

生 物

1. バイオテクノロジーを利用したサイトカインの合成に関する各問いに答えよ。

サイトカインは免疫細胞が分泌する「情報伝達を担うタンパク質」の総称である。免疫系の細胞はその種類や状況に依存して、必要とされるサイトカインを分泌し、それが標的細胞に作用する。例えば、インターロイキン-4 というサイトカインは、ある免疫細胞に作用し、これを活性化して形質細胞に分化させる。この物質を詳しく調べるため、大腸菌を用いた遺伝子組換え実験で合成することにした。

マウスのインターロイキン-4 は120個のアミノ酸が連結したポリペプチドであり、mRNAの塩基配列も公開されている。インターロイキン-4 遺伝子の発現を誘導するため、ある異物をマウスに30日の間隔で2回注射し、最後の注射の3日後に ア を取り出し、その抽出液から mRNA を分離した。次に逆転写酵素と DNA ポリメラーゼを用いて mRNA に相補的な塩基配列をもつ二本鎖 DNA(cDNA)を合成し、さらにこの cDNA を鋳型とした PCR 法によって、プラスミドに組込むための DNA を増幅することにした。マウスのインターロイキン-4 遺伝子の翻訳領域(開始コドンから終止コドンまでの領域)に該当する cDNA 塩基配列を図1に示す。

```

5'-
1 ATGGGTCTCA ACCCCAGCT AGTTGTCATC CTGCTCTTCT TTCTCGAATG TACCAGGAGC
61 CATATCCACG GATGCGACAA AAATCACTTG AGAGAGATCA TCGGCATTTT GAACGAGGTC
121 ACAGGAGAAG GGACGCCATG CACGGAGATG GATGTGCCAA ACGTCCTCAC AGCAACGAAG
181 AACACCACAG AGAGTGAGCT CGTCTGTAGG GCTTCCAAGG TGCTTCGCAT ATTTTATTTA
241 AAACATGGGA AAATCCATG CTTGAAGAAG AACTCTAGTG TTCTCATGGA GCTGCAGAGA
301 CTCCTTCGGG CTTTTCGATG CCTGGATTCA TCGATAAGCT GCACCATGAA TGAGTCCAAG
361 TCCACATCAC TGAAAGACTT CCTGGAAAGC CTAAAGAGCA TCATGCAAAT GGATTACTCG
421 TAG-3'
  
```

※注意 10 塩基ごとに空白で区切り、60 塩基単位で改行している。
左端の数字は 5' 末端からの塩基の数を示している。

図1

真核細胞における翻訳では、核外に移動した mRNA はそこでリボソームと結合する。その際、サイトカインのようなタンパク質の場合、翻訳開始時にまずシグナル配列とよばれる先頭部分がつくられ、この働きで mRNA とリボソームの複合体が イ の膜上に移動し、本体部分の翻訳へと進む。またその際、不要となったシグナル配列は除去される。この背景と図1の情報にもとづいてプライマーを設計し、PCR 実験を行ったところ、次の2条件を満たす DNA が増幅された。

条件 1. この DNA を大腸菌に導入することで発現するタンパク質の一次構造を本来のインターロイキン-4 の一次構造にできる限り近づける。

条件 2. この DNA の塩基配列に大腸菌での遺伝子発現に必要な基本情報をもたせる。ただし、「転写」と「リボソームの付着」に必要な配列はプラスミド側で用意する。

次にこの DNA をプラスミドに組込めるようにするため、これを鋳型とした 2 度目の PCR を行った。その際、両側のプライマーの 5' 末端の塩基配列を工夫し、制限酵素 A および B によって切断可能な配列を目的の DNA の両端に付加した(図 2)。

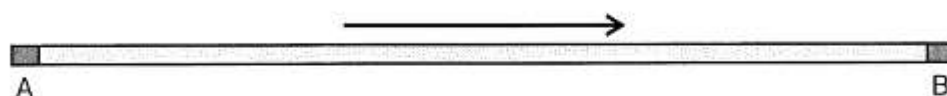


図 2

〔注〕 A, B は各制限酵素で識別される配列、矢印はこの遺伝子の転写の進行方向。

図 2 で示す DNA とプラスミドを制限酵素 A および B でそれぞれ切断し、ウ を用いて、プラスミド(図 3)の「X 部分の切断部」と「Y 部分の切断部」に DNA(マウスインターロイキン-4 遺伝子)の各末端の切断部を結合させた。そしてこの組換えプラスミドを大腸菌に取り込ませた。

