

〔「物理基礎・物理」「化学基礎・化学」「生物基礎・生物」〕

(時間：2 出題科目で 120 分)

注 意 事 項

- 1 試験開始の合図があるまで、この問題冊子の中を見てはいけません。
- 2 出題科目、ページ及び選択方法は、下表のとおりです。

出 題 科 目	ページ	選 択 方 法
「物理基礎・物理」	1 ～ 3	左の 3 出題科目のうちから、あらかじめ届け出た 2 出題科目について解答しなさい。
「化学基礎・化学」	4 ～ 6	
「生物基礎・生物」	7 ～ 9	

- 3 試験中に問題冊子の印刷不鮮明、ページの落丁・乱丁および解答用紙の汚れ等に気付いた場合は、手を挙げて監督者に知らせなさい。
- 4 解答は、すべて解答用紙の所定の欄に記入しなさい。
- 5 問題冊子の余白は計算等に用いて構いません。
- 6 試験終了後、解答用紙のみを回収します。

生物基礎・生物

〔1〕 次の文章を読み、下の問い(問1と2)に答えよ。

大腸菌では、単糖アラビノース(Ara)の代謝に関わる酵素の遺伝子群はオペロンを構成しており、その転写はAraCと呼ばれる調節タンパク質によって制御されている。AraCは細胞内では2つのAraCが結合した状態(2量体タンパク質)で存在する。培地中にAraがあるときには、AraCはAraと結合してオペレーター部位(2と3)に結合する(図1上)。一方、Araがないときには、AraCはオペレーター部位(1と2)に結合する。このようにAraCとAraの結合・解離によって、遺伝子群の発現が制御される。ここで、アラビノースオペロンによる遺伝子の発現調節を調べるために、アラビノースオペロンの転写調節領域を含むプラスミドベクターを用意し、そこに緑色蛍光タンパク質(GFP)遺伝子を組みこんで新たにプラスミドpGLO(図2)を作製し、以下の[実験1]、[実験2]を行った。ただし、実験にはアラビノースオペロンを欠損した大腸菌を用い、pGLOから発現するタンパク質についてのみ考える。

[実験1] pGLOを取り込ませて形質転換した大腸菌を、抗生物質アンピシリンを含む寒天培地に塗布し、37℃の恒温器で一晩培養した。生じたコロニーをAra有無の条件下で培養し、一定時間後に紫外線を照射してGFPの蛍光を測定した。

[実験2] pGLOの異なる部位(AraC遺伝子、転写調節領域またはGFP遺伝子)にそれぞれ一か所ずつ変異を有する変異型プラスミドpGLO'1~3を作製し、[実験1]と同様に培養および測定を行った。なお、pGLOおよび変異型pGLO'1~3のプラスミドから発現するAraCの量は同じであるとする。

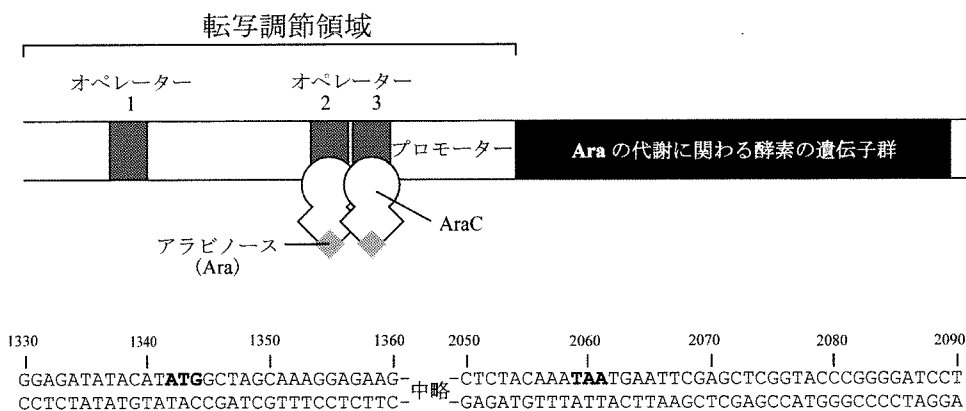


図1 (上)アラビノースオペロンの模式図(Ara存在下)、(下)pGLOのGFP遺伝子およびその周辺の塩基配列、太字はmRNAに転写されたときの開始コドンと終止コドンに相当する。上段の数字は塩基の番号。

