

細胞の中には細胞小器官として小胞体やゴルジ体が存在し、これらが細胞内のタンパク質輸送に関与することが知られている。タンパク質が小胞体やゴルジ体の間でどのように輸送されるかを知るため、GFP (green fluorescent protein: 緑色蛍光タンパク質)^注を用いて、細胞の表面に分布し細胞膜を貫通するタンパク質(膜貫通タンパク質) Xについて、以下のような実験を行った。このタンパク質 X は温度によって構造が変わり、異なる細胞小器官に蓄積することが知られている。

注 GFP は、下村脩博士がオワンクラゲから精製したタンパク質であり、特定の波長の光を吸収し緑色の蛍光を発する。GFP とさまざまなタンパク質との融合タンパク質を細胞に発現させ、そのタンパク質の動きを生きた細胞で蛍光を指標に観察することができるようになり、生物学研究に飛躍的な進歩がもたらされた。この功績により、下村博士らは2008年のノーベル賞を受賞した。

実験 膜貫通タンパク質 X と GFP の融合タンパク質(これを X-GFP と呼ぶ)の遺伝子を培養細胞に導入して40°Cで1晩(約12時間)培養し、X-GFPを細胞に合成させた。

その後、A群の細胞は引き続き40°Cで2時間培養した。B群の細胞は32°Cで2時間培養した。C群の細胞は温度を急激に20°Cにして20°Cのまま2時間培養した。

温度を40°Cから32°Cや20°Cに変化させてからはタンパク質合成はないものとし、細胞死は起こらないものとする。

その結果、X-GFPの蛍光の2時間後の分布は以下ようになった。

- ・ A群の細胞：小胞体のみ分布した。
- ・ B群の細胞：細胞膜に主に分布した。
- ・ C群の細胞：ゴルジ体に主に分布した。

小胞体は膜貫通タンパク質の合成の場所として重要なことが知られており、ゴルジ体の役割はタンパク質の加工(修飾や濃縮)であることが知られている。そして、小胞体とゴルジ体の間や、ゴルジ体と細胞膜の間では膜の袋(小胞)でタンパク質の輸送が行われていることが知られている。

そこで、X-GFPが細胞内でどのように輸送されるかを知るために、細胞内の分布の時間経過を観察した結果は以下のものであった。

A群の細胞では、観察開始から2時間に渡り、X-GFPの蛍光は細胞質全体に網目状に観察された。

B群の細胞では、40°Cから32°Cに変化させてから30分までは、X-GFPの蛍光は網目状に観察され、その網目状の構造物の近くで小さな球状となり、それが細胞の周辺部から細胞の中心に向けてすばやく輸送され、核近傍に集積した。その後、X-GFPの蛍光がやや大きい細長い構造物として、核近傍に集積した場所から辺縁部へ移動し、細胞の辺縁部の蛍光が増強することが分かった。

C群の細胞では、核近傍にX-GFPの蛍光が集積していた。

★問1 (1) 観察されたX-GFPの細胞内での動きについて、以下の文の①～③に適当

な語句を入れよ。

X-GFP は、40°C では(①)から出られず、20°C では(②)から出ることができないが、32°C では(①)から(②)を通って(③)に行くことができることがわかる。

(2) 40°C から32°C にしてから30分までと、30分から2時間までの間では、各々の細胞小器官からどの細胞小器官への動きを主に観察することができるか、④～⑦に適切な語句を入れよ。

30分まで：(④)から(⑤)

30分から2時間まで：(⑥)から(⑦)

