

生物 問題 I

生物体を構成する主な有機物は、炭水化物、脂質、タンパク質、核酸である。生物は有機物を分解することによりエネルギーを得て、生命活動に必要なATPを生成している。このはたらきを呼吸と呼び、多くの酵素が関係している。酸素が少ない環境条件で、有機物を分解してエネルギーを取り出すはたらきを嫌気呼吸と呼ぶ。その1つに、グルコースからエタノールを生じる反応があり、アルコール発酵と呼ばれる。乳酸発酵もその1つで、どちらの反応も呼吸基質のグルコースはピルビン酸にまで分解される。利用できる酸素が十分ある場合には好気呼吸を行う。好気呼吸は3段階に分けられる反応系を経て有機物を無機物にまで分解し、エネルギーを取り出す。呼吸基質が分解される時、放出されたCO<sub>2</sub>の体積を、吸収されたO<sub>2</sub>の体積で割った値を呼吸商と呼ぶ。呼吸基質によって呼吸商の値が異なるので、呼吸商から呼吸基質を推定できる。また、好気呼吸と嫌気呼吸の割合を推定することもできる。以下の各問に答えよ。

問1. 下線部の3段階に分けられる反応系の名称を反応が進む順に記せ。2番目の反応と3番目の反応に関与する酵素のある場所はミトコンドリアのうちどこか。図1の記号ア～エから選び、その名称も記せ。

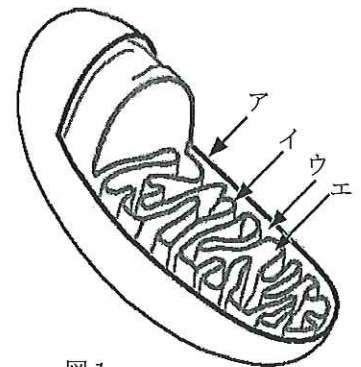


図1

問2. ミトコンドリアが好気性細菌に由来する(共生説)と考えられる根拠を2つ記せ。

問3. トリパルミチン(C<sub>51</sub>H<sub>98</sub>O<sub>6</sub>)とイソロイシン(C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>)が好気呼吸の呼吸基質として使われたときの化学反応式をそれぞれ記せ。また、それぞれの呼吸商を、小数第3位を四捨五入して小数第2位まで求めよ。

問4. 等量の発芽種子を入れた図2の装置を2つ用意して、ある植物の種子の呼吸商を求める実験をした。装置1では中央のビーカーに水を、装置2では10%水酸化カリウム溶液を入れ、暗黒下に一定時間置いた後に気体の体積を測定した。その結果、装置1では2.7 ml、装置2では、9.0 ml減少した。この植物の種子の呼吸商を計算せよ。また、この場合、炭水化物、タンパク質、脂肪のうちどれが呼吸基質として使われたと推定されるか。1つ選び名称を記せ。

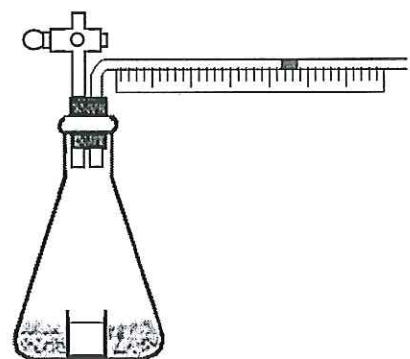


図2

問5. 図2と同じ装置を使い、5%のグルコース溶液に酵母菌を加えたものを使って問4と同様に実験したところ、呼吸商は2.5であった。このとき溶液中で進んだと考えられる好気呼吸と嫌気呼吸の化学反応式を記せ。反応後、33 mgのグルコースが消費されていた。それぞれの反応で消費されたグルコースの量(mg)と、得られたATPの量(ミリモル)を求めよ。原子量はC=12, H=1, O=16として、小数第2位を四捨五入して、小数第1位まで求めよ。なお、好気呼吸ではグルコース1モルあたり38モルのATPが生成されるものとする。