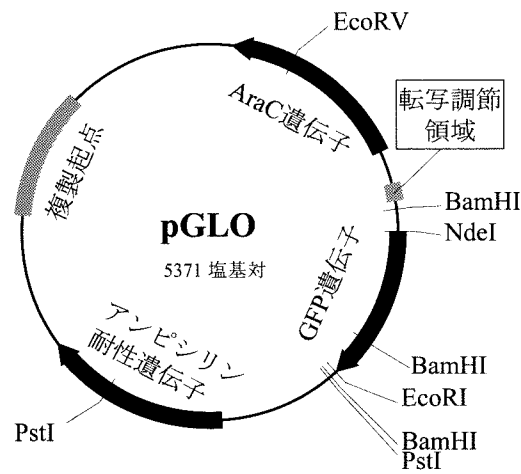


図2 pGLOの制限酵素地図、遺伝子(黒)の矢印は転写の方向を、制限酵素による切断部位の位置は酵素名で示している。

問1 下線部について、GFP遺伝子およびその周辺の塩基配列(図1下)と制限酵素地図(図2)を示す。

- (1) GFPのような外来遺伝子のDNAとプラスミドから組換えDNAを作製する一般的な手順について、以下の選択肢を適切な順番に並べよ。
1. DNAリガーゼでDNAを連結する
 2. 大腸菌にDNAを取り込ませて培養する
 3. 適切な制限酵素でDNAを切断する
 4. 抗生物質やGFPを利用して大腸菌を選択する
- (2) GFP遺伝子をプラスミドベクターに組みこむときに用いる最も適切な制限酵素を表1から2つ選べ。また、それらの制限酵素で処理したGFP遺伝子を含む領域のDNAのうち2本鎖部分の長さ(塩基対)を求めよ。
- (3) pGLOから転写・翻訳されて生じるGFPのアミノ酸数を求めよ。ただし、翻訳後の切断などの修飾およびイントロンの存在は考えなくてよい。

表1 制限酵素とその認識配列(切断位置は線で示す)

BamHI	G GATCC
	CCTAG G
EcoRI	G AATTC
	CTTAA G
EcoRV	GAT ATC
	CTA TAG
NdeI	CA TATG
	GTAT AC
PstI	CTGCA G
	G ACGTC

問2 実験1、2の結果を表2に示す。なお、転写調節領域について述べる際は、オペレーター部位1~3を区別し、プロモーター領域の変異は考えなくてよい。

- (1) pGLOにおいて、Araの有無によってGFPの発現が変化するしくみを説明せよ。
- (2) pGLO'1では、どの領域にどのような変異が生じたと考えられるか、理由とともに説明せよ。
- (3) pGLO'2に生じた変異は、どの領域と考えられるか、その理由をpGLOの場合と比較して説明せよ。
- (4) pGLO'3に生じた変異は、どの領域と考えられるか、その理由をpGLOの場合と比較して説明せよ。

表2 Araの有無によるGFP発現量の変化(相対値)

