3'

問 3. 下線部 (c) について。プロモーターとエンハンサーの機能および性状の異なる点を 3 つ挙げよ。それぞれの点について、プロモーターとエンハンサーの違いを対比しながら、2 行程度ずつで述べること。

問 4. 下線部 (d) について、以下の問い合わせよ。

- (1) 図 2 のコンストラクト内の転写調節領域 A として、以下のいずれを用いるべきか。最も適切なものを (ア) ~ (エ) の中から選んで記号で答えよ。
- (ア) 肝細胞特異的に発現する遺伝子の転写調節領域
(イ) 肝細胞以外のあらゆる細胞で発現する遺伝子の転写調節領域
(ウ) マウスの全身のあらゆる細胞で発現する遺伝子の転写調節領域
(エ) オワンクラゲ GFP 遺伝子の転写調節領域
- (2) *loxP* 配列には方向性がある。図 2 の *loxP* 配列 (a, b) の向きとしては、順方向、逆方向のいずれが適切か。
- (3) (2) で選択したのとは異なる向きで *loxP* 配列が並ぶ場合、Cre による組換えが起こるとゲノムにはどのような変化が生じるか。2 行程度で述べよ。

問 5. 下線部 (e) について。今回、選抜されなかった系統の中には、肝細胞以外に神経細胞 (neuron) においても Cre の組換え活性が認められるものがあった。これは、どのような原因で生じたと考えられるか。2 行程度で述べよ。なお、導入された DNA コンストラクト自体には変異や欠損は生じておらず、完全な状態でゲノムに組み込まれたことを確認している。

問 6. 下線部 (f) について。肝細胞特異的に X をホモで欠損するマウスを得るために、少なくとも何回 (何世代) の交配を行う必要があるか。

問 7. 下線部 (g) について。ヘテロ欠損マウスでもホモ欠損マウスと類似の表現型があらわれた理由として考えられる可能性を 2 つ挙げ、それぞれ 1 行程度で述べよ。また、それらの可能性について検証するためにはどのような解析を行えば良いかを、それぞれ 2 行程度で併せて述べよ。

草稿用紙

[第2問]

次の文1と文2を読み、以下の問1～6に答えよ。

<文1>

生体膜の基本構造は脂質二重層 (lipid bilayer) で、動物細胞におけるそのおもな成分はグリセロリン脂質、スフィンゴ脂質、および ア である。

生体膜の主要なグリセロリン脂質は、グリセロールに2つの^(a) 脂肪酸がエステル結合し、残りのヒドロキシル基にリン酸を介してさまざまな化合物が結合した脂質である(図1)。生体膜のグリセロリン脂質は、図中Xで示された化合物の種類により、ホスファチジルセリン、イ、ウなどに分類される。

多くの親水性分子は純粋な脂質二重層を容易には透過できない。そのため生体膜には、イオンや糖、アミノ酸の輸送を担う膜貫通タンパク質が組み込まれている。チャネル (channel) と多くの輸送体 (transporter) は、生体膜を挟んだ物質の濃度勾配 (厳密には、化学ポテンシャルの勾配) に従って物質を受動輸送する。一方、^(b) ポンプ (pump) と一部の輸送体は、エネルギーを使って、濃度勾配に逆らった選択的な物質輸送を行う。

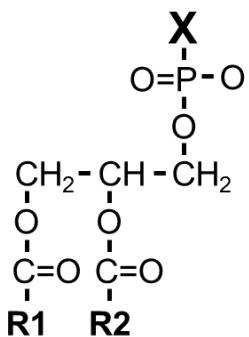


図1. 生体膜に含まれる
グリセロリン脂質。

問1. ア～ウに入る適切な語を記せ。

- 問2. 下線部(a)について。生体膜のグリセロリン脂質に含まれる脂肪酸には、飽和脂肪酸のミリスチン酸(炭素数14)、パルミチン酸(同16)やステアリン酸(同18)、不飽和脂肪酸のオレイン酸(同18)などがある。ほとんどの場合、それらの炭素数は偶数である。この理由を1行程度で述べよ。
- 問3. 下線部(b)について。生体膜を挟んだ濃度勾配に逆らった物質輸送は、輸送に必要なエネルギーの供給源の違いから、一次能動輸送(primary active transport)と二次能動輸送(secondary active transport)とに分けられる。両者の違いを3行程度で説明せよ。

<文2>

消化管や気道の管腔は、1層のシートを形成した上皮細胞で覆われている。上皮細胞は極性をもっており、身体の外側に向いた面（たとえば、小腸上皮細胞の場合には内腔側の面）を頂端側（apical side）、身体の内側に向いた面を側底側（basolateral side）と呼ぶ。^(c) 水溶性物質が細胞の隙間を通って頂端側と側底側を往来するのを防ぐため、上皮細胞同士は側面で細胞間接着により強力に結合している。この結合があるため、小腸上皮細胞が内腔から体液に栄養素を取り込むときは、まず頂端側から細胞内に取り込み、続いて側底側から放出するという2段階の経細胞輸送を行っている。頂端側では、ナトリウム依存性グルコース共輸送体（sodium-dependent glucose cotransporter）のはたらきにより、ブドウ糖が小腸内腔から細胞内に取り込まれる。この輸送体は、 Na^+ の輸送に共役させて、ブドウ糖を細胞内に運び込む。細胞に取り込まれたブドウ糖は、別の輸送体のはたらきによって、その濃度勾配に従い側底側（体液側）から細胞外に放出される。

小腸上皮細胞の性質について調べるために、放射性同位元素で標識したブドウ糖を用いて経細胞輸送の実験を行った。

実験：小腸上皮細胞を培養してシートを形成させ、頂端側の溶液と側底側の溶液が完全に分離された状態を作った（図2）。側底側には標準的な組成の培地を、頂端側には Na^+ 濃度を段階的に変えた溶液を入れた。放射性標識したブドウ糖を頂端側溶液に加えるとともに側底側溶液の放射線量の測定を開始し、ブドウ糖が経細胞輸送された速度を算出した。結果を図3に示す。なお、溶液に含まれるブドウ糖は実験開始時に加えた放射性ブドウ糖のみで、細胞によるブドウ糖の代謝は考慮しない。 Na^+ 濃度が異なる溶液はコリン（ $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ ）によって溶質が等濃度になるよう調整しており、溶液の組成の違いはブドウ糖の経細胞輸送以外の細胞活動には影響しない。また、経細胞輸送に伴う溶液の組成の変化がブドウ糖の輸送速度に与える影響は無視する。

