

J 5 生 物

この冊子は、生物の問題で1ページより39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。

(下書き用紙)

(下書き用紙)

- 1 植物細胞内の情報伝達に関する以下の文章を読んで、(1)から(7)までの問題に答えなさい。(33 点)

ジベレリンは種子の発芽促進等において重要な役割を担う。その情報伝達では、ジベレリン量が少ないときには DELLA タンパク質が転写因子 A に結合することで、転写因子 A の機能を抑制する。しかしジベレリン量が増えると、DELLA タンパク質が分解されることで、転写因子 A が解放され、下流の遺伝子の転写量が増える(図 1)。例えば、オオムギやイネの種子では、ジベレリン量が増えはじめると、アミラーゼ遺伝子の転写量が増える。このことで、種子の発芽が誘導される。⁽ⁱ⁾

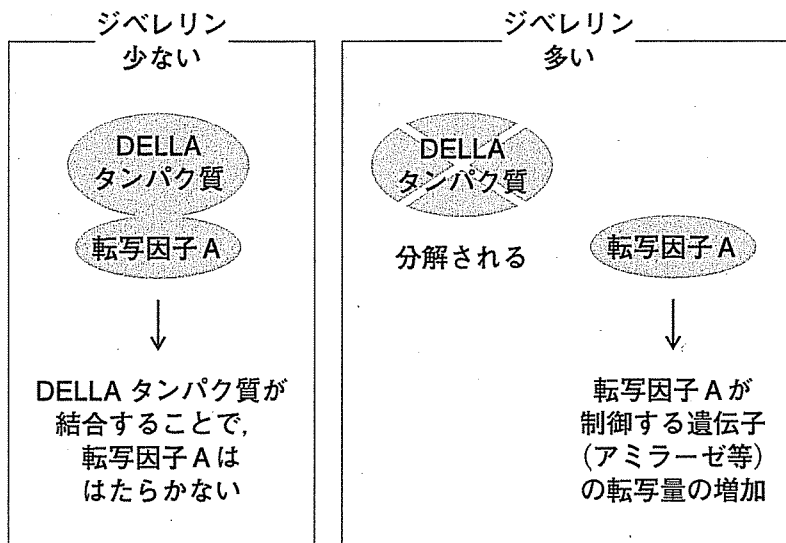


図 1 ジベレリン量が少ない場合と多い場合での種子における転写の制御

種子と同じように、緑葉においても DELLA タンパク質は転写因子 A に結合することで、転写因子 A が制御する遺伝子の転写量は減少する。これに加えて、DELLA タンパク質はジャスモン酸の情報伝達における制御タンパク質 B にも作用することが知られる。制御タンパク質 B は転写因子 C に結合することで、転写因子 C のはたらきを抑制する制御因子である。緑葉でジャスモン酸量が増えると、制御タンパク質 B の多くが分解される。その結果、転写因子 C が制御する遺伝子 D の転写量が増える(図 2)。

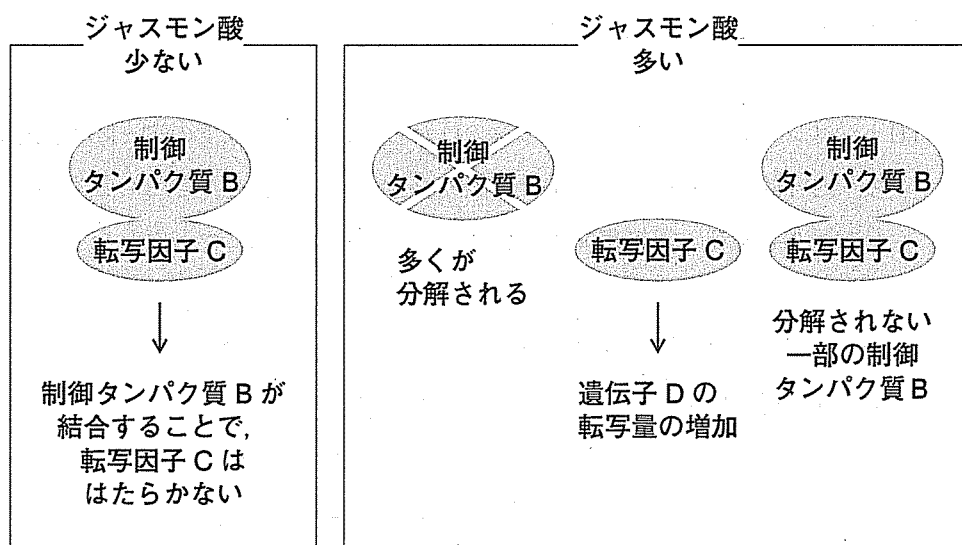


図 2 ジャスモン酸量が少ない場合と多い場合での緑葉における転写の制御

一方、DELLA タンパク質が制御タンパク質 B に結合すると、制御タンパク質 B は転写因子 C に結合できなくなる。緑葉でジベレリン量が増えると、DELLA タンパク質が分解されるため、制御タンパク質 B は転写因子 C に結合できるようになる。これにより、遺伝子 D の転写量は減る。

なお、緑葉における DELLA タンパク質、転写因子 A、制御タンパク質 B、転写因子 C の合成量は一定であり、緑葉内のジベレリン量やジャスモン酸量の増減によっても変動しない。したがって、転写因子 A、転写因子 C の分子数やはたらかきは、DELLA タンパク質や制御タンパク質 B の分解と結合のみによって制御され、下流の遺伝子の転写量は調節される。

- (1) ジベレリンやその他のホルモンのはたらきに関する以下の(ア)～(オ)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。

- (ア) ジベレリンは茎の成長を抑制する。
- (イ) 種子においてアブシシン酸は発芽を促進する。
- (ウ) ジャスモン酸は病害虫に対する防御応答を誘導する。
- (エ) サイトカイニンは植物の落葉・落果を促進する。
- (オ) アブシシン酸は気孔の閉鎖を促進する。

- (2) 下線部(i)の植物のアミラーゼの最適温度は、ヒトの唾液に含まれるアミラーゼのそれよりも 15～20℃ ほど高いことが知られる。また、ヒトの唾液に含まれるアミラーゼの最適温度は体温程度である。これらの情報をもとに、10～80℃ における植物のアミラーゼの酵素活性を示しなさい。解答は、10～80℃ までの連続的な曲線で、解答用紙の該当する解答欄に記入しなさい。なお、酵素反応における温度以外の条件は満たされているものとする。