プラスミド	Araなし	Araあり
pGLO	300	60000
pGLO'1	0	0
pGLO'2	300	300
pGLO'3	600	60000

〔2〕 次の文章を読み、下の問い(問1～5)に答えよ。

ヒト赤血球に含まれるヘモグロビンは酸素分子を可逆的に結合することで、肺から全身の組織へ酸素を運搬する。酸素の濃度が高い部位では、ヘモグロビンは酸素を結合して酸素ヘモグロビンとなり、酸素の濃度が低い部位では酸素を解離する。酸素ヘモグロビンの割合はおもに酸素濃度によって決まり、その変化を示した曲線を酸素解離曲線という。酸素解離曲線は、二酸化炭素濃度や温度、pHによっても変化する。細胞の代謝によって生じる二酸化炭素は、酸素とは異なる方法で肺へ送られる。ヘモグロビンには一酸化炭素も結合し、一酸化炭素ヘモグロビンが形成される。一酸化炭素は酸素の約200～250倍もヘモグロビンと結合しやすいため、一酸化炭素濃度が高い環境では酸素の運搬が阻害され、一酸化炭素中毒を引き起こす。動脈血中のヘモグロビンの酸素飽和度をリアルタイムで測定する装置にパルスオキシメーターがある。ヘモグロビンと酸素ヘモグロビンは光を吸収する度合い(吸光度)が異なるため、2つの波長の光の吸光度を比較計算することで、酸素ヘモグロビンの割合を求めることができる。

問1 図1中のaとbは、二酸化炭素濃度(相対値)が40および60におけるヒトヘモグロビンの酸素解離曲線である。なお、横軸は酸素濃度の相対値を示す。

- (1) 肺胞(酸素濃度100、二酸化炭素濃度40)から末梢組織(酸素濃度40、二酸化炭素濃度60)に血液が移動した際、末梢組織で酸素を解離する酸素ヘモグロビンの割合(%)を式とともに、有効数字3桁で求めよ。
- (2) このとき、血液は1分当たり何mLの酸素を末梢組織で放出したか、式とともに、有効数字3桁で求めよ。なお、心臓は1分間に5Lの血液を拍出し、血液1Lあたりヘモグロビンは150g含まれており、1gのヘモグロビンは最大1.34mLの酸素を結合できるとする。

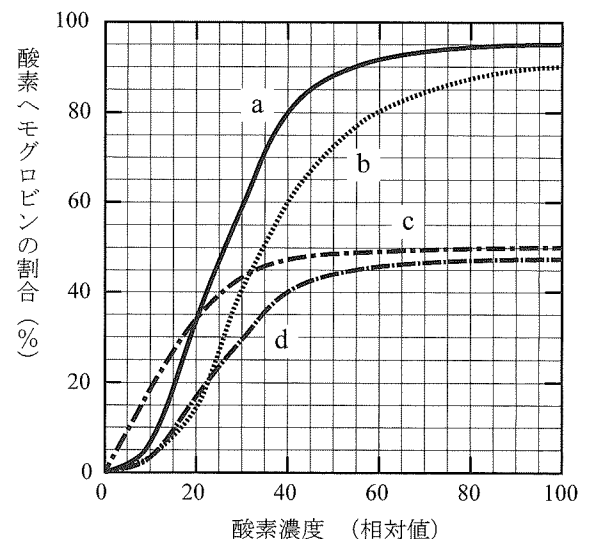


図1 種々のヘモグロビンの酸素解離曲線

- a 二酸化炭素濃度40の場合
- b 二酸化炭素濃度60の場合
- c 50%一酸化炭素結合ヘモグロビンの場合
- d ヘモグロビン量が50%の場合

問2 下線部①に関連して、激しい運動を行った筋肉組織では、二酸化炭素濃度が上昇することに加え、温度やpHも変化して酸素解離曲線に影響を与える。このとき温度とpHはそれぞれどのように変化するか、理由とともに答えよ。また、その結果、酸素解離曲線は図1中のbと比較して、右側にシフトするか、左側にシフトするか、答えよ。さらに、そのような酸素解離曲線の変化が生物学的にどのような意義があるか、述べよ。

問3 下線部②について述べた下の文章の空欄ア～エに最も適切な語句を記せ。

ミトコンドリアの ア では、クエン酸回路の働きで二酸化炭素が発生する。この二酸化炭素は大部分が イ 中に存在する酵素の働きで、ウ と H^+ に変換され、ウ の一部は血液の液体成分である エ 中に溶解して肺へ運ばれる。

