

生物 問題 I

次の文章を読み、下の問に答えよ。

プラスミド A、プラスミド B を用いて哺乳類由来の細胞 C に蛍光タンパク質 GFP を発現させる実験を行った。図 1、表 1 に示すようにプラスミド A には①～④、プラスミド B には⑤～⑧の遺伝子または DNA 配列が含まれている。図 2 に示すように②、⑥、⑧には (ア) 制限酵素によって切断される DNA 配列が存在する。実験で使用した制限酵素 a～e は図 3 に示すように特異的な 6 bp の塩基配列を認識して DNA を切断する。今回の実験では、プラスミド B の GFP 遺伝子をプラスミド A に移すために制限酵素 a～e を用いてプラスミド A、B をそれぞれ切断し、(イ) 得られた DNA 断片を結合させて 図 1 に示すようにプラスミド A' を作った。その後、プラスミド A' を (ウ) 大腸菌 に取り込ませ、抗生物質を含む培地にて大腸菌を増殖させた。プラスミド A' を取り込んだ大腸菌は抗生物質耐性遺伝子をもつため、培地上で増殖してコロニーを形成する。培地上のコロニーから大腸菌を回収し、プラスミド A' を抽出して実験に用いた。以下、実験 (1)、実験 (2) に示す制限酵素の組み合わせでプラスミド A' を作り、上記の通り大腸菌にてプラスミド A' を増幅させた後、細胞 C で GFP を発現させる実験を行った。

実験 (1) 制限酵素 a～e のうち 2 種類の制限酵素を用いてプラスミド A、B をそれぞれ切断し、図 1 に示すように DNA 断片を結合してプラスミド A' を作った。複数の大腸菌のコロニーから個別にプラスミド A' を抽出した。それらをそれぞれ細胞 C に導入した結果、すべてのプラスミド A' が GFP を発現した。

実験 (2) 制限酵素 a～e のうち 1 種類の制限酵素を用いてプラスミド A を切断し、プラスミド B は 2 種類の制限酵素を用いて切断し、図 1 に示すようにプラスミド A' を作った。(エ) 複数の大腸菌のコロニーから個別に抽出したプラスミド A' をそれぞれ細胞 C に導入した結果、GFP を発現するプラスミド A' と発現しないプラスミド A' が確認された。

次に実験 (2) でプラスミド A' が GFP を発現しなかった原因を調べるために、プラスミド A、B と実験 (1) で作られたプラスミド A'、実験 (2) で GFP を発現したプラスミド A'、GFP を発現しなかったプラスミド A' を実験 (i)～(iii) のように制限酵素でそれぞれ切断した。その後、切断された DNA 断片の塩基対数を電気泳動によって調べた。プラスミド A、B の塩基対数がともに約 3500 bp、GFP 遺伝子の塩基対数は約 700 bp である。実験 (i)～(iii) では同じ量のプラスミドを制限酵素によって処理した。ただし、制限酵素処理されたプラスミドは制限酵素が認識する部位において完全に切断されるものとする。