- (3) レタスの種子をまき、暗所で2時間吸水させた後に、27℃で赤色光(波長660 nm 付近)または遠赤色光(波長730 nm 付近)を、以下の(ア)～(ウ)のように短時間照射し、2日後の発芽の有無を調べた。(ア)～(ウ)の照射条件のうち、発芽するものは①を、発芽しないものは②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。

(ア) 遠赤色光を照射した。

(イ) 赤色光を照射した。

(ウ) 赤色光を照射し、次に遠赤色光を照射し、さらに赤色光を照射した。

- (4) ジベレリン量とジャスモン酸量が少ない緑葉に、十分な濃度のジベレリン、ジャスモン酸を与えた場合、遺伝子Dの転写量は変化する。このとき、転写量が多い順に、以下の不等式の $\boxed{\text{ア}}$ ～ $\boxed{\text{ウ}}$ に当てはまる最も適切な選択肢を解答群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。

転写量が多い

少ない

$$\boxed{\text{ア}} > \boxed{\text{イ}} > \boxed{\text{ウ}}$$

解答群A

- ① ジベレリンを与えた場合
- ② ジャスモン酸を与えた場合
- ③ ジベレリンとジャスモン酸の両方を与えた場合

- (5) ある変異型植物(DELTA 変異株)では、野生型植物(野生株)の DELTA 遺伝子内の開始コドン付近のシトシンがアデニンに変化することで、DELTA タンパク質がはたらかなくなっていた。図3は、DELTA タンパク質の mRNA の転写開始点から翻訳開始点を含む領域の変異が生じる前の配列を示す。図4の遺伝暗号表を参考にして、変異の箇所として最も適切なシトシン塩基に該当する番号を図3中の0～9より選び、解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。なお、変異箇所は1箇所のみとする。

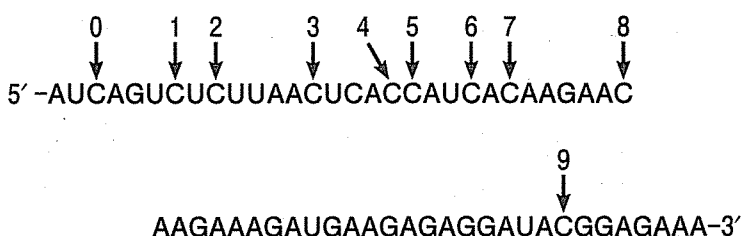


図3 野生株における DELTA タンパク質の mRNA 配列
(転写開始点から翻訳開始点を含む領域)

		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	UCU セリン	UAU チロシン	UGU システイン	U	3 番目の塩基
		UUC	UCC	UAC	UGC	C	
		UUA ロイシン	UCA	UAA 終止	UGA 終止	A	
		UUG	UCG	UAG 終止	UGG トリプトファン	G	
	C	CUU ロイシン	CCU プロリン	CAU ヒスチジン	CGU アルギニン	U	
		CUC	CCC	CAC	CGC	C	
		CUA	CCA	CAA グルタミン	CGA	A	
		CUG	CCG	CAG	CGG	G	
	A	AUU イソロイシン	ACU トレオニン	AAU アスパラギン	AGU セリン	U	
		AUC	ACC	AAC	AGC	C	
		AUA	ACA	AAA リシン	AGA アルギニン	A	
		AUG 開始 メチオニン	ACG	AAG	AGG	G	
	G	GUU バリン	GCU アラニン	GAU アスパラギン酸	GGU グリシン	U	
		GUC	GCC	GAC	GGC	C	
		GUA	GCA	GAA グルタミン酸	GGA	A	
		GUG	GCG	GAG	GGG	G	

図4 遺伝暗号表

(6) (5)で述べた DELLA 変異株の、緑葉での特徴についての以下の(ア)~(ウ)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。なお、野生株と DELLA 変異株の緑葉におけるジベレリン量とジャスモン酸量は十分に少なく、DELLA 変異株では DELLA 遺伝子以外における変異は生じていないものとする。

(ア) 転写因子 A が制御する遺伝子の転写量は野生株よりも多い。

(イ) 遺伝子 D の転写量は野生株よりも多い。

(ウ) ジャスモン酸を与えた DELLA 変異株では、同じくジャスモン酸を与えた野生株よりも遺伝子 D の転写量は多い。

(7) 生体での遺伝子の機能を明らかにする技法の一つとして、RNA 干渉(RNAi)がある。RNAiを用いることで、生体内における特定のタンパク質量を減少させることができる。この技法を用いて、DELLA タンパク質量が減少している植物(DELLA 抑制株)を作出した。この DELLA 抑制株の緑葉における DELLA タンパク質量は、野生株の半分になっていることが分かった。同様に、DELLA 抑制株の遺伝子 D の転写量は野生株の半分になっていたが、転写因子 A によって制御される遺伝子の転写量は野生株と同程度であった。このことから考えられる以下の(ア)~(ウ)の考察のうち、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。なお、野生株と DELLA 抑制株の緑葉におけるジベレリン量とジャスモン酸量は十分に少なく、DELLA 抑制株では DELLA タンパク質以外のタンパク質が RNAi によって直接影響を受けることは無いものとする。

(ア) DELLA タンパク質量が半分になる量のジベレリンを野生株に与えた場合、転写因子 A によって制御される遺伝子の転写量は増えると予想される。

(イ) DELLA 抑制株に十分な濃度のジベレリンを与えた場合、転写因子 A によって制御される遺伝子の転写量は増えると予想される。

(ウ) DELLA 抑制株にジャスモン酸を与えると、遺伝子 D の転写量は増えると予想される。

(下書き用紙)

2 免疫に関する以下の文章を読んで、(1)から(7)までの問題に答えなさい。

(33点)

生物は、細菌やウイルスなどのさまざまな病原体に囲まれながら、生き続けることができる。これは、非自己である異物が生体内に侵入するのを妨げたり、いったん侵入した異物を排除したりするしくみが備わっているためであり、生物を守るこのようなしくみを免疫とよぶ。