問4 下線部③に関連して、図1中のcはヘモグロビンの50%に一酸化炭素が結合したときの酸素解離曲線である。一方、図1中のdは何らかの原因でヘモグロビン量が正常の50%になった貧血患者の血液の酸素解離曲線を示す。cとdを比較して、どちらの条件の方が、酸素不足の症状が重いと考えられるか、放出される酸素の量を比較して考察せよ。なお、肺胞と末梢組織の酸素濃度はどちらの場合も問1(1)と同じと仮定し、酸素濃度以外の要因については考慮しなくてよい。

問5 下線部④について、図2はパルスオキシメーターの模式図、図3は酸素ヘモグロビンとヘモグロビンのさまざまな波長における吸光度を比較したものである。

- (1) パルスオキシメーターの光源からは赤色光と赤外光の2つの波長の光が出ており、指の組織を通してそれぞれ吸収され、受光部に達する。酸素ヘモグロビンの割合を求める際は、2つの波長の吸光度の比が、ヘモグロビンと酸素ヘモグロビンで最も大きく異なる2つの波長を用いると良い。以下の中から最も適切な波長の組み合わせを1つ選べ。

- a. 650 nm と 805 nm b. 650 nm と 940 nm
- c. 730 nm と 805 nm d. 730 nm と 940 nm

- (2) パルスオキシメーターは脈拍の頻度も同時に測定することができる。血流量の変化に注意して、その原理を考察し、簡潔に説明せよ。

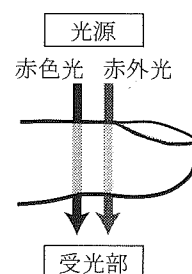


図2 パルスオキシメーター

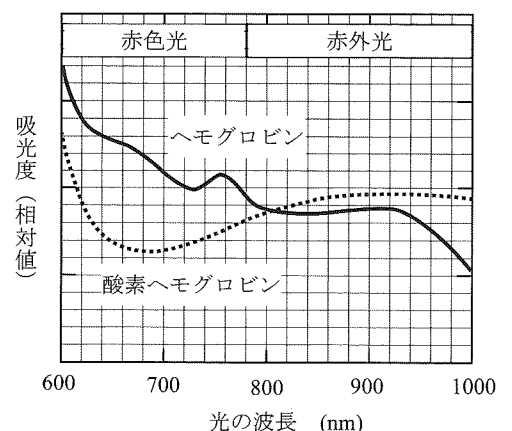


図3 酸素ヘモグロビンとヘモグロビンのさまざまな波長における吸光度

〔3〕 次の文章を読み、下の問い(問1～4)に答えよ。

近年、除草剤耐性遺伝子を導入した遺伝子組換え作物(GM作物)が広く栽培されるようになったことで、除草剤の使用頻度が増え、雑草における除草剤耐性の獲得が問題となっている。ここでは除草剤Gの使用頻度が異なるA農園とB農園における、外来種のイネ科雑草Xの除草剤G耐性を調べるために、3つの実験を実施した。除草剤Gは、植物の生育に必須な酵素Eの働きを阻害することで植物を枯死させる。A農園では、数年前から除草剤Gに耐性のある遺伝子組換えトウモロコシを栽培しており、同時に除草剤Gを使用するようになった。散布時期は例年、6月である。B農園では、遺伝子組換えトウモロコシも除草剤Gも使用していない。トウモロコシはイネ科の作物であり、A農園で使用されている遺伝子組換えトウモロコシのゲノムには、除草剤Gに阻害されないタイプの酵素E遺伝子と、その発現を安定化させる働きのあるプロモーターP配列が極めて近い位置に連鎖するように導入されている。

〔実験1〕 A農園とB農園の畑に生えてきた雑草Xについて3株ずつ(A1～A3およびB1～B3)から葉を採取し、酵素E遺伝子の塩基配列を調べたところ106番目のアミノ酸をコードするコドンにCCAとTCGという2種類のDNA多型が検出された。また、各株を植木鉢に移植して除草剤Gを散布し、2ヶ月経過後の生存状況を調べた結果、表1のようになった。なお、CCA/CCAは対立遺伝子CCAのホモ接合、CCA/TCGはCCAとTCGのヘテロ接合であることを表している。

