

生物問題

(解答はすべて生物解答用紙に記入すること)

[1] 遺伝子操作動物を作製して行った実験に関する以下の文章を読み、問1～4に答えよ。

胚性幹細胞は、生殖細胞を含めたすべての種類の細胞に分化する能力を持った細胞であり、実験室で培養が可能である。これまで、マウスから得られた胚性幹細胞がさかんに研究に用いられてきたが、最近ヒトからも胚性幹細胞が得られ、病気の治療に役立つのではないかと期待されている。

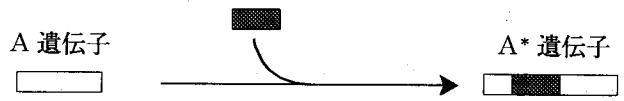
胚性幹細胞を用いると、特定の遺伝子を欠損した動物個体を作製し、遺伝子の機能や病気との関係を知ることができる。以下に、特定の遺伝子を欠損したマウスを作製して行った2つの実験例を示す。

[実験例1] A酵素をつくるA遺伝子が破壊された胚性幹細胞を作製するために、A遺伝子に薬剤耐性遺伝子(細胞の増殖を阻害する薬剤に対して抵抗性を付与する遺伝子)を挿入した。この操作により、A遺伝子は分断されまったく機能しなくなるが、挿入された薬剤耐性遺伝子は機能するようなA*遺伝子を作製した(図1-a)。

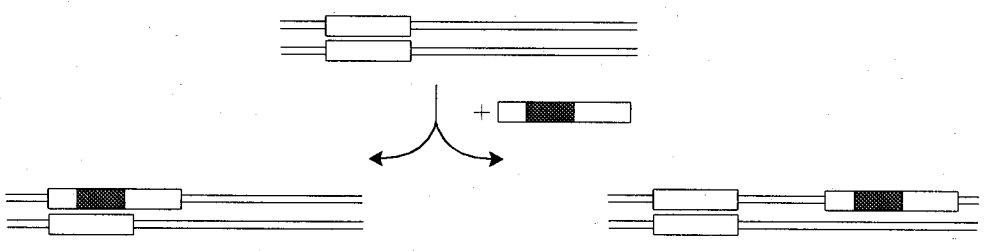
次に、A*遺伝子を胚性幹細胞の核内に導入した。A*遺伝子は細胞の染色体上に存在するA遺伝子と同じ配列をもつため、ある頻度で相同組換えと呼ばれる反応がおこり、染色体上のA遺伝子が外から導入したA*遺伝子に置き換えられる(図1-b)。ただし、それ以外の場所に入る非相同組換え(図1-c)が起こることもある。これらの組換えは低頻度でしか起こらないが、染色体にA*遺伝子が組み込まれれば、細胞は薬剤耐性となる。そのため、薬剤を培養液に加えて細胞を培養すると、大部分の細胞は増殖できず死滅するが、A*遺伝子が組み込まれた細胞は増殖して細胞集団(コロニー)をつくる(図1-d)。

薬剤に耐性をもたない胚性幹細胞 10^6 個に A* 遺伝子を導入して薬剤の入った培養液で培養したところ、10 個のコロニーが得られた。これらのコロニーを別個に増殖させ細胞を回収した。回収した細胞のもつ A 酵素の総活性を測定したところ、表 1 のような結果が得られた。