実験 (i) それぞれのプラスミドを制限酵素 a、d で切断して電気泳動したところ、図 4 の結果が得られた。

実験 (ii) それぞれのプラスミドを制限酵素 b、d で切断して電気泳動したところ、図 5 の結果が得られた。

実験 (iii) それぞれのプラスミドを制限酵素 c、d で切断して電気泳動したところ、図 6 の結果が得られた。

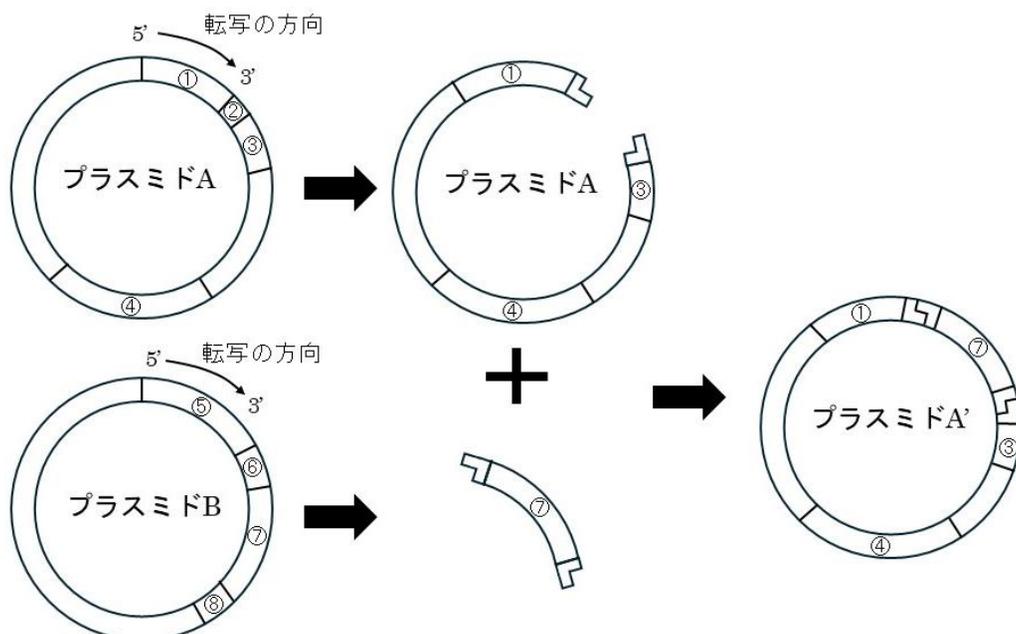


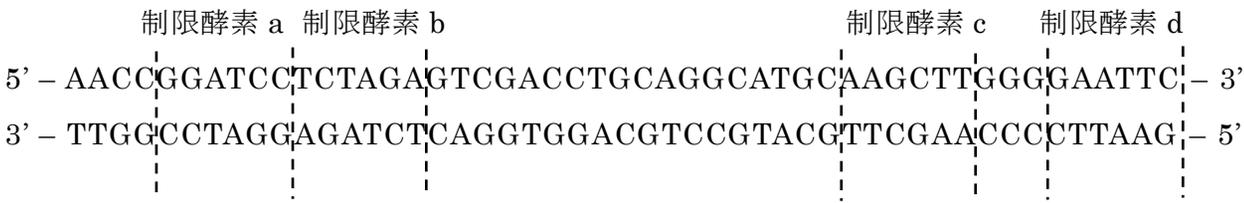
表 1 図 1 中の①～⑧の遺伝子または DNA 配列

①	サイトメガロウイルス由来のプロモーター
②	制限酵素の切断部位を含む DNA 配列
③	ポリ A テール (mRNA の機能に重要な配列)
④	抗生物質耐性遺伝子
⑤	原核生物由来のプロモーター
⑥	制限酵素の切断部位を含む DNA 配列
⑦	GFP 遺伝子
⑧	制限酵素の切断部位を含む DNA 配列