### 生物 問題 II

乳酸脱水素酵素 (LDH) は脊椎動物の組織に広く分布し、ピルビン酸を還元して乳酸を生成する反応と乳酸を酸化してピルビン酸を生成する反応を可逆的に触媒する酵素である。この酵素は2種類のポリペプチドが4本集まってできた4量体(テトラマー)である。ポリペプチドにはアミノ酸配列の異なるA鎖とB鎖があり、それぞれが異なった遺伝子によりコードされている。LDHを構成するA鎖とB鎖の本数の違いにより5種類のLDHができるが、5種類はまとめてアイソザイムと呼ばれ、それぞれはA<sub>4</sub>、A<sub>3</sub>B、A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>、A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>、B<sub>4</sub>の記号で表される。B鎖はA鎖よりも強く負に帯電しているために、電流を流すとB鎖の本数が多いLDHほど陽極側へ移動しやすい性質があり、電気泳動により5種類のアイソザイムを区別することができる。LDHは同一個体内でも組織によりアイソザイムのパターンが異なり、同じ組織でも発生段階によりアイソザイムのパターンが変化することが知られている。図1はラットの7種類の組織から得られたLDHを電気泳動により5つのアイソザイムに分け、LDHの酵素活性を利用して染色したもので、組織によりアイソザイムのパターンが異なっていることが分かる。図2は出産の9日前(-9)から出産の21日後(+21)にかけてのマウスの胎児と子供および成体の心臓から得られたLDHを電気泳動により5つのアイソザイムに分けて染色したもので、同じ組織でも発生段階によりアイソザイムのパターンが変化することを示している。以下の各問に答えよ。

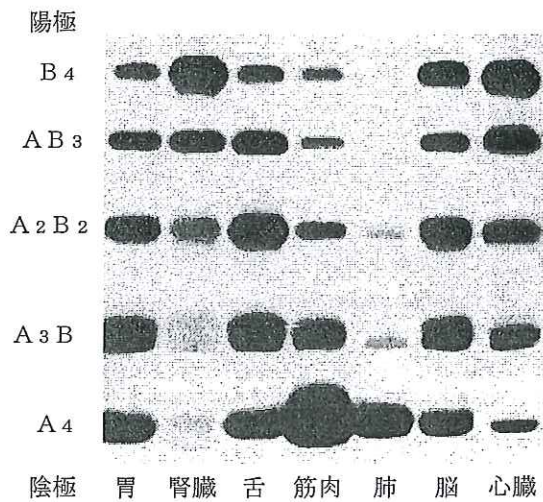


図1

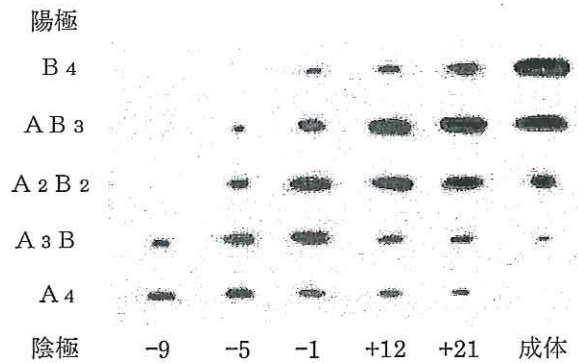


図2

- 問1. ピルビン酸を還元して乳酸を生成する反応と、乳酸を酸化してピルビン酸を生成する反応を1つの化学反応式で示せ。ただし、乳酸脱水素酵素の補酵素はXまたはX・H<sub>2</sub>と表記せよ。
- 問2. 図1の実験結果から判断して、A<sub>4</sub>が多い組織または器官の名称を2つ、B<sub>4</sub>が多い組織または器官の名称を2つ記せ。
- 問3. もし、仮にA鎖とB鎖が等量ずつ含まれていたとすると、5種類のアイソザイムはどのような比で存在するか。