私たちのからだは、第一の防御である皮膚や粘膜によって異物の侵入が阻止される。表皮の細胞が密に結合し多層構造を形成していることで侵入が阻止される、いわゆる (ア) 防御や、皮膚や粘膜からの分泌物⁽ⁱ⁾に含まれる物質が作用する (イ) 防御が知られる。これらの防御を突破して病原体が体内に侵入すると、食作用をもつ食細胞⁽ⁱⁱ⁾が病原体を取り込み、消化・分解して排除する。このように、感染初期にはたらく免疫を (ウ) 免疫といい、第二の防御を担っている。 (ウ) 免疫でも排除できなかった異物に対しては、第三の防御として (エ) 免疫がはたらく。 (エ) 免疫には、抗体が反応に関わる (オ) 免疫と、特定のリンパ球が感染を受けた細胞などに作用する (カ) 免疫がある。

免疫は、感染症に対するワクチン接種のように、ヒトにとって有益なはたらきをする。一方、他人の臓器を移植する場合に拒絶反応⁽ⁱⁱⁱ⁾が起こることがあるが、これは他人の臓器を異物とみなす免疫反応によるものである。

- (1) 文章中の ア ～ カ に当てはまる最も適切な語句を解答群 A より選び、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 体液性 | ⑪ 抗体性 | ⑫ 血液性 |
| ⑬ 細胞性 | ⑭ 多様性 | ⑮ 化学的 |
| ⑯ 数学的 | ⑰ 物理的 | ⑱ 生物学的 |
| ⑲ 天然 | ⑳ 自然 | ㉑ 皮膚 |
| ㉒ 順応 | ㉓ 適応(獲得) | ㉔ 骨 |
| ㉕ 環境 | ㉖ 感染 | ㉗ 臓器 |

- (2) 下線部(i)に示す分泌物には、病原体となる細菌が侵入した場合、それを破壊する分子が含まれている。分泌物を説明する文章として最も適切なものを解答群 B より選び、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

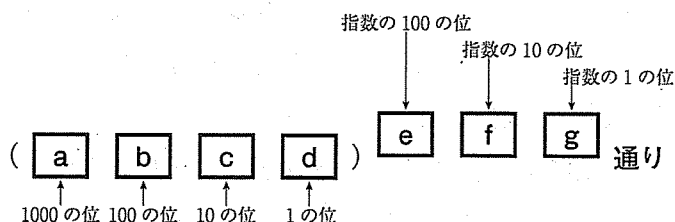
- ① リゾチームによる細胞膜の破壊
- ② リゾチームによる細胞壁の破壊
- ③ インスリンによる細胞壁の破壊
- ④ インスリンによる細胞膜の破壊

- (3) 下線部(ii)に示す食細胞として正しいものはどれか。解答群Cより三つ選び、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C

- | | |
|---------------|-----------|
| ① 好中球 | ① B細胞 |
| ② 肥満細胞(マスト細胞) | ③ T細胞 |
| ④ 神経細胞 | ⑤ マクロファージ |
| ⑥ 赤血球 | ⑦ 樹状細胞 |
| ⑧ 記憶細胞 | ⑨ 形質細胞 |

- (4) 下線部(iii)に示す拒絶反応は、抗原提示に関わる MHC 抗原がヒトによって異なることに起因する。MHC 抗原の遺伝子がヒトによって異なる上に、1 人のヒトが複数の MHC 遺伝子座をもつため、移植を受けるヒト(レシピエント)と臓器を提供するヒト(ドナー)の MHC 遺伝子が完全に一致する確率は極めて低い。1 人のヒトが MHC 遺伝子座をクラス I で A, B, C の 3 種類、クラス II では DP, DQ, DR の 3 種類もち、それぞれに対立遺伝子が 20 種類存在すると仮定した場合、全部で何通りの MHC 抗原が存在しうるか。以下の a ~ g に当てはまる正の整数を選び、解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。なお、カッコ内の数値が 3 桁の場合には 1000 の位に 0 を、2 桁の場合には 1000 の位と 100 の位に 0 を、1 桁の場合には 1000, 100, 10 の位に 0 をマークしなさい。指数が 2 桁の場合や 1 桁の場合にも、同じく、e や f に 0 をマークしなさい。また、カッコの中に現れる自然数が最小となる形で答えなさい。



- (5) 拒絶反応を抑えるために、臓器移植の際には免疫抑制剤を用いる。免疫抑制剤は、放線菌などが産生する物質の中から発見されてきた。免疫抑制剤を探索するためには、以下のような実験が利用できる。

実験

MHC 遺伝子座の異なる 2 系統のマウス (A 系統と B 系統) のひ臓から、それぞれ樹状細胞と T 細胞を分離、精製する。樹状細胞は細胞分裂を阻害する薬剤で処理しておき、T 細胞には蛍光色素を取り込ませておく。T 細胞は分裂する度に蛍光色素の量が半分に減るため、検出される蛍光強度が半減する。このようにして T 細胞の分裂回数を観察することができる。なお、この実験をとおして、はじめに T 細胞に取り込ませた蛍光色素は実験中に T 細胞から離れることはなく、蛍光の強度は蛍光色素の量に常に比例するものとする。

- (a) A 系統の樹状細胞と B 系統の T 細胞を一つのシャーレの中で培養 (以下、混合培養とよぶ) すると、B 系統の T 細胞が A 系統の MHC 抗原を異物と認識して活性化し、増殖する。蛍光色素を取り込ませた T 細胞を樹状細胞と混合せずに維持した場合の観察結果を図 1 に示す。混合培養 3 日目の T 細胞の蛍光強度を測定した結果、観察されるグラフとして最も適切なものを解答群 D より選び、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、B 系統の T 細胞のうち、A 系統の MHC 抗原を異物と認識する集団は T 細胞全体の 10 % 程度であると仮定する。