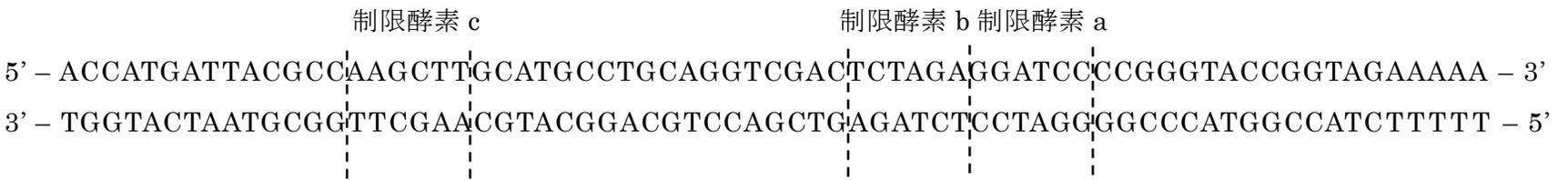
※ ②、⑥、⑧は図 2 に配列を示す

図 1 プラスミド A、プラスミド B の構造とプラスミド A' の作製方法

②の配列



⑥の配列



⑧の配列

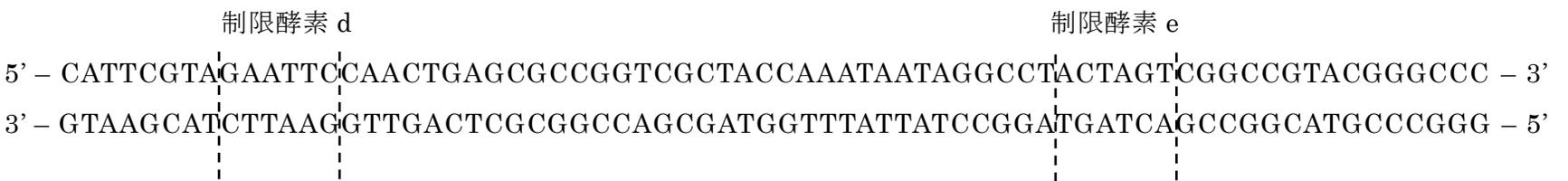


図 2 プラスミド A の②, プラスミド B の⑥, ⑧の DNA 配列と制限酵素 a~e によって認識される部位

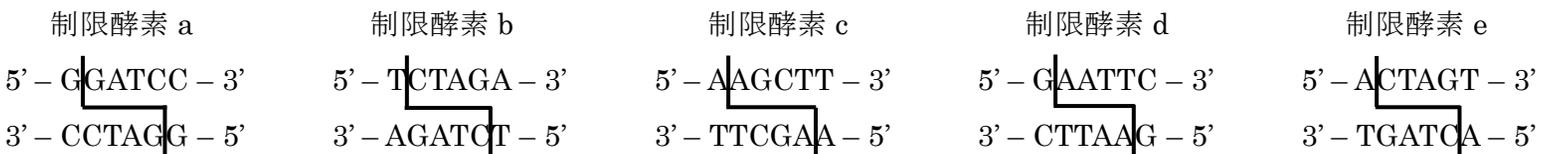


図 3 制限酵素 a~e の DNA 配列切断パターン (黒線の部分で DNA 配列が切断される)