問4. 図1の実験結果から判断して、次の(ア)～(ス)の記述のうち正しいと思われるものをすべて選び出し、記号で答えよ。

- (ア) A<sub>4</sub>は酸素消費量の多い組織に多く含まれ、B<sub>4</sub>は酸素消費量の少ない組織に多く含まれている
- (イ) B<sub>4</sub>は酸素消費量の多い組織に多く含まれ、A<sub>4</sub>は酸素消費量の少ない組織に多く含まれている
- (ウ) A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>はすべての組織に等量ずつ含まれている
- (エ) A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>はB<sub>4</sub>よりも酸素消費量の多い組織に多く含まれている
- (オ) A<sub>3</sub>BはA<sub>4</sub>よりも酸素消費量の少ない組織に多く含まれている
- (カ) A<sub>4</sub>の性質は低濃度の乳酸をピルビン酸に酸化するのに都合がよい
- (キ) A<sub>4</sub>の性質は低濃度のピルビン酸を乳酸に還元するのに都合がよい
- (ク) B<sub>4</sub>の性質は低濃度のピルビン酸を乳酸に酸化するのに都合がよい
- (ケ) B<sub>4</sub>の性質は低濃度の乳酸をピルビン酸に還元するのに都合がよい
- (コ) A鎖はB鎖に比べると酸性側鎖をもつアミノ酸の数が多いと思われる
- (サ) A鎖はB鎖に比べると塩基性側鎖をもつアミノ酸の数が少ないと思われる
- (シ) B鎖はA鎖に比べると酸性側鎖をもつアミノ酸の数が多いと思われる
- (ス) B鎖はA鎖に比べると塩基性側鎖をもつアミノ酸の数が多いと思われる

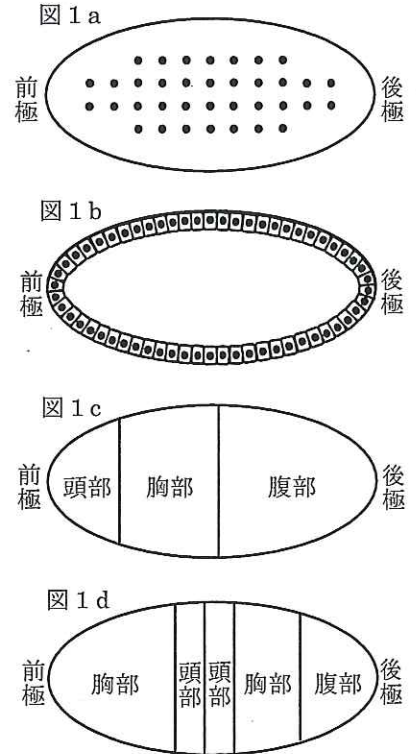
問5. 色々な組織でA鎖とB鎖の合成量を調べてみたところ、転写、翻訳レベルではほとんど差が見られず、合成速度は組織による差がないことが分かった。合成量に差がないのに組織間でA鎖とB鎖の含有量が違ってくるのはなぜか、その理由を推察せよ。

問6. 組織によりポリペプチドの構成が異なるLDHは、同じ組織でも発生段階によりポリペプチドの構成が変化することが知られている。図2の実験結果から判断して、マウスの心臓のLDHは出産の前後でどのように変化しているか。胎児を取りまく環境の変化も含めて述べよ。

問7. ヘモグロビンもLDHと同じように、2種類のポリペプチドが4本集まってできた四量体であるが、アイソザイムは存在しない。成人型ヘモグロビンを構成するポリペプチドは $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖であり、胎児型ヘモグロビンを構成するポリペプチドは $\alpha$ 鎖と $\gamma$ 鎖である。成人型ヘモグロビンと胎児型ヘモグロビンのポリペプチドの構成をLDHにならって記号で記せ。

### 生物 問題 III

キイロシヨウジヨウバエの発生では、卵割期に受精卵の内部で核の分裂だけがまず進行する(図1 a)。この多核の状態において、卵黄を含む細胞質の中を高分子物質は、比較的自由に移動できると考えられる。その後、約400個の核が卵の表層に移動して、それらがさらに分裂すると約6000個の核が表層に並ぶようになる。続いて、卵の細胞膜がそれぞれの核を包むように落ち込んで、一層の細胞のシートからなる胞胚となる(図1 b)。卵には形態的に区別できる前端(前極)と後端(後極)による前後軸、および背腹の軸があり、胚が発生すると頭部、胸部、腹部の違いが生じる(図1 c)。キイロシヨウジヨウバエの発生に関する【A】～【C】に答えよ。



【A】胚の前後軸の形成には、卵の前極や後極に局在する細胞質成分がはたらくと考えられている。以下の問に答えよ。

(実験1) 細いピペットを用いて、卵割期の正常な卵の前極から細胞質を抜き取ると、発生する胚には頭部と胸部が形成されなかった。また、前極の細胞質を抜き取り、そこに別の正常な卵の後極から抜き取った細胞質を注入すると、そこに腹部の構造が形成されたため、胚には2つの腹部が鏡像対称的に形成された。