〔実験2〕 A農園の遺伝子組換えトウモロコシからもDNAを抽出し、雑草XのDNAと共にプロモーターP配列のPCR増幅を試みた。PCR後のDNAを、アガロースゲルを用いた電気泳動法によって分離した結果を図に示す。

〔実験3〕 A農園およびB農園の畑から雑草Xの種子を100粒ずつ採取し、実験室で発芽させたのち葉からDNAを抽出し、酵素E遺伝子の106番目のアミノ酸をコードするコドンの遺伝子型頻度を算出したところ表2の結果を得た。

問1 実験1で検出されたDNA多型のうち、除草剤Gに対する耐性をもたらし持っている対立遺伝子(DNA多型)はどちらか答えよ。

問2 実験1と実験2の結果を踏まえ、下線部A～Cについて、2つの語句からそれぞれ適切なものを選べ。

図のGMのみに見られるバンドは、トウモロコシに導入されたプロモーターP、酵素E遺伝子^Aが増幅されたものである。雑草XのA2とA3は、除草剤G(耐性、感受性)^Bであるが、PCR増幅のバンドが見られない。これらの結果より、遺伝子組換えトウモロコシと雑草Xが交雑することによって、雑草Xに除草剤耐性が獲得されたという可能性は支持される、否定される。^C

問3 実験3について、(1)および(2)を有効数字2桁で求めよ。なお、計算過程も示すこと。(1)は遺伝子頻度、(2)は遺伝子型頻度を計算する点に注意すること。

- (1) B農園の雑草Xでハーディ・ワインベルグ平衡が成り立っているとき、遺伝子プールにおける遺伝子頻度を計算せよ。
- (2) A農園で翌年も同様に実験3を行った場合、雑草Xの種子の遺伝子型頻度はどのようになると考えられるか、計算せよ。ただし、雑草Xは除草剤散布後の7月に開花する1年草である。また、開花株同士はランダムに交配し、畑の外からの遺伝子の流入や新たな突然変異は生じないものと仮定せよ。

問4 実際には問3(2)の仮定と異なり、雑草Xは農園の内外でランダムに交配していた。このとき、A農園で雑草Xの除草剤G耐性が進化した過程について述べた下の文章の空欄ア～ウに最も適切な語句を入れよ。

まず、雑草Xの遺伝子プールの中に、アや交雑、あるいは遺伝子流動などによって除草剤G耐性をもたらしDNA多型が生じた。このDNA多型は、除草剤Gのない環境では中立な変異であり、イによって遺伝子プールにおける頻度を増すことがある。A農場では除草剤Gを使用していたため、このDNA多型が適応的な変異となり、ウによって遺伝子頻度を増していった。

表1 A農園およびB農園から採取した雑草Xの、酵素E遺伝子の遺伝子型と除草剤G散布後の生存状況

農園	雑草X	遺伝子型	状態
A農園	A1	CCA/CCA	枯死
	A2	CCA/TCG	生存
	A3	TCG/TCG	生存
B農園	B1	CCA/CCA	枯死
	B2	CCA/CCA	枯死
	B3	CCA/CCA	枯死

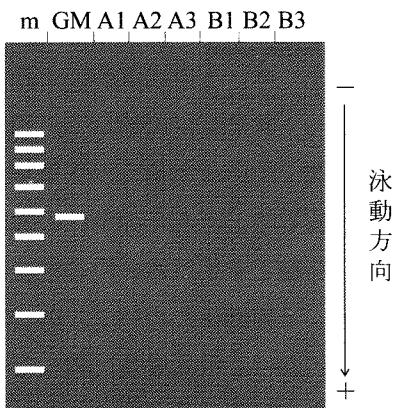


図 遺伝子組換えトウモロコシと雑草XのPCR産物の電気泳動写真、mは分子量マーカー、GMは遺伝子組換えトウモロコシの、A1からB3は雑草XのPCRの結果

表2 雑草Xの酵素E遺伝子の遺伝子型頻度

遺伝子型	A農園	B農園
CCA/CCA	0.30	0.98
CCA/TCG	0.50	0.02
TCG/TCG	0.20	0.00