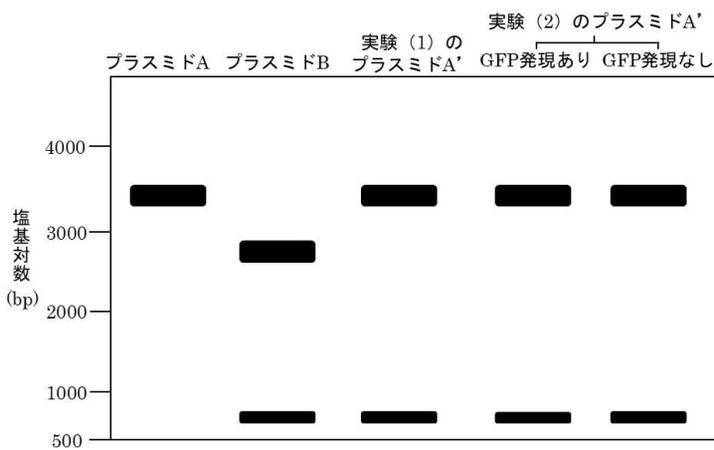


図 4 実験 (i) の電気泳動の結果

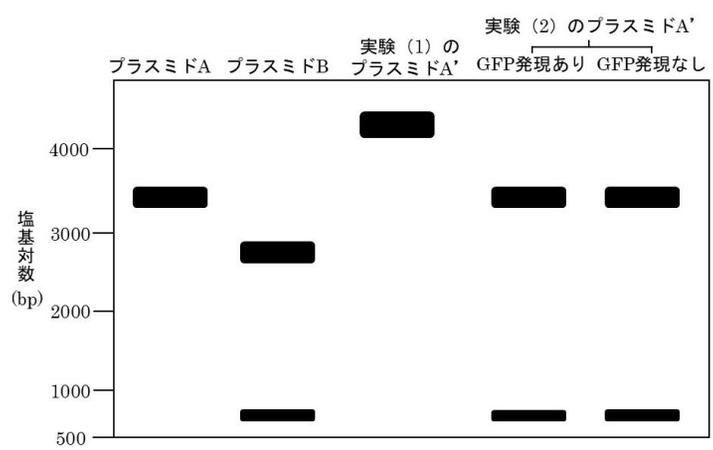


図 5 実験 (ii) の電気泳動の結果

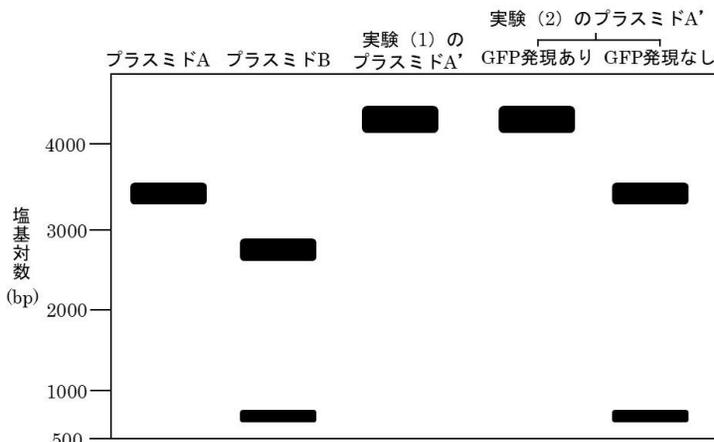


図 6 実験 (iii) の電気泳動の結果

- 問 1. 下線部 (ア) について、制限酵素は細菌由来の酵素であるが、制限酵素の細菌内における元々の役割はどのようなものか。簡潔に説明せよ。
- 問 2. 下線部 (イ) について、制限酵素によって切断された DNA 断片を結合させる作用をもつ酵素の名称を記せ。
- 問 3. 下線部 (ウ) について、大腸菌は原核生物であるが、(a) ~ (e) の中から原核生物の説明として誤っているものを 2 つ選び、記号を記せ。
- (a) 大きさは 1~10 μm 程度である
 - (b) 細胞内にはミトコンドリアが存在する
 - (c) 細胞膜はあるが、細胞壁はない
 - (d) 原核生物は地球上に現れた最初の生物と考えられている
 - (e) 原核生物は細菌とアーキアに分けられる
- 問 4. サイトメガロウイルスはウイルスの一種である。多くの哺乳類の細胞において、プラスミド A に含まれるサイトメガロウイルス由来のプロモーターはその下流の遺伝子 (プロモーターの 3'側につながる遺伝子) を発現させることができる。これはウイルスがもつある性質に起因しているが、その性質とはどのようなものか、説明せよ。
- 問 5. 実験 (1), (2) でプラスミド A, B を切断するために用いたのは制限酵素 a~e のうちどれか。実験 (1) については 2 種類の制限酵素の記号、実験 (2) についてはプラスミド A を切断した 1 種類の制限酵素の記号とプラスミド B を切断した 2 種類の制限酵素の記号をそれぞれ解答欄に記せ。
- 問 6. 下線部 (エ) について、実験 (2) ではなぜ GFP を発現するプラスミド A' と GFP を発現しないプラスミド A' が作られたのか。その理由を簡潔に記せ。なお、実験過程において遺伝子の突然変異は起こっていないものとする。

生物 問題Ⅱ

次の文章を読み、下の問に答えよ。

多くの植物は①光合成を行い、陸上で生活する多細胞生物である。植物はシジクモ類に近い緑藻類から進化したと考えられており、形態的特徴によってコケ植物、(ア)植物、種子植物に大別される。種子植物はさらに裸子植物と被子植物に分類され、農業や生態系への応用を視野に入れた研究が被子植物を中心に盛んに行われている。特に近年は受精のメカニズムについて多くの新たな知見が得られている。

被子植物では、若いおしべの(イ)内において花粉母細胞から花粉四分子が形成され、花粉へと発生する。花粉四分子の1つ1つが成熟する過程で、不均等な体細胞分裂を1回行い、大きな花粉管細胞と小さな雄原細胞が生じ、雄原細胞が花粉管細胞の中に取り込まれて、成熟した花粉となる。一方、若いめしべの(ウ)の中に存在する胚珠の内部では、胚のう母細胞が形成される。②胚のう母細胞は分裂を繰り返し、卵細胞を含む成熟した胚のうが形成される。

花粉がめしべの(エ)につくと、発芽して花粉管を生じ、花粉管の中の雄原細胞が1回分裂して2個の精細胞となる。花粉管が胚のうに達すると精細胞は花粉管から胚のうに放出される。精細胞の1個は卵細胞と受精して受精卵となり、将来、胚になる。精細胞の他の1個は中央細胞と融合し、③胚乳細胞をつくる。このような受精の様式は重複受精とよばれ、被子植物だけにみられる。

