

生 物 (4 問題 100 点)

生物問題 I

次の文(A), (B)を読み、問1～問8に答えよ。解答はすべて所定の解答欄に記入せよ。

(A) 遺伝子組換え技術の進歩および細胞や組織、胚などの培養法の発達によって、目的に応じた遺伝子組換え生物が作製できるようになってきた。これらの技術と方法は、生体内の分子の変動や働きを定量化したり、観察したりする際にも用いられ、様々な生命現象を分子レベルで解き明かすために役立っている。遺伝子組換え技術を用いて、オワンクラゲ由来の蛍光タンパク質(GFP)をコードする遺伝子を細胞に導入し、GFPの蛍光で細胞を光らせるために、以下の実験を行った。

実験1：*Eco*RI と *Bam*HI は、特定の塩基配列を認識して切斷する ア 酵素である。温度の上下を繰り返して DNA を増やす イ 法を用いて、*Eco*RI と *Bam*HI の認識配列で両端が挟まれた GFP 遺伝子を含む DNA を増幅した。

実験2：実験1で得た DNA を *Eco*RI と *Bam*HI で切斷した。

実験3：環状DNAのプラスミドは、目的のDNAを大腸菌や細胞の中に運ぶ ウ としての働きがある。実験に用いたプラスミドには、GFP遺伝子を細胞で発現させるために必要な“転写調節配列”と“プロモーター”(以後、2つをまとめて“プロモーター領域”と呼ぶ)，それに続いて *Eco*RI と *Bam*HI の認識配列が順に挿入してある。このプラスミドを *Eco*RI と *Bam*HI で切斷した。

実験4：実験2と実験3で得たDNA断片を混合した後、エ という酵素を使って切斷部分をつなぎ合わせた。

実験5：実験4で作製した組換えプラスミドDNAを大腸菌に導入する操作を行った後、増殖した大腸菌から組換えプラスミドDNAを得た。

問題 6～8 大問

実験 6：実験 5 で得た組換えプラスミド DNA を細胞に導入し、数時間後に蛍光顕微鏡で観察すると、細胞内で GFP の蛍光が認められた。

問 1 文中の **ア** ~ **エ** に適切な語句を記入せよ。

問 2 実験 1 では、鑄型となる 2 本鎖 DNA、プライマー、熱耐性 DNA 合成酵素と 4 種類のヌクレオチドを混ぜた溶液を、95 °C で熱した後、55 °C 付近に温度を下げるから 72 °C に温度を上げるサイクルを繰り返す。3 段階に設定した各温度ではどのような反応が起こるか、解答欄の枠の範囲内で説明せよ。

問 3 下線部①の操作を行うと、プラスミドが導入された大腸菌と、導入されなかった大腸菌が混在する。この中からプラスミドが導入された大腸菌を選別して増やすためには、前もってプラスミドに遺伝子操作を行い、それによって大腸菌を生育に有利な形質に転換すればよい。プラスミドが導入された大腸菌を選別して増やすための具体的な方法を解答欄の枠の範囲内で述べよ。

問 4 ある遺伝子のプロモーター領域のあとに GFP 遺伝子をつないだ組換えプラスミドを新たに作製し、マウス ES 細胞(胚性幹細胞)に導入すると、GFP の蛍光が ES 細胞で観察された。一方、この ES 細胞から作られた心筋細胞、神経細胞あるいはすい臓の細胞では GFP の蛍光が観察されなかった。以下の(1)と(2)の問い合わせに答えよ。

(1) マウス ES 細胞は、初期胚のどの部分から取り出した細胞に由来するか、また、ES 細胞に特有な性質は何か、解答欄の枠の範囲内で説明せよ。

(2) ES 細胞で GFP の蛍光が観察されたのに対し、ES 細胞から作られた各種細胞で観察されなかったのは、プロモーター領域による GFP 遺伝子の転写調節が ES 細胞と各種細胞で違っていたためである。この違いについて、解答欄の枠の範囲内で説明せよ。

(B) 我々が手や足を思い通りに動かすことができるるのは、脳からの命令が神経細胞を通して筋肉に伝えられるからである。図1の模式図に示すような神経筋接合部に命令が伝えられると、太いフィラメントと細いフィラメントがすべり運動を起こすことによって筋肉が収縮する。なお、太いフィラメントと細いフィラメントの主成分は、それぞれ **オ** と **カ** というタンパク質である。神経細胞の膜には、イオンの濃度差に逆らって、ナトリウムイオンを細胞の **キ** 側から **ク** 側へ、カリウムイオンを細胞の **ク** 側から **キ** 側へ **ケ** 輸送するナトリウムポンプが存在する。通常の状態では、細胞の **ク** 側が正に帯電するように **コ** が保たれている。