★問2 C群の温度を20°C から32°C に上げると X-GFP の蛍光の分布はどうなると考えられるか、30字以内で答えよ。

★問3 B群の細胞で観察された事象について、以下の問いに答えよ。

(1) 下線部の細胞小器官は何か答えよ。

(2) 小胞体から細胞膜への X-GFP の輸送について、以下の語句を用いて100字以内で説明せよ。

[語句] 小さい球状の構造物、やや大きい細長い構造物、細胞の核近傍、
ゴルジ体

ダイズなどの遺伝子組換え植物の一般的な作出法は次の通りである。まず目的遺伝子を含む DNA とプラスミドなどのベクターを(A)適切な制限酵素で切断し、両者の切断末端どうしを DNA リガーゼで連結する。次に、連結反応液で大腸菌を形質転換し、(B)適切な構造をもつプラスミドを選択する。このプラスミドを導入したアグロバクテリウムを介して目的遺伝子は植物に導入される。こうして作出された遺伝子組換え植物は、さまざまな試験と審査を経てはじめて商業栽培や流通が可能になる。

一方、遺伝子組換え植物の花粉が飛散して周辺の植物と交雑すると、核 DNA 上の組換え遺伝子が伝播した交雑種が出現し、生態系に組換え遺伝子が拡散する可能性がある。そこで、(C)葉緑体 DNA の遺伝子組換え技術の開発も進められている。これは一般的に、(D)葉緑体 DNA 上の遺伝子は花粉を介した受精によって同種あるいは近縁種の植物へ伝播することがないからである。

★問1 下線部(A)について、特定の6塩基対からなる DNA 配列を↓で切断する制限酵素 A と B (図1)で、遺伝子 Z を含む

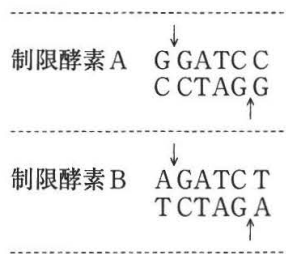


図1

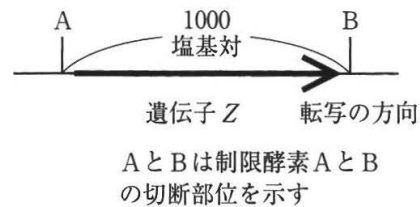


図2

1000塩基対の DNA 断片(図2)を切り出し、制限酵素 A と B の切断部位がプロモーターを挟んで500塩基対の距離に存在する全長4000塩基対のプラスミド(図3)と連結する。このとき、制限酵素 A と B で切り出した遺伝子 Z を含む DNA 断片は、プラスミドを制限酵素 A または B のどちらで切断したのとも連結できる。その理由を30字以内で説明せよ。

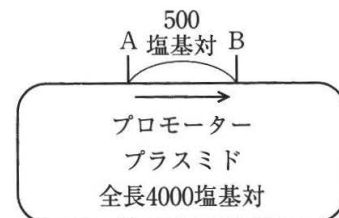


図3

★★問2 下線部(B)について、図3のプラスミド上で遺伝子 Z を発現させるには、制限酵素 A と B で切り出した遺伝子 Z を、制限酵素 B で切断したプラスミドに連結し、遺伝子 Z の向きが転写開始に必要なプロモーターの向きと同じになっていればよい。しかし実際にはこの連結反応で、

- ① 遺伝子 Z が挿入されず、自己連結して元に戻ったプラスミド
 - ② 遺伝子 Z の転写方向が、プロモーターの向きと逆向きに入ったプラスミド
 - ③ 遺伝子 Z の転写方向が、プロモーターの向きと同じ向きに入ったプラスミド
- ができ、連結反応液で大腸菌を形質転換し、それを培養するといずれか一種類を保持したコロニーがプレート上にランダムに出現する。そのため複数のコロニーを別々に培養して、精製したプラスミドから③を選び出す必要がある。それには、制