花粉管が卵細胞へと正確に到達するためのメカニズムは花粉管ガイダンスとよばれる。100年以上前から花粉管を胚珠へと導く誘引物質が存在するのではないかと考えられてきたが、その詳細は不明であった。アゼナ科の被子植物であるトレニアは、胚のうの一部が胚珠から飛び出しているというユニークな特徴をもつ(図1)。この特徴を利用することによって、花粉管ガイダンスに参与する細胞を探索する方法が2000年代につくられた。受粉後、花柱内で伸長した花粉管を取り出し、胚珠とともに培養すると花粉管は胚珠へと向かい、受精する。このとき、胚のうの特定の細胞をマイクロレーザーによって破壊した後、花粉管が胚のうへ到達するか否かを調べ、花粉管を誘引した胚珠の割合(誘引頻度)を算出した(表1)。なお、2つの助細胞のうち1つ破壊する場合は無作為に選んだ。この実験結果は④花粉管ガイダンスには、助細胞が1つ存在することが必要かつ十分であることを示している。この成果をもとに、助細胞だけが特徴的に発現している遺伝子が探索され、2種類のペプチドが花粉管の誘引物質として同定された。

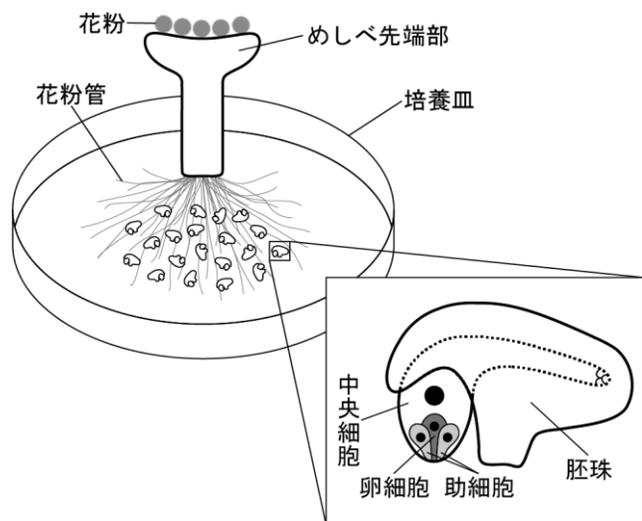


図1 実験方法の概要とトレニアの胚珠の模式図

表1 レーザーによる細胞破壊と花粉管誘引頻度

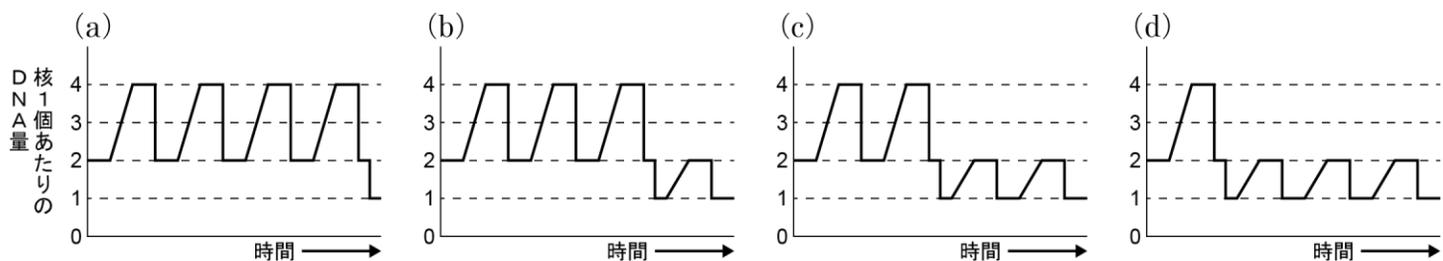
胚のうの状態	各細胞の状態 (○:正常, ×:破壊)			花粉管を誘引した胚珠の割合 (%)
	卵細胞	中央細胞	助細胞	
破壊なし	○	○	○/○	20/20 (100%)
1細胞破壊	×	○	○/○	19/20 (95%)
	○	×	○/○	20/20 (100%)
2細胞破壊	○	○	○/×	14/20 (70%)
	×	×	○/○	19/20 (95%)
	×	○	○/×	12/20 (60%)
3細胞破壊	○	×	○/×	14/20 (70%)
	×	×	○/×	0/20 (0%)
	×	×	○/×	13/20 (65%)
4細胞破壊	○	×	×	0/20 (0%)
	×	○	×	0/20 (0%)
4細胞破壊	×	×	×	0/20 (0%)