(実験2)  $bcd^-$ は常染色体上にある劣性遺伝子で、 $bcd^-$ をホモにもつ雌( $bcd^-/bcd^-$ )が、野生型の雄( $bcd^+/bcd^+$ )と交尾して生んだヘテロの受精卵( $bcd^+/bcd^-$ )は、発生の途中ですべて死んでしまう。この胚を観察すると、腹部は正常であったが頭部と胸部は形成されなかった。

(実験3)  $bcd^-$ をヘテロにもつ雄( $bcd^+/bcd^-$ )と雌( $bcd^+/bcd^-$ )どうしを交配すると、そのうち約25%は $bcd^-$ をホモにもつ受精卵( $bcd^-/bcd^-$ )となるが、それらの胚は正常に発生した。

(実験4) 実験2の $bcd^-$ をホモにもつ雌( $bcd^-/bcd^-$ )が産んだヘテロの受精卵( $bcd^+/bcd^-$ )の前後軸の中央部に、別の正常な卵の前極から抜き取った細胞質を注入すると、その部分に頭部と胸部の構造が鏡像対称的に形成された(図1 d)。

問1. 実験2の $bcd^-$ をホモにもつ雌が産んだ受精卵( $bcd^+/bcd^-$ )の前極に、別の正常な卵の前極から抜き取った細胞質を注入すると、胚はどのように発生するだろうか。次の(ア)～(カ)の中から、最も適切なものを1つ選び記号で記せ。

- (ア) 前極側に胸部が形成される
- (イ) 前極側に頭部と胸部が鏡像対称的に形成される
- (ウ) 前極側に腹部が形成される
- (エ) 前極側に頭部と胸部が形成される
- (オ) 前極側に大きな頭部が形成される
- (カ) 発生が停止する

問2. 実験2と実験3の結果などから、野生型の遺伝子 $bcd^+$ のmRNAは、いつどこで合成されると考えられるか。次の(ア)～(カ)の中から、最も適切なものを1つ選び記号で記せ。

- (ア) 卵割期に卵の前極で合成される
- (イ) 卵割期に卵の全体で合成される
- (ウ) 胞胚期に卵の前極で合成される
- (エ) 卵割期に卵の後極で合成される
- (オ) 雄親の精巣の中で合成される
- (カ) 雌親の卵巣の中で合成される

問3. 実験4の結果などから、卵割期の卵の前極の細胞質には、どのようなはたらきがあると考えられるか。次の(ア)～(エ)の中から、最も適切なものを1つ選び記号で記せ。

- (ア) 頭部と胸部の形成を抑制する
- (イ) 頭部と胸部の形成を促進する
- (ウ) 腹部の形成を促進する
- (エ) 頭部の形成を促進し胸部の形成を抑制する

【B】胚の前後軸の形成にはたらく遺伝子PのmRNAは、卵割期の卵の前極に局在している。また、合成されたタンパク質Pは卵の中で不均一な分布を示す。図2 aで、実線のグラフは正常な卵のタンパク質Pの濃度分布を前後軸に沿って示し、点線のグラフは実験4の結果を示す。この結果から、注入された細胞質は、前後軸の中央部に局在する細胞質成分がはたらくと考えられている。

図2bはそのとき生じる正常な胚の頭部、胸部、腹部の構造形成のパターンを模式的に示している。また、タンパク質Pの濃度を人為的に過剰にした場合は、図2aの点線のグラフで示す濃度分布となり、このとき生じる胚のパターンは図2cのようになった。さらに遺伝子Pをホモで欠失した雌親から生まれた卵では、遺伝子PのmRNAやタンパク質は検出されず、発生した胚からは腹部だけが分化した。以下の間に答えよ。

- 問1. 遺伝子PのmRNAと合成されたタンパク質Pについて、どのようなことが考えられるか。次の(ア)～(カ)の中から、最も適切なものを2つ選び記号で記せ。
- (ア) タンパク質Pは、前側で分解される
  - (イ) 遺伝子PのmRNAは、濃度の違いによる勾配を形成する
  - (ウ) タンパク質Pは、後側で分解される
  - (エ) 遺伝子PのmRNAは、拡散しながら少しずつ分解される
  - (オ) タンパク質Pは、前極で合成されたあと拡散する
  - (カ) タンパク質Pは、濃度の違いによる勾配を形成する