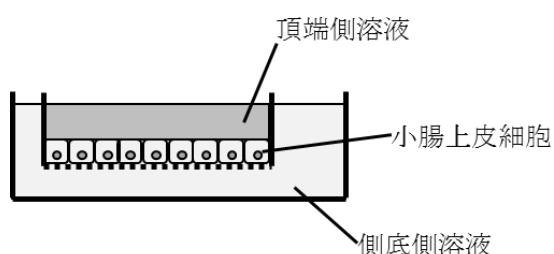


図2. 小腸上皮細胞の経細胞輸送実験系。
内側のチャンバーの底面はメッシュになっており、
細胞の側底側から放出された物質は側底側溶液に入る。

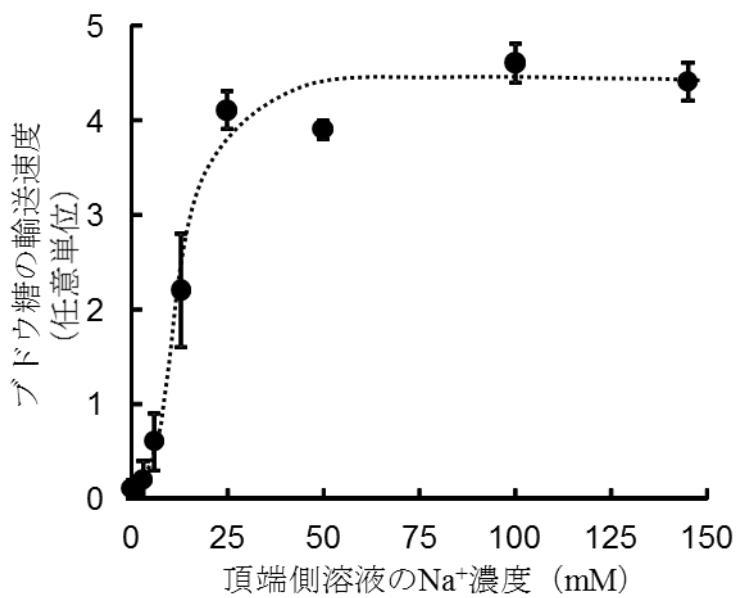


図 3. 頂端側溶液の Na^+ 濃度とブドウ糖の経細胞輸送の速度との関係。
黒丸は各実験条件における輸送速度の平均値、エラーバーは標準誤差を示す。

- 問4. 下線部 (c) の説明に該当する細胞間結合の名称を答えよ。
- 問5. 頂端側溶液の Na^+ 濃度が低いとき、ブドウ糖はほとんど経細胞輸送されなかつた（図 3）。この理由を、ナトリウム依存性グルコース共輸送体の性質を考慮して 5 行程度で考察せよ。
- 問6. 頂端側溶液の Na^+ 濃度を 145 mM に固定して、 Na^+, K^+ -ATP アーゼ (Na^+, K^+ -ATPase、 Na^+, K^+ -pump) の阻害剤がブドウ糖の経細胞輸送に与える影響を調べた。頂端側と側底側両方の溶液、または側底側溶液のみに Na^+, K^+ -ATP アーゼ阻害剤を添加したところ、ブドウ糖はほとんど経細胞輸送されなくなった。ところが、頂端側溶液のみに阻害剤を添加した場合には、ブドウ糖の輸送は全く阻害されなかった。 Na^+, K^+ -ATP アーゼを阻害するとブドウ糖の経細胞輸送が阻害されたのはなぜか。 Na^+, K^+ -ATP アーゼの機能に触れつつ 3 行程度で述べよ。また、阻害剤の効果が細胞の頂端側と側底側で異なった理由を 3 行程度で考察せよ。

草稿用紙

[第3問]

次の文1と文2を読み、以下の問1～8に答えよ。

<文1>

1次構造としてのアミノ酸配列には、タンパク質の生理活性に必要な様々な基本的情報が含まれる。タンパク質の2次構造には、(a) αヘリックスやβシート、そしてこれらをつなぐランダムコイルやターンなどがあり、これらの組み合わせにより様々な構造単位が作られる。そして(b) アミノ酸残基の側鎖間の非共有結合性の相互作用により、さらに安定化された3次構造が形成される。このようなタンパク質の高次構造形成には、(c) 共有結合が加わる場合もある。

問1. 下線部(a)について。次の小間に答えよ。

- (1) これら2次構造を形成するのに最も重要な非共有結合性の相互作用は何か。その名称を記せ。
- (2) (1)の結合に関与する2つの官能基の名称をそれぞれ記せ。
- (3) αヘリックスとβシートにおける上記の非共有結合の様式の違いについて、3行程度で説明せよ。

問2. 下線部(b)について。特にタンパク質内部で3次構造の安定化に寄与する非静電的相互作用は何か。その名称を記せ。

問3. 下線部(c)について。ここでいう共有結合とは何か。その名称とともに、この結合に関わるアミノ酸残基の名称を記せ。

問4. 溶液のpHがタンパク質の等電点に近づくとそのタンパク質は凝集しやすくなるが、なぜか。タンパク質表面での電荷と結合水の関係に基づいて3行程度で説明せよ。

問5. ポリアクリルアミドゲルを用いてタンパク質を電気泳動する際、高次構造とアミノ酸組成は易動度に大きな影響を与える。しかしどデシル硫酸ナトリウム(SDS)を用いると、ポリペプチド鎖は分子量の違いで分離できるようになる。その原理を2行程度で説明せよ。

<文2>

幼若雌ラットに卵胞刺激ホルモン（FSH）を投与すると大量の FSH 受容体が卵巣で発現する。この状態の卵巣から調製した膜画分は FSH 受容体の機能解析によく用いられる。図1は、一定量の膜画分に対し、加える FSH の量を変え、FSH と受容体の結合特性を調べた実験結果である。ただし、FSH 受容体を含む膜断片は溶液中に均一に分散されているものとする。なお、各図での「結合量」は「特異的に結合した量」のことを指す。

