

Q 3 物理

Q 4 化学

Q 5 生物

この冊子は、**物理**，**化学** 及び **生物** の問題を 1 冊にまとめてあります。

電子応用工学科は物理指定

材料工学科は、物理または化学のどちらかを選択

生物工学科は、物理、化学、生物のいずれかを選択

物理の問題は、1 ページより 22 ページまであります。

化学の問題は、23 ページより 37 ページまであります。

生物の問題は、38 ページより 66 ページまであります。

〔注 意〕

- (1) 試験開始の指示があるまで、この冊子を開いてはいけません。
- (2) 監督者から受験番号等記入の指示があったら、解答用紙に受験番号と氏名を記入してください。また、解答用マークシートに受験番号と氏名を記入し、さらに受験番号をマークしてください。
- (3) 解答は、所定の解答用紙に記入したもの及び解答用マークシートにマークしたものだけが採点されます。
- (4) 解答用マークシートについて
 - ① 解答用マークシートは、絶対に折り曲げてはいけません。
 - ② マークには黒鉛筆(HBまたはB)を使用してください。
指定の黒鉛筆以外でマークした場合、採点できないことがあります。
 - ③ 誤ってマークした場合は、消しゴムで丁寧に消し、消しくずを完全に取り除いたうえ、新たにマークしてください。
 - ④ 解答欄のマークは、横1行について1箇所に限ります。
2箇所以上マークすると採点されません。
あいまいなマークは無効となるので、はっきりマークしてください。
 - ⑤ 解答用マークシートに記載されている解答上の注意事項を、必ず読んでから解答してください。
- (5) 試験開始の指示があったら、初めに問題冊子のページ数を確認してください。
ページの落丁・乱丁、印刷不鮮明等に気づいた場合は、手を挙げて監督者に知らせてください。
- (6) 問題冊子は、試験終了後、持ち帰ってください。

生 物

1 遺伝子やウイルスに関する以下の設問に答えなさい。

(33 点)

ウイルスには DNA をゲノムにもつものと RNA をゲノムにもつものがある。インフルエンザウイルスは RNA をゲノムにもち、ヒトやトリ、ブタ、ウマなど動物の細胞内に侵入する。細胞内で増殖したウイルスは一つの細胞から多数のウイルス粒子として放出され、他の細胞に再び感染し増殖する。

インフルエンザウイルスにはいくつかの型が存在するが、中でも A 型インフルエンザウイルスは、突然変異によって変異型ウイルスが特に出現しやすく、感染時の症状も重篤になりやすい。インフルエンザウイルスが変異する場合、特に感染に影響するのは HA と NA の 2 種類のタンパク質の変異である。これらのタンパク質はウイルス粒子表面にあるためスパイクタンパク質と呼ばれ(図 1)、ヒトに感染したときに体内の抗体が結合する標的(抗原)になる。しかし、ウイルスに変異が起こると過去の感染によって作られていた抗体と反応しなくなるため、ウイルス感染を起こしやすくなり感染症状が重症化する。またこれらのタンパク質が大きく変異すると、細胞との結合性が変わる場合もある。その結果として、それまでヒトに感染しなかったトリや他の動物のインフルエンザウイルスがヒトに感染するようになる場合もある。

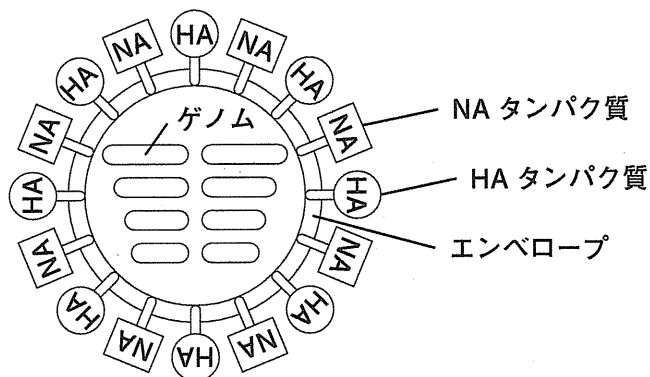


図 1 インフルエンザウイルスの模式図

抗体は抗原タンパク質の特定のアミノ酸配列を認識するタンパク質である。本設問では、抗原中の抗体が認識するアミノ酸配列に一つでも変異が生じると認識しなくなってしまうこととする。図2にトリインフルエンザウイルス(トリウウイルス)とヒトインフルエンザウイルス(ヒトウイルス)のHAタンパク質の部分配列を表示する。

ヒトウイルス HA タンパク質(アミノ酸残基 319 番目～377 番目)

GACPKYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTRGLFGAIAAGFIENGWEGMIDGWYGFRHQNSEGT

トリウウイルス HA タンパク質(アミノ酸残基 313 番目～368 番目)

GQCPKYVNQRSLLLATGMRNVPEVVQGRGLFGAIAAGFIENGWEGMVDGWYGFRHQNAQGG

図2 ヒトウイルス HA タンパク質とトリウウイルス HA タンパク質の部分配列
アミノ酸配列は後述する表1の遺伝暗号表の1文字表記で示してある。

- (1) 異なる生物種より採取したインフルエンザウイルスのHAタンパク質を抗原として4種類の抗体(a)～(d)を作製した。それぞれの抗体が認識する配列は図3の通りである。各抗体はヒトウイルス、トリウウイルスどちらのHAタンパク質を認識するか。その抗体がヒトウイルスのみを認識する場合は①を、トリウウイルスのみを認識する場合は②を、どちらも認識する場合は②を、どちらも認識しないあるいは判断できない場合は③を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

(a) 抗体 1	RGLFGAIAAGFIENGW
(b) 抗体 2	GMIDGWYGFRHQNSE
(c) 抗体 3	PKYVNQRSLLLATGM
(d) 抗体 4	GFIEGGWTGMIDGWY

図3 4種類の抗体がそれぞれ認識するアミノ酸配列

(2) 図4の配列は図2で示したトリウイルスのHAタンパク質の313番目から368番目までのアミノ酸に対応するRNAの塩基配列を示している。この配列を含むトリウイルスをトリ細胞に感染させた。これから生じたウイルス粒子の配列を決定したところ、それぞれ図4の矢印で示した変異(変異部位)が、それぞれ一箇所のみ見られた(a)から(e)の5種類のウイルスが見つかった。各ウイルスの変異部位は以下の通りである。ウイルス(a): UからGへの置換, ウイルス(b): Cの欠失, ウイルス(c): AからCへの置換, ウイルス(d): UからAAへの置換, ウイルス(e): GからUへの置換。なお欠失や挿入が起こった際には新たに生じた最初のコドンを変異部位と呼ぶ。