問2. タンパク質Pの濃度を人為的に図2dの点線のグラフのように変化させた場合、どのような胚が生じるか。解答欄に、胚のパターンを精密に図示せよ。

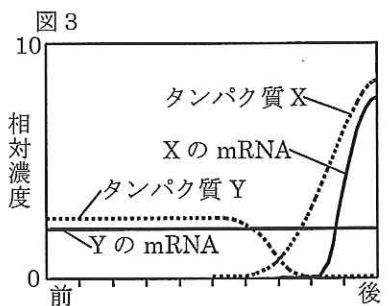
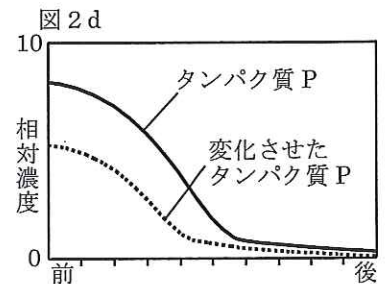
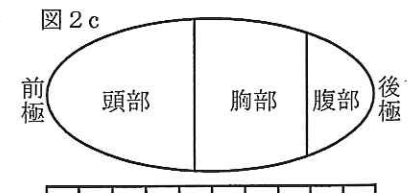
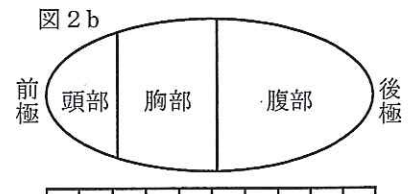
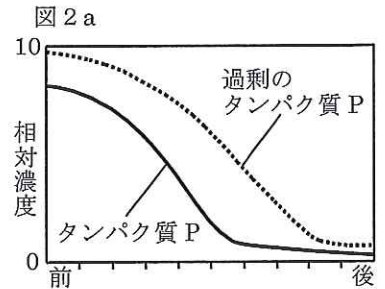
[C] 胚の前後軸の形成にはたらく遺伝子Xと遺伝子Yがある。図3のように、卵割期に遺伝子XのmRNAは、卵の後方に片寄って分布している、遺伝子YのmRNAは卵全体に均一に分布している。また合成されるタンパク質Xとタンパク質Yは卵の中に不均一に分布している。遺伝子Xをホモで欠失した雌親から生まれた胚は、腹部の構造をもたない。遺伝子Yをホモで欠失した雌親から生まれた胚は、正常な前後軸のパターンをもつ。しかし、人為的にタンパク質Yを卵の後方で増やすと、胚は腹部の構造をもたない。また、遺伝子Xと遺伝子Yを両方ともホモで欠失した雌親から生まれた胚は、正常な前後軸のパターンをもつ。以下の間に答えよ。

- 問1. 遺伝子Xと遺伝子YのmRNAと合成されたタンパク質について、どのようなことが考えられるか。次の(ア)～(エ)の中から、最も適切なものを1つ選び記号で記せ。
- (ア) タンパク質Xは、YのmRNAの翻訳を促進する
  - (イ) タンパク質Xは、YのmRNAの翻訳を阻害する
  - (ウ) タンパク質Xは、YのmRNAの転写を促進する
  - (エ) タンパク質Xは、YのmRNAの転写を阻害する

問2. 遺伝子Yをホモで欠失した雌親から生まれた卵で、人為的にタンパク質Yを卵の後方で増やす実験などから、どのようなことが考えられるか。次の(ア)～(ク)の中から、最も適切なものを2つ選び記号で記せ。

- (ア) タンパク質Xは、タンパク質Yを分解する
- (イ) タンパク質Xは、タンパク質Yを分解しない
- (ウ) タンパク質Yは、タンパク質Xに結合する
- (エ) タンパク質Yは、タンパク質Xのはたらきを促進する
- (オ) タンパク質Yは、腹部の形成を促進する
- (カ) タンパク質Yは、腹部の形成を抑制する
- (キ) タンパク質Xは、腹部の形成を抑制する
- (ク) タンパク質Xは、胸部の形成を抑制する