イオンチャネルの開閉によって神経細胞の **コ** 変化が図1のシナプス前膜まで伝えられると、シナプス小胞から神経伝達物質であるアセチルコリンが放出されアセチルコリン受容体に結合する。この受容体はイオンチャネルでもあり、チャネルが開いて、イオンが流入することで筋肉を収縮させる。アセチルコリン受容体は、アセチルコリンの結合によってチャネルをすばやく開くが、結合したアセチルコリンを離すには比較的長い時間が必要である。脳から繰り返し送られる命令に従って、すばやく正しく筋肉を動かすために、図1のように多数の受容体分子がシナプス後膜に密に存在している。

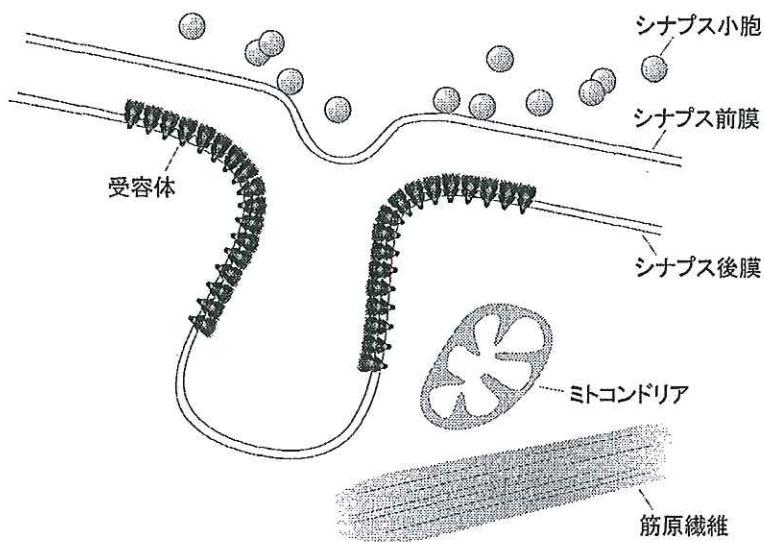


図1

問 5 文中の **オ** ~ **コ** に適切な語句を記入せよ。

問 6 ウサギの骨格筋から筋纖維を取り出して細胞膜だけを取り除いた筋の標本を作製した。この標本を弛緩状態から収縮させるには、ある物質とあるイオンが必要である。それぞれを解答欄の(a)と(b)に記入せよ。次に、収縮状態から弛緩状態にするにはどちらをどう変化させるとよいかを解答欄の(c)に記入せよ。

問 7 骨格筋の筋原纖維のまわりには、イオンの濃度調節を行う特別な膜構造がある。その膜構造の名前と、そこに存在するポンプの名前とを用いて、筋収縮と弛緩を調節する仕組みについて、解答欄の枠の範囲内で説明せよ。

問 8 筋肉は、脳から繰り返し送られる命令に正しく応答して、すばやく動くことができる。アセチルコリンが結合するとアセチルコリン受容体のチャネルはすばやく開くが、結合したアセチルコリンはすぐには離れられない。アセチルコリンが結合してチャネルが開いたアセチルコリン受容体は、その後にチャネルをどのような状態にするか、解答欄の枠の範囲内で説明せよ。

生物問題 II

次の文(A)～(C)を読み、問1～問6に答えよ。解答はすべて所定の解答欄に記入せよ。

(A) マウスの卵母細胞は減数分裂の ア 期で停止したまま排卵され、精子の進入により減数分裂を再開する。その後、卵母細胞は不等分裂をおこし、大量の細胞質を含んだ卵と、細胞質の極めて少ない イ を生じる。卵細胞質内に進入した精子の核と卵核が融合することにより、受精が完了する。受精した卵は卵割を繰り返し、桑実胚などを経て子宮内に ウ する。卵割期のマウスの卵は、割球が分離してもそれから完全な胚が生じる。このような能力をもつ卵を エ という。ウ した後、胚のまわりには胚膜がつくられる。胚膜は オ、尿のう、卵黄のう、カ からなり、胚を乾燥や衝撃から守る役割をもつ。カ の一部と尿のうは母体とのガス交換、栄養分と老廃物の交換を行う キ を形成する。