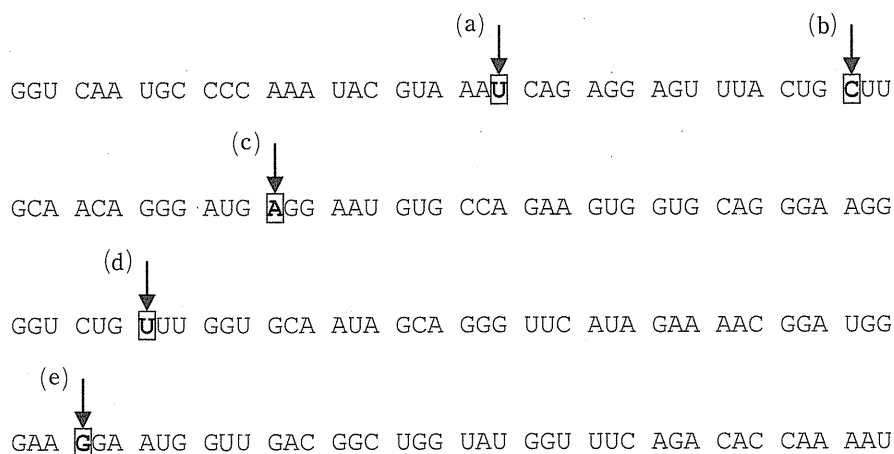


図4 トリウイルスのHAタンパク質をコードする塩基配列

HAタンパク質をコードするRNAの部分配列を表示する。それぞれの塩基配列はコドンで区切って表示している。

(A) ウイルス(a)から(e)の HA タンパク質はこれらの変異によってそれぞれどのような影響を受けるか。表 1 の遺伝暗号表をもとに最も適切なものを解答群 A より一つ選び、その番号を解答用マークシートにマークしなさい。

解答群 A

- ③ 変異部位でアミノ酸に変化は生じない。以降のアミノ酸配列も変化しない。
- ① 変異部位でアミノ酸に変化は生じないが、以降のアミノ酸配列が変化する。
- ② 変異部位でアミノ酸に変化が生じる。以降のアミノ酸配列は変化しない。
- ③ 変異部位でアミノ酸に変化が生じ、以降のアミノ酸配列も変化する。
- ④ 変異部位でタンパク質の合成が停止する。

		2 番目の塩基					
		U	C	A	G		
1 番目の塩基	U	UUU フェニルアラニン (F)	UCU セリン (S)	UAU チロシン (Y)	UGU システイン (C)	U	3 番目の塩基
		UUC	UCC	UAC	UGC	C	
		UUA ロイシン (L)	UCA	UAA 終止	UGA 終止	A	
		UUG	UCG	UAG	UGG トリプトファン (W)	G	
	C	CUU	CCU	CAU ヒスチジン (H)	CGU	U	
		CUC	CCC プロリン (P)	CAC	CGC	C	
		CUA	CCA	CAA グルタミン (Q)	CGA	A	
		CUG	CCG	CAG	CGG	G	
	A	AUU イソロイシン (I)	ACU	AAU アスパラギン (N)	AGU セリン (S)	U	
		AUC	ACC	AAC	AGC	C	
		AUA	ACA	AAA リジン (K)	AGA アルギニン (R)	A	
		AUG 開始 メチオニン (M)	ACG	AAG	AGG	G	
	G	GUU	GCU	GAU アスパラギン酸 (D)	GGU	U	
		GUC	GCC アラニン (A)	GAC	GGC	C	
		GUA	GCA	GAA グルタミン酸 (E)	GGA	A	
		GUG	GCG	GAG	GGG	G	

表 1 遺伝暗号表

(B) 図3に示した抗体1から4のうち、ウイルス(a)の変異によってどの抗体が認識できなくなるか。解答群Bより最も適切なものを一つ選び、その番号を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

解答群B

- | | | |
|-------------|-----------|-----------|
| ⑩ 抗体1 | ⑪ 抗体2 | ⑫ 抗体3 |
| ⑬ 抗体4 | ⑭ 抗体1と2 | ⑮ 抗体1と3 |
| ⑯ 抗体1と4 | ⑰ 抗体2と3 | ⑱ 抗体2と4 |
| ⑲ 抗体3と4 | ⑳ 抗体1と2と3 | ㉑ 抗体1と2と4 |
| ㉒ 抗体1と3と4 | ㉓ 全ての抗体 | |
| ㉔ どの抗体も影響なし | | |

(3) 以下の文章を読み、設問に答えなさい。

ウイルスはサイズが小さすぎるため、個々のウイルス粒子は通常の顕微鏡では検出できない。しかしウイルス粒子を特殊な方法で可視化し、シャーレ中の細胞と混合し、顕微鏡で観察すると、個々のウイルス粒子の様子を捉えることができる。ウイルスの感染初期段階には標的細胞への吸着と遊離が重要な役割を果たす。この吸着は特異性の高いものと低いものに分けられる。インフルエンザウイルスには吸着できる細胞とできない細胞があり、それは細胞の膜の表面構造の違いによる。一方、細胞からの遊離は吸着したウイルスが酵素によって細胞とウイルスの結合部位が切断されることにより可能になる。なお本実験では細胞表面に吸着したウイルスと遊離したウイルスのみを観察し、感染による増殖後の放出は考えないものとする。

実験 1

細胞表面の構造が異なる細胞 A と細胞 B を使ってインフルエンザウイルスの細胞吸着特異性を調べる目的で、野生型トリウイルスと細胞を混合した。顕微鏡により観察したところ、野生型トリウイルスは細胞 A に吸着した。この時一部が細胞から遊離したが、吸着し続けるものも多数存在した。その後、シャーレ中の細胞培養液(培養液)を交換し、細胞から遊離したウイルスを除去した後も吸着したウイルスが観察できた。一方、野生型トリウイルスと細胞 B を混合したところ、細胞 A の場合よりは頻度は低いが、吸着するものが存在した。しかし細胞 B からは高い頻度で遊離し、培養液を交換した後は吸着した野生型トリウイルスが存在しなくなった(図 5)。

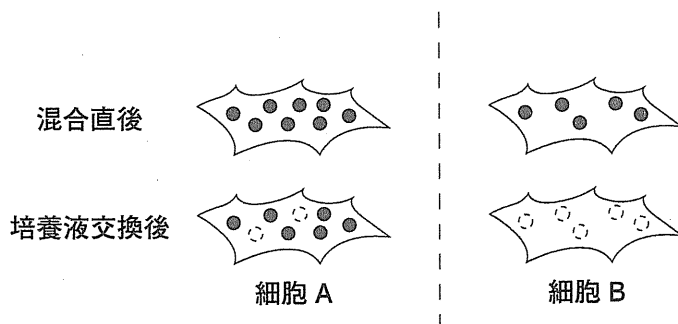


図 5 インフルエンザウイルスの細胞に対する吸着と遊離実験

細胞表面に吸着したウイルスを黒丸で、培養液交換後に細胞表面より遊離し、観察できなくなったウイルスを破線白丸で表す。

実験 2

次に HA タンパク質と NA タンパク質に変異を導入し、表面に露出しているスパイク領域を欠失したトリウイルスを 3 種類作製した(図 6)。これらの変異トリウイルスと細胞を混合し、野生型トリウイルスと同様に観察したところ、以下の結果が得られた。

- 1) HA 変異トリウイルスは細胞 A、細胞 B の両方に吸着できなかった。
- 2) NA 変異トリウイルスは細胞 A には多数吸着し、細胞 B にも少数吸着した。培養液交換後には細胞 A、細胞 B 共に吸着したウイルス数に変化はなかった。
- 3) HA/NA 変異トリウイルスは細胞 A、細胞 B の両方に吸着できなかった。