問 1. 文章中の (ア) ~ (エ) にあてはまる最も適切な語句を記せ。

問 2. 下線部①に関する記述 (a) ~ (e) について、正しいものには○、誤っているものには×を記せ。

- (a) 光化学系 II では、水から酸素が生じる
- (b) 電子が光合成の電子伝達系を通ると、水素イオンがチラコイドの内側からストロマ側へ輸送される
- (c) 活性化された光化学系 I から放出された電子は、 NAD^+ に渡されて NADH が生じる
- (d) カルビン回路において二酸化炭素を取り込む反応は、ルビスコによって触媒される
- (e) カルビン回路では 6 分子の二酸化炭素につき、12 分子の ATP が消費される

問 3. 下線部②について、この過程で卵細胞がつくられるまでの、核 1 個あたりの DNA 量の変化を示すグラフを、(a) ~ (d) から選び、記号で記せ。なお、②の過程が始まる前の時点における胚のう母細胞の核あたりの DNA 量を 2 とする。



問 4. 下線部③の核相を、 n を用いて記せ。

問 5. 下線部④について、表 1 に示す結果にもとづいてその理由を記せ。

問 6. 1990 年代には 2 つの助細胞の生理的な機能はそれぞれ異なると報告されていた。しかし、表 1 の実験結果から 2 つの助細胞はどちらも花粉管を誘引できる可能性が示された。2 つの助細胞はどちらも花粉管を誘引できるのか、またはどちらか一方だけが花粉管を誘引できるのかを検証するために、培養に使用する花粉管と胚珠の数を増やして誘引頻度を調べた (表 2)。2 つの助細胞はどちらも花粉管を誘引できることを表 2 の数値をもちいて説明せよ。

表 2 花粉管の数と花粉管誘引頻度

花粉管の数	助細胞の状態 ○：正常，×：破壊	花粉管を誘引した胚珠の割合 (%)
表 1 の実験と同じ	○/○	38/40 (95%)
	○/×	25/40 (63%)
	×/×	0/40 (0%)
表 1 の実験の 2 倍	○/○	39/40 (98%)
	○/×	38/40 (95%)
	×/×	0/40 (0%)

注：卵細胞と中央細胞はすべて正常 (○) である

生物 問題 III

次の文章を読み、下の問に答えよ。

多くの動物では、外界のさまざまな刺激を受け取る①受容器、刺激に応じた反応をおこす効果器、それらの間で情報伝達や情報処理を行う神経系が発達している。神経系はニューロンとよばれる神経細胞と（あ）細胞から構成される。個々のニューロンは、核のある（い）とそこからのびる軸索および（う）からなる。隣接する別のニューロンや効果器との間で信号を伝える部分をシナプスという。シナプスでは、神経終末内部の②シナプス小胞から放出された神経伝達物質がシナプス後細胞の細胞膜に存在する（え）と結合することにより、一方向のみに情報が伝達される。個々のシナプスは、③受容する神経伝達物質の種類によって、シナプス後細胞に伝える情報が異なる。個々のニューロン内部では、細胞膜に沿って発生する電気信号によって情報が伝達される。ニューロンに刺激が入っていないときには、その膜電位は細胞の内側が負の状態であるが、④刺激を受けると急激な電位変化が起きる。これを興奮という。ニューロンはある一定以上の刺激が加えられないと興奮しない。一方でこの閾値以上の強さの刺激であれば、強さを変化させても活動電位の大きさは変化しない。このような性質を（お）という。活動電位が軸索内を伝わっていく速度は神経繊維の形態によって異なる。脊椎動物の軸索のうち、シュワン細胞などにより形成された（か）をもつ軸索を有髄神経繊維、もたない軸索を無髄神経繊維という。また有髄神経繊維には（か）が途切れた部分があり、その部分を（き）という。有髄神経繊維の（か）は電気を通しにくい性質を持っているため、興奮によって生じた活動電位は（き）の間を素早く伝導する。これを（く）伝導という。このため、無髄神経繊維に比べ有髄神経繊維では興奮がすばやく伝導される。末しょう神経系のうち、⑤体性神経系には有髄神経繊維が、自律神経系には無髄神経繊維が多く存在する。