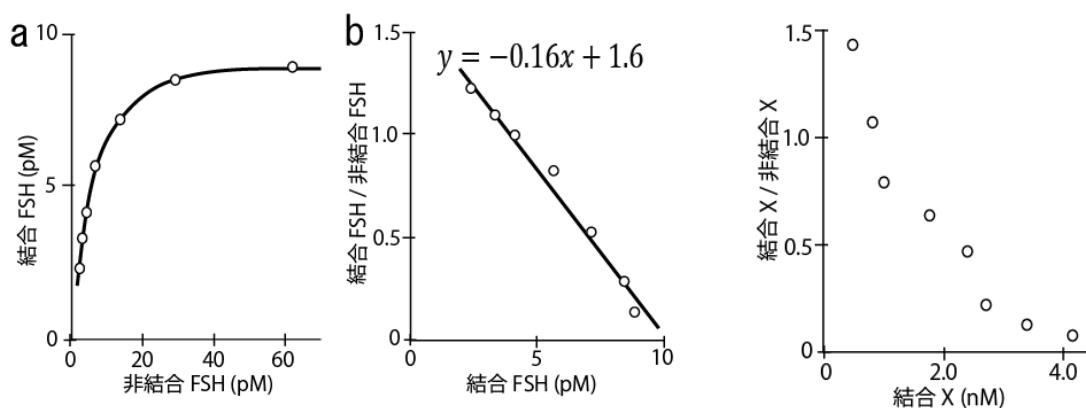


図1. 一定量の卵巣膜画分に対する FSH 結合の飽和曲線 (a) と Scatchard プロット (b)。

図2. 一定量の抗血清に対する抗原 X の結合。

問6. 図1aについて。FSH と膜画分の結合には FSH 受容体特異的な結合に加えて非特異的な結合も含まれるが、図1aでは特異的な結合量のみを算出して示している。非結合 FSH 量の増加に対して非特異的な結合量はどのように変化したと考えられるか。2行程度で説明せよ。

問7. 図1bは図1aに基づいて作成したScatchardプロットである。図内に得られた回帰直線の式を示してある。この結合反応における親和定数 (K_a)、解離定数 (K_d)、FSH受容体の濃度を求めよ。

問8. 図2について。この図は、ある抗原Xとそれに対する抗血清との結合実験の結果を示したScatchardプロットである。この結果を1本の直線で近似するのは適切でない。このような結果はどのような場合に得られるか。3行程度で述べよ。

[第4問]

以下の問1～6に答えよ。

問1. キイロショウジョウバエは4対の染色体をもつ。交叉 (crossing over) がない場合、配偶子の染色体の組み合わせはいくつになるか答えよ。

問2. 生殖細胞 (germ cells) では染色体の複製後、減数分裂 (meiosis) の第1分裂、第2分裂を経て配偶子が形成される。キアズマ (chiasma) が観察され交叉が起こるのは、どちらの減数分裂のときか答えよ。

問3. マウスの線維芽細胞をトリチウムチミジン ($^3\text{H-dThd}$) 存在下で培養し、S期を1回、および、2回経た後でそれぞれ染色体標本を作製して、オートラジオグラフィー (autoradiography) をおこなった。観察される染色体のオートラジオグラムはどのようになるか。1回目、2回目について、以下の模式図 (1)～(6) の組み合わせとして正しいもの全てを、表1のa～hの中から選べ。正解は1つとは限らない。

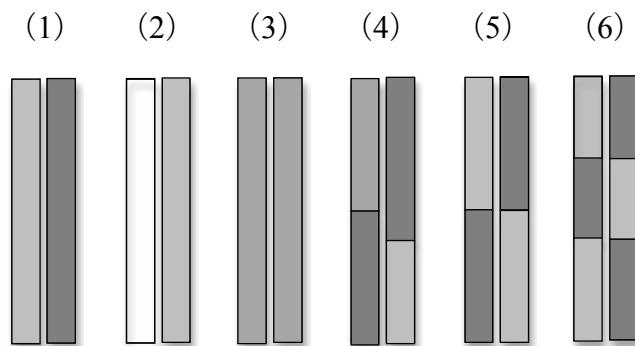


図1. 染色体オートラジオグラムの模式図。

(1)～(6)の各々は、ある染色体の染色分体2本を示す。

図の濃淡は取り込まれた $^3\text{H-dThd}$ 量の大小に対応している。

表1

1回目	(2)	(2)	(2)	(2)	(3)	(3)	(3)	(3)
2回目	(1)	(3)	(4)	(6)	(1)	(4)	(5)	(6)
組み合わせ	a	b	c	d	e	f	g	h

問 4. 染色体上に長い連鎖不平衡 (linkage disequilibrium) 領域が検出された場合、どのような要因が考えられるか。2つあげ、2行程度で答えよ。

問 5. R 氏とその両親は常染色体劣性 (autosomal recessive) の遺伝疾患 X を発症していないが、R 氏の兄はこの疾患 X を発症している。新たに突然変異は起こらないものとし、以下の問い合わせに答えよ。

- (1) 上記の情報から、R 氏が疾患 X を担う対立遺伝子 (allele) をもつ確率を求めよ。解を得る過程がわかるように記せ。
- (2) R 氏は配偶者との間に子を 3 人もうけた。遺伝子診断をした結果、子は 3 人とも野生型 (疾患対立遺伝子ではない) 対立遺伝子のみをもっていた。この新たな情報を加味し、R 氏が疾患 X を担う対立遺伝子をもつ確率を求めよ。解を得る過程がわかるように記せ。

問 6. 対立遺伝子として A と a をもつ遺伝子座がある。 aa 個体は致死 (lethal) である。ある集団で a の頻度を調べたところ 0.1 であった。 a の新生はないものとし、また集団サイズは大きく任意交配が行われているものとし、以下の問い合わせに答えよ。

- (1) 集団中の a の初期頻度を 0.5 とすると、 AA 個体と Aa 個体間に適応度 (fitness) に違いがない場合、 a が上記の頻度 (0.1) になるまでに何世代必要か。解を得る過程がわかるように記せ。
- (2) AA 個体と Aa 個体では適応度に違いがあり、 a の頻度が 0.1 で保たれている場合、 AA 個体と Aa 個体間の適応度の違いを求めよ。解を得る過程がわかるように記せ。

[第5問]

次の文1と文2を読み、以下の問1～7に答えよ。

<文1>

細胞は分裂に先立ちDNAの複製を行う。(a) DNAポリメラーゼによる重合反応は、基質であるヌクレオチド、鑄型DNA以外に アを必要とする。これはRNAポリメラーゼにはない性質である。また、DNA重合反応には方向性がある。そのため、例えば、ヒトの染色体の末端反復配列である イを完全に合成できない。(b) その結果として、染色体の末端反復配列は、細胞分裂のたびに短くなる。

DNAポリメラーゼは頻度は低いがエラーを起こし、正しくないヌクレオチドを取りこんでそのまま複製を進行してしまうことがある。通常は、そのようなミスマッチは修復され、正しいヌクレオチドに直されるが、それが修復されない場合は変異（塩基置換）となり (c) がんの原因になることがある。