問3. 遺伝子Xをホモで欠失した雌親から生まれた卵では、タンパク質Yは前後軸に沿って、どのような濃度で分布しているのか。YのmRNAのグラフを参考にして、解答欄に、タンパク質Yの濃度分布のグラフを点線で記せ。



### 生物 問題 IV

遺伝子組換え技術を用いれば他の生物にヒトの遺伝子を大量に発現させることができる。そこで、あるヒト遺伝子Hがコードするタンパク質を大腸菌と酵母に発現させる実験を行った。以下の各問に答えよ。

#### 【A】大腸菌を使って遺伝子Hを発現させる実験

- [実験 1] 遺伝子Hを発現しているヒトの細胞から mRNA を精製し、逆転写酵素 (RNA を鋳型に DNA を合成する酵素) を使って DNA を合成した。
- [実験 2] 実験 1 で得られた DNA を鋳型にヒト遺伝子Hに特異的なプライマー (DNA の相補鎖を合成するときの出発点となる短いヌクレオチド鎖) を用いて PCR 反応を行い、遺伝子Hをコードする DNA を増幅した。
- [実験 3] 増幅した DNA を制限酵素で処理した後、同じ制限酵素であらかじめ処理したプラスミドに組み込み、大腸菌に導入した。得られた大腸菌のクローンを培養し、ヒト遺伝子Hを発現させた。また、培養したクローンから遺伝子Hを組み込んだプラスミド DNA を取り出し、塩基配列を調べた。

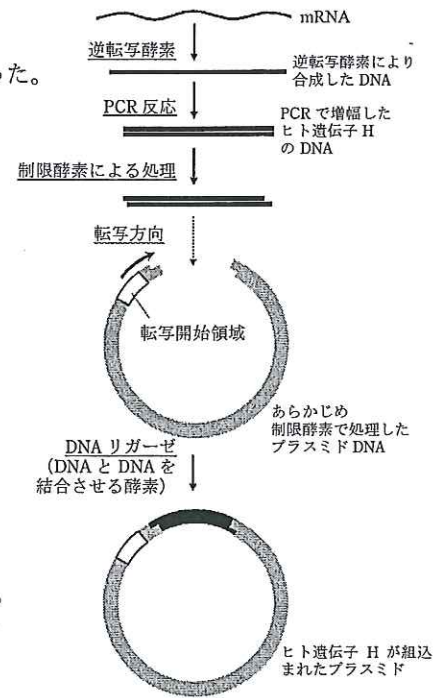


図 1 遺伝子 H をプラスミドに組み込む手順

- 問 1. さまざまな生物において遺伝子発現のしくみには多くの共通点がある。その中で、遺伝子組換え技術を用いて大腸菌や酵母にヒトの遺伝子を発現させることを可能にしている最も重要な共通点を述べよ。
- 問 2. 一般的に大腸菌を用いてヒトの遺伝子を発現させる場合、ヒト細胞の核の DNA を用いないで、実験 1 のように mRNA を鋳型にして合成された DNA を用いる。その理由を説明せよ。
- 問 3. この実験で用いたプラスミドには組み込んだ遺伝子を大腸菌で発現させるための転写開始領域が 1 つあり、転写の方向が決まっている。このためプラスミドに組み込まれた遺伝子の向きがきわめて重要となる。その理由を説明せよ。
- 問 4. 実験 2 で用いた PCR 法とは耐熱性の DNA ポリメラーゼを利用した DNA 増幅法であり、1 回の反応で DNA を 2 倍に増幅することができる。PCR 法により、遺伝子Hをコードする 100pg (ピコグラム) の DNA を 1 $\mu$ g (マイクログラム) 以上に増幅したい。最低何回増幅反応を行えばよいか計算せよ。ただし、反応効率は 100%とする。また、1pg は 1 $\times 10^{-12}$ g、1 $\mu$ g は 1 $\times 10^{-6}$ g のことである。
- 問 5. 大腸菌で遺伝子Hを発現させたところ合成されたタンパク質は予想されるサイズより小さなものしかできなかった。そこで、プラスミドに組み込まれた遺伝子Hの DNA 塩基配列を調べたところ、タンパク質をコードしている部分の塩基配列中に、ある塩基が別の塩基に置換されている変異が 1ヶ所見つけた。図 2 に示す変異前の遺伝子Hの塩基配列の中で、どの塩基に変異が起きたのかを図 3 の遺伝子番号表を用いて見つけ出し、変異後の塩基名を記せ。また、その変異のあった塩基を解答欄の塩基配列の中から 1つ選び○で囲んで示せ。ただし、この塩基以外プラスミドには変異はないものとする。なお、図 2 の 2本鎖 DNA のうち、下線を引いた DNA 鎖は mRNA 合成の鋳型としてはたらく。