薬剤に対する抵抗性を付与する遺伝子

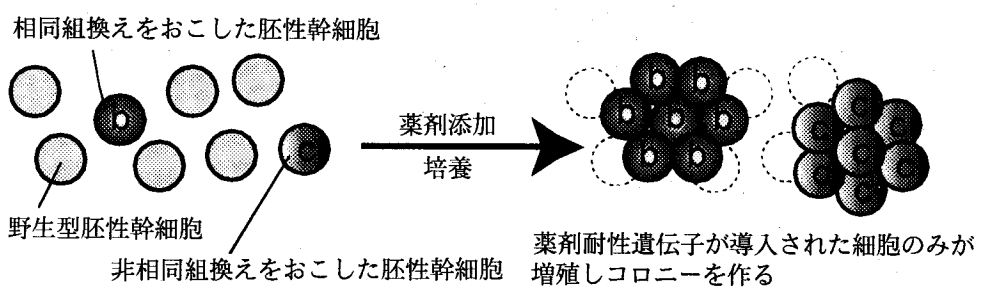


a) A* 遺伝子の作製



b) 相同組換え

c) 非相同組換え



d) 薬剤耐性を利用した細胞の選別

図 1 遺伝子組換えを起こした胚性幹細胞の作製

表 1 回収された細胞数と A 酵素の総活性

コロニーの番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
回収細胞数 ($\times 10^5$ 個)	3.7	10.2	1.5	8.8	2.2	13.0	3.0	4.2	15.5	9.5
A 酵素の総活性 (相対値)	22.5	59.8	4.7	27.3	13.1	77.7	18.0	25.0	92.5	56.7

表1のデータを解析した結果、相同組換えを起こした胚性幹細胞が得られたことがわかったので、以下の手順でA遺伝子がA*遺伝子に置き換わったマウスを作製した。

1. 白色マウスとなる予定の胚を胚盤胞期に子宮から採取した。
2. 相同組換えをおこした胚性幹細胞を胚盤胞の内腔に注入した(図2—a)。
3. 胚性幹細胞を注入した胚盤胞を、着床の準備ができているマウスの子宮内に移植した。

(この実験では、黒色マウス由来の胚性幹細胞を使用した。なお、この実験系では黒色は白色に対して優性である。)

移植された胚性幹細胞は胚を形成している細胞のようにふるまい、白色マウスの細胞と互いに独立ではあるが協調しながら発生が進行した(図2—b)。最終的には、体のあらゆる組織で両者の細胞が混在するマウス(キメラマウス)が生まれた(図2—c)。

このようにして得られたキメラマウスの雄を白色の野生型マウスと交配させたところ、10匹のマウスが生まれ、その内訳は白色の雄3匹と、雌2匹、黒色の雄2匹と、雌3匹であった。次に、これらのマウスのうち黒色のものを交配して、A遺伝子が完全に欠損したマウスを得た。A遺伝子完全欠損マウスは、正常マウスに比較し血圧低下がみられたので、A遺伝子は血圧調節に関係していることがわかった。

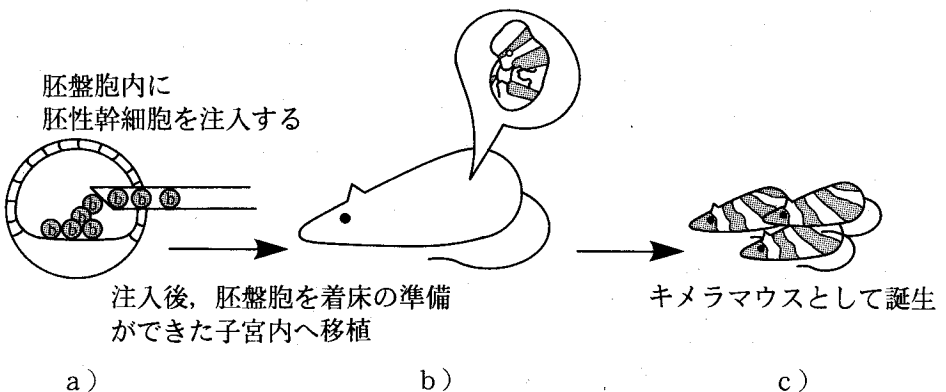


図2 キメラマウスの作製

〔実験例 2〕 性染色体上にある B 遺伝子の機能を知るために、同様の手法(ただし、胚性幹細胞は雄由来)を用いて、B 遺伝子を破壊したマウスを作製した。キメラマウスが誕生したので、図 3 に示すような交配をおこなったところ、雑種第 2 代(F₂)の雄の一部に貧血症状が現れ、B 遺伝子が造血系に関与していることがわかった。