- 問1. アとイに入る最も適切な語をそれぞれ記せ。
- 問2. 下線部(a)について。DNA複製時のDNAポリメラーゼによるヌクレオチド重合反応の過程を、4行程度で記せ。
- 問3. 下線部(b)について。ヒトの場合、細胞種によっては染色体の末端反復配列が短くならない細胞もある。その場合の末端反復配列の維持機構について、4行程度で記せ。
- 問4. 下線部(c)について。DNAポリメラーゼのエラーによる変異が、がんを引き起こす機構について考察し、4行程度で記せ。
- 問5. DNAポリメラーゼのエラーにより、変異（塩基置換）が、それぞれの娘細胞において細胞分裂ごとに 10^{-9} (10^9 塩基対に1対) の頻度で生じると仮定する。ヒト正常細胞が50回分裂した後、計算上、1細胞あたり何個の変異が蓄積するか、計算式も含めて記せ。ただし、ヒト細胞のゲノムサイズは30億塩基対とする。

<文2>

DNA複製の進行の様子を調べるため、バクテリオファージT4（2本鎖DNAウイルス）を感染させた大腸菌を、放射性チミジンを含む培地に短時間（2~60秒）移して培養し、新生鎖DNAを標識した。その後、この培養液からファージDNAを回収し、アルカリ条件で1本鎖に変性した。この試料中のファージ新生鎖DNAの大きさ（ショ糖密度勾配遠心による沈降速度）と量（放射線量）を測定し、その関係をグラフ化したところ、図1のように2つのピークAおよびBが現れた。

問6. 新生鎖DNAの大きさが小さいピークAと大きいピークBの放射性チミジンの取り込みの特徴を、4行程度で記せ。

問7. 問6で述べた、それぞれのピークの特徴から、バクテリオファージT4の複製様式について考察し、5行程度で記せ。

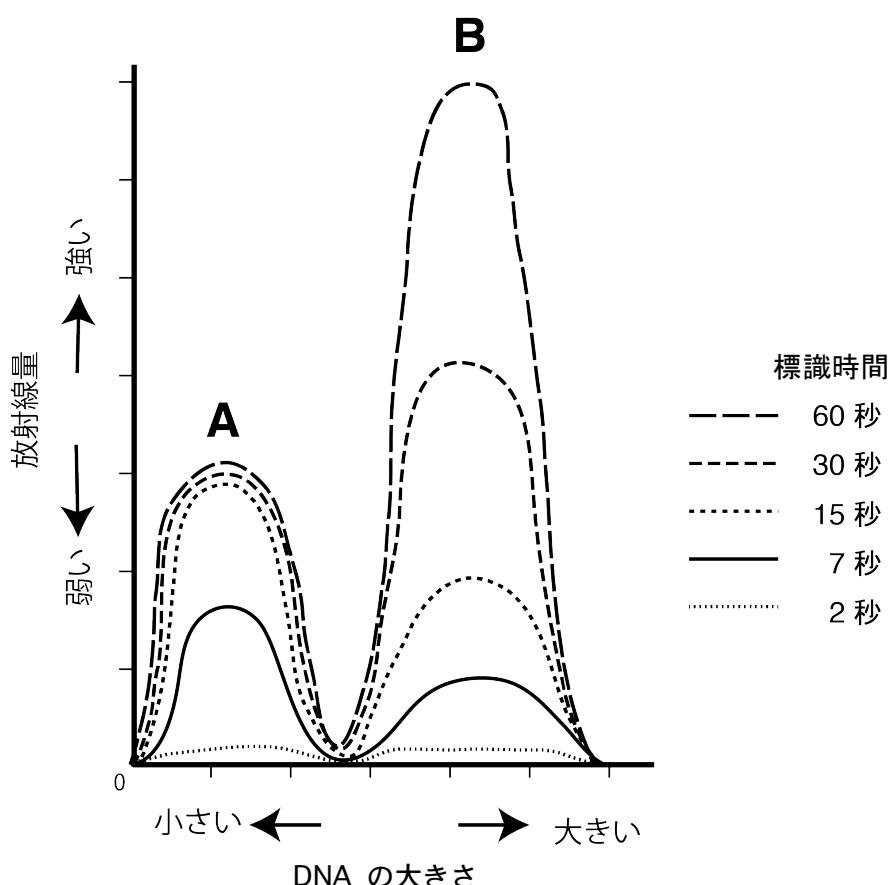


図1. ファージ新生鎖DNAの大きさと放射線量の関係。

(Okazaki *et al.*, 1968 より改変)

[第6問]

次の文を読み、以下の問1~7に答えよ。

<文>

7回膜貫通型のGタンパク質共役型受容体GPCRは、細胞外の情報を細胞内に伝達する。大学院生のAさんは、GPCRファミリーのメンバーであるGPCR-XとGPCR-Yの翻訳領域全長を含むcDNAをクローニングした。GPCR-YのN末端領域には小胞体シグナル配列が存在したが、GPCR-XのN末端領域には存在しなかった。Aさんは、N末端にHAタグおよびC末端に緑色蛍光タンパク質GFPが融合したHA-GPCR-X-GFPとHA-GPCR-Y-GFP(図1)を発現するプラスミドを作製した。その後、GPCR-XとGPCR-Yのどちらも発現していない哺乳類由来の培養細胞に各々のプラスミドを導入して、HA-GPCR-X-GFPあるいはHA-GPCR-Y-GFPを発現させた。

まず、それぞれの融合タンパク質の発現を確認するために、細胞抽出液を用いてウエスタンプロット解析を行った(図2)。また、HA-GPCR-X-GFP発現細胞の細胞抽出液を2種類のグリコシダーゼで処理した。一つは、糖タンパク質から高マンノース型オリゴ糖を除去するエンドグリコシダーゼH(EndoH)で、もう一つは、糖タンパク質から高マンノース型および複合型オリゴ糖を除去するペプチドN-グリカナーゼ(PNGase)である。グリコシダーゼ処理をした後に、それぞれの細胞抽出液を用いてウエスタンプロット解析を行った(図3)。

一方、HA-GPCR-X-GFP遺伝子を導入した培養細胞を、GPCR-Xに対するリガンドで刺激した。その結果、細胞内Ca²⁺濃度が上昇した。このことから、GPCR-Xは三量体GTP結合タンパク質Gqを活性化すると予想された。三量体GTP結合タンパク質は、α、βおよびγサブユニットからなり、□アサブユニットにGDPまたはGTPが結合する。□イサブユニットはGTPアーゼ活性を持ち、GTPがGDPへと加水分解されることによって三量体Gタンパク質は不活性化する。一般的に、Gqは□ウサブユニットを活性化する。活性化された□ウサブユニットはホスファチジルイノシトール4,5-ビスリン酸を加水分解し、□エと□オサブユニットが生じる。□オサブユニットは_(a)小胞体からのCa²⁺の放出を促す。