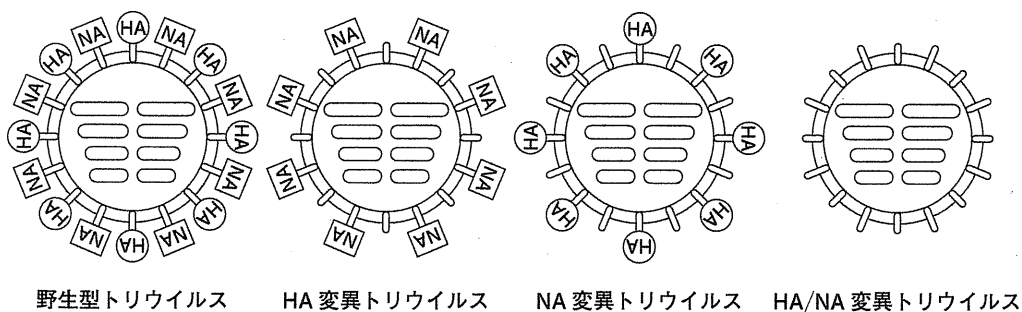


図 6 野生型トリウイルスと変異トリウイルスの模式図

実験 3

ヒトウイルスはトリウイルスと同じ遺伝子の組み合わせをもつが、HA と NA の遺伝子配列が異なり、標的細胞への吸着のみが異なる。実験 1 と実験 2 で使用した細胞 A と細胞 B にヒトウイルスを吸着させたところ、以下の結果が得られた。

- 1) 野生型ヒトウイルスは細胞 B に吸着し、細胞 A には吸着しなかった。
培養液交換後には細胞 B に吸着していたウイルスが減少していた。
- 2) HA 変異ヒトウイルスは細胞 A、細胞 B の両方に吸着できなかった。
- 3) NA 変異ヒトウイルスは細胞 B には多数吸着したが、細胞 A には吸着しなかった。培養液交換後には細胞 B に吸着したままであった。
- 4) HA/NA 変異ヒトウイルスは細胞 A、細胞 B の両方に吸着できなかった。

(A) 実験 1 と実験 2 の観察結果を踏まえて、以下の(a)~(e)の記述のうち、内容的に正しいものは①を、誤りを含むものには②を、どちらともいえないものには③を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

- (a) トリウイルスの標的細胞への表面吸着は最初に NA がはたらく。
- (b) HA の変異は細胞の吸着に影響しない。
- (c) 野生型 HA タンパク質は細胞 B より細胞 A に吸着しやすい。
- (d) 細胞 A と細胞 B どちらも存在する状況で野生型トリウイルスを混合すると、培養液交換後には野生型トリウイルスは細胞 A により多く吸着している。
- (e) 細胞からの遊離には NA が作用する。

(B) 実験1と実験2の観察結果を踏まえて、野生型トリウイルスと3種類の変異トリウイルスによる細胞Aと細胞Bへの吸着、遊離についてまとめると以下のようになる。以下の から の空欄にあてはまる0から4の最も適切な数値を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

観察直後に細胞Aに吸着したウイルスは 種類である。培養液交換後に吸着し続けたものは 種類である。

観察直後に細胞Bに吸着したウイルスは 種類である。培養液交換後に吸着し続けたものは 種類である。

(C) 実験3の観察結果を踏まえて、ヒトウイルスとトリウイルスの野生型HAと野生型NAを組み合わせたハイブリッド(遺伝子混合)ウイルス(ヒトHAトリNA, トリHAヒトNA)を作製した。これらハイブリッドウイルスはHAもしくはNA以外の遺伝子は自身のものを有し、細胞への吸着特性はそのウイルスがもつHAとNAの性質に全て依存した。これらハイブリッドウイルス2種と野生型ヒトウイルス1種、野生型トリウイルス1種、合わせて4種類を、それぞれ細胞Aと細胞Bが両方存在する条件で吸着させた。細胞Aと細胞Bそれぞれに結合するウイルスの種類はいくつか。以下の から の空欄にあてはまる0から4の最も適切な数値を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

観察直後に細胞Aに吸着したウイルスは 種類である。培養液交換後に吸着し続けたものは 種類である。

観察直後に細胞Bに吸着したウイルスは 種類である。培養液交換後に吸着し続けたものは 種類である。

右のページは白紙です。

2

遺伝子の発現およびリボソームに関する以下の設問に答えなさい。(29 点)

(1) リボソームを構成する RNA 分子(rRNA)の塩基配列は生物種の判別の指標として用いられることがある。その場合、まずはポリメラーゼ連鎖反応(PCR)⁽ⁱ⁾によって rRNA をコードする遺伝子断片を増幅する。さらに増幅された DNA 断片の塩基配列を解読することにより、解析対象とした生物種を決定することができる。

(A) 次の記述(a)~(d)は下線部(i)に関して説明したものである。内容的に正しいものは①を、誤りを含むものは②を、どちらともいえないものは③を、解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

- (a) 1 本鎖の DNA を複製の鋳型として使うことはできない。
- (b) 高温で加熱しても変性しにくい DNA ポリメラーゼにより DNA の複製を起こさせる。
- (c) 鋳型には DNA のほか、タンパク質を用いることができる。
- (d) 親子関係の判別や犯罪捜査などに応用される技術である。

(B) 異なる 4 種の生物の rRNA 遺伝子の塩基配列を解析し、比較したところ、図 1 に示すような結果が得られた。この実験結果をもとに、生物 A, B, C, D すべての rRNA 遺伝子の部分断片を PCR 増幅可能な 20 塩基長の 2 本のプライマーを設計し、それぞれの 5' 側の 7 塩基について解答用紙の指定された欄に記入しなさい。なお、増幅される遺伝子断片長は最大となるものとするが、プライマーと鋳型 DNA の配列は 100 % 相補的であるときのみ、遺伝子断片の増幅が起こるものとする。また、それぞれのプライマー配列は 5' 側から 3' 側の向きに左から右に記述すること。

```

生物 A      1  GTTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTT
生物 B      1  GGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTT
生物 C      1  GGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTT
生物 D      1  GGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTT
      *  *****  ****  ****  *****  *****  *****  *****

生物 A      61  ATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAATACAAAGGGCAGCGAAACCGCGAGGT
生物 B      61  ATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGAACAAAGGGCAGCGAAACCGCGAGGT
生物 C      61  ACGACCAAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAG
生物 D      61  ACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAAAGGGTGCCAAGCCGCGAGGT
      *  *      *****  *****  *  *  *  *****

生物 A      121  CAAGCAAATCCCATAAAGTTGTTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGA
生物 B      121  TAAGCCAATCCCACAAATCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
生物 C      121  CAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTGCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGA
生物 D      121  GGAGCTAATCCCATAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGA
      ***  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

生物 A      181  AGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCTTG
生物 B      181  AGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
生物 C      181  AGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
生物 D      181  AGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGAATCAGAATGTCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
      **  *****  *****  ***  *****  *****  *****

生物 A      241  TACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACACCGAAGCCGGTGGAGTAACCTTT
生物 B      241  TACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACACCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTT
生物 C      241  TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTC
生物 D      241  TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCTCCAGAAGTAGGTAGCTAACCGCA
      *****  *****  *  ****  **  *  ****  *  *  *****