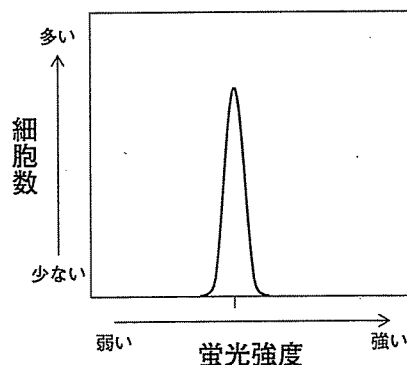
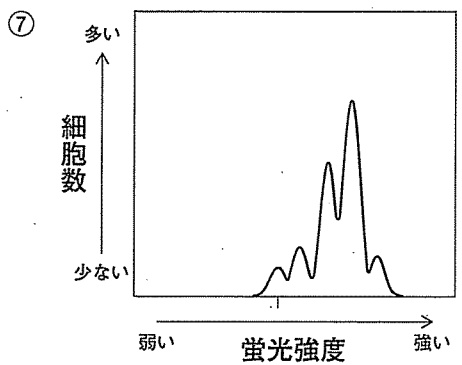
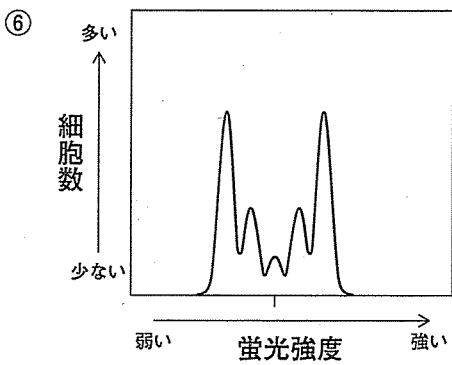
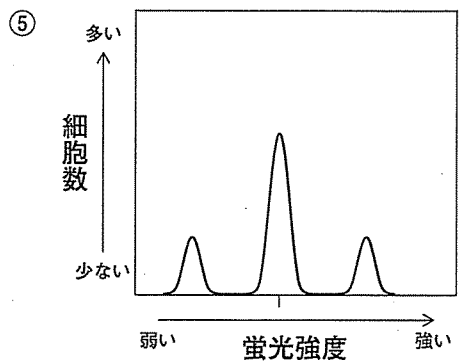
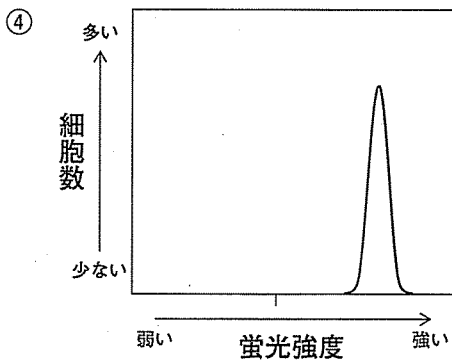
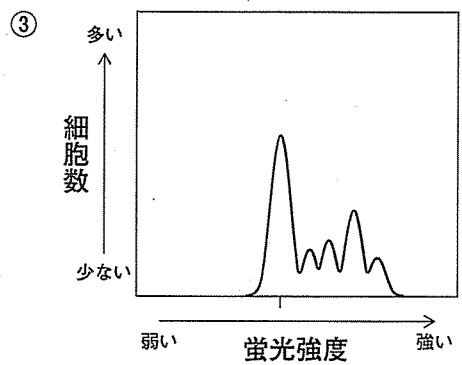
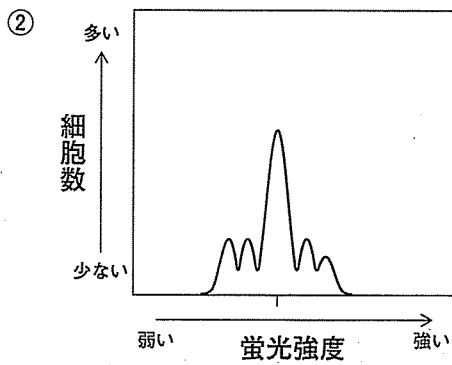
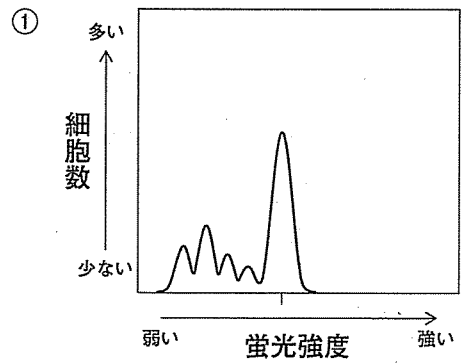
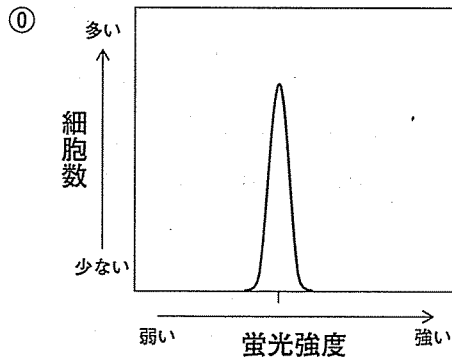


図 1 樹状細胞と混合せずに 3 日間培養した B 系統 T 細胞の蛍光強度

解答群D



(b) ある種の免疫抑制剤は、T細胞の増殖を完全に抑える作用をもつ。(a)の混合培養時にこの免疫抑制剤を培地に添加しておくと、どのような波形が観察されるか。最も適切なものを解答群Dより選び、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、B系統のT細胞のうち、A系統のMHC抗原を異物と認識する集団はT細胞全体の10%程度であると仮定する。

(下書き用紙)

(6) T細胞が増殖する場合、インターロイキン2 (IL-2)というサイトカインが関わる。A系統の樹状細胞として、野生型に加え、IL-2遺伝子やIL-2受容体遺伝子の欠損型を作製し、B系統のT細胞についても野生型、IL-2遺伝子欠損型、IL-2受容体遺伝子欠損型を調製した。これらを組み合わせて混合培養した結果、増殖の有無は表1に示す通りとなった。

表1 混合培養する樹状細胞とT細胞の遺伝子型の組み合わせとT細胞増殖の有無

樹状細胞	T細胞	増殖の有無
野生型	野生型	有
IL-2欠損	IL-2欠損	無
IL-2受容体欠損	IL-2受容体欠損	無
IL-2受容体欠損	IL-2欠損	無
IL-2欠損	IL-2受容体欠損	無
IL-2欠損	野生型	有
野生型	IL-2受容体欠損	無

この結果から導かれる結論として最も適切なものを解答群Eより選び、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 T細胞の増殖には、T細胞由来のIL-2とT細胞に発現するIL-2受容体が必要である。
- ① T細胞の増殖には、T細胞由来のIL-2と樹状細胞に発現するIL-2受容体が必要である。
- ② T細胞の増殖には、樹状細胞由来のIL-2とT細胞に発現するIL-2受容体が必要である。
- ③ T細胞の増殖には、樹状細胞由来のIL-2と樹状細胞に発現するIL-2受容体が必要である。
- ④ T細胞の増殖は、T細胞および樹状細胞由来のIL-2とは無関係に起こる。
- ⑤ T細胞の増殖は、T細胞および樹状細胞に発現するIL-2受容体とは無関係に起こる。