問1 文中の ア ~ キ に適切な語句を記入せよ。

(B) マウスの染色体数は40本であり、19対の常染色体と1対の性染色体からなる。雌雄は性染色体により決められ、XとY染色体を1本ずつもつものは雄、2本のX染色体をもつものは雌となる。雄のX染色体は母親に由来するが、雌は母親に由来するX染色体(Xm)と父親に由来するX染色体(Xp)をもつ。雌の体細胞では、X染色体上の遺伝子の発現量を雄と等しくするために、XmまたはXpいずれかの染色体が不活性化されている。どちらの染色体が不活性化されるかは、あらかじめ決められていない。一方、雌の生殖細胞では、発生の早い時期には片方のX染色体が不活性化されているが、受精後12日目には両方のX染色体が活性化される^①。これにより、減数分裂後に生じたいずれの卵も活性化されているX染色体をもつようになる。X染色体上の遺伝子は活性化されているX染色体から転写され、不活性化されているX染色体からは転写されない。

問2 ある疾患はX染色体上の遺伝子の変異により引き起こされる。この遺伝子は酵素Eをコードする。この遺伝子のある変異は酵素Eの活性を消失させる。酵素Eの活性が低下したマウスは、この疾患を発症する。ただし、この疾患は生殖機能には影響しない。図1はこの変異をもつマウスの交配により得られた個体と、各世代の症状の程度を示している。発症した個体のうち、雄のすべてが重症個体である理由と、雌で軽症個体と重症個体の両方があらわれる理由を解答欄の枠の範囲内で説明せよ。

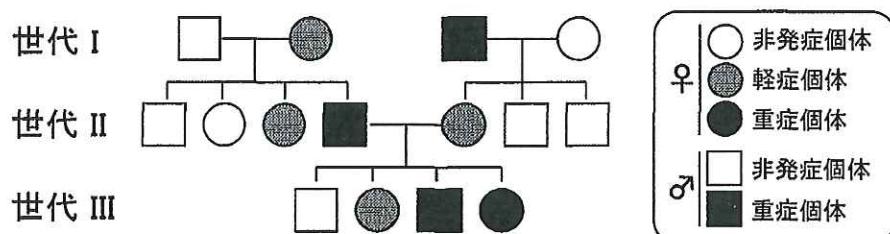


図1

問 3 図1の軽症の雌の皮膚から細胞を1つずつ分離して培養し、単一の細胞に由来する細胞集団を6集団得た。また、非発症の雌および重症の雌についても同様の培養を行った。それぞれの細胞集団の酵素Eの活性を調べると、非発症の雌由來の集団は図2の(あ)、重症の雌由來の集団は図2の(い)のようになつた。軽症の雌由來の細胞集団における酵素Eの活性はどのようになるか。適切なものを図2の(う)～(き)の中から選び、解答欄に記入せよ。グラフ内の0は酵素活性がないことを表す。縦軸は酵素Eの活性を、横軸の数字は各細胞集団を示す。