```

図1 rRNA 遺伝子の塩基配列の比較実験のまとめ

生物 A, B, C, D がもつ rRNA 遺伝子の塩基配列それぞれ 300 塩基分ずつを整列させた。図中のそれぞれの配列は 5' 末端の塩基を 1 番目として 5' 側から 3' 側の方向に並べたもので、各行の左の数字はその行の最も左側の塩基が遺伝子の塩基配列の中で何番目かを示している。生物 A, B, C, D の遺伝子で塩基の種類が一致した塩基には、一番下の列に * 印が付されている。

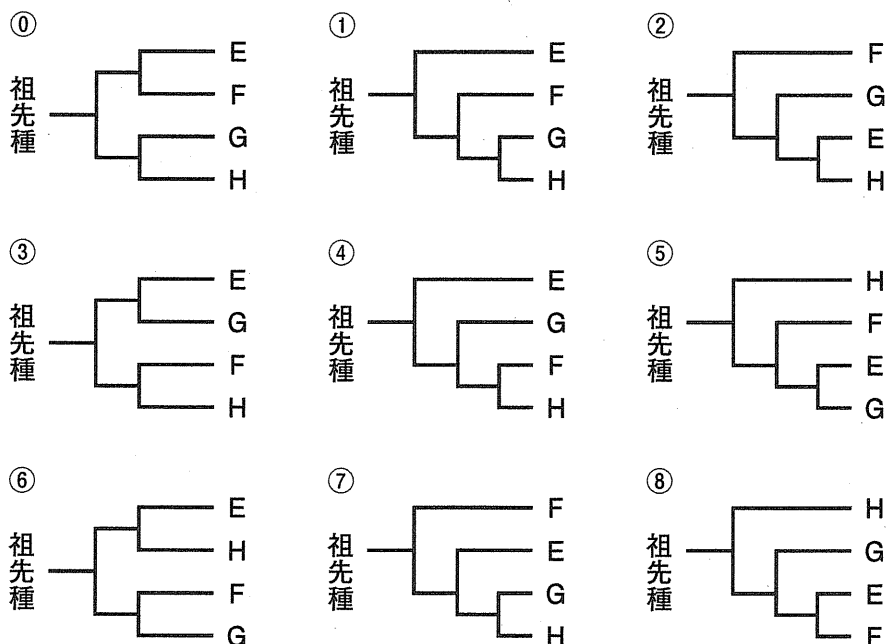
(C) 同様の実験を生物 E, F, G, H について行い, それぞれの rRNA 遺伝子の塩基配列の一致率を計算したところ, 図 2 に示すような結果が得られた。さらに, 他の遺伝子領域の塩基配列の比較解析の結果, 生物 E の分岐年代がもっとも古いことが明らかとなった。この実験結果から推定される系統樹として最も適切なものを解答群 A から選び, その番号を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

	生物 E	生物 F	生物 G	生物 H
生物 E				
生物 F	50			
生物 G	25	35		
生物 H	20	30	90	

図 2 生物 E, F, G, H の rRNA 遺伝子塩基配列の一致率(%)

生物 E, F, G, H がもつ rRNA 遺伝子の塩基配列をアラインメントしたのち, それぞれの組み合わせでの塩基の一致率を算出し百分率で表した。

解答群 A



- (2) 土壌中には微生物群集が存在する。この群集の特徴を解析するために、以下の実験 1～3を行った。

実験 1

ある土壌に含まれる微生物の種類を調べるため、培養実験を試みた。まず、土壌 1 グラムを滅菌水に懸濁し、寒天培地(プレート)に均一に塗り広げた。このプレートを 25℃ で 3 日間培養したところ、土壌に含まれていた微生物のそれぞれ 1 個の細胞から増殖してできたコロニーがいくつか出現した。つづいて、これらのコロニーから DNA を抽出し、それらを鋳型として、原核微生物に特異的な rRNA (16S rRNA) 遺伝子を増幅するためのプライマー、または真核微生物に特異的な rRNA (18S rRNA) 遺伝子を増幅するためのプライマーを用いて PCR を行ったところ、すべての微生物の DNA から 16S rRNA 遺伝子あるいは 18S rRNA 遺伝子のいずれか一方のみの増幅された DNA 断片が得られた。これらの増幅産物について塩基配列の解析を行い、配列データの比較からこの土壌に含まれる培養可能な微生物種 1～6 の存在を確認した。それらの出現数と PCR の結果増幅された遺伝子を表 1 に示した。なお、用いた寒天培地は微生物種 1～6 が生育するために必要なすべての栄養源を含む。また、出現した微生物種の構成比は、土壌にもともと含まれていた微生物の構成比を忠実に再現するものとし、いずれの微生物種も 1 細胞あたりの rRNA 遺伝子の数は細胞ごとに同一種内では保存されるものとする。

微生物種	出現コロニー数	PCR 増幅遺伝子
1	200	16S rRNA 遺伝子
2	50	18S rRNA 遺伝子
3	500	16S rRNA 遺伝子
4	5	18S rRNA 遺伝子
5	10	16S rRNA 遺伝子
6	80	16S rRNA 遺伝子

表 1 微生物種 1 ～ 6 が培地に出現したコロニー数，およびそれぞれのコロニーから抽出した DNA を鋳型として PCR を行った結果増幅された遺伝子領域。

(A) 次の記述(a)～(d)は，実験 1 の結果にもとづく考察である。内容的に正しいものは①を，誤りを含むものは②を，どちらともいえないものは③を，解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

- (a) 用いた土壤中には少なくとも 4 種の真核微生物と 2 種の原核微生物が存在している。
- (b) 用いた土壤中に含まれる培養可能な微生物のうち，最も細胞数が多いのは微生物種 3 である。
- (c) 用いた土壤中に含まれる培養可能な微生物のうち，最も細胞数が少ないのは微生物種 6 である。
- (d) 用いた土壤中に含まれる培養可能な微生物のうち，原核微生物の細胞数が占める割合は 95 % 以上である。

実験 2

実験 1 で培養した微生物を 100 細胞ずつ分離し，DNA を抽出した。これらの DNA を鋳型として 16S rRNA 遺伝子あるいは 18S rRNA 遺伝子を増幅するための PCR を行ったが，二本鎖 DNA の解離，プライマーの結合，ポリメラーゼによる合成から構成されるサイクルを完了するたびに PCR 産物の分子数を DNA 検出装置によって測定した。その結果，それぞれの微生物種に特異的な PCR 産物の分子数が DNA 検出装置によって検出可能な一定量に達するまでに要した PCR サイクル数を表 2 にまとめた。

微生物種	PCR 増幅した遺伝子領域	PCR サイクル数
1	16S rRNA 遺伝子	25
2	18S rRNA 遺伝子	22
3	16S rRNA 遺伝子	26
4	18S rRNA 遺伝子	21
5	16S rRNA 遺伝子	24
6	16S rRNA 遺伝子	24