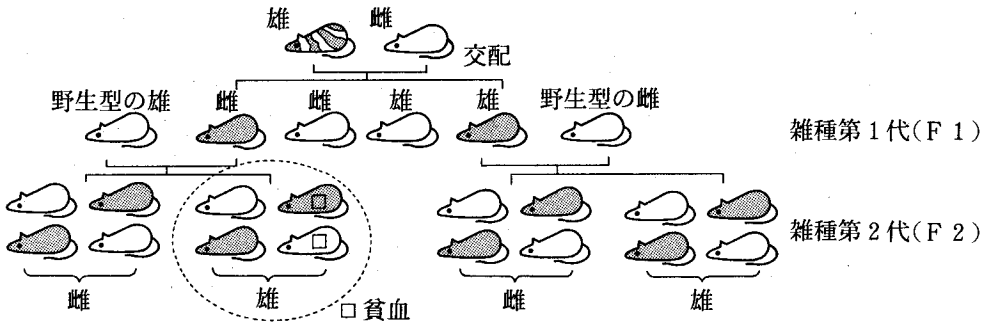


図 3 〔実験例 2〕の交配の記録と表現型

問 1 表 1 に示された 10 個の薬剤耐性コロニーのうち、相同組換えをおこしていると考えられるものの番号をすべてあげ、その理由も述べよ。

問 2 下線部(a)で示されたように、キメラマウスの子がキメラマウスでない理由を説明せよ。

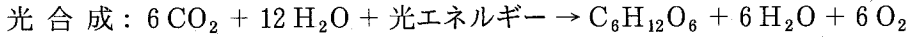
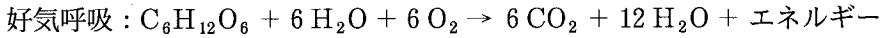
問 3 下線部(a)で示されているマウスについて記述した A)～E)の文のうち、正しくないものを一つえらび、記号で答えよ。

- A) 白色マウスと黒色マウスの比は、メンデルの法則に従う。
- B) 黒色の雄マウスが得られたので、胚性幹細胞は雄由来と考えられる。
- C) 生まれてきた黒色マウスには、胚性幹細胞由来の染色体が含まれる。
- D) 黒色マウスが、相同組換えを起こした A 遺伝子を持つ確率は $1/2$ である。
- E) 生まれた黒色マウス同士を交配させると、白色のマウスが生まれることがある。

問 4 〔実験例 2〕では、図 3 に示すように点線で囲んだグループにだけ貧血症状が見られた。その理由を説明せよ。

〔2〕 好気呼吸と光合成とに関する以下の文章を読み、問1～4に答えよ。

好気呼吸および光合成は、どちらも数多くの化学反応が組み合わさった複雑な過程であり、それぞれ次の式であらわすことができる。



現在の大気の組成は、体積比で O_2 が 20.8%、 CO_2 が 0.036% (百万分率 parts per million では 360 ppm) である。好気呼吸によって生物が放出する CO_2 の大部分は光合成を営む植物により吸収され、大気の組成はほぼ一定に保たれている。

現在、世界の陸地の約 40% は森林生態系であり、森林生態系のおもな構成要素は樹木である。樹木の大きさは、樹高 1 m 以下の低木から 100 m を越すものまでさまざまである。樹木が CO_2 を吸収する能力は、樹木の大きさとどのように関係するのだろうか。このことについて調べるために、密閉した実験室内に、同一種で大きさの異なる樹木 A～D を植えることにした。実験室内の環境条件は以下のとおりに設定した。

空気組成 : 大気と同じ。

温度 : 一定。

湿度 : 一定。

光条件 : 1日に12時間ずつの明期(昼)と暗期(夜)。

明期における光の強さは一定で相対値「4」(図1参照)。

実験室内に植える樹木 A～D の、樹高、樹木 1 本の総乾燥質量、樹木 1 本がもつ葉の総乾燥質量、暗期(夜)の呼吸速度(全植物体の O_2 吸収量を、植物体の乾燥質量 1 kg、1 時間あたりの値であらわしたものは、表 1 に示すとおりであった。また、これらの樹木の葉を採取し、光合成速度と光の強さとの関係を調べたところ、図 1 のようになった。横軸は光の強さの相対値である。縦軸は真の光合成速度(実際に測定されるみかけの光合成速度を、呼吸による CO_2 放出速度を考慮して補正した値)で、葉の乾燥質量 1 g あたりの CO_2 吸収量を、1 時間あたりの値であらわしてある。