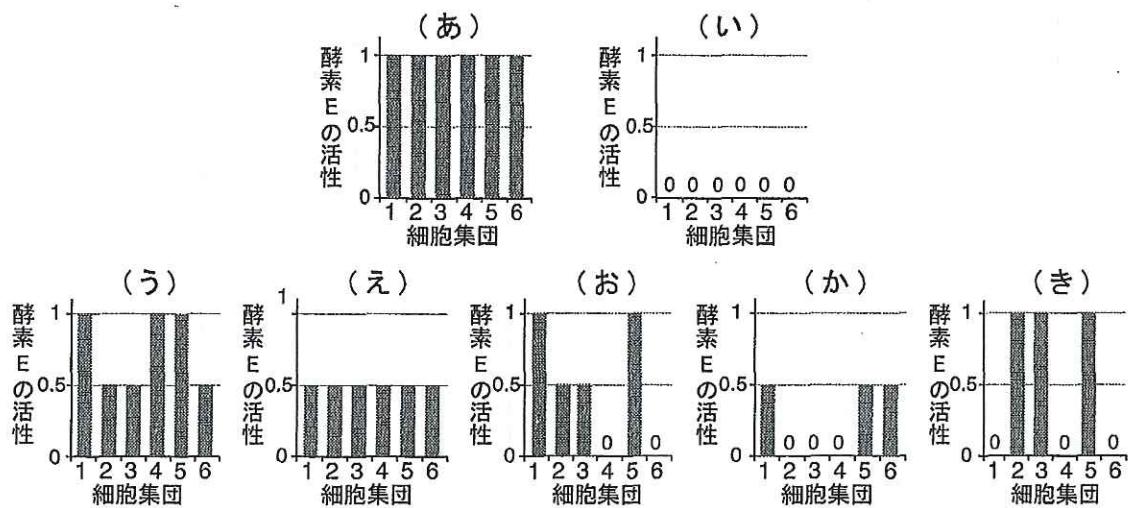


図2

問 4 下線部①について、蛍光タンパク質をコードする遺伝子 F を X 染色体上にもつマウスを用いて、生殖細胞における X 染色体の活性化の状態を調べた。遺伝子 F をもつ雄 ($X^F Y$) と片方の X 染色体に遺伝子 F をもつ雌 ($X^F X$) との交配により、 $X^F X^F$ 、 $X^F X$ 、 $X^F Y$ の遺伝子型をもつ胚を得た。それぞれの胚の受精後 10～13 日目の生殖細胞 1000 個を破碎し、蛍光タンパク質の量を測定した。その結果を示すと考えられる組み合わせを図 3 の(く)～(す)の中から選び、解答欄に記入せよ。縦軸は蛍光タンパク質の量、横軸は受精後の日数を表す。

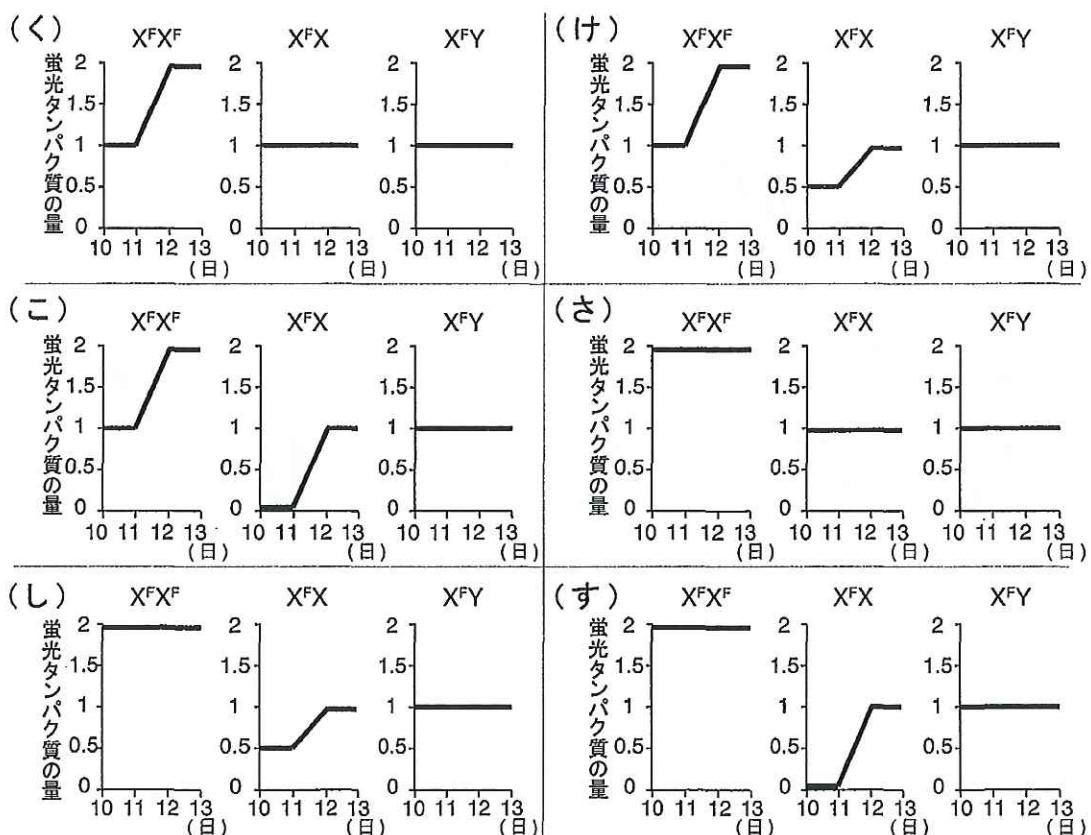


図 3

(C) 発生における雌雄の違いは、受精後 12 日目前後の生殖腺の体細胞に現れる。雄では Y 染色体上の遺伝子 Z の働きにより、生殖腺が精巣へ分化する。一方、Y 染色体のない雌の生殖腺は卵巣に分化する。受精後 12 日目には生殖細胞の発生にも雌雄差があらわれ、雌の生殖細胞は減数分裂をおこすが、雄の生殖細胞は体細胞分裂の G₁ 期で停止する。生殖細胞の発生の雌雄差にあたえる生殖腺の影響を調べるために、図 4 に示す実験 1～6 を行った。実験 1 と実験 2 では、雌または雄の受精後 11 日目の生殖腺から取り出した生殖細胞を単独で培養した。実験 3 と実験 4 では、雌または雄の受精後 11 日目の生殖腺から取り出した生殖細胞を異性の生殖腺に移植した。実験 5 と実験 6 では、雌または雄の受精後 12 日目の生殖腺から取り出した生殖細胞を異性の生殖腺に移植した。2 日後に観察した結果、生殖細胞は図 4 に示すように G₁ 期で停止するか、減数分裂した。