表 2 微生物種 1 ～ 6 から PCR 増幅された遺伝子領域および検出されるまでに要した PCR サイクル数。

(B) 実験 2 の結果に関する以下の文章中の から および から に当てはまる最も適切な数字を 0 から 9 の中から選び、その数字を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。なお、解答は小数点以下を四捨五入し、二桁の数の場合は 100 の位に 0 を、一桁の数の場合は 100 および 10 の位に 0 を、数が 0 の場合はすべての位に 0 をマークしなさい。また、本実験では微生物がもつ DNA は 100 % 抽出できたものとする。さらに、本実験で用いた PCR による増幅の効率、いずれの反応においても同一であり、1 回のサイクルによって目的 DNA 断片の分子数は 2 倍になるものとする。

微生物種 4 の細胞あたりの 18S rRNA 遺伝子のコピー数は、微生物種 2 の 18S rRNA 遺伝子のコピー数と比べて

倍 多い。
100 の位 10 の位 1 の位

また、微生物種 4 の細胞あたりの 18S rRNA 遺伝子のコピー数は、微生物種 3 の 16S rRNA 遺伝子のコピー数と比べて

倍 多い。
100 の位 10 の位 1 の位

実験 3

微生物種 1 ～ 6 の 16S または 18S rRNA 遺伝子配列中の部分配列に関する情報をもとに、それぞれの微生物種の rRNA 遺伝子を特異的に増幅できる PCR プライマー(種特異的プライマー 1 ～ 6)を設計した。実験 1 で用いたものと同じ土壌 1 グラムから直接抽出した DNA を鋳型として、種特異的プライマー 1 ～ 6 をそれぞれ用いて PCR を行い、実験 2 で用いたものと同じ DNA 検出装置によって解析した。

(C) 実験 3 の結果、土壌 1 グラム中に含まれる微生物種 1 ～ 6 がそれぞれもつ rRNA 遺伝子の存在数を多い方から並べると、どのような順番になると推定されるか。以下の不等式の (ア) から (カ) に当てはまる最も適切な選択肢を解答群 B から選び、その番号を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。なお、本実験で用いた PCR による増幅の効率は、いずれの反応においても同一であり、1 回のサイクルによって目的 DNA 断片の分子数は 2 倍になるものとし、DNA 検出装置は DNA 量の違いを精密に計測できるものとする。また、用いたいずれの種特異的プライマーも、対応する微生物種以外の生物の DNA とは反応しないものとする。

多い (ア) > (イ) > (ウ) > (エ) > (オ) > (カ) 少ない

解答群 B

- | | | |
|----------|----------|----------|
| ① 微生物種 1 | ② 微生物種 2 | ③ 微生物種 3 |
| ④ 微生物種 4 | ⑤ 微生物種 5 | ⑥ 微生物種 6 |

3

タンパク質の構造とはたらきに関する以下の設問に答えなさい。(38点)

タンパク質には多くの種類があり、細胞内のさまざまな場所ではたらいっている。これまでに、数多くのタンパク質のアミノ酸配列が明らかにされてきたが、はじめてアミノ酸配列が明らかにされたタンパク質は、インスリンである。インスリンは (ア) に存在するランゲルハンス島の (イ) から分泌されるペプチドホルモンの一種であり、血糖量の上昇に応答して分泌される。血糖量の上昇を (イ) が感知すると、細胞はインスリン遺伝子の遺伝情報を RNA ポリメラーゼにより mRNA 前駆体に写し取る。mRNA 前駆体は、 (ウ) により、イントロンが切り捨てられ mRNA ができる。次に、mRNA の情報に基づいてリボソームにおいてタンパク質が合成される。リボソームはその位置を移動させながら、次々とアミノ酸をつないでいく。mRNA のアミノ酸への変換は (エ) を介して行われる。

インスリンは、はじめにその mRNA から、リボソームにより 110 アミノ酸の 1 本のポリペプチドとして合成される。このポリペプチドはプレプロインスリンとよばれており、その構造を図 1 に示している。プレプロインスリンはアミノ末端(N末端)から 24 アミノ酸の領域が切断された後、次々に折りたたまれ、さらに 3 カ所がジスルフィド(S-S)結合により結ばれたプロインスリンになる。プロインスリンは 21 個のアミノ酸からなる A 鎖と、30 個のアミノ酸からなる B 鎖が連結ペプチド(C ペプチド)とよばれる領域でつながった構造をしている。プロインスリンはさらにタンパク質分解酵素によって切断され、インスリンは A 鎖と B 鎖が 2 カ所の S-S 結合により結ばれた構造で細胞外に分泌される。

分泌されたインスリンは肝臓での糖新生を (オ) し、グリコーゲン合成を (カ) することで、肝静脈へのブドウ糖(グルコース)の放出を抑制し、血糖量を (キ) 役割がある。