表 1 実験室内に植える樹木の特徴

	A	B	C	D
樹高(m)	1	5	10	20
1本の総乾燥質量(kg)	0.4	1.0	2.0	20
1本がもつ葉の総乾燥質量(g)	80	105	120	440
暗期(夜)の呼吸速度 (mg O ₂ /kg 乾燥質量/時)	150	100	75	40

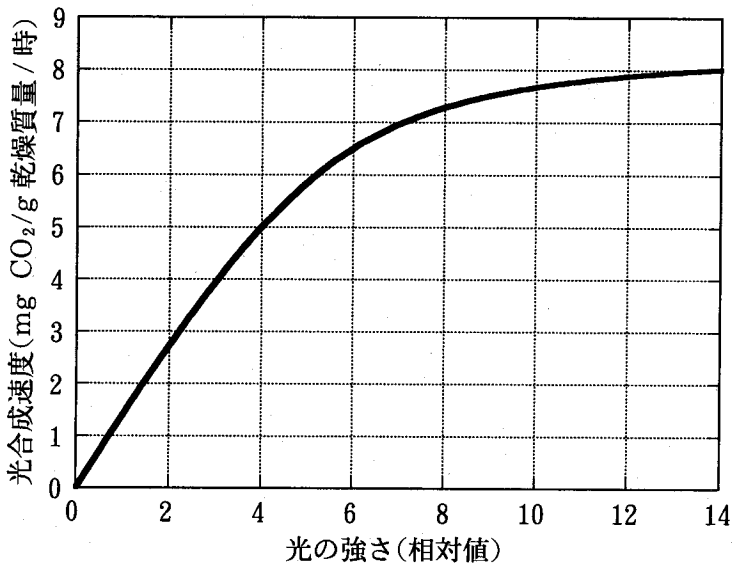


図 1 実験室内に植える樹木の葉の光合成速度と光の強さとの関係
光の強さ以外は、実験室内の環境条件と同じ条件下で測定した。

問 1 表 1 に示すように、樹木の乾燥質量 1 kg あたりの呼吸速度が、樹木が大きくなるほど小さくなる理由について考察せよ。

問 2 樹木 A～D のうち、現在の実験室内の環境条件で、1 本あたり最も多くの CO_2 を吸収するのはどの樹木か。その答えを得た計算過程も明記せよ。ただし、樹木の葉は重なり合わず、全ての葉が相対値「4」の光を受けるものとする。また、樹木の呼吸速度は光の強さに依存せず一定であるとする。

H, C, O の原子量は、それぞれ、1, 12, 16 とする。好気呼吸および光合成は、前出の 2 式にしたがうとせよ。

問 3 問 2 の計算結果にもとづき、樹木が CO_2 を吸収する能力と樹木の大きさとの関係について考察せよ。

問 4 この実験室内でマウスを 20 匹飼うことにした。マウス 1 匹が好気呼吸によって 1 日に吸収する O_2 量を測定すると、1.2 g であった。現在の実験室内の温度、湿度、光条件を変えずに、実験室内の CO_2 濃度を大気と同じ値に保つためには、問 2 で選んだ樹木を何本植えればよいか。計算過程も明記すること。

また、その樹木の本数を減らすために実験室内の光条件のみを変化させるとすれば、光条件をどのように変えればよいか。理由をつけて答えよ。

[3] ニューロン(神経細胞)およびシナプスの活動に関する以下の文章を読み、問1～3に答えよ。

動物の神経系では、感覚や運動に必要な情報がニューロンと呼ばれる特徴的な構造を持つ細胞上を順次伝えられていく。このとき、各ニューロンは自らが受け取った刺激や情報を、シナプスを介して次のニューロンに伝達する。^(a)