問1. 本文中の（あ）～（く）に入る適切な語句を記せ。

問2. 下線部①について、「からだの傾き」および「からだの回転」の刺激を受けとる受容器の名称をそれぞれ漢字で記せ。

問3. 下線部②について、小胞の輸送には細胞骨格がレールの役割を担っている。この細胞骨格を形成するタンパク質の名称を記せ。また、この細胞骨格に関する記述のうち正しいものを（あ）～（か）から3つ選び、記号を記せ。

- | | |
|----------------|---------------------|
| （あ）細胞骨格の中で最も太い | （い）紡錘糸を形成する |
| （う）筋原繊維を構成する | （え）核膜内側に存在し、核の形を保つ |
| （お）細胞全体の形を保持する | （か）鞭毛に存在し、その動きに関与する |

問4. 下線部③について、興奮性シナプスおよび抑制性シナプスを制御する神経伝達物質をそれぞれ（あ）～（お）から、また興奮性シナプスおよび抑制性シナプスが神経伝達物質を受容したときに細胞内に流入するイオンをそれぞれ（か）～（す）から1つずつ選び、記号を記せ。

- | | | | | |
|------------|-----------|------------|---------------|-----------------|
| （あ）アセチルコリン | （い）アドレナリン | （う）パラトルモン | （え）γ-アミノ酪酸 | （お）チロキシン |
| （か） H^+ | （き） K^+ | （く） Na^+ | （け） Ca^{2+} | （こ） OH^- |
| | | | （さ） Cl^- | （し） CO_3^{2-} |
| | | | | （す） PO_4^{3-} |

問 5. 下線部④について、刺激を受けたときの一般的な膜電位の変化の様子を図 1 に示す。

- (i) 図 1 において、膜電位と刺激を受けてからの時間について、それぞれの単位を記せ。
- (ii) 膜電位が急激に下向するとき（矢印の変化）、電位変化に依存的に開閉するカリウムチャンネルおよびナトリウムチャンネル、電位変化に依存しないカリウムチャンネル、ナトリウムポンプがどのように働き、 Na^+ および K^+ が流入あるいは流出しているのか説明せよ。

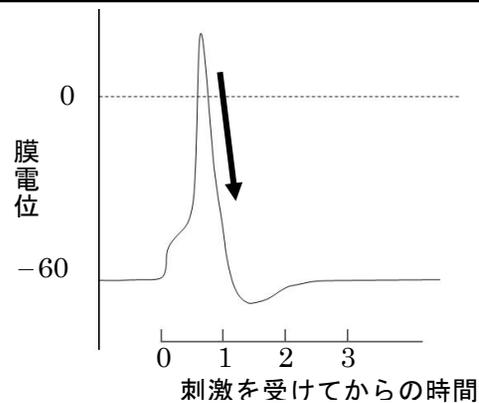


図 1 膜電位の変化

問 6. 軸索の活動電位の伝わり方について次のような実験を行った（図 2）。実験 1 では、軸索の A 点で活動電位を発生させたとき、t 秒後には D 点で活動電位が観察された。次に実験 2 では、軸索の E 点、G 点の 2 つの場所で同時に活動電位を発生させ、t 秒後に活動電位が観察される場所を調べた。実験 2 において、活動電位が観察されると考えられる場所として適切なのはどこか。A~K からすべて選び、記号を記せ。ただし、A~K は等間隔に存在し、軸索内では、活動電位は常に同じ速度で伝達されるものとする。