図1. HA-GPCR-X-GFPあるいはHA-GPCR-Y-GFPタンパク質の模式図。

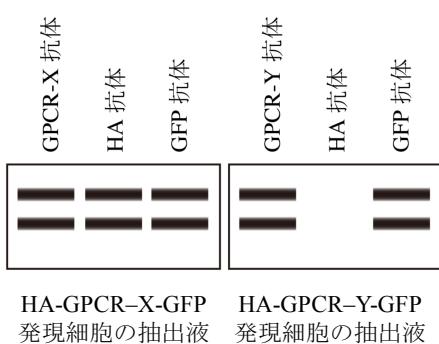
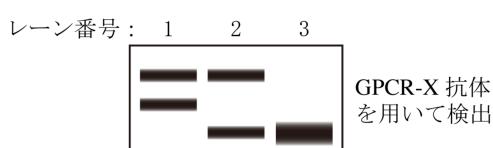


図 2. HA-GPCR-X-GFP あるいは HA-GPCR-Y-GFP の発現を、GPCR-X 抗体、GPCR-Y 抗体、HA 抗体、および GFP 抗体を用いてウエスタンプロット解析した結果。



レーン 1: HA-GPCR-X-GFP 発現細胞の抽出液
レーン 2: HA-GPCR-X-GFP 発現細胞の抽出液を EndoH で処理
レーン 3: HA-GPCR-X-GFP 発現細胞の抽出液を PNGase で処理

図 3. HA-GPCR-X-GFP 発現細胞の抽出液を 2 種類のグリコシダーゼで処理した後に、ウエスタンプロット解析した結果。

- 問 1. [ア] ~ [オ] に入る最も適切な語をそれぞれ記せ。
- 問 2. [エ] が活性化に寄与するプロテインキナーゼを 1 つ記せ。
- 問 3. 図 2 について。HA-GPCR-X-GFP 発現細胞の抽出液では HA 抗体で検出されるバンドがあるのに対し、HA-GPCR-Y-GFP 発現細胞の抽出液では HA 抗体でバンドが検出されない。HA 抗体で検出されない理由を 1 行程度で記せ。
- 問 4. 図 2 について。翻訳中の GPCR-X が小胞体膜へと組込まれ始める際の仕組みは、GPCR-Y の場合とどのように異なると考えられるか。シグナル認識粒子の認識部位という観点から、2 行程度で記せ。
- 問 5. 図 3 について。易動度が異なる 2 本のバンド（レーン 1）はそれぞれ、GPCR-X が小胞体から形質膜へと小胞輸送される過程のどの段階にあると予想されるか。理由も含めて、5 行程度で記せ。
- 問 6. 図 3 について。形質膜上に発現している HA-GPCR-X-GFP は、レーン 1 の 2 本のバンドのうち、どちらの易動度を示すのかを調べたい。実験を 1 つ考案し、4 行程度で記せ。
- 問 7. 下線部 (a) について。細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が、小胞体等の細胞内 Ca^{2+} ストアからの Ca^{2+} 放出に由来することを確かめたい。このことを調べる実験を 1 つ考案し、2 行程度で記せ。

[第7問]

次の文を読み、以下の問1~6に答えよ。

<文>

真核生物の遺伝子の機能は、ゲノム DNA から mRNA が転写され、mRNA からタンパク質が翻訳されることで発揮される。しかしながら、近年の転写産物の網羅的解析（トランск립トーム解析）により、タンパク質に翻訳されない多くの RNA が転写されていることが明らかになった。これらの中には遺伝子発現のさまざまな段階を制御しているものが含まれており、[ア] RNA と呼ばれる。[ア] RNA は、およそ 20~30 塩基長の短い RNA から数 10 キロ塩基長におよぶ長いものまで存在する。このような RNA の中には microRNA や、従来からよく知られているタンパク質の翻訳に必須の RNA である [イ] や [ウ] も含まれる。動物細胞の場合、^(a) microRNA は、相補的な塩基配列を主に 3' 非翻訳領域にもつ mRNA の発現を抑制する。このとき、microRNA は特定のタンパク質と複合体を形成し、それらのタンパク質を介して^(b) mRNA の 5' 末端や 3' 末端にある構造を壊して、mRNA を不安定化する。

次世代シークエンサーを用いたトランск립トーム解析では、転写開始点を網羅的に解析することができる。生後 1~10 日目のマウスの組織を集めて RNA を抽出し、転写開始点を解析すると、特定の 1 箇所から転写を開始する遺伝子が存在することが確認されたが、それ以外に^(c) 複数箇所に転写開始点をもつ遺伝子が多数あることもわかつてきた (図 1)。複数箇所からの転写の開始はランダムではなく、規則性をもつ可能性がある。これを検証する方法の一つとして、^(d) 同一の祖先遺伝子から進化したと考えられる遺伝子における転写開始点を異種間で比較することが有効な場合がある。また、遺伝子の転写を調節する領域（プロモーターやエンハンサー）におけるゲノム DNA のメチル化は、転写活性化に影響を与える。このような領域における^(e) ゲノム DNA のメチル化を解析することで、ゲノム DNA からの転写の様子を網羅的に解析することが可能である。