こうして調製した大腸菌溶液を「ある抗生物質を含む寒天培地シャーレ」の上に適量広げて 37℃ の恒温器で 1 日静置し、菌の増殖で現れる点状のコロニーを確認した。この培地の表面全体に特殊なフィルターを軽く押しあて、各菌の一部を採取してコロニーの位置関係を写し取り、これを「別の抗生物質を含む寒天培地」の上に乗せて植菌した。このシャーレを同様に 37℃ で静置し、コロニー形成の有無を確認することで目的の組換えプラスミドが導入された複数の大腸菌クローンを選別した。また、DNA シーケンサーを利用して、これらのクローンに導入した遺伝子の塩基配列を解読し、最終段階の実験に適する大腸菌クローンを選んだ。これを P1 プロモーターに適する条件で培養することで目的のタンパク質を合成した。

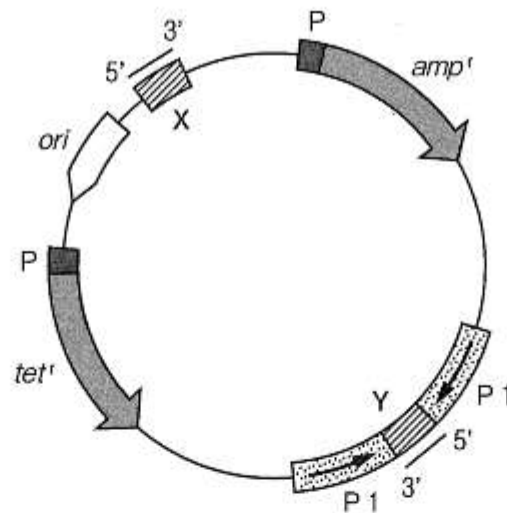


図 3

[注] *amp^r* (アンピシリン耐性遺伝子), *tet^r* (テトラサイクリン耐性遺伝子), *ori* (複製開始点), P (各耐性遺伝子のプロモーター), P1 (組込んだ遺伝子用のプロモーター)

- ・アンピシリンとテトラサイクリンは抗生物質である。大腸菌はこれらに感受性があり、各抗生物質を含む培地では増殖できない。しかし、耐性遺伝子が発現すると「*amp^r*ではアンピシリン」, 「*tet^r*ではテトラサイクリン」の存在下でも増殖可能となる。
- ・複製開始点は DNA の複製に必要な塩基配列
- ・遺伝子・プロモーターに付記した矢印は転写の進行方向

X, Y, 下記の 5 種類の制限酵素で識別される配列が集まっている部分

X と Y は同じ配列をもち、図 3 に示した「5' ____ 3'」に対応する配列は次のとおり

5' ACAAGCTTCGAATTCGTAGATCTGTCCTAGAAGGATCCCT 3'

- ・ X, Y を切断可能な制限酵素とそれらが識別・切断する塩基配列

<i>Bam</i> HI	<i>Bgl</i> II	<i>Eco</i> R I	<i>Hind</i> III	<i>Xba</i> I
G↓GATCC	A↓GATCT	G↓AATTC	A↓AGCTT	T↓CTAGA
CCTAGG	TCTAGA	CTTAAG	TTCGAA	AGATCT