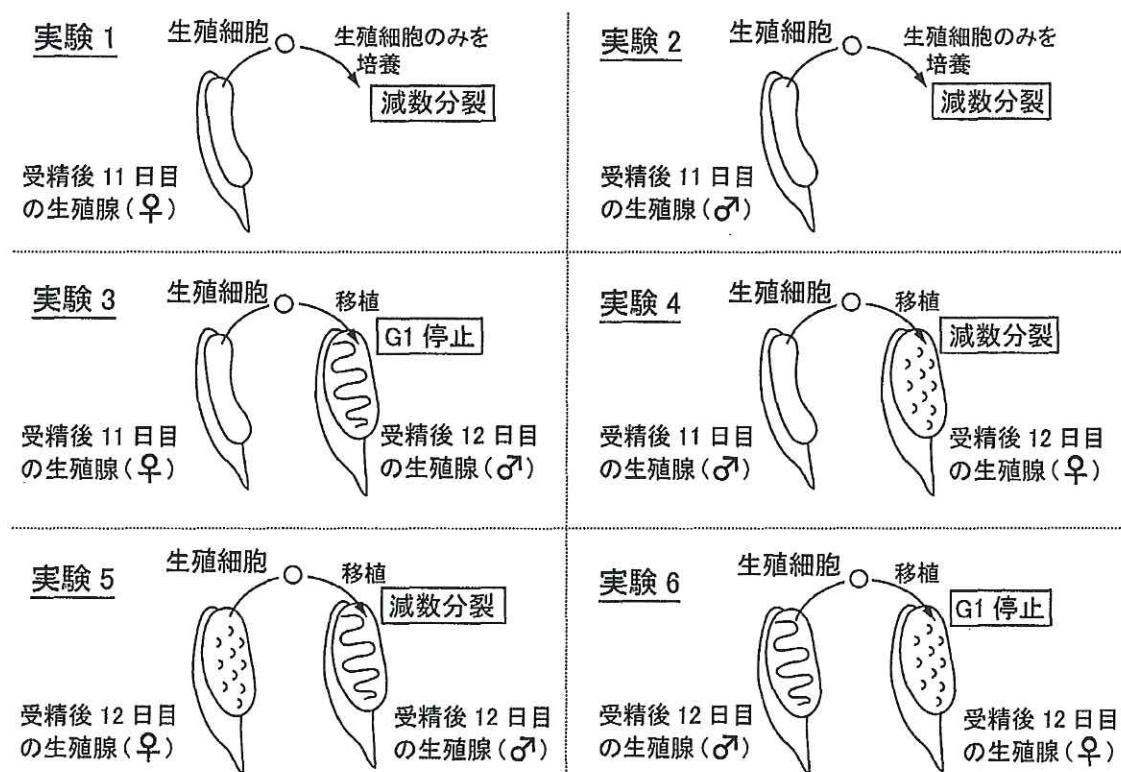


図 4

問 5 受精後 13 日目の雌の生殖細胞を受精後 12 日目の雄の生殖腺に移植すると、その生殖細胞はどのようになるか。予想される結果と、その結果が得られる理由を解答欄の枠の範囲内で記述せよ。

問 6 遺伝子 Z の働きを受精後 12 日目の胚(XY 個体)の生殖細胞のみでなくした。この生殖細胞を、受精後 12 日目の雌の生殖腺に移植した。この実験において予想される結果と、その結果が得られる理由を解答欄の枠の範囲内で記述せよ。

生物問題 III

次の文(A), (B)を読み、問1～問6に答えよ。解答はすべて所定の解答欄に記入せよ。

- (A) 純系の植物を自家受精して得られる子孫は、親と同じ形質を持つ。ここでは、異なる2つの純系の植物を交雑し、得られる植物を繰り返し自家受精させることによって新しい純系をつくりだす方法を考えてみよう。