シナプスには、次のニューロンの活動を誘発あるいは増強する興奮性シナプスと、それらの活動を抑える抑制性シナプスとがある。脳などの中枢神経系では、数多くのニューロンが両シナプスを介して様々なネットワークを形成し、複雑な情報処理を行っている。

図1は、複数のニューロンやシナプスからなる簡単な情報処理系のモデルを示したものである。この系では、横1列に並んだニューロンからなる層が3層重なっており(第I層～第III層)、各ニューロン間には、図に示されたようなシナプスが形成されている。第I層のニューロンは外部から与えられた刺激(入力)により興奮し、その活動度が上昇する。この入力は、次いで各層のニューロンおよび

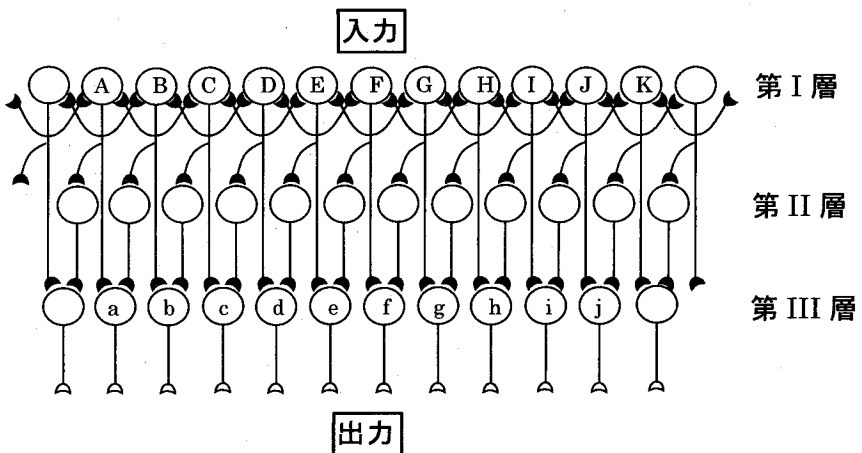


図1 3層のニューロン層からなる情報処理系のモデル

○はニューロンの樹状突起と細胞体、実線は神経繊維、∪は興奮性シナプス、∩は抑制性シナプスをあらわす。第I層および第III層のニューロンの細胞体上には、各ニューロンを区別するための記号(A～Kおよびa～j)が左から順に記されている。

シナプスにより処理され、最終的には第Ⅲ層のニューロンの活動として出力される。このとき、各ニューロンおよびシナプスは、下記の条件に従って作動するものとする。

<条 件>

1. 各ニューロンの活動の程度(活動度)を、「0」から「8」の9段階(数の大きいほど活動度が高い)で表す。すなわち、活動度「0」は全く活動していない状態、活動度「8」は活動が最も高いレベルにある状態を示す。
2. 第Ⅰ層を構成するニューロンは、外部からの刺激や、他のニューロンからのシナプスを介した信号を全く受けない状態では、「3」の活動度を示す。このニューロンは外部からの刺激を受けることにより興奮し、活動度が5段階上昇する。また、活動度が「4」以上のニューロンからの抑制性シナプスを介した信号により、シナプス1つにつき活動度が2段階低下する。
3. 第Ⅱ層を構成するニューロンは、他のニューロンからのシナプスを介した信号を全く受けない状態では、「4」の活動度を示す。このニューロンは、活動度が「4」以上のニューロンからの抑制性シナプスを介した信号により、シナプス1つにつき活動度が2段階低下する。
4. 第Ⅲ層を構成するニューロンは、他のニューロンからのシナプスを介した信号を全く受けない状態では、「2」の活動度を示す。このニューロンは、活動度が「4」以上のニューロンからの抑制性シナプスを介した信号により、シナプス1つにつき活動度が2段階低下する。
5. 外部からの刺激および各シナプスを介した信号による活動度の変化は、加算的である。また、刺激やシナプスを介した信号に応じてニューロンの活動度は速やかに変化し、それらがなくなると速やかに回復するものとする。