- 問 1. 下線①の「ある免疫細胞」の名称を答えよ。
- 問 2. 下線①の記述にもとづいて、アの に入る器官の名称を解答欄Ⅰに、その場所でインターロイキン-4 を分泌する細胞の名称を解答欄Ⅱにそれぞれ答えよ。
- 問 3. 下線②の逆転写酵素の第一段階の反応では、mRNA と相補的に結合したプライマー(短い1本鎖 DNA)の末端を起点として、1本鎖 DNA を5' → 3' の方向に合成する。真核細胞の転写では、大半の mRNA の3' 末端にアデニンヌクレオチドが連結した長鎖が付加されることにもとづき、この反応に適するプライマーの塩基配列を5' 末端から5塩基分答えよ。
- 問 4. PCR 法で使用する酵素が触媒する化学反応において、基質となる4種類の物質を答えよ。
- 問 5. 文中のイの に入る適切な語句を答えよ。
- 問 6. マウスのインターロイキン-4 の翻訳時につくられるシグナル配列を構成するアミノ酸の数を答えよ。
- 問 7. 下線③で設計すべき2種類のプライマーの塩基配列を10塩基分答えよ。ただし、『PCR 用プライマーの5' 末端側の塩基配列は、鋳型鎖に完全に相補的である必要はなく、5' 末端側に任意の短鎖を付加したプライマーを用いると増幅される DNA の末端にその塩基配列をもった部分を導入することができる』ことを考慮すること。また、5' 末端を左側にする。
- 問 8. 文中のウの に入る酵素の名称を答えよ。
- 問 9. 下線④の大腸菌クローンの表現型として適切なものを次のA～Eの中から選び記号で答えよ。
- A. アンピシリン感受性、テトラサイクリン耐性
 - B. アンピシリン感受性、テトラサイクリン感受性
 - C. アンピシリン耐性、テトラサイクリン感受性
 - D. アンピシリン耐性、テトラサイクリン耐性
 - E. アンピシリン耐性、テトラサイクリンには感受性でも耐性でもよい。
- 問10. 下線⑤の内容に関する次の文章のアとイの に入る適切な語句を答えよ。
- 導入した遺伝子の塩基配列を解読しなければならないのは、 ア を用いた酵素反応においてきわめて低い確率であるが イ が起こるからである。
- 問11. *Xba* I を制限酵素 A に使用した時、制限酵素 B として使えるものをすべて答えよ。

2. 集団における遺伝現象に関する各問いに答えよ。

I. ヒトゲノムは約 32 億塩基対の DNA で構成され、そこには約 21000 種類の「転写と翻訳」の対^①象となる遺伝子があると見積もられている。ヒトの形質の大半は、複数の遺伝子と環境要因によって定まっていくが、中には 1 つの遺伝子座の遺伝子型で決まるものもあり、その遺伝子が原因で、直接的に健康を損なう場合、これを単一遺伝子病とよぶ。単一遺伝子病の表現型は、軽度から重度まで様々であるが、基本的にメンデルの法則に従って親から子に遺伝し、「接合体における発症の有無」と「遺伝子座のある染色体の種類」の組合わせから、その遺伝様式は常染色体劣性、伴性劣性、常染色体優性、伴性優性の 4 種類に分類される。

常染色体劣性遺伝病の場合、発病者の大半は非発病者の両親から生まれる。また、ヒトの大集団を調査すると、このタイプの遺伝病の発病頻度は毎年ほぼ一定であるため、問題点を認識した^②上でメンデル集団と見なして、ハーディ・ワインベルグの法則を適用した解析が行われている。

例えば、新生児 16900 人あたり 1 人が発病する常染色体劣性遺伝病(遺伝病 A)において、病気の原因遺伝子の頻度は、発病しない接合体(保因者)の頻度はと見積もられる。伴性劣性遺伝病においても同様の解析が可能であり、例えば、男児 10 万人あたり 6 千人が発病する伴性劣性遺伝病(遺伝病 B)での女性の保因者の頻度はと算出される。

常染色体優性遺伝病では、患者の両親の少なくともどちらかが発病することが多い。本来、この遺伝病には保因者の区分はないが、病気の種類によっては環境などの各種要因に依存して接合体が発病しない場合もある。なお、常染色体優性遺伝病の中で接合体が 100 % 発病し、幼児期に致死的な経過をたどるようなもの(遺伝病 C)は、特殊な現象を想定し^③ないと何世代にもわたり存続することはできない。

問 1. 遺伝子を「機能分子の生産に必要な DNA の領域」と定義すると、下線①の表現に部分的にしかあてはまらない遺伝子もある。そのような遺伝子がつくる機能分子の名称を 2 つ答えよ。