二倍体の植物において、由来が異なる2種類の純系を交雑して得たF1世代の個体は、相同染色体の多くの座において遺伝子がヘテロ接合となる。ここで、対立遺伝子Aを持つ純系と対立遺伝子aを持つ純系の交雫を考えると、F1世代ではすべての個体がAaのヘテロ接合体になっている。また、F2世代の集団における各遺伝子型の個体数の割合は、AA:Aa:aa=1:2:1になる。したがって、F2世代におけるホモ接合体AAとaaの出現率は合わせて50%になる。次に、F2世代のすべての個体を自家受精して十分量の種子を得る。すべての個体から得られた種子を同じ割合で混合したF3世代のホモ接合体の出現率は [ア] % になり、この操作を繰り返したのちのF10世代では [イ] % になる。このように対象とする遺伝子座が1つの場合、第g世代(Fg世代；ただし $g \geq 2$)でのホモ接合体の出現率Q(%)は、 $Q = [\ウ] \times 100$ という式で表すことができる。次に、これらの集団における3つの遺伝子座のホモ接合の出現率について考える。これら3つの遺伝子座ではメンデルの独立の法則が成り立っており、F1世代ではそれぞれの座の遺伝子がいずれもヘテロ接合であるとする。このとき、これら3つの遺伝子座のすべてがホモ接合である個体の出現率は、F3世代で [エ] % になり、F6世代でようやく90%を超える。このように、自家受精の繰り返しによって新しい純系を得るには長い期間が必要である。

問1 文中の [ア] , [イ] に入れるべき数値を計算し、解答欄に記入せよ。必要な場合には、四捨五入して小数点以下1けたで記せ。

問 2 ウ に入れるべき数式を解答欄に記入せよ。

問 3 エ に入れるべき数値を計算し、解答欄に記入せよ。ただし、答えは四捨五入して小数点以下 1 けたで記せ。

問 4 自家受精の繰り返しによって純系を得るには長い期間が必要である。しかし、減数分裂後の未熟な花粉を培養し、得られる植物体の染色体数を倍加すれば、二倍体の純系を短期間で得ることができる。そこで、ある二倍体の植物において、3つの座の遺伝子型がそれぞれ AA, BB, CC の個体と、aa, bb, cc の個体とを交雑し、F₁ 個体を得た。A と B(または a と b) は連鎖しており、組換え価は 10 % である。この F₁ 個体の未熟な花粉を培養した場合、“aBC”という遺伝子の組合せを持つ植物体が得られる確率を計算し、解答欄に分数で記入せよ。

(B) ゲノム中には、CACACA・・・・のようにごく短い塩基配列(この場合は CA)が何回も繰り返されている部分がしばしばあり、マイクロサテライトと呼ばれている。相同染色体の同じ位置に存在するマイクロサテライトの塩基配列の繰り返し数は多様であるため、個体の識別や親子の判定に利用することができる。あるマイクロサテライトを含むDNAの領域を人工的に増幅し、得られたDNAをゲル電気泳動にかけると繰り返し数の違いが観察できる。たとえば、二倍体の生物個体の場合、相同染色体間で塩基配列の繰り返し数が異なれば2本のバンドが、同じであれば1本のバンドが観察される。

いま、ゲノム中の異なる領域にある2つのマイクロサテライトを用いて、ある木本植物の親子の判定をしようとしている。この植物は二倍体の被子植物で、昆虫などによって運ばれた別の個体の花粉によって受精がおこり、種子を1つだけ含む果実ができる。このとき、花粉を送り出した側の個体を花粉親と呼ぶ。1本の親木(以後これを母樹と呼ぶ)から果実を9個採取し、花粉親を特定するために、2つのマイクロサテライトの電気泳動像を解析した。その結果、母樹に隣接する花粉親x、花粉親y、花粉親zとの交雑によってつくられた果実がこの9個の中にそれぞれ1つずつ含まれていることが判明した。

問5 花粉親の特定のためには、採取した果実のうちどの部分を用いなければならないか。下の語句から適切なものを1つ選び、その記号を解答欄に記入せよ。

(オ) 果柄 (カ) 果皮 (キ) 果肉 (ク) 種皮 (ケ) 子葉

問6 図1と図2は、9個の果実(あ)～(け)について行ったマイクロサテライト1とマイクロサテライト2の電気泳動像である。マイクロサテライト1の電気泳動像ではA～E、マイクロサテライト2の電気泳動像ではF～Iのバンドが観察された。表1は花粉親x、花粉親y、花粉親zと母樹について観察されたバンドの一覧表である。この表中の右端の空欄(1)～(3)には、x、y、zをそれぞれ花粉親とする果実が1つずつ入る。該当する果実を(あ)～(け)の中から選び、解答欄に記入せよ。また、空欄(a)、(b)には母樹がもつバンドがそれぞれ1つまたは2つ入る。該当するバンドをA～Iの中から選び、解答欄に記入せよ。