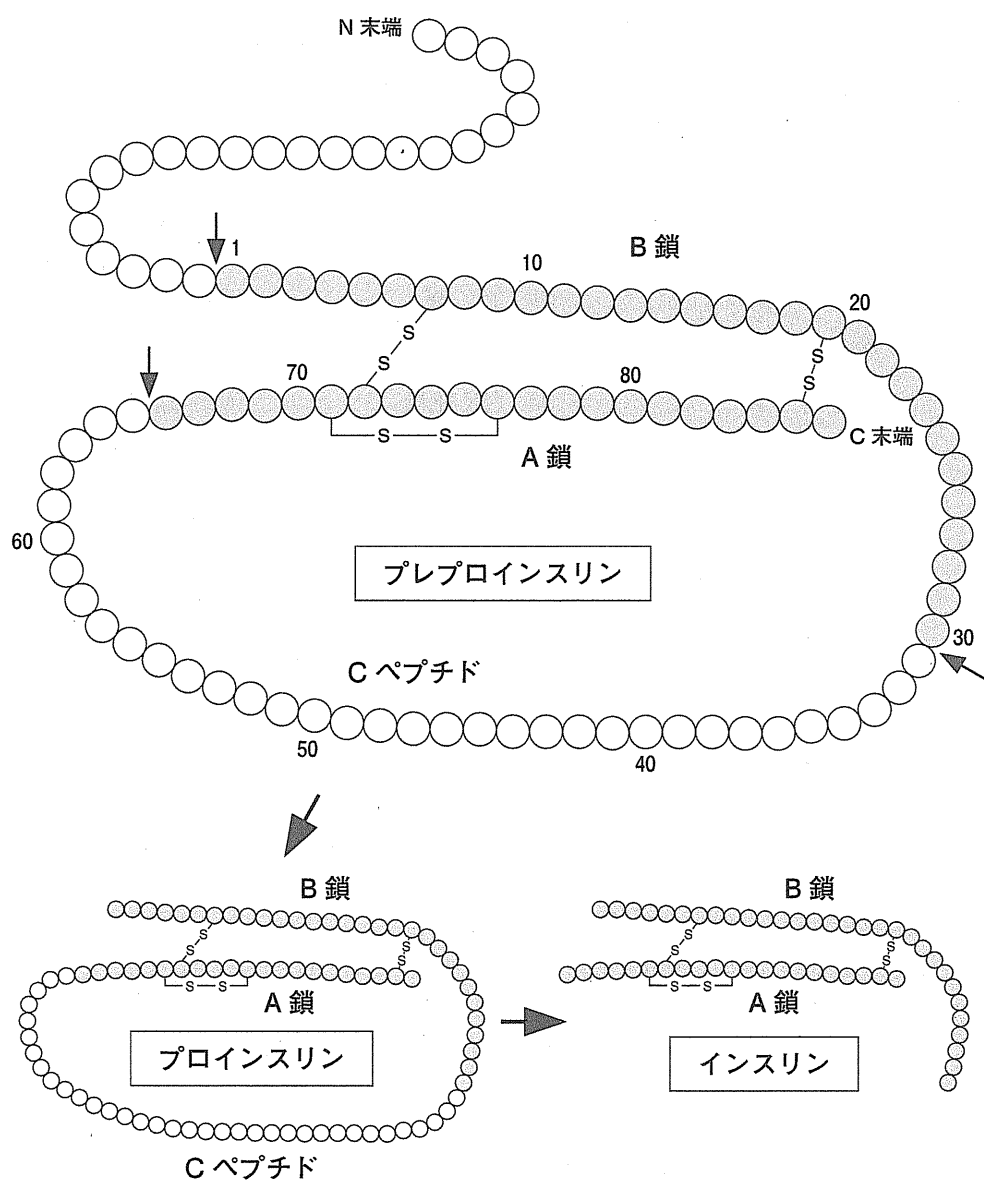


図1 プレプロインスリン，プロインスリン，およびインスリンの構造。プレプロインスリンの中に示す矢印は分泌型インスリンになるために切断される場所を示している。灰色で示した部分が最終的なインスリンの領域。Cペプチドは31番目から65番目のアミノ酸の領域。プレプロインスリン内に示されているジスルフィド結合は、実際にはプロインスリンになった際に形成される。

- (1) 文章の空欄 ア から キ を埋める語句として最も適切なものを解答群 Aの中から選び、その番号を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

解答群 A

- | | | |
|-----------|---------|-----------|
| ⑩ T 細胞 | ⑪ 腎 臓 | ⑫ B 細胞 |
| ⑬ スプライシング | ⑭ A 細胞 | ⑮ mRNA |
| ⑯ 肝 臓 | ⑰ NK 細胞 | ⑱ 翻 訳 |
| ⑲ tRNA | ⑳ グルカゴン | ㉑ ミトコンドリア |
| ㉒ DNA | ㉓ 小胞体 | ㉔ 転 写 |
| ㉕ 膵 臓 | ㉖ 促 進 | ㉗ 抑 制 |
| ㉘ 上げる | ㉙ 下げる | |

- (2) 炭水化物を摂取すると、グルコースが腸から吸収されて血糖となる。図 2 は健康なヒトの食事の前後での血糖量の変化をグラフに示している。図をもとに、設問(あ)～(う)に答えなさい。

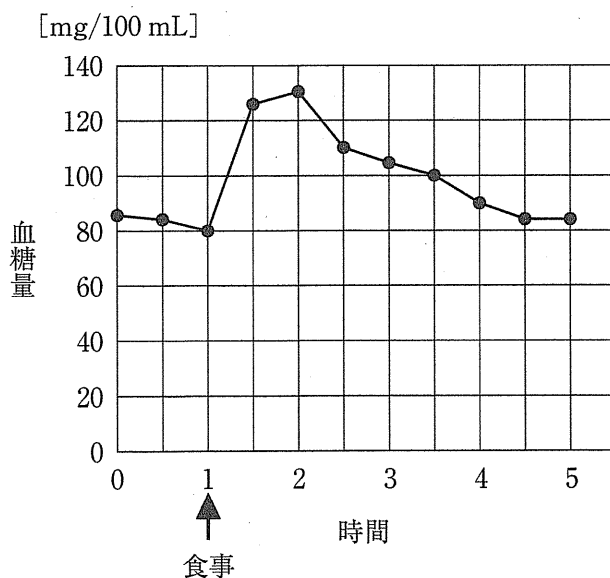


図 2 ヒトの食事前後での血糖量の変化

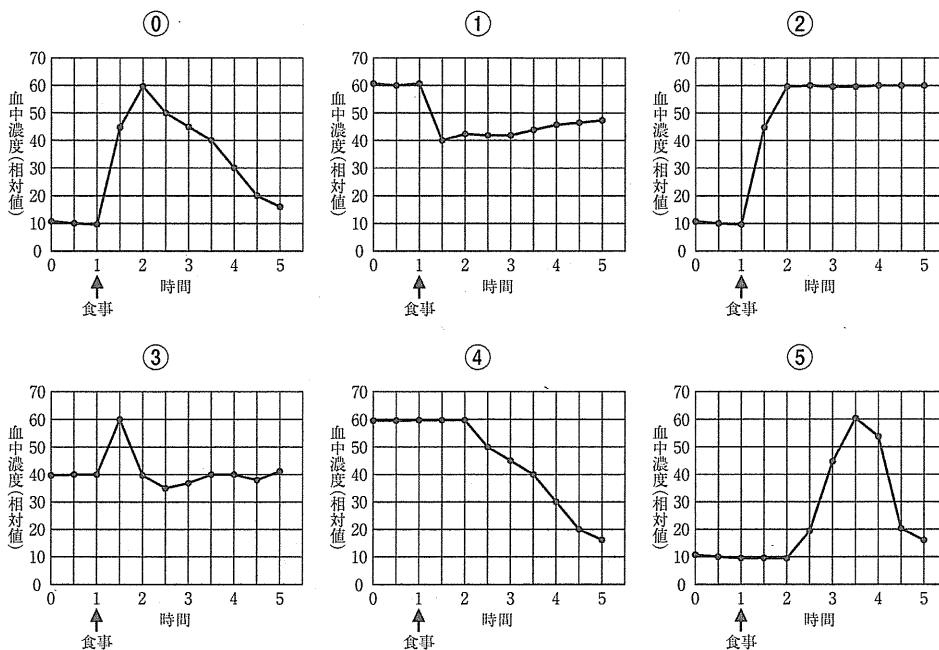
(あ) 筋肉細胞では、筋肉が急激に収縮するときに、酸素の供給が間に合わなくなると酸素を用いない ATP 合成を行うが、この際の一分子のグルコースの変化を表すものとして適切なものを解答群 B の中から選び、その番号を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

解答群 B

- ① グルコース → エタノール + エネルギー
- ② グルコース → エタノール + 二酸化炭素 + エネルギー
- ③ グルコース → 乳酸 + エネルギー
- ④ グルコース → 乳酸 + 二酸化炭素 + エネルギー
- ⑤ グルコース → クエン酸 + エネルギー
- ⑥ グルコース → クエン酸 + 二酸化炭素 + エネルギー

(い) 図 2 に対応するインスリンの血液中の濃度の変化を示すグラフとして、最も適切なものを解答群 C の中から選び、その番号を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

解答群 C



(ウ) 図2に対応するグルカゴンの血液中の濃度の変化を示すグラフとして、最も適切なものを解答群Cの中から選び、その番号を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

(3) 図3は糖尿病患者の食事による血糖量と血液中のインスリン濃度の変化をグラフに示したものである。グラフについて述べた以下の(a)~(d)の記述のうち、内容的に正しいものは①を、誤りを含むものは②を、どちらともいえないものは③を選び、解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