問 2. 文中のアのに入る適切な語句を答えよ。

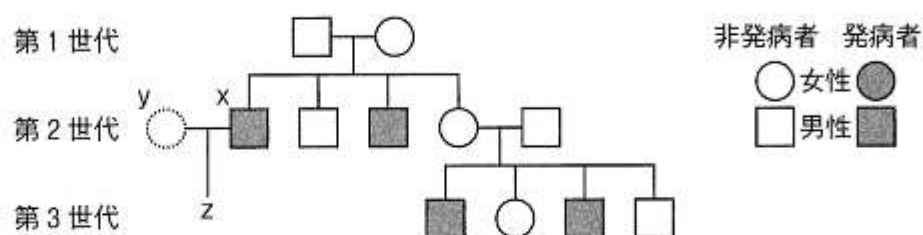
問 3. ある国の国民全体(数百万人)を調査対象とする場合、どのような状況が下線②の問題点にあてはまるか、次の A～E からすべて選び記号で答えよ。

- A. 都市部に人口が集中している。
- B. 高齢者の医療制度が立ち遅れている。
- C. 過去から現在まで移民の入国を制限している。
- D. 新たな感染症により乳幼児の死亡率が上昇している。
- E. 宗教間の対立によって異教徒との婚姻が制限されている。

問 4. 文中のイ、ウ、エの に入る数値を約分した分数で答えよ。

問 5. 太郎さんの実の妹は本文中の遺伝病 A を発症しているが、太郎さんと両親の表現型は正常である。ハーディ・ワインベルグ平衡にある集団において、太郎さんが血縁関係にない「表現型が正常な女性」と結婚して子供をもつ場合、その子が遺伝病 A を発病する確率を百分率で答えよ。小数第 3 位を四捨五入すること。

問 6. ハーディ・ワインベルグ平衡にある集団において、本文中の遺伝病 B の家系(下図)に属する x が血縁関係にない「表現型が不明な女性」 y と結婚して子供 z をもつ場合、その子が遺伝病 B を発病する確率を答えよ。



問 7. 遺伝病 C において、下線部③の想定される特別な現象とはどのようなものか答えよ。

II. 国や地域によって住民の ABO 血液型の比率には違いが認められる。ある国の S 市(人口 10 万人)には A 型 4 万 5 千人、O 型 3 万 6 千人が暮らしている。市民全体がハーディ・ワインベルグ平衡にあると仮定して次の設問に答えよ。

問 8. S 市の市民全体の集団における遺伝子 O と遺伝子 A の頻度を求めよ。

問 9. S 市の住民の A 型と B 型の両親から B 型の子供が生まれる確率を百分率で求めよ。小数第 1 位を四捨五入すること。

3. 体内の恒常性の維持に関する各問いに答えよ。

ヒトは寒いと感じると暖かい場所に移動し、暑いと感じると涼しい場所に移動する。あるいは衣類の着脱を行う。これを行動性体温調節という。行動性体温調節は変温動物から恒温動物に至るまで、広く備わっている体温調節の方法である。

哺乳類や鳥類などの恒温動物では、環境温の幅広い変化にもかかわらず、脳や体の中心部の温度は平均的外気温よりもかなり高く一定に維持されている。恒温動物は常に体内で熱を産生しており、哺乳類や鳥類の体表面は熱の放散を防ぐため毛や羽毛でおおわれている。哺乳類の中でも有胎盤類(真獣類)の体温は、単孔類や有袋類に比べて高い。有胎盤類の中でもヒトの体温の範囲は極めてせまく、 37°C 付近に維持されている。正常なヒトの安静時の体温は1日のうちに変動するが、その変化はせいぜい 1°C 程度であり、運動や感染により体温が上昇しても 40°C を超えることはほとんどない。鳥類の体温は哺乳類よりも高く 40°C 付近である。これらの温度は哺乳類や鳥類が生存可能な体温の上限に近い。