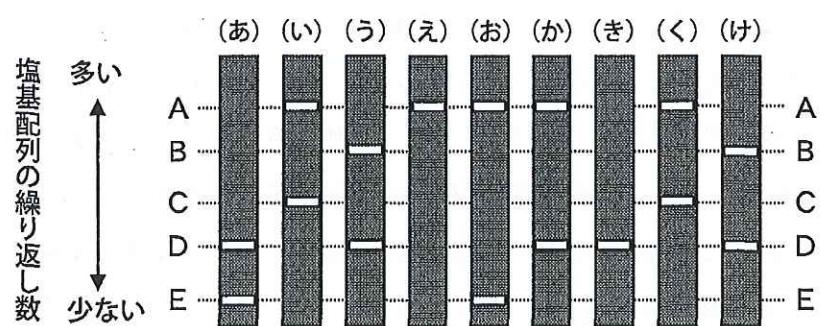


図1 マイクロサテライト1

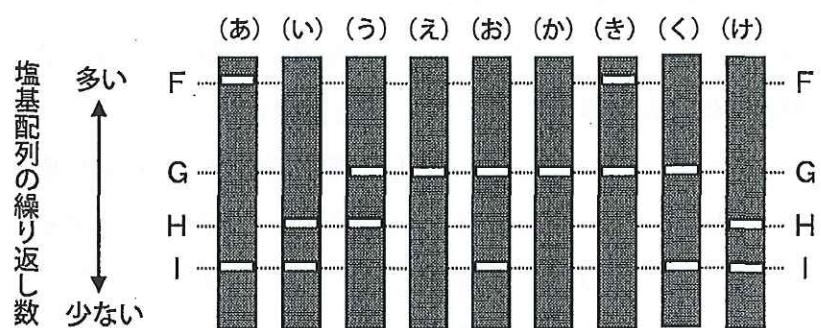


図2 マイクロサテライト2

表1

| | マイクロサテライト1 | マイクロサテライト2 | それぞれを花粉親とする果実 |
|------|------------|------------|---------------|
| 花粉親x | C | F, H | (1) |
| 花粉親y | A, E | F | (2) |
| 花粉親z | B, C | F, G | (3) |
| 母樹 | (a) | (b) | |

生物問題 IV

次の文(A), (B)を読み、問1～問8に答えよ。解答はすべて所定の解答欄に記入せよ。

(A) 光合成を行う原核生物である ア の祖先は、先カンブリア時代に原始海洋に出現した。その後、原始的な ア が核やミトコンドリアをもつ原始的な真核生物に共生して イ という細胞小器官となり、藻類が誕生した。

古生代のオルドビス紀からシルル紀にかけて藻類の一部の ウ 類が最初の陸上植物へと進化した。その後、陸上では エ をもつシダ植物が発展をとげた。 エ は、水分、無機塩類、有機物の通道と植物体の機械的支持を行い、陸上で生活に適した組織系と考えられている。

古生代のデボン紀には裸子植物が出現し、はじめて種子を形成した。種子は内部に胚や胚乳を含み、裸子植物の胚乳は胚のう内の細胞(核相n)が増殖することによって形成される。
①

被子植物は、約 a 年前にはじまる中生代に出現し、オ とよばれる受精形式を獲得した。被子植物は新生代に入ると急速に繁栄し、現在では約 b 種の現存する被子植物が記載(記録)されている。この種数は、知られている現存の全陸上植物の種数の約 90 % を占め、知られている現存の全生物の種数の約 15 % にあたる。

問1 文中の ア ~ オ に適切な語句を記入せよ。

問2 文中の a , b に入る最も近い数値を下から選び、それぞれ解答欄に記入せよ。

2.5万, 25万, 250万, 2500万, 2.5億, 25億

問 3 被子植物の胚乳形成は、下線部①の裸子植物の胚乳形成とは異なる。被子植物の胚乳形成の過程を、核相の変化に着目して、解答欄の枠の範囲内で記述せよ。

問 4 裸子植物と被子植物の胚乳形成の過程は異なるものの、胚乳形成のための主要な栄養は同じ供給源から運ばれてくる。その供給源として最も適切なものを下から選び、その記号を解答欄に記入せよ。