(7) IL-2 遺伝子のプロモーター近傍には、転写因子(調節タンパク質)が作用する転写調節領域が存在している。転写因子が転写調節領域に結合すると IL-2 遺伝子から mRNA への転写が促進され、IL-2 タンパク質が分泌される。ヒト IL-2 遺伝子の転写開始点を含むプロモーター部分 500 塩基、もしくは 250 塩基をそれぞれクローニングして、これらにルシフェラーゼ(ホタル由来の酵素)の遺伝子を連結したプラスミドを図 2 に示す通り作製し、各々のプラスミドをヒト T 細胞に導入した。

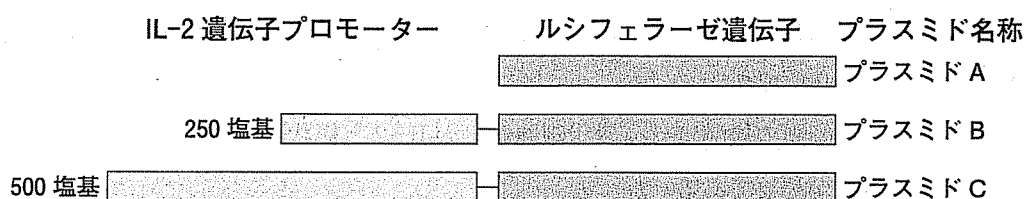


図 2 ルシフェラーゼアッセイに用いたプラスミドの模式図

この細胞を薬剤の処理で人工的に活性化させて IL-2 を分泌させた場合と、活性化させなかった場合に、細胞内で発現するルシフェラーゼの酵素活性を測定した。また、ヒト B 細胞やマウス T 細胞にも同様にプラスミドを導入し、ルシフェラーゼの酵素活性を測定して、図 3 のグラフにまとめて示した。

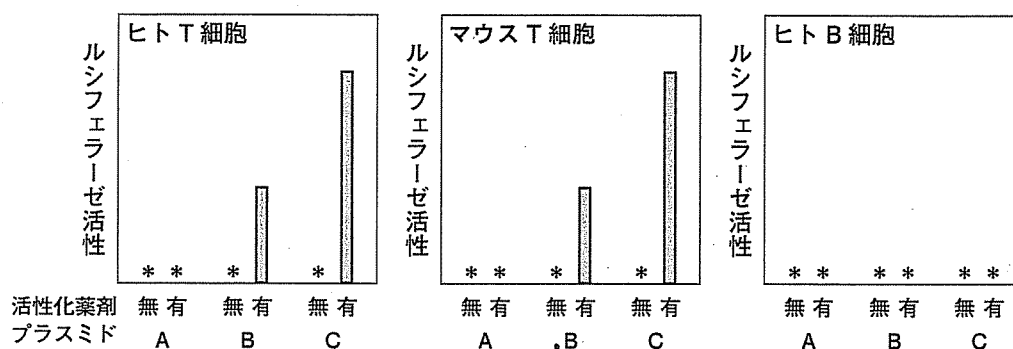


図 3 ルシフェラーゼの活性測定結果

* は、検出限界以下であることを示す。

これらの結果から、IL-2 の転写調節領域についての以下の(ア)~(エ)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。なお、いずれの細胞も同程度にプラスミドが導入され、かつ薬剤によって活性化されると仮定する。

- (ア) ヒト T 細胞が活性化されると、ヒト IL-2 プロモーターが活性化される。
- (イ) マウス T 細胞にはヒト IL-2 プロモーターを転写活性化する転写因子が存在する。
- (ウ) ヒト B 細胞は、活性化すると IL-2 を産生する。
- (エ) ヒト IL-2 遺伝子の転写開始点から上流 250 塩基の領域と、上流 250 塩基から 500 塩基の間にそれぞれ転写調節領域が存在する。

3

遺伝子の変異に関する(1)から(4)までの問題に答えなさい。

(34 点)

- (1) ゲノム DNA は化学的な薬剤や紫外線などにより損傷を受けることがある。損傷した DNA は多くの場合は本来の塩基配列に修復されるが、修復されずに塩基配列が元とは異なるものに変化することがある。図 1 は大腸菌のラクトースオペロンを模式的に示している。大腸菌はグルコースがあればラクトースを利用しないが、A あるいは B に示す部位で突然変異が起こった場合、どのような表現型となるだろうか。表 1 の(ア)~(エ)に対応する最も適切なものを解答群 A より選び、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。

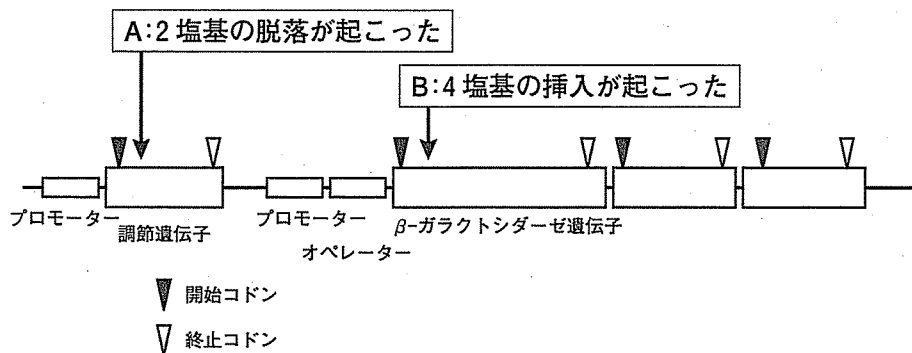


図 1 大腸菌のラクトースオペロン

表 1

培地にグルコースがなく、ラクトースがある場合

A の変異	B の変異
(ア)	(イ)

培地にグルコース、ラクトースがともにある場合

A の変異	B の変異
(ウ)	(エ)

解答群 A

- ① ラクトースが分解される ② ラクトースが分解されない

- (2) 細菌は自分自身を守るため、攻撃してくる外敵がもっている DNA (外来 DNA) を切断して排除する酵素をもっている。この酵素は細胞質に侵入した外来 DNA を切断する。しかし、この酵素は自分自身の DNA も切断する危険性があるため、自身の DNA をメチル基で修飾することによりこの酵素で切断されないように保護している。このような酵素は外来生物の感染を制限することから「制限酵素」とよばれる。