哺乳類の脳や体の中心部の温度がほぼ一定に維持されるのは、中枢神経系や内臓など体の深部に温度変化を感知する受容器(温度受容器)があり、設定されたある温度(設定温度)との差を中枢神経系が感知すると、体温調節に関与する効果器に指令を出して、体の深部の温度(深部体温)を設定温度に戻すしくみが備わっていることによると考えられている。中枢神経系の中でも特に ア が体温調節に重要な役割を担っていると考えられてきた。深部体温が低くなった場合、^①交感神経のはたらきによって、皮膚血管が収縮し、体の表面近くを流れる血流を減少させ、血流を体の深部に集めることによって、体表面からの熱の放散を防ぐ。これで不十分な場合、イ や代謝の促進によって熱が産生される。逆に深部体温が上昇した場合、交感神経のはたらきを抑制して体表面近くの血流を増加させ、皮膚からの熱の放散を促進する。これで不十分な場合、哺乳類では、別の交感神経のはたらきによって発汗が促進され、水分の蒸発に伴う気化熱の喪失によって熱放散が^②促進される。気化熱はこのほかに ウ に伴って失われる。

皮膚にも温度受容器があり、急に寒い環境に移動した場合や逆に暑い環境に移動した場合、体表面の温度変化の情報が感覚神経を介して中枢神経系に伝えられる。中枢神経系はその変化に応じて、同様の体温調節に関与する効果器の応答を引き起こして熱の放散と産生を調節するが、そのしくみは体の深部の温度受容器を介した調節とは異なっている。

このように哺乳類の体温は、体の深部の温度受容器と皮膚の温度受容器を介して、二重に調節されていると考えられている。

運動時には骨格筋の収縮に伴って大量の熱が産生されるが、これを放散するために発汗は著しく増加する。運動時に骨格筋の血流量は著しく増大するが、これは骨格筋へ酸素と栄養を供給すると同時に筋で発生した熱を運び去るのにも役立っている。^③交感神経のはたらきで副腎髄質から分泌されるアドレナリンは心拍数を増加させると同時に骨格筋の血管を拡張して血流量を増大する。^④感染や炎症により体温が上昇し始めるときの体温調節に関与する効果器の応答は、寒い環境に移動した

ときの応答に類似しているが、環境温が変化しないのに起きる。この応答は体温が上昇した後に消失する。一方、寒い環境に移動したときの応答は、運動を始めると消失する。

安静時の熱の産生は、おもに内臓で行われるが、特に や褐色脂肪組織における代謝によるところが大きい。甲状腺ホルモンやアドレナリンは における代謝を促進する。甲状腺ホルモンのチロキシンは、臓器や組織にある脱ヨード酵素のはたらきによってトリヨードチロニンに変換されると、代謝を促進する作用が発現する。甲状腺刺激ホルモンと甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンの分泌をフィードバックにより制御しているのも、おもにトリヨードチロニンである。チロキシンを静脈内に注入すると甲状腺刺激ホルモンの分泌は する。脱ヨード酵素のはたらきを阻害(抑制)する物質を静脈内に注入すると、チロキシンの分泌は する。

問 1. 文中のアーカの にあてはまる適切な語句を答えよ。

問 2. 哺乳類と鳥類および一部のハチュウ類(ワニ)には備わっているが、他の脊椎動物にみられない体内の構造の特徴を述べよ。

問 3. 下線②の交感神経の末端から放出される伝達物質は、下線①の交感神経の末端から放出される伝達物質とは異なるが、もし同じであった場合に生じる不都合な点について答えよ。

問 4. 下線②と下線③の交感神経の末端から放出される伝達物質は、文中の を引き起こす伝達物質と同じである。下線②と下線③の交感神経の末端から放出される伝達物質の名称を答えよ。

問 5. 「体の深部の温度受容器を介した調節のしくみ」と「皮膚の温度受容器を介した調節のしくみ」の異なっている点について述べよ。

問 6. 運動時に大量に発汗した結果、神経分泌により放出されるホルモンの名称を答えよ。

問 7. 下線部④の応答を起こすのは、感染や炎症により何が起きたためと考えられるか、12字以内で答えよ。

問 8. 哺乳類や鳥類は進化の過程で可能な限り体温を高めてきた。これは体重あたりのエネルギーの消費量と需要を増大させることになるが、進化において、どのような点で有利にはたらいたと考えられるか述べよ。

4. 植物の生活環に関する各問に答えよ。

1. 生物の一生を [ア] と成長の繰り返しであるとして、[ア] 細胞の形成から次の世代の [ア] 細胞の形成までをつないで輪の形にあらわしたものを生活環という。下图の植物の生活環では、受精卵が成長して [イ] になり、[イ] は^①胞子を形成する。胞子は発芽・成長して [ウ] になり、[ウ] は^②配偶子(卵・精子など)を形成し、受精卵になる。