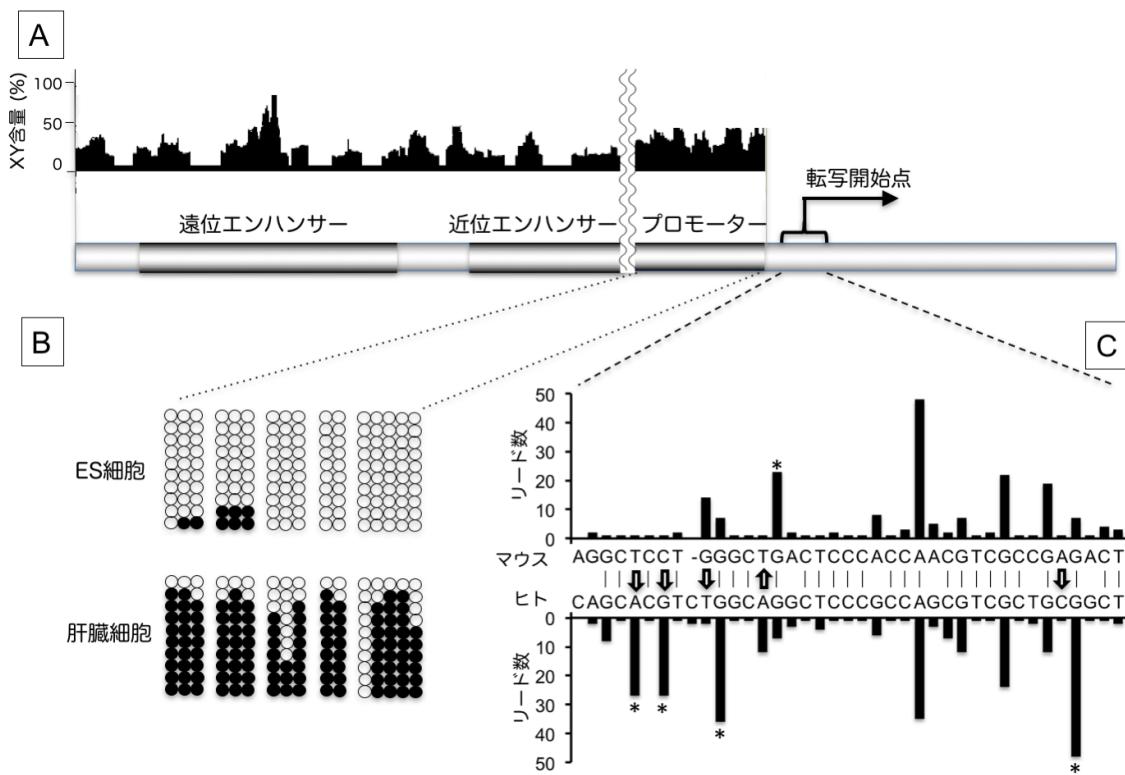


図 1. マウスの遺伝子 Q の転写開始点とその上流領域のメチル化状態。

- (A) マウスの遺伝子 Q の上流領域の模式図と、対応する領域における X と Y 塩基の含量。
- (B) プロモーター領域における、マウス胚性幹細胞（ES 細胞）と肝臓細胞のゲノム DNA のメチル化状態。白丸はメチル化を受けていない DNA、黒丸はメチル化を受けている DNA を示している。
- (C) マウスとヒトの遺伝子 Q の転写開始点を次世代シーケンサーで解析した結果。縦軸は、その位置の塩基から転写が始まっていたシーケンスリードの数（転写の頻度）を示す。ヒトとマウスを比較して転写の頻度に有意な増加が見られた箇所を星印 (*) で示し、その原因と考えられる塩基置換が前後 1 塩基以内にある場合は、その置換を矢印で示した（矢印の向きは置換による転写頻度の増加方向を示す）。

問 1. [ア] ~ [ウ] に入る適切な語句を記せ。

問 2. 下線部 (a) について、以下の問いに答えよ。

- (1) microRNA による mRNA の抑制作用には、microRNA と標的となる mRNA の塩基対合が影響すると考えられる。二本鎖 RNA の対合の強さを決める塩基間の相互作用にはどのようなものがあるか。その名称を 2 つ答えよ。

- (2) microRNA は通常、標的となる mRNA の 3'非翻訳領域に相補的に対合してその機能を抑制する。一方、microRNA は mRNA の翻訳領域には安定に対合できないために、多くの場合、抑制効果を示さない。この理由として想定されることを 4 行程度で記せ。

問 3. 下線部 (b) について。mRNA の 5'末端と 3'末端には、mRNA を安定に保つための特徴的な構造がある。これらの構造の名称をそれぞれ答えよ。

問 4. 下線部 (c) について、以下の問い合わせに答えよ。

- (1) 1 つの遺伝子に複数の転写開始点が存在する場合がある理由として考えられることを 2 つ挙げ、それぞれ 1~2 行で説明せよ。
- (2) 真核生物の RNA ポリメラーゼ II による転写開始点には連続した 2 塩基の配列に特定の規則性があることが知られている。どのような特徴をもつと考えられるか。図 1C のデータにもとづいて答えよ。

問 5. 下線部 (d) について、以下の問い合わせに答えよ。

- (1) このように、異なる生物種に存在し、種分化によって生じた相同遺伝子を何というか。その名称を答えよ。また、その例を 1 つ挙げよ。
- (2) (1) とは対照的に、同一生物種に存在し、祖先遺伝子の重複により生じたと考えられる 2 つの遺伝子を何というか。その名称を答えよ。また、その例を 1 つ挙げよ。

問 6. 下線部 (e) について、以下の問い合わせに答えよ。

- (1) 図 1B は、遺伝子 Q のプロモーター領域におけるゲノム DNA のメチル化の様子を示している。マウスの ES 細胞では、ほとんどメチル化はおこっていないが、肝臓や他の多くの分化した細胞では強くメチル化がおこっていた。遺伝子 Q はどのような機能に関わると考えられるか。1~2 行で記せ。
- (2) 図 1A のようにプロモーター領域では XY (X と Y はある塩基を示している) の含量が高く、ゲノム DNA のメチル化は XY という連続した塩基配列の X に起こることが知られている。X と Y の塩基は何か。それぞれ答えよ。

草稿用紙

[第8問]

動物学に関する次の文1と文2を読み、以下の問1~7に答えよ。

<文1>

動物の行動や運動をになう筋肉のはたらきは、神経やホルモンにより制御・調節されており、そのさまざまな過程において Ca^{2+} が重要な役割をはたしている。脊椎動物の骨格筋 (skeletal muscle) では、運動ニューロン (motor neuron) からの刺激によって (a) 筋細胞の膜電位 (membrane potential) が [ア] を起こすとそれに続く一連の細胞内構造の変化と反応が誘起され、筋収縮 (muscle contraction) が起こる。 Ca^{2+} は、筋収縮の機構に必須なだけではなく、筋収縮が神経によって制御される過程においても重要である。骨格筋の細胞表面で運動ニューロンからの情報を受ける場が [イ] である。ここで (b) 運動ニューロンの末端から [ウ] が放出される時にも Ca^{2+} が必須である。ところで、哺乳類の心臓の拍動は、副交感神経 (迷走神経) と交感神経による調節を受けている。迷走神経末端から放出される [ウ] は、心筋ペースメーカー (pacemaker) の膜の K^+ コンダクタンス (conductance) を増大させ、膜電位を [エ] させることにより心臓の拍動を遅くする。一方、交感神経から放出される (c) [オ] は、心筋細胞の Ca^{2+} チャネルを修飾することにより心筋の収縮力を増強し、拍動を速くする。

問1. [ア] ~ [オ] に入る最も適切な用語を答えよ。

問2. 下線部 (a) について。筋収縮の機構について、その概要を「刺激から Ca^{2+} 放出まで」と「 Ca^{2+} 放出から収縮まで」の2つの段階に分け、次の用語を使い、あわせて5行程度で説明せよ。

用語：膜電位の [ア]、筋小胞体 (SR)、T管系、トロポニン、トロポミオシン、ミオシン、アクチン、太いフィラメント、細いフィラメント、ATP、滑り運動、首振り運動

問3. 下線部 (b) について。[ウ] が放出される機構を一般的に何と呼ぶか。また、この機構の概要を Ca^{2+} の役割に注目して、5行程度で説明せよ。

問4. 下線部 (c) について。[オ] の作用は、Gタンパク質 (G_S) 共役型受容体の関与する調節である。この調節機構について、細胞表面での受容から Ca^{2+} チャネルの修飾に至るまでの過程を、3行程度で説明せよ。