問 1 下線部(a)のシナプスにおける情報伝達の機構について、150字以内で簡潔に説明せよ。

問 2 図2の上段は、第I層のニューロン間に抑制性シナプスがない、図1より簡単な情報処理系のモデルを示したものである。このモデルにおいて、第I層のニューロンの一部(記号D~H)を継続的に刺激した場合、それら自身の示す活動度は図2下段のグラフのようになる。図1のモデルにおいて、D~Hのニューロンを継続的に刺激したとき、各ニューロンの活動が安定した後に見られる第I層および第III層のニューロンの活動度を、図2にならってグラフで示せ。

問 3 図1に示した神経回路のモデルは、どのような情報処理機能を持つと予想されるか、50字以内で記せ。

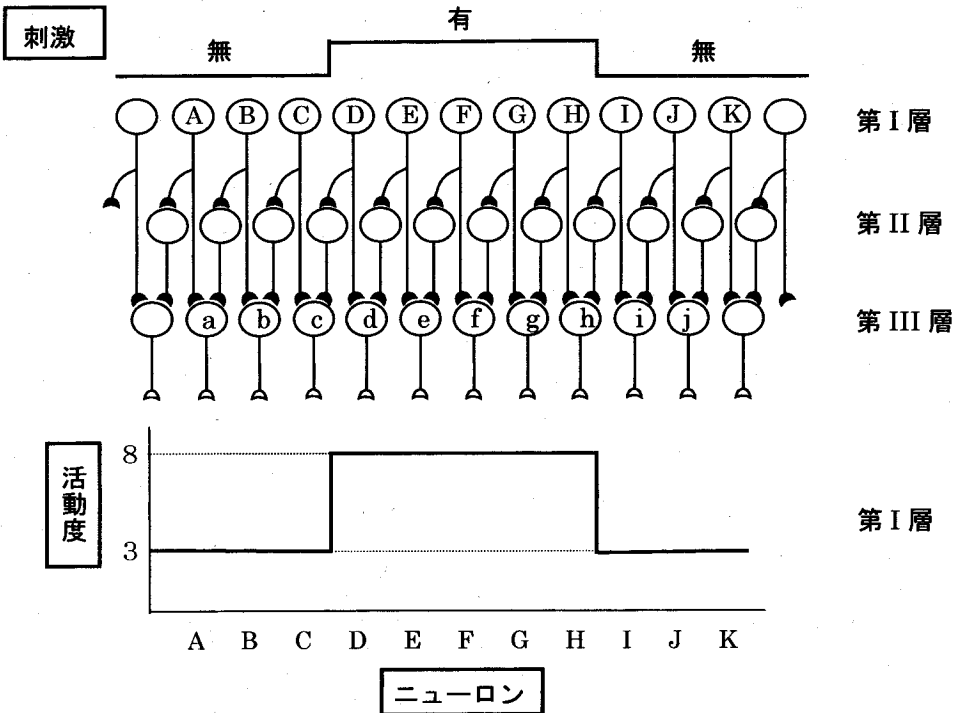


図2 図1より簡単な情報処理系モデルにおける第I層ニューロンへの刺激とその応答

〔 4 〕 DNA複製と修復に関する以下の文章を読み、問1～3に答えよ。

生物が遺伝情報を子孫に正確に伝えるためには、遺伝情報の本体であるDNAを正確に複製する必要がある。また、多細胞生物においては、細胞が分裂して増殖する際に、娘細胞に正確に遺伝情報を伝えることも必要である。しかし、非常に巨大な分子であるDNAを100%正確に複製することは実際上不可能である上、DNAが正しく複製された後にそのDNA情報を改変するような傷害がDNAに生じることも多い。生物はどのようにして遺伝情報を正確に伝えているのだろうか。

実際の生体内のDNA複製は、通常の化学反応から予想されるよりもはるかに正確に進行し、1回の複製につき約 10^9 塩基対に1個の割合でしか誤りを生じない。^(a) DNA複製が非常に正確に行われるためには、DNA合成酵素(DNAポリメラーゼ)が既存のDNAを鋳型にして新しいDNA鎖を合成する時に、正しい相補的な塩基を忠実に選択することに加えて、以下に述べるように、DNAポリメラーゼがブルーフリーディング(校正)機能をもつことと、細胞がDNA修復機能をもつことも重要な役割を果たしている。