制限酵素は、2 本鎖 DNA の特定の DNA 塩基配列を認識する。この DNA 塩基配列を認識配列とよび、制限酵素の種類ごとに異なる。よく知られた制限酵素では GAATTC のような回転対称となる配列 (回文配列) を認識し、この中の特定の部位を切断する。例えば、BglII は *Bacillus glovigii* という細菌が産生する制限酵素で、配列 AGATCT の A と G の間を切断する。これにより両鎖は A と GATCT に分かれる。BamHI は *Bacillus amyloliquefaciens* という細菌が産生する制限酵素で、配列 GGATCC の両鎖の G と G の間を切断する。HindIII は *Haemophilus influenzae* という細菌が産生する制限酵素で、配列 AAGCTT の両鎖の A と A の間を切断する。

- (a) BamHI で切断した DNA 断片は BglII で切断した DNA 断片と DNA リガーゼにより結合することができる。これはどういう理由であると考えられるか、解答用紙の指定された欄に簡潔に記述しなさい。

- (b) プロモーターを含む全長の BamHI 遺伝子の DNA 断片を調製してタンパク質を生産するためのプラスミドに組み込み、制限酵素遺伝子をもたない大腸菌へ導入したが、BamHI を生産する大腸菌を得ることができなかった。この理由として最も適切なものを解答群 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。

解答群 B

- ① BamHI 遺伝子に含まれるイントロンがスプライシングされず、正常な mRNA ができなかったため。
- ② BamHI が抗体により不活性化されたため。
- ③ BamHI を生産すると大腸菌自身の DNA を切断するため。
- ④ BamHI の逆転写がうまくいかず遺伝子の組み込みができなかったため。
- ⑤ BamHI 遺伝子にヒストンが結合して転写を抑制したため。

(3) FokI という制限酵素は興味深い性質をもっている。FokI タンパク質は、DNA 配列を認識する領域(結合ドメイン)と DNA を切断する領域(ヌクレアーゼドメイン)の二つの部分から構成される。FokI タンパク質は、結合ドメインとヌクレアーゼドメインを切り離すことができ、結合ドメインを他の塩基配列を認識するものと交換した場合には、この結合ドメインが認識する DNA 配列と結合して、対応する DNA 鎖を切断することができる。

ある種の微生物がもっているタンパク質は、特定の塩基配列(2本鎖 DNA の片方の DNA 鎖)を認識し、これに結合する能力をもつ。このタンパク質は任意の塩基配列を認識できるように人工的に改変できる。これと FokI のヌクレアーゼドメインを結合することで、人工的な制限酵素を作ることができる。この人工的な制限酵素は TALEN とよばれる。この場合、FokI で切断される配列を標的部位とよび、通常はこの標的部位を左右に挟み込むような位置を認識する結合ドメインを設定し、これに対応した二つの TALEN を作製する(図2)。

トマトの遺伝子 X 中の特定の配列(GGATCC)を含む領域を標的とした TALEN をコードする遺伝子(以下、TALEN 遺伝子とよぶ)を作製し、トマトの細胞に導入した。この細胞から植物個体を再生させてトランスジェニック植物(形質転換植物)を得た。細胞内で発現した TALEN は標的となるゲノム DNA を切断する。TALEN によって切断されたゲノム DNA は、細胞が有する修復機構により再結合されるが、そのときにしばしば突然変異が生じる。TALEN によって生じた突然変異に関する以下の設問に答えなさい。なお、以後の設問では TALEN によるゲノム DNA の切断と変異の誘発は、TALEN を導入した直後の細胞のみに生じるものとする。また、形質転換植物は一つの細胞に由来するものとする。

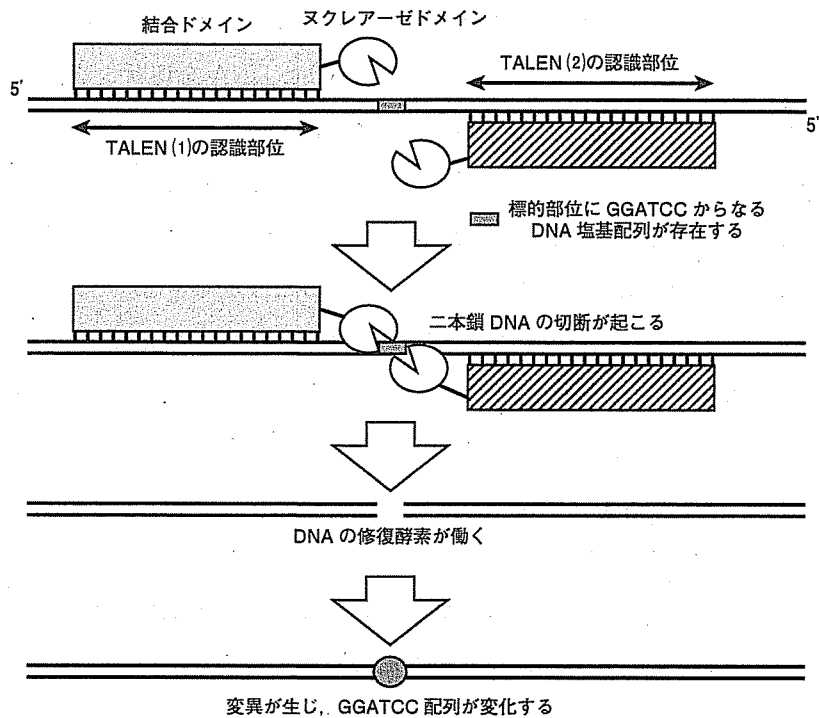


図2 TALENの構造およびそのはたらきの概要。TALENによりゲノムDNAが切断されると修復が行われるが、しばしば修復ミスが起きて突然変異が生じる。

- (a) 図3は遺伝子Xの一部の塩基配列を示している。この中にあるGGATCCを標的とした二つのTALENを作製した。通常、TALENの認識部位は標的部を挟んだ2本鎖のそれぞれの塩基配列を用いる。作製したTALENの認識部位の一つが四角で囲んだ塩基配列である場合、もう一つのTALENの認識部位として最も適当と思われる塩基配列を解答群Cより選び、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。