<文2>

ニワトリの背の皮膚 (skin) は羽毛 (feather) で覆われており、肢の一部の皮膚は鱗 (scale) で覆われている。羽毛をもつ表皮 (epidermis) になるのか、鱗をもつ表皮になるのかは、胚の時期における真皮 (dermis) による誘導 (induction) によって決まる。

ニワトリ胚の背の予定羽毛領域 (prospective feather area) と肢の予定鱗領域 (prospective scale area) の皮膚を種々の発生段階で切り出し、表皮と真皮に分け、図に示した組合せで真皮の上に表皮を重ねて培養した。結果は、図1～2に示してある。図1は、5～5.5日胚の背の表皮と10日胚の肢の真皮とを組み合わせると、正常な羽毛をもつ表皮になることなどを、図2は、12日胚の肢の表皮と7～7.5日胚の背の真皮とを組み合わせると、正常な羽毛と異常な羽毛とが形成され、鱗は形成されなかつたことなどを示している。

		背の表皮 (日胚)						背の真皮 (日胚)			
		5～5.5	6～6.5	7～7.5	8～8.5			5～5.5	6～6.5	7～7.5	8～8.5
(日胚) 皮の 肢	9	正常な羽毛	正常な羽毛	正常な羽毛	正常な羽毛	(日胚) 皮の 肢	9	正常な羽毛	正常な羽毛	正常な羽毛	正常な羽毛
	10	正常な羽毛	正常な羽毛	正常な羽毛	正常な羽毛		10	正常な羽毛	正常な羽毛	正常な羽毛	正常な羽毛
	11	正常な羽毛	正常な羽毛	正常な羽毛	正常な羽毛		11	正常な羽毛	正常な羽毛	正常な羽毛	正常な羽毛
	12	正常な羽毛 異常な羽毛 正常な鱗	正常な羽毛 異常な羽毛 正常な鱗	正常な羽毛 異常な羽毛 正常な鱗	正常な羽毛 異常な羽毛 正常な鱗		12	正常な羽毛 異常な羽毛	正常な羽毛 異常な羽毛	正常な羽毛 異常な羽毛	正常な羽毛 異常な羽毛
	13	異常な羽毛 正常な鱗	異常な羽毛 正常な鱗	異常な羽毛 正常な鱗	異常な羽毛 少量の 正常な羽毛		13	異常な羽毛	異常な羽毛	異常な羽毛	異常な羽毛

図1. 5～8.5日胚の背の表皮 (予定羽毛領域) と9～13日胚の肢の真皮 (予定鱗領域) とを組み合わせて培養した結果。

図2. 9～13日胚の肢の表皮 (予定鱗領域) と5～8.5日胚の背の真皮 (予定羽毛領域) とを組み合わせて培養した結果。

問5. 肢の真皮と背の真皮が、本来の誘導能を發揮する時期はいつか。それぞれについて1行、計2行程度で述べよ。

問6. 背の表皮と肢の表皮の予定運命に可塑性 (plasticity) がある時期はいつか。それぞれについて根拠とともに2行 (計4行) 程度で述べよ。

問7. この系に関わる因子の候補として、分泌性のタンパク質A (secretory protein) を仮定する。真皮から分泌される誘導因子がAであると同定するための3種類の実験を挙げ、予想される結果とともに記せ。それぞれの実験について2行 (計6行) 程度で述べよ。

[第9問]

植物学の選択問題 I~VI の 6 問題から 3 問題を選び、答えよ。

[選択問題 I]

植物のゲノムに関する以下の問 1 に答えよ。

- 問 1. 植物では、近縁種の間でもゲノムサイズが大きく異なる場合がしばしばある。これは、植物のゲノムサイズを変える進化が短い期間でも起こることを反映している。ゲノムサイズを変化させる機構を 2 つ挙げ、それぞれ 3 行程度で述べよ。

[選択問題 II]

植物細胞の液胞 (vacuole) は、動物細胞のリソソーム (lysosome) と相同的な細胞小器官であると言われる。両者の比較に関する以下の問 2~3 に答えよ。

- 問 2. 植物細胞の液胞と動物細胞のリソソームに共通し、他の細胞小器官には見られない特徴を 2 つ挙げ、それぞれ 1 行程度で述べよ。
- 問 3. 動物細胞のリソソームには見られない、植物細胞の液胞の特徴や機能を 3 つ挙げ、それぞれ 1 行程度で述べよ。

[選択問題 III]

植物の発生に関する以下の問 4 に答えよ。

- 問 4. オーキシン (auxin) は、いろいろな遺伝子の作用と関わり合いながら、さまざまな発生イベント (developmental events) を制御している。その発生イベントを 2 つ挙げ、その制御機構について、関連する遺伝子の名称を含めて、それぞれ 3 行以内で説明せよ。

[選択問題 IV]

種子植物の遺伝子に関する以下の問 5～7 に答えよ。

種子植物から初めて同定されたホメオボックス (homeobox) 遺伝子の ア 遺伝子は、トウモロコシのシート頂分裂組織 (shoot apical meristem) で発現し、 イ では発現が見られないことから、一時、葉としてのアイデンティティを決める遺伝子ではないかという議論が盛んになされた。その後、トマトなどのように、単葉ではなく ウ をもつ植物種においては、一部の例外を除き イ でも発現が認められることがわかった。また、 イ における異所的発現、あるいは過剰発現の効果などから、現在では分裂組織の無限性と有限性の区分に関わる可能性が指摘されている。

問 5. ア ~ ウ に入る最も適切な語句を記せ。

問 6. ア 遺伝子がコードするタンパク質に類似した配列をもつ遺伝子群 (遺伝子ファミリー) の名称を記せ。

問 7. 種子植物において、動物における Hox 遺伝子群と類似した発生上の機能をもつ遺伝子群 (遺伝子ファミリー) の名称を記せ。

[選択問題 V]

植物生態学に関する以下の問 8～9 に答えよ。

問 8. 陸上生態系において、単位土地面積あたりの純一次生産量は、年平均気温および年降水量と密接な関係がある。年平均気温と年降水量は、どのように純一次生産量を規定しているのか。生理学的な観点から、5 行以内で説明せよ。

問 9. 年平均気温が高く年降水量が少ない地域には、CAM 植物が見られることが多い。ある種の CAM 植物は電線に着生しても生活できる。CAM 植物は、どのようなしくみで水分を吸収し、光合成を行っているか。5 行以内で説明せよ。

[選択問題 VI]