コケ植物の生活環では [ウ] が優先し、[イ] は [ウ] に寄生する。維管束植物では、種子植物の [ウ] が [イ] 内に組み込まれているのに対し、シダ植物の [ウ] は独立して生活する。

また、植物の生活環では無性世代と有性世代が交互に繰り返される世代交代がみられるが、胞子形成のときに減数分裂が起こるので世代交代と核相交代が一致する。

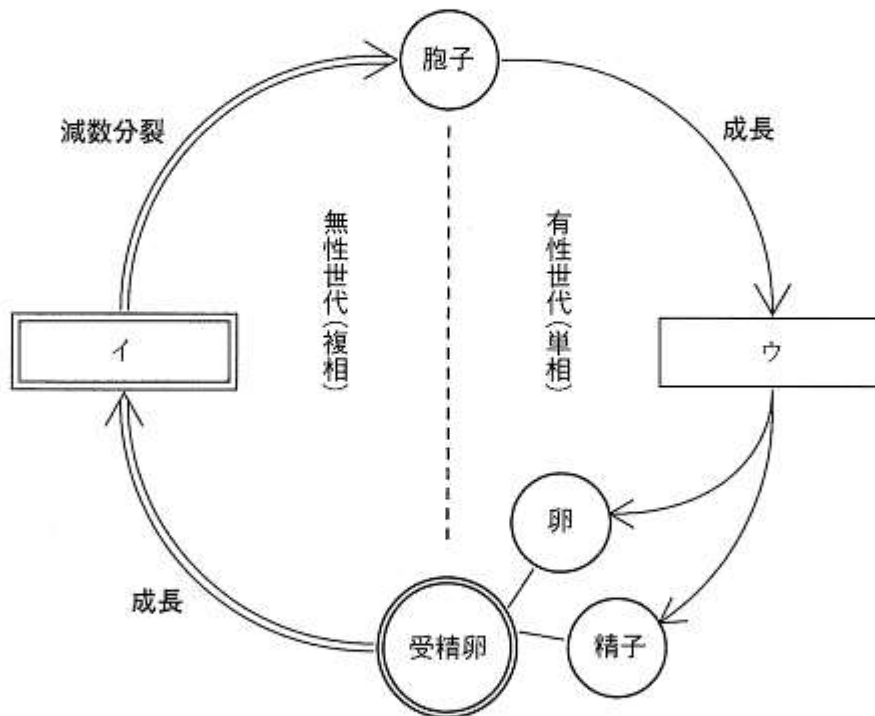


図 植物の生活環

丸は単細胞，四角は多細胞，一重線は単相(n)，二重線は複相(2n)を示す。

問 1. 文中ならびに図中のア～ウの に入る適切な語句を答えよ。

問 2. 下線①の胞子と下線②の配偶子の細胞としての違いを簡単に説明せよ。

問 3. 次の A～E の記述から正しいものをすべて選び記号で答えよ。

- A. コケ植物は、シダ植物同様、雌雄同株である。
- B. 多くのシダ植物の胞子には、雌雄の区別がある。
- C. 裸子植物には、精子をつくるものがある。
- D. 被子植物では、雌性胞子(大胞子)と雄性胞子(小胞子)の二種類がつくられる。
- E. コケ植物やシダ植物の造卵器、造精器はいずれも複相($2n$)である。

問 4. 動物(哺乳類)に関する次の A～E の記述から誤っているものをすべて選び記号で答えよ。

- A. 生活環の中に、無性世代は存在しない。
- B. 単相(n)からなる多細胞体が存在する。
- C. 減数分裂によって直接卵と精子がつくられる。
- D. 雌雄が異体である。
- E. 卵原細胞と精原細胞で減数分裂が起こる。