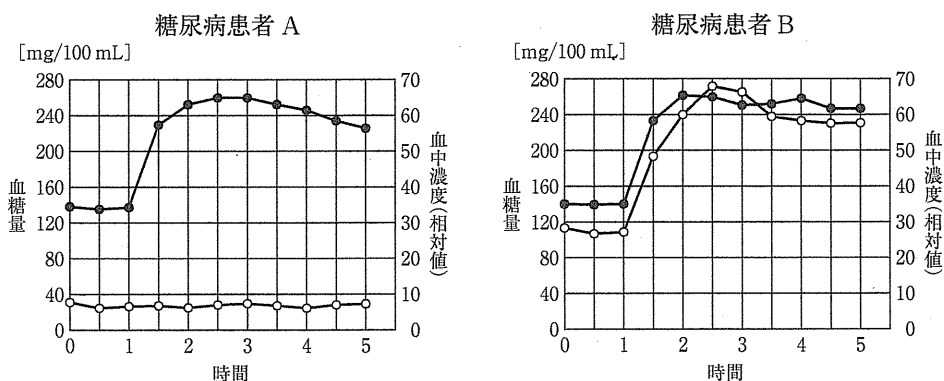


図3 糖尿病患者における食後の血糖量(●)と血液中のインスリン濃度(○)の変化

- (a) 糖尿病患者 A は、インスリンの分泌量が少ないため、食後に上昇した血糖値が下がるのに健康なヒトよりも時間がかかる。
- (b) 糖尿病患者 A は食事前の血糖量も健康な人よりも高い。これは血中での糖の分解が抑制されていることが原因であると考えられる。
- (c) インスリンの標的細胞でインスリンを受け取る受容体に異常が生じている場合、糖尿病患者 B のグラフのようになる場合が多い。この患者のインスリンのアミノ酸配列は正常な場合が多い。
- (d) 糖尿病患者 B のグラフは、インスリンの分泌は正常であるため I 型糖尿病の可能性が考えられる。

(4) 下線部(i)のジスルフィド結合について述べた以下の(a)～(d)の記述のうち、内容的に正しいものは①を、誤りを含むものは②を、どちらともいえないものは③を選び、解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

- (a) ポリペプチド間の構造を安定化するための水素を介した弱い結合である。
- (b) アミノ酸の一種であるシステインの側鎖間につくられる結合である。
- (c) アミノ基とカルボキシ基から水1分子が除かれることによりつくられる結合である。
- (d) 硫黄を含むアミノ酸であるメチオニンの側鎖間につくられる結合である。

(5) 培養細胞を超音波破碎機で処理すると、細胞膜や細胞小器官は壊され、それらの膜はマイクロソームとよばれる膜で覆われた小胞になる。粗面小胞体にはリボソームが結合しているので、粗面小胞体を由来とするマイクロソームは比重が大きく、分離することができる(図4)。粗面小胞体からつくられたマイクロソームから、結合しているリボソームを除去したマイクロソーム膜(小胞体膜マイクロソーム)は小胞体膜そのものと考えられる。プレプロインスリンがプロインスリンになる過程において、切断される24アミノ酸の役割について調べるため、リボソームを除去した小胞体膜マイクロソームを用いて以下の実験を行った。実験結果をもとに、設問(あ)~(う)に答えなさい。

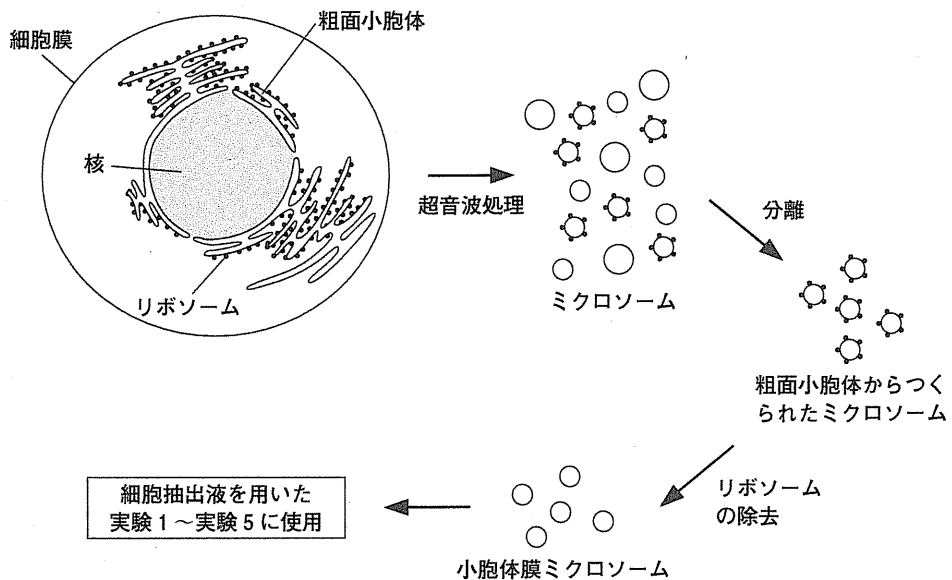


図4 小胞体膜マイクロソームのつくり方

実験 1

タンパク質合成と輸送に必要な因子を含んだ細胞の抽出液を用いて、試験管内でインスリンの mRNA からタンパク質を合成した。タンパク質合成完了後、小胞体膜ミクロソームを加え、試験管内のタンパク質を調べたところ、プレプロインスリンが存在することが分かった。

実験 2

タンパク質合成と輸送に必要な因子を含んだ細胞の抽出液に小胞体膜ミクロソームを加えた後、実験 1 と同様にインスリンの mRNA からタンパク質を合成した。タンパク質合成完了後、試験管内のタンパク質を調べたところ、プロインスリンが存在することが分かった。

実験 3

実験 1、実験 2 の反応を行った後、それぞれの試験管にタンパク質分解酵素であるトリプシンを加えて反応した結果、プレプロインスリンは分解されたが、プロインスリンは分解されなかった。

実験 4

実験 1、実験 2 の反応を行った後、それぞれの試験管に細胞膜構造を壊すことのできる界面活性剤を加え小胞体膜ミクロソームを破壊した。さらに、トリプシンを加えて反応した結果、プレプロインスリン、プロインスリンともに分解された。

実験 5

インスリンの mRNA から 2 番目から 24 番目のアミノ酸をコードする領域を取り除いた人工的な mRNA を合成し、実験 1 を行ったところ、プロインスリンの N 末端にメチオニンが付加されたタンパク質ができた。この mRNA を用いて、実験 2 を行った後、それぞれの試験管にタンパク質分解酵素であるトリプシンを加えて反応した結果、このタンパク質は分解された。

- (あ) インスリンなどの分泌タンパク質が細胞外に分泌される際に通るルートとして、最も適切なものを解答群Dの中から選び、その番号を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

解答群D

- ① 小胞体 → ゴルジ体 → 分泌顆粒 → 細胞膜
- ② ゴルジ体 → 小胞体 → 分泌顆粒 → 細胞膜
- ③ 核 → 小胞体 → 分泌顆粒 → 細胞膜
- ④ ミトコンドリア → 小胞体 → 分泌顆粒 → 細胞膜
- ⑤ 分泌顆粒 → ゴルジ体 → 小胞体 → 細胞膜