制限酵素で切断したプラスミド断片の長さを調べることができるアガロースゲル電気泳動法(図4)が有効である。

①, ②, ③の各プラスミドを制限酵素AとBの両方で完全に切断すると, それぞれ何本のDNA断片が検出されるか答えよ。

★★問3 問2の①, ②, ③の各プラスミドを, 制限酵素AとBの両方で完全に切断した際に生じるDNA断片の長さ(塩基対)をすべて記せ。

★★問4 下線部(C)の葉緑体DNAは, 高等植物で約120の遺伝子をもつ環状二本鎖DNAであり, 独特な遺伝子発現機構を進化させている。例えば, 葉緑体遺伝子には転写後に「スプライシング」や「RNA編集」を受けるものがある。このうち葉緑体での「RNA編集」とは, 葉緑体DNAから転写されたmRNAの特定のC塩基をU塩基に置きかえる機構で, 約20の遺伝子で見ついている。つまりこれらの遺伝子ではDNA配列上はCであるが, mRNAではUになっている部分があり, DNA配列とわずかに異なる配列のmRNAが翻訳に使われる。

その結果, (1) 翻訳開始, (2) ペプチド鎖の長さ, (3) アミノ酸配列について, DNA情報とは異なるどのようなことが起こりうるかを, 各40字以内で答えよ。

ただし, 葉緑体遺伝子に用いられているコドン是一般的なものであり, 翻訳はmRNA上の開始コドン(AUG)から始まり, 終止コドン(UAA, UAG, UGA)で終了する。

問5 下線部(D)の理由を「花粉」を主語に20字以内で記せ。

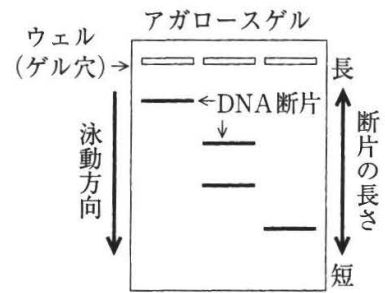


図4

A. 通常、他人の臓器を移植すると、移植された宿主のT細胞を主体とした免疫反応により、移植片は拒絶される(宿主対移植片反応)。一方、放射線の照射や免疫抑制剤の投与などにより宿主の免疫が抑制された状態では、移植片に含まれるT細胞によって、宿主組織が攻撃される(移植片対宿主反応)。これは、自己と他者の組織を区別するための『標識』がほとんどすべての細胞表面に発現していて、それをT細胞が識別して、自己以外の『標識』を発現する細胞を攻撃するためである。骨髄細胞の一部から分化したT細胞は、胸腺という臓器に移動し、そこで自己に特有の標識をもつ細胞を自己の細胞と認識し、攻撃することなく許容する。一方、自己のものとは異なる『標識』を発現する細胞に対しては、他者と認識し、攻撃して排除するようになる。骨髄移植の場合、移植片由来の未分化なT細胞は宿主胸腺で分化・成熟するため、移植片を起源とするT細胞は宿主細胞を自己と認識するようになる。この『標識』のことを主要組織適合遺伝子複合体(MHC)という。MHC遺伝子はメンデルの法則にしたがって遺伝し、MHCの形質は共優性遺伝を示す。すなわち、子供の細胞は、母親由来のMHCと父親由来のMHCの両方をその細胞膜表面に発現していることになる。重要なことに、T細胞はMHCを発現しない細胞に対しては、自己とも非自己とも区別がつかないため、攻撃しない。

マウスを用いてMHCと移植に関する以下に述べるような実験を行った。なお、実際にはMHCは複数の遺伝子座からなる遺伝子であるが、ここではMHC単一の遺伝子座から成り、A、B……など多数の対立遺伝子が存在するものとする。なお、実験に使用したマウスは、MHC遺伝子座以外の遺伝的背景は同一であるとする。