5'-ATGTGGTGCCTACCACGACTATCTTGGATCCTTTGCAGTATTGGTGGACTCATCGG

図3 タンパク質をコードする側の塩基配列。標的となるGGATCC配列を下線で示す。

解答群C

- ① 5'-AGTATTGGTGGACTCATCGG
- ② 5'-CCGATGAGTCCACCAATACT
- ③ 5'-TCATAACCACCTGAGTAGCC
- ④ 5'-TACACCACGGATGGTGCTGA
- ⑤ 5'-TCAGCACCATCCGTGGTGTA

(b) 野生型植物(非形質転換体)および上記の実験で得られた3種の形質転換植物 A~C の緑葉よりゲノム DNA を抽出した。得られた DNA を用いて、TALEN の標的領域を含む約 1000 塩基対からなる遺伝子 X の DNA 断片を PCR により増幅した。この PCR 増幅断片を BamHI に作用させ、これを電気泳動により分析したところ、野生型植物の PCR 増幅断片から約 700 塩基対と約 300 塩基対の2本の断片が生じた。一方、形質転換植物 A の PCR 増幅断片を BamHI に作用させたときには、約 700 塩基対と約 300 塩基対の断片に加えて約 1000 塩基対の断片が検出された。形質転換植物 B では約 1000 塩基対の断片のみが、形質転換植物 C では約 700 塩基対と約 300 塩基対の2本の断片が検出された(図4)。

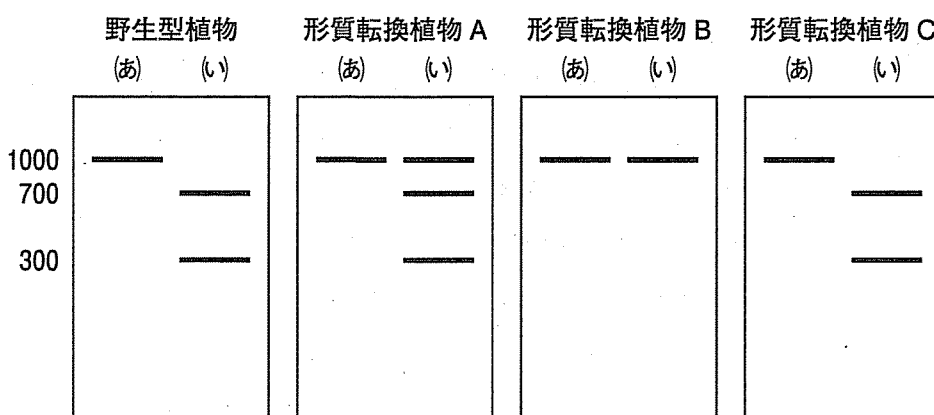


図4 野生型植物および形質転換植物 A~C のゲノムについて、TALEN の標的部位を含む遺伝子 X の DNA 断片を PCR で増幅し、この断片を制限酵素 BamHI に作用させた。このときに生じた DNA 断片を電気泳動で分析した。(a)は PCR 増幅断片を、(b)はこれを BamHI に作用させたときの結果を示している。

形質転換植物 A～C の説明のうち正しいものはどれか。表 2 の(ア)～(ウ)について、最も適切な文章を解答群 D より選び、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、トマトは 2 倍体ゲノム ($2n$) を有し、遺伝子 X は 1 組のゲノム ($1n$) 中に一つずつ存在する。

表 2

形質転換植物 A	(ア)
形質転換植物 B	(イ)
形質転換植物 C	(ウ)

解答群 D

- ① 一对の遺伝子 X のうちの片方だけに変異が起こっている。
- ② 一对の遺伝子 X の両方に変異が起こっている。
- ③ 一对の遺伝子 X のどちらにも変異が起こっていない。

(c) 形質転換植物に TALEN 遺伝子が存在する場合は PCR により検出できる。

形質転換植物 B では TALEN 遺伝子が PCR により検出された。また、遺伝子 X とは異なる染色体の 1 カ所に組み込まれていることがわかった。形質転換植物 B を栽培し、この花粉を野生型植物に受粉させ、両者の交配による複数の種子を得た。これらの種子のうちの一つ(植物 D)を栽培し、緑葉からゲノム DNA を抽出した。植物 D では PCR により TALEN 遺伝子が検出されなかった。この結果に関する(ア)~(ウ)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。

(ア) TALEN 遺伝子は花粉には含まれず、次世代に遺伝しない。

(イ) 植物 D の TALEN 遺伝子は形質転換植物 B から遺伝したが、成長する途上で消失した。

(ウ) 形質転換植物 B に含まれる TALEN 遺伝子は交配によって得られた植物の半数に遺伝するが、植物 D には遺伝しなかった。

- (d) 植物 D より TALEN の標的領域を含む約 1000 塩基対からなる遺伝子 X の DNA 断片を PCR により増幅し、これを BamHI に作用させて電気泳動により分析したところ、図 5 のような結果が得られた。

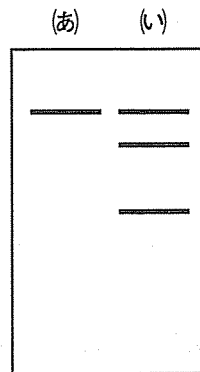


図 5 植物 D のゲノムについて、TALEN の標的部位を含む遺伝子 X の DNA 断片を PCR で増幅し、この断片を BamHI に作用させ、生じた DNA 断片を電気泳動で分析した。(a)は PCR 増幅断片を、(i)はこれを BamHI に作用させたときの結果を示す。

次に植物 D を栽培し、これを自家受粉して多数の種子を得た。これらの後代植物に関する(ア)～(ウ)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。

- (ア) 約 700 塩基対の断片は野生型遺伝子に由来する。
(イ) 後代植物では、変異した遺伝子 X と野生型遺伝子 X のヘテロ接合体が 50 % の割合で現れると予想される。
(ウ) 植物 D に含まれる遺伝子 X は変異型遺伝子のホモ接合体である。

(4) トマトなどの被子植物の花は、がく片(がく)、花弁、おしべ、めしべの4種類の器官からなる。これらの器官の形成に関わるABCモデルの遺伝子群が知られており、これらの遺伝子が壊れると正常な器官形成が起こらず、異常な形態を示す。ある被子植物Sの花の器官形成に関わる二つの遺伝子(遺伝子Y, 遺伝子Z)についてTALENを作製し、これらを用いてそれぞれの遺伝子の変異体の作製を試みた。