II. 植物の生活環では減数分裂が重要な位置を占める。テッポウユリの開花以前の様々な大きさのつぼみ(長さ 10 ～ 170 mm)を採取した後、^{やく} 葯と^{はいしゅ} 胚珠をそれぞれ取り出し、固定、解離、染色、押しつぶすことによって、葯や胚珠の中にある細胞を光学顕微鏡で観察した。下表は観察した細胞のうち、減数分裂開始前の細胞、減数分裂の第一分裂中の細胞、減数分裂の第二分裂中の細胞、減数分裂終了後の細胞の割合をつぼみの長さごとに示している。なお、縦に示したつぼみの長さの変化はつぼみの 3 日ごとの成長ぐあいにほぼ対応しており、テッポウユリでは花芽形成後おおよそ 40 日で開花する。

つぼみ ステージ (時期) 長さ (mm)	葯				胚珠			
	減数分裂 開始前	減数第一 分裂中	減数第二 分裂中	減数分裂 終了後	減数分裂 開始前	減数第一 分裂中	減数第二 分裂中	減数分裂 終了後
10	100	0	0	0	100	0	0	0
15	0	100	0	0	100	0	0	0
20	0	100	0	0	100	0	0	0
25	0	15	85	0	100	0	0	0
30	0	0	0	100	100	0	0	0
40	0	0	0	100	100	0	0	0
50	0	0	0	100	0	100	0	0
60	0	0	0	100	0	100	0	0
70	0	0	0	100	0	100	0	0
90	0	0	0	100	0	82	18	0
110	0	0	0	100	0	42	15	43
140	0	0	0	100	0	18	12	70
170	0	0	0	100	0	0	0	100

各長さのつぼみ中で各ステージにある細胞の割合(%)

問 5. つぼみの長さ 20 mm 中の葯のように、減数分裂の第一分裂中の細胞と判断できる記述として適切なものを次の A ～ E からすべて選び記号で答えよ。

- A. 核膜と核小体の消失がみられる。
- B. 大きさ(長さ)や形の等しい相同染色体がみられる。
- C. 相同染色体の対合がみられる。
- D. 染色体の交さ(乗換え)が起こっているキアズマがみられる。
- E. 紡錘体の形成がみられる。

問 6. つぼみの長さ 110 mm 中の胚珠において観察される減数分裂の第一分裂中期における染色体数を答えよ。なお、テッポウユリ($2n = 24$)の根端分裂組織では、体細胞分裂の中期に 24 本の独立した染色体が観察される。

問 7. 葯内での減数分裂(雄性減数分裂)と胚珠内での減数分裂(雌性減数分裂)を比較した次の文章 A と B はいずれも誤りである。なぜ誤りであるのか、観察結果の表にもとづきそれぞれ説明せよ。

- A. 雌性減数分裂において、第二分裂中の細胞はつぼみの長さ 90 ～ 140 mm にわたって広くみられるので、テッポウユリの減数分裂においては雌雄とも第二分裂にかかる時間の方が第一分裂にかかる時間よりも長い。
- B. 雌性減数分裂において、第一分裂中の細胞はつぼみの長さ 50 mm でいっせいに現れるので、テッポウユリの減数分裂では、雌性減数分裂の方が雄性減数分裂よりも進行過程での細胞間の同調性が高い。

Ⅲ. イネなどの突然変異体の中には雄性配偶子の形成が異常となるものがあり、具体的には「雄性減数分裂のみが正常にできないために花粉がまったく形成されない劣性の突然変異体(遺伝子型 mm)」、「花粉はできるものの、精細胞のみに異常があり卵細胞との受精がまったくできない劣性の突然変異体(遺伝子型 gg)」などが存在する。

遺伝子型 mm の変異体の雌しべに野生株(遺伝子型 MM)の花粉を受粉して得た雑種第一代(F_1)を自家受精すると雑種第二代(F_2)が得られるが、その際、各個体で形成される種子数は、野生株の自家受精の場合と変わらない(種子形成率は 100 %)。種子形成率は、胚珠の総数に対して受精が成立して種子となる胚珠の割合をさし、個体当たりの胚珠の総数は等しいものと仮定する。

問 8. 文中の F_2 を自家受精した場合の種子形成率(%)を答えよ。

問 9. 遺伝子型 gg の変異体の雌しべに野生株(遺伝子型 GG)の花粉を受粉して得た雑種第一代(F_1)を自家受精した場合の種子形成率(%)を答えよ。