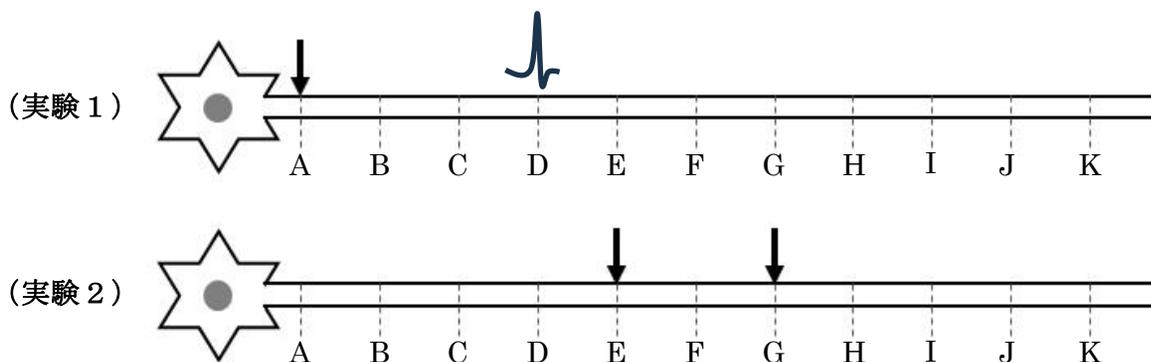


図 2 実験 1 および実験 2 における活動電位の発生場所と観察された場所

問 7. 一般に 1 つの神経細胞は複数の神経細胞から入力を受ける（図 3）。このとき、入力神経に入る刺激を「小」「中」「大」と強弱をつけたところ、神経細胞 X の興奮反応は異なった電位変化を起こした（図 4）。刺激「大」のとき、神経細胞 X はどのような活動電位を示したと考えられるか、①~⑤から選び、数字を記せ。ただし、入力神経はすべて興奮性神経とする。

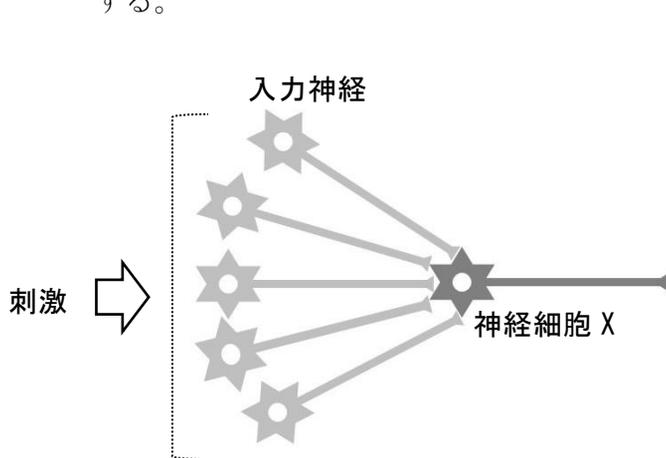


図 3 複数の神経細胞による刺激の伝達

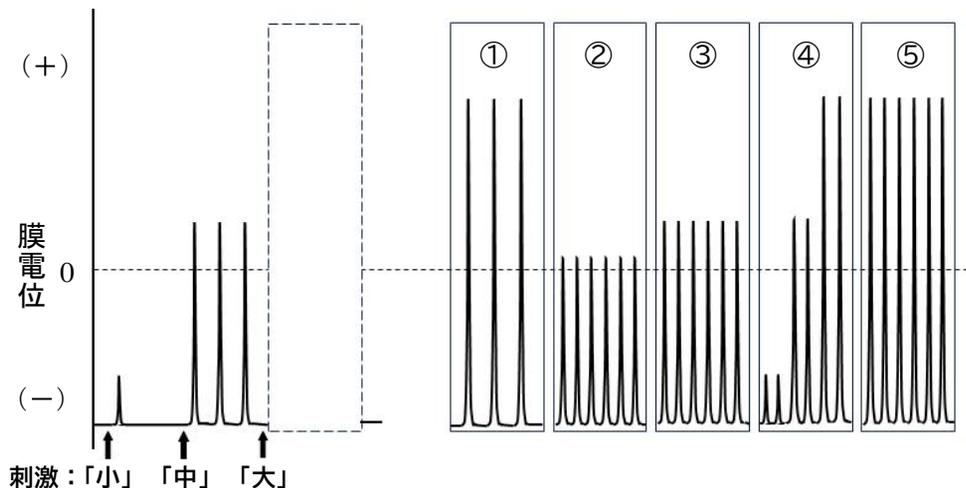


図 4 神経細胞 X の膜電位の変化

問 8. 下線部⑤について、体性神経系と自律神経系の役割をふまえ、その理由を記せ。