- (い) 以下の(a)～(d)の記述は、実験1～4で得られた結果にもとづいた考察である。内容的に正しいものは①を、誤りを含むものは②を、どちらともいえないものは③を選び、解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

- (a) インスリンの mRNA がリボソームに結合し、タンパク質合成が開始されると、リボソームは小胞体に結合し、合成したタンパク質を小胞体の内部へと運びこむ。
 - (b) インスリンの mRNA はリボソームに結合すると、すぐに細胞質中でプレプロインスリンへと翻訳され、その後小胞体の内部へと運ばれる。
 - (c) プレプロインスリンは小胞体内に運ばれた後に切断され、プロインスリンになる。
 - (d) プレプロインスリンは切断されてプロインスリンになった後、小胞体内部へ運ばれる。
- (う) 実験1～5で得られた結果から、プレプロインスリンの N 末端に存在する 24 アミノ酸の役割について考察し、解答用紙に 40 文字以内で記述しなさい。

- (6) プロインスリンは分泌顆粒内で酵素 X により、インスリン A 鎖と B 鎖と C ペプチドに分解される。この際、切断により取り除かれた C ペプチドも分泌されるが、C ペプチドの量は C ペプチドに対する抗体を使用した発色反応により調べることができる。この抗体は C ペプチドのみを検出し、プロインスリンは検出することはできない。酵素 X の酵素活性を調べるために、以下の条件で実験を行った。図 5 と図 6 に示した実験結果をもとに、(あ)から(え)の設問に答えなさい。ただし、ここで用いている酵素の活性は実験を通して変化しないものとする。

実験 6

マイクロチューブに濃度の異なる C ペプチドを入れ、それぞれに含まれる C ペプチド量について抗体を用いた発色反応により調べた結果、図 5 で示すグラフのようになった。

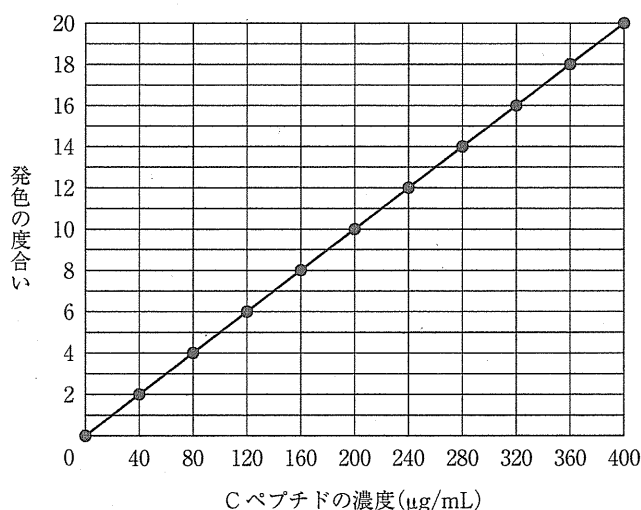


図 5 実験 6 の結果。μg はマイクログラム (1×10^{-6} グラム) を表す。

実験 7

冷却した酵素 X 溶液の入ったマイクロチューブに、それぞれ濃度の異なるプロインスリンを加え、全体の容量を 0.1 mL にして 37℃ で 60 分間分解した。反応後、それぞれのマイクロチューブに含まれる C ペプチド量について抗体を用いた発色反応により調べた結果、図 6 で示すグラフのようになった。

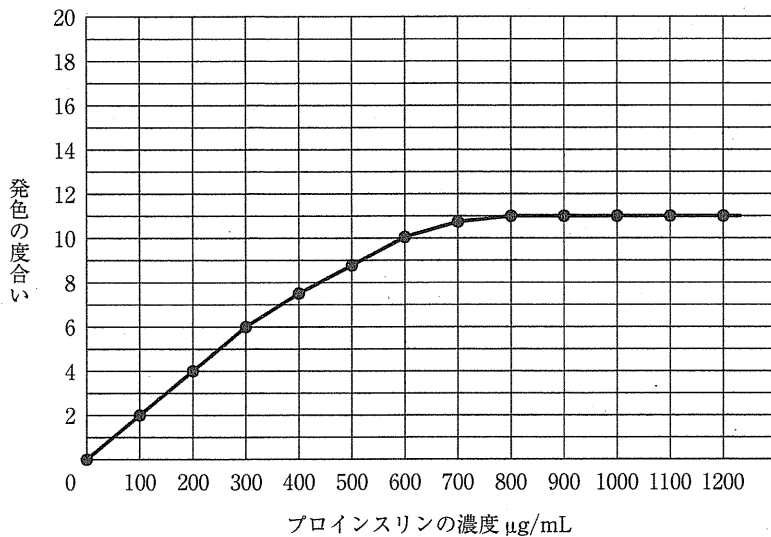


図6 プロインスリン分解によるCペプチドの生成量

(あ) 実験7において、発色の度合いが最終的に一定になる理由として最も適切なものを解答群Eの中から選び、その番号を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

解答群E

- ① すべての酵素Xが反応して、酵素Xがなくなったため。
- ② 酵素Xの半分が反応して、半分の酵素Xがなくなったため。
- ③ すべての酵素Xがプロインスリンと結合して、はたらいっているため。
- ④ すべての酵素XがCペプチドと結合して、はたらいっているため。
- ⑤ 酵素Xの半分がプロインスリンと結合して、はたらいっているため。
- ⑥ 酵素Xの半分がCペプチドと結合して、はたらいっているため。

(い) 実験7において、プロインスリンの濃度が300 $\mu\text{g/mL}$ のときのインスリンの生成量を求めなさい。ただし、インスリンの分子量はCペプチドの1.5倍として計算すること。計算結果の小数点以下一桁目は四捨五入しなさい。
 解答には下の ア から ウ に入る最も適切な数字を0から9の

中から選び、その数字を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。計算の結果得られた答えが一桁の場合には 100 の位と 10 の位に 0 を、二桁の場合は 100 の位に 0 をマークすること。

(ア) (イ) (ウ) μg

100 の位 10 の位 1 の位

- (う) 実験 7 における、この酵素反応の最大速度 (1 分あたりの C ペプチドの生成量 (μg)) を求めなさい。計算結果の小数点以下三桁目は四捨五入しなさい。解答には下の (エ) から (カ) に入る最も適切な数字を 0 から 9 の中から選び、その数字を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

(エ) . (オ) (カ) $\mu\text{g}/\text{分}$

1 の位 小数点 小数点以下一桁目 小数点以下二桁目

- (え) 実験 7 において、酵素 X 溶液に含まれる酵素を半分量にした際、プロインスリンの濃度が $200 \mu\text{g}/\text{mL}$ のときの反応速度 (1 分あたりの C ペプチドの生成量 (μg)) はいくらになるか。計算結果の小数点以下三桁目は四捨五入しなさい。解答には下の (キ) から (ケ) に入る最も適切な数字を 0 から 9 の中から選び、その数字を解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

(キ) . (ク) (ケ) $\mu\text{g}/\text{分}$

1 の位 小数点 小数点以下一桁目 小数点以下二桁目