図2 変異が見つかった部分の DNA 塩基配列 (変異前)

転写方向 →

... A A A T A G C G A T T C A T A C C G A G C C C A A T A A T T C T C ...  
 ... T T T A T C G C T A A G T A T G G C T C G G G T T A T T A A G A G ...

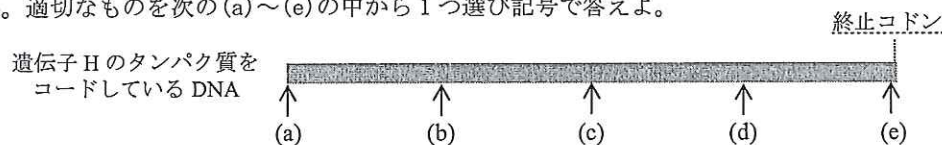
図3 遺伝暗号表

1番目の塩基	2番目の塩基				3番目の塩基				
	U	C	A	G					
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
	UUC		UCC		UAC		UGC		C
	UUA		UCA		UAA	終止コドン	UGA	終止コドン	A
	UUG		UCG		UAG	終止コドン	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	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	アスパラギン	AGC	C	
	AUA		ACA		AAA	リシン	AGA	A	
	AUG		ACG		AAG	リシン	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	GGA	A		
	GUG		GCG		GAG	グルタミン酸	GGG		G

**[B]** 酵母を使って遺伝子Hを発現させる実験

酵母を使って遺伝子Hを発現させる場合、合成されたタンパク質を細胞内にとどめたり、細胞外へと分泌させたりすることができる。これは本来、細胞には合成したタンパク質を細胞内外の適切な場所に運び、機能を発揮させるメカニズムが存在し、それを利用したものである。細胞質基質以外に局在するタンパク質には、細胞内の小器官へ移行するもの、細胞膜に局在するもの、細胞外へと分泌されるものなどがあり、様々な経路によって運ばれる。タンパク質のアミノ酸配列にはそのタンパク質がどこに運ばれるかを指示する配列が含まれていることがあり、それを選別シグナルと呼ぶ。選別シグナルには連続したアミノ酸配列(シグナル配列)によるものとタンパク質が高次構造をとったときに現れるシグナルパッチがよく知られている。

問1. この酵母の発現系を使ってヒトのタンパク質を細胞外に分泌させるには発現させるタンパク質のアミノ末端にシグナル配列を結合させなければならない。遺伝子HのDNAのどの部分にシグナル配列をコードするDNAを挿入すればよいか。適切なものを次の(a)~(e)の中から1つ選び記号で答えよ。



問2. タンパク質が合成され、細胞外へ分泌される経路について、(1)~(5)に適切な語句を入れよ。  
 核から細胞質へ運ばれた mRNA に (1) が結合しタンパク質の合成が始まる。タンパク質の合成途中でシグナル配列が現れると合成途中の mRNA と (1) は (2) へ運ばれ、合成されたタンパク質は (2) の中へ取り込まれる。次に分泌タンパク質は (2) から (3) へ運ばれる。(3) は分泌がさかんな細胞で発達しており、複雑な糖鎖の加工が行われる。分泌タンパク質は (3) の周辺部から切れてできる (4) に集められ、(5) に輸送される。最終的に (4) の膜と (5) の膜が融合し、その内容物が細胞外へ放出される。

問3. 次の(ア)~(オ)のタンパク質のうち、選別シグナルを持つタンパク質をすべて選び、記号で答えよ。

- (ア) インスリン (イ) ヘモグロビン (ウ) 免疫グロブリン (エ) コラーゲン (オ) ミオシン

さくらの個別指導(さくら教育研究所)