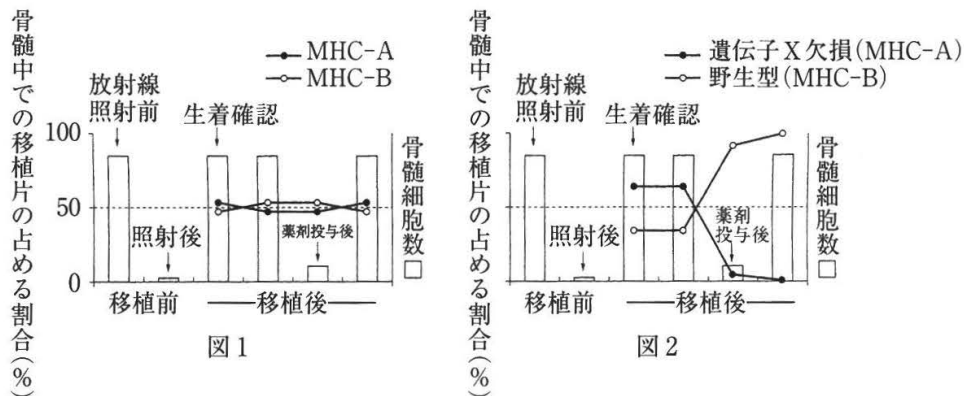
- ★問1 MHC-Aのみを発現している雄マウスとMHC-AとMHC-Bの両方を発現している雌マウスを交配し、9匹の仔マウスを得た。その中の仔マウスXから採取した皮膚組織を母親の皮膚に移植したところ生着したが、逆に母親の皮膚組織をその仔マウスXの皮膚に移植したところ拒絶され、生着しなかった。この仔マウスXが発現するMHCの型は何か。次から1つ選べ。
- ① MHC-Aのみを発現 ② MHC-Bのみを発現
③ MHC-AとMHC-Bの両方を発現 ④ 両方とも発現しない
- ★問2 問1で母親の皮膚組織が仔マウスXによって拒絶され、生着しなかった理由を40字以内で述べよ。
- ★問3 MHC-Aのみを発現しているマウスの全身に放射線を照射し、血液細胞を完全に死滅させた。このマウスに、成熟した免疫細胞を除去したMHC-Bのみを発現するマウスの骨髄細胞を静脈内に移植した。移植された骨髄細胞は、全身を循環する血流によって骨髄にたどり着く。移植片が宿主の骨髄に生着後、マウス組織から5種類の細胞((1)神経細胞、(2)マクロファージ、(3)骨細胞、(4)筋細胞、(5)T細胞)を採取し、宿主と移植片のどちらのMHCを発現しているのかを解析した。それぞれ

の細胞がおもに発現する MHC はどれか、問 1 の①～④から 1 つずつ選べ。

★問 4 MHC-A のみを発現する雄マウス(第 1 世代)と MHC-B のみを発現する雌マウス(第 1 世代)を交配した結果、雄 3 匹と雌 4 匹の仔マウスを得た(第 2 世代)。その仔マウスの中から無作為に雄雌 1 ペアを選び、交配した結果、雄 5 匹と雌 3 匹の仔マウスを得た(第 3 世代)。第 3 世代のうち、以下の事象に相当するものの全体に対する割合を百分率で答えよ。

- (1) 第 2 世代の母親からの皮膚移植片を拒絶しない。
- (2) 第 2 世代の父親と母親両方に対し皮膚移植できる。
- (3) 第 1 世代の父親に皮膚移植できる。

★★問 5 全身に放射線を照射した MHC-A と MHC-B の両方を発現するマウスを用意した。このマウスに、MHC-A のみを発現する骨髄細胞と MHC-B のみを発現する骨髄細胞を 1:1 の割合で混合し、静脈を通して移植した。通常、移植された骨髄細胞は末梢血管中を流れて宿主の骨髄にたどり着く。移植した細胞の宿主骨髄内での生着を確認後、増殖している骨髄細胞を選択的に細胞死に誘導する薬剤を投与したところ、図 1 のようになった。一方、遺伝子 X をコードする領域が欠損したマウスの骨髄細胞(MHC-A のみを発現する)と野生型マウスの骨髄細胞(MHC-B のみを発現する)を 1:1 の割合で混合し、同様の処置を行ったところ、図 2 のようになった。



マウスの処