(a) 遺伝子Yに対するTALENを植物Sに導入して複数の形質転換植物を得た。このうちの一つ(形質転換植物E)を栽培したところ、この植物は正常に成長し、正常な形態の花を形成した。遺伝子YにおけるTALENの標的部位にはHindIII切断部位があり、この領域のPCR増幅断片がHindIIIで切断されるかどうかで変異の有無が検定できた。この遺伝子診断の結果を図6に示す。

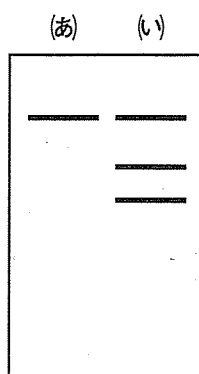
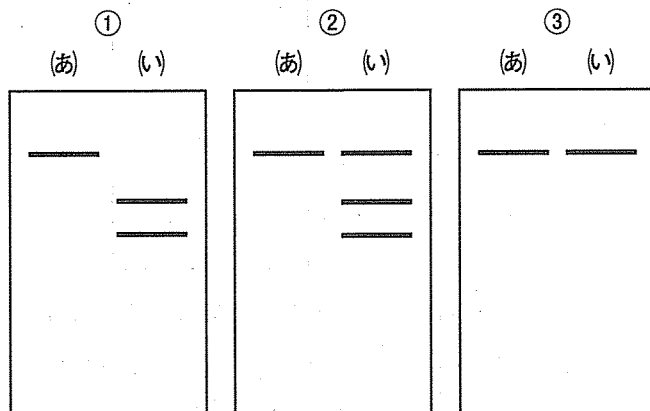


図6 形質転換植物Eのゲノムについて、遺伝子YにおけるTALENの標的部位を含むPCR増幅断片をHindIIIに作用させ、生じたDNA断片を電気泳動で分析した。(a)はPCR増幅断片を、(i)はこれをHindIIIに作用させたときの結果を示す。

形質転換植物 E を自家受粉して多数の種子を得た。これらを栽培したところ、一部の植物では、おしべ、めしべがなく、がく片、花卉のみの花の異常形態を示した。なお、これらの植物では TALEN 遺伝子は検出されなかった。このような花の異常形態を示す植物では、遺伝子 Y を PCR で増幅し HindIII に作用させたときの電気泳動はどのようなパターンを示すだろうか。最も適切なものを解答群 E より選び、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



遺伝子 Y における TALEN の標的部位を含む PCR 増幅断片を HindIII に作用させ、生じた DNA 断片を電気泳動で分析した。(あ)は PCR 増幅断片を、(い)はこれを HindIII に作用させたときの結果を示す。

(b) 遺伝子 Z に対する TALEN を植物 S に導入して複数の形質転換植物を得た。このうちの一つ(形質転換植物 F)を栽培したところ、この植物は正常に成長し、正常な形態の花を形成した。遺伝子 Z に対する TALEN の標的部位には BglII 切断部位があり、変異の有無はこの領域を増幅した PCR 断片が BglII で切断されるかどうかで検定できた。この遺伝子診断の結果を図 7 に示す。

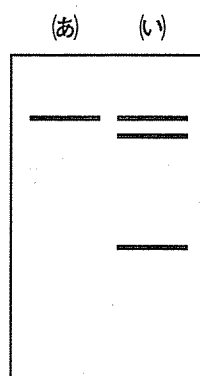


図 7 形質転換植物 F のゲノムについて、遺伝子 Z における TALEN の標的部位を含む PCR 増幅断片を BglII に作用させ、生じた DNA 断片を電気泳動で分析した。(a)は PCR 増幅断片を、(i)はこれを BglII に作用させたときの結果を示す。

形質転換植物 F から自家受粉により多数の種子を得た。これらを栽培したところ、一部の植物では花卉、おしべがなく、がく片とめしべのみの異常形態を示した。これらの植物では TALEN 遺伝子は検出されなかった。遺伝子 Z の変異に関する(ア)～(エ)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。

- (ア) 形質転換植物 F は、遺伝子 Z の変異型と野生型のヘテロ接合体である。
- (イ) BglIII により切断された DNA 断片は、変異した遺伝子 Z に由来する。
- (ウ) 形質転換植物 F に生じた遺伝子 Z の変異は劣性の形質の表現型を示す。
- (エ) 遺伝子 Z はがく片とめしべの形態形成に関わる。

(c) 形質転換植物 E と形質転換植物 F を交配した。得られた後代植物の一つを選び、同様の方法で遺伝子 Y と遺伝子 Z の変異についての検定を行った。その結果を図 8 に示す。

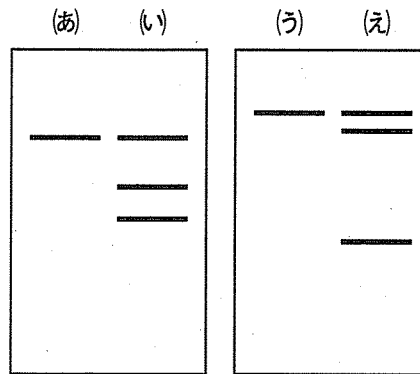


図 8 遺伝子 Y および遺伝子 Z における TALEN の標的部位を含む PCR 増幅断片を制限酵素に作用させ、生じた DNA 断片を電気泳動で分析した。(あ)は遺伝子 Y の PCR 増幅断片を、(い)はこれを HindIII に作用させたものを、(う)は遺伝子 Z の PCR 増幅断片を、(え)はこれを BgIII に作用させたものを示す。

この植物を栽培し、自家受粉によって多数の後代種子を得た。これらの植物を栽培したときに、特定の器官が欠損した花が現れる可能性がある。生じる可能性のある異常形態の花に該当するものを解答群Fより三つ選び、解答用マークシートの指定された欄にマークしなさい。

解答群F

- ⑩ がく片，花弁，おしべ，めしべのいずれの器官も形成されない
- ⑪ がく片のみ
- ⑫ 花弁のみ
- ⑬ おしべのみ
- ⑭ めしべのみ
- ⑮ がく片，花弁のみ
- ⑯ がく片，おしべのみ
- ⑰ がく片，めしべのみ
- ⑱ 花弁，おしべのみ
- ⑲ 花弁，めしべのみ
- ⑳ おしべ，めしべのみ
- ㉑ がく片，花弁，おしべのみ
- ㉒ がく片，花弁，めしべのみ
- ㉓ がく片，おしべ，めしべのみ
- ㉔ 花弁，おしべ，めしべのみ



1997