現在知られている多くのDNAポリメラーゼは、DNA合成中に間違っただけの塩基を導入すると、即座にその構造的な不適合性を認識し、DNAポリメラーゼ自身の持つDNA分解酵素活性を作動させる。DNAポリメラーゼは間違っただけの塩基を除去しながら1塩基分戻り、そこからDNA複製を再度開始する。これをDNAポリメラーゼの持つブルーフリーディング機能と呼ぶ。ブルーフリーディング機能を欠損しているDNAポリメラーゼを用いて、試験管内でDNA合成反応を行わせると、およそ $10^3 \sim 10^5$ 塩基対に1個の割合で間違っただけの塩基が導入される。^(b)

ブルーフリーディング機能も完全なものではないので、間違っただけの塩基が校正を免れてDNA上に残ってしまう場合もある。また、DNA複製時の間違いの他に、紫外線やX線、あるいは発がん物質のような外界からの刺激によってDNAが物理的・化学的に傷害を受ける場合もある。間違っただけの塩基や傷害のあるDNAをそのまま放置しておく、場合によっては次のDNA複製が

阻害されることがあり、またそのまま複製されてしまうと、それらの誤りや傷害が突然変異として子孫に伝えられ、細胞あるいは個体に致死的な影響を与えることもある。しかし、実際の生体内では、間違っって導入された塩基やDNA上に生じた傷害の大部分は、それらを認識するタンパク質と酵素群の働きにより除去され、最終的に正しい塩基に修正される。DNA上に生じた不都合を修正するこのような機能を、DNA修復機能という。

問 1 下線部(a)の記述をもとに変異体が出現する頻度を考えよう。1倍体の単細胞生物の1個体を出発点(第1世代)とし、1世代あたりに1回のDNA複製を行うと仮定する。100個のアミノ酸からなるあるタンパク質をコードする遺伝子に、1個のアミノ酸置換が生じるような変異が、子孫の中のいずれかの個体に必ず1個以上出現するのは何世代目か。計算過程も示せ。ただし、1世代にかかる時間は全ての細胞で同じであるとし、DNA複製では必ず 10^9 塩基対に1個の割合で誤りが生じると仮定せよ。また、その他の外的要因によるDNAの物理的・化学的傷害は起こらず、修復機構も作用しないものとする。さらに64種類のコドンによって20種類のアミノ酸と3個の翻訳終結が規定されているので、塩基の変化が3回起こると必ず1つのアミノ酸置換につながるとして計算せよ。必要ならば次の値を用いること。

$$\log_{10} 2 = 0.301, \log_{10} 3 = 0.477, \sqrt{2} = 1.414, \sqrt[3]{2} = 1.260, \\ \sqrt{3} = 1.732, \sqrt[3]{3} = 1.442。$$

問 2 ある単細胞生物のDNAポリメラーゼを、下線部(b)のようなブルーフリーディング機能を欠損したものに置き換えた変異株を作製し培養した。培養開始後数世代目の細胞は、タンパク質にアミノ酸置換を生じるような変異を高頻度に有していた。さらに培養を続けると、細胞は死滅した。アミノ酸置換を持つにもかかわらず、この生物が数世代の間は生存できたのはなぜか、その理由を複数述べよ。

問 3 酵母を低い密度で寒天培地上に塗布して保温すると、増殖可能な細胞は約2時間ごとに細胞分裂を繰り返す。2日後には1個の細胞に由来する細胞集団(コロニー)を形成する。この方法を用いて、DNAに傷害を与えた時の酵