- (あ) 小胞子
- (い) 大胞子
- (う) 胞子体
- (え) 雌性配偶子
- (お) 雄性配偶子
- (か) 雌性配偶体
- (き) 雄性配偶体

(B) 個体群において、生まれた卵や子について、発育段階ごとに、その期間、死亡率、死亡要因などを明らかにして、時間とともに生存個体数が減少する過程を示した表を **力** という。また、時間の経過とともに変化する生存個体数をグラフで示したもの生存曲線といい、ふつう、同時期に生まれた個体の総数を 1000 として、その後の個体数の減少を時間の経過を追って示す。生存曲線は、一般に図 1 の a～c に示す 3 つの型に大別される。

表 1 と表 2 は、昆虫が成虫になるまでの **力** である。表 1 は、水田におけるミナミアオカメムシの個体群のものである。このカメムシの幼虫はイネの種子を摂食して育ち、成虫はイネの葉の表面に卵を産む。表 2 は、サトウキビ畑における、イワサキクサゼミというセミの個体群のものである。イワサキクサゼミの幼虫は地下でサトウキビの根から栄養をとる。そして、5 歳幼虫は地上に現れて成虫になり、サトウキビの葉の内部に卵を産む。

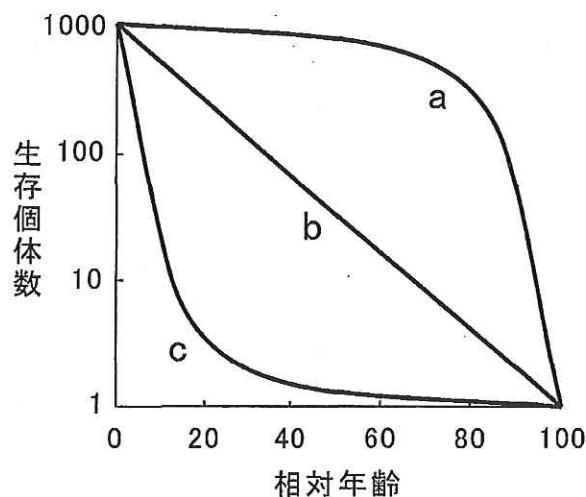


図 1

表 1

| 発育段階 | 期間(日) | 当初個体数 | 死亡個体数 | 死亡率(%) | 主な死亡要因 |
|------|-------|-------|-------|--------|--------|
| 卵 | 5 | 713 | 422 | 59.1 | 寄生バチ |
| 1齢幼虫 | 3 | 291 | 122 | 41.9 | 降雨 |
| 2齢幼虫 | 4 | 169 | 65 | 38.5 | 降雨 |
| 3齢幼虫 | 4 | 104 | 28 | 26.9 | 脱皮失敗 |
| 4齢幼虫 | 5 | 76 | 25 | 32.9 | 脱皮失敗 |
| 5齢幼虫 | 7 | 51 | 25 | 49.0 | 台風 |
| 成虫 | — | 26 | — | — | — |

Keizi Kiritani and Fusao Nakasuji (Researches on Population Ecology 9巻 143—152頁 1967年)より改変。

表 2

| 発育段階 | 期間(日) | 当初個体数 | 死亡個体数 | 死亡率(%) | 主な死亡要因 |
|------|-------|-------|-------|--------|--------|
| 卵 | 45 | 50842 | 5804 | 11.4 | アリ |
| 1齢幼虫 | 40 | 45038 | 43511 | 96.6 | アリ |
| 2齢幼虫 | 30 | 1527 | 632 | 41.4 | カビ |
| 3齢幼虫 | 100 | 895 | 240 | 26.8 | カビ |
| 4齢幼虫 | 150 | 655 | 245 | 37.4 | カビ |
| 5齢幼虫 | 360 | 410 | 144 | 35.1 | カビ |
| 成虫 | — | 266 | — | — | — |

Yosiaki Itô and Masaaki Nagamine (Ecological Entomology 6巻 273—283頁 1981年)より改変。ただし、各発育段階の期間はおよその推定値。

問 5 文中の **□** に適切な語句を記入せよ。

問 6 ミナミアオカメムシの生存曲線は、図1のa～cのどの型にあてはまるか。

表1の数値にもとづいて、a～cより選び、解答欄(1)に記号を記入せよ。さらに、どのように考えてそれを選んだかを、解答欄(2)の枠の範囲内で記述せよ。

問 7 ミナミアオカメムシの生存曲線と比較して、イワサキクサゼミの生存曲線のもつ特徴を解答欄の枠の範囲内で記述せよ。

問 8 イワサキクサゼミの生存曲線が、問7で答えた特徴をもつ理由を、各発育段階のイワサキクサゼミの生息する環境に着目して、解答欄の枠の範囲内で記述せよ。

生物問題は、このページで終わりである。