孔辺細胞 (guard cell) の膨圧運動 (turgor movement) に関する次の文を読み、以下の問 10 に答えよ。

気孔の開閉は孔辺細胞の膨圧運動による。この膨圧運動の特徴を捉える上で鍵となる要素には、孔辺細胞の体積 V 、水ポテンシャル Ψ 、膨圧 P 、浸透圧差 $\Delta\pi$ (細胞内浸透圧から細胞外浸透圧を引いた値)、膜電位 ΔE (細胞外を基準とする細胞内の電位) がある (表 1 を参照)。今、閉じきった気孔の孔辺細胞 (closed より、 c の添え字で表す)、開きかけている気孔の孔辺細胞 (beginning to open より、 b の添え字で表す)、開ききった気孔の孔辺細胞 (opened より、 o の添え字で表す) について考える。気孔の開閉に関わらずアポプラストの水ポテンシャルがほぼ一定に保たれており、気孔が閉じきっているときと開ききっているときには、正味の水の移動がないとすれば、気孔の開閉の状態と、孔辺細胞の各要素の値の増減および大小関係とを単純に対応づけることができる。

表 1.

	体積	水ポテンシャル	膨圧	浸透圧差	膜電位
閉じきった気孔の孔辺細胞	V_c	Ψ_c	P_c	$\Delta\pi_c$	ΔE_c
開きかけている気孔の孔辺細胞	V_b	Ψ_b	P_b	$\Delta\pi_b$	ΔE_b
開ききった気孔の孔辺細胞	V_o	Ψ_o	P_o	$\Delta\pi_o$	ΔE_o

問 10. 次の (1) ~ (8) の要素の値 (および 0) について、大小関係を不等号または等号を使って表せ。

- (1) V_c 、 V_b 、 V_o について。
- (2) Ψ_c 、 Ψ_b 、 Ψ_o 、および 0 について。
- (3) P_c 、 P_b 、 P_o 、および 0 について。
- (4) $\Delta\pi_c$ 、 $\Delta\pi_b$ 、 $\Delta\pi_o$ 、および 0 について。
- (5) ΔE_c 、 ΔE_b 、および 0 について。
- (6) P_c と $\Delta\pi_c$ について。
- (7) P_b と $\Delta\pi_b$ について。
- (8) P_o と $\Delta\pi_o$ について。

草稿用紙

[第 10 問]

自然人類学の問 1～3 に答えよ。

- 問 1. 現生人類はアフリカで生じ、ユーラシア大陸に拡散していった。これらの様相について、以下の用語をすべて用い、5～10 行で論ぜよ。その際、二命名法 (binomial nomenclature) による学名を少なくとも 3 つ使用せよ。

用語：種間競争、集団サイズ、環境変動、10 万年前、先史学的証拠、
古代 DNA

- 問 2. ヒトを含めた大型類人猿の分子系統関係に関する我々の理解は、どのように変化してきたか。以下の 3 つの配列データを用いた研究を比較しながら、5～10 行で説明せよ。

アミノ酸配列、遺伝子塩基配列、全ゲノム配列

- 問 3. 生物のエネルギー消費のしかたは、種によって異なっている。最近の研究によれば、体重で補正した総エネルギー消費量 (kcal/日) を種間で比較すると、ヒトの値はチンパンジー、ゴリラ、オランウータンより大きかった。また、この違いは主として基礎代謝量（安静時のエネルギー消費量）の違いに起因していた。この知見は、人類進化に関するある疑問を解く鍵となり得る。その疑問とは何か、またどのような説明があり得るか。以下の用語をすべて用い、5 行程度で論ぜよ。

用語：個体の維持、成長、繁殖、代謝率、トレードオフ、脳重量、
コドモ期間、出産間隔

草稿用紙

[第 11 問]

系統分類学の選択問題 I または II のどちらかを選び、答えよ。

[選択問題 I]

以下の問 1~3 に答えよ。

- 問 1. 前口（旧口）動物と後口（新口）動物とを区別する一般的な特徴を 3 つあげ、それぞれの特徴において両者がどのように異なるのかを説明せよ。
- 問 2. 伝統的な分類体系で定義された前口（旧口）動物と後口（新口）動物の枠組みは、分子系統解析でもおおむね支持されたが、一部の動物門の所属については支持されなかった。このような動物門名を 1 つあげて、問 1 で答えた特徴がどのように進化したと考えられるかを 5 行程度で具体的に説明せよ。
- 問 3. 前口（旧口）動物と後口（新口）動物とをまとめたグループの名称を答えよ。また、そのグループと他のグループを識別する一般的な形態学的特徴を 2 つあげ、その違いを 2 行程度で説明せよ。

〔選択問題 II〕

以下の問 4～5に答えよ。

問 4. 生物の系統と分類・進化に関する以下の小問 (1) ~ (3) に答えよ。

- (1) シダ植物は、独立した胞子体と配偶体をもつ維管束植物と定義されていたが、最近の分子系統解析により側系統群であることが明らかになった。すなわち、シダ植物は、種子植物と姉妹群となるグループ A と、両者の外側・基部に位置するグループ B とを含んでいる。グループ A の名称を答えよ。また、これに含まれる生物を以下からすべて選べ。

マツバラン、トクサ、ヒカゲノカズラ、ゼンマイ、イチョウ、
ゼニゴケ、クラマゴケ

- (2) 2005 年以降、真核生物は大きく 6 つまたは 5 つのスーパーグループに分類されるという見解が一般的になってきた。マツタケが所属するスーパーグループの名称を答えよ。また、これに所属する生物を以下からすべて選べ。

シイタケ、アカパンカビ、ミズカビ、コウジカビ、酵母菌、
真正粘菌、細胞性粘菌

- (3) クロロフィル *a* と *b* をもつ一次植物は 2 つの大きな単系統群 C と D に大別される。単系統群 C には陸上植物 (land plants) と緑藻 (green algae) とが含まれる。単系統群 C に含まれる緑藻の一般的な生育環境を 1 行で記せ。また、その進化生物学的意義を 2 行程度で考察せよ。

問 5. 光合成をして生育する約 10 cm の生物 E を採取した。系統的位置を調査するために DNA を抽出しようと思い、ルーペでよく見ると別の生物 F が生物 E の内部まで侵入していた。生物 F を排除するのは困難と判断し、蒸留水で洗浄した後 DNA を抽出した。この DNA 抽出液を用いて、18S rDNA の真核生物全体で保存的な配列から作成したプライマーを用いた PCR を実施した。PCR 産物を解析した結果、非常に近縁な 2 種類の異なる配列が検出された。以上の結果から生物 E と生物 F はそれぞれどのようなものであると考えられるか、可能性を 2 つあげ、それぞれ 2 行程度で考察せよ。