母の増殖能を定量的に測定することができる。たとえば、酵母にさまざまな量のX線を照射した後寒天培地上に塗布し、2日後に形成されたコロニーの数を数えると、X線の照射後に生存しており増殖可能であった酵母の数を算定することができる。このようにして得られた照射量と生存数の関係をグラフにしたものを生存曲線という。一般に、照射量が多くなるにつれてDNA上に生じる傷害が増加するため、細胞がこれらを修復しきれない場合には増殖能力を失い、やがて死ぬ。したがって、出現するコロニー数は減少する。細胞が効率良く傷害を修復できない場合にはその細胞は少ない照射量でも増殖能を失ってしまうので、X線に対して感受性であるという。一方、細胞が効率良く傷害を修復できる場合には、ある照射量の範囲内ではほとんど増殖能を失わないため、X線に対して抵抗性であるという。

図1は1倍体酵母の野生株と2つの突然変異株に対して、さまざまな量のX線を照射して得られた生存曲線を示す。X線を照射するとある頻度でDNAの2本鎖が切断され、これを修復しないと細胞が増殖できなくなることが知られている。突然変異株yと突然変異株zは野生株に比べてX線に対して感受性であった(図1-a)。染色体が娘細胞に分配される直前で細胞増殖を停止させる薬剤であるメチルベンズイミダゾール(略してMBC)の存在下でこれらの株にX線を照射し、照射終了4時間後にMBCを洗浄によって除去した後、細胞を寒天培地上に塗布したときの生存曲線を図1-bに示す。突然変異株yの生存曲線は野生株とほぼ同じレベルにまで回復したが、突然変異株zの生存曲線はほとんど影響されなかった。一方、X線照射直後にMBCを除いて細胞を寒天培地上に塗布すると、図1-aと同様の生存曲線が得られた。

- (1) 図1に示した実験結果から、突然変異株yと突然変異株zのDNA修復機能についてどのようなことが推論できるか。
- (2) 野生株にX線を照射すると、細胞増殖が細胞分裂期の直前で一時的に停止する。このことを考え合わせて、突然変異株yで欠損している機能は野生株の生存にどのように役立っているか考察せよ。

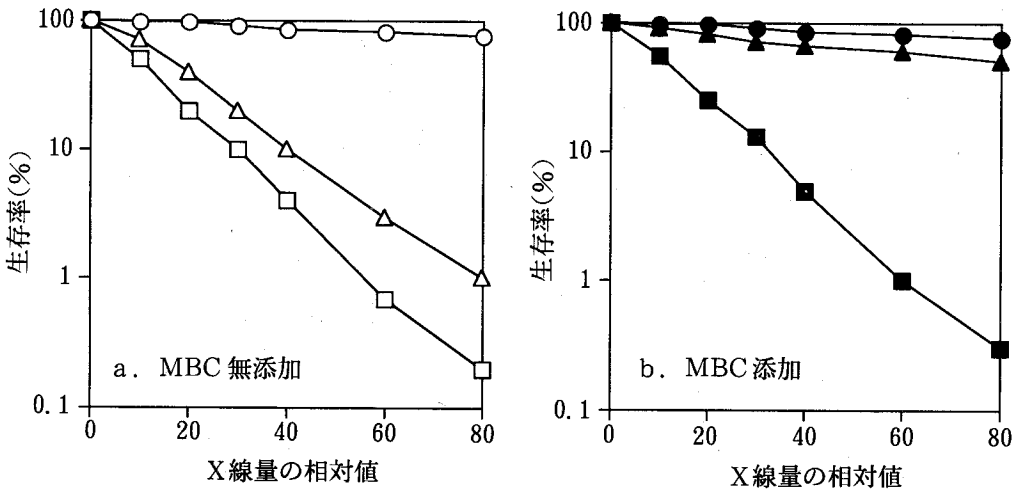


図1 酵母のX線に対する抵抗性とメチルベンズイミダゾール(MBC)の効果

a(左)は、MBC処理をしないで得られた生存曲線。b(右)は、細胞培養液に0.1 g/l MBCを添加した直後にX線を照射して、照射終了4時間後に細胞を洗浄し寒天培地上に塗布して得られた生存曲線。○と●は野生株、△と▲は変異株 y、□と■は変異株 z を示す。横軸はX線量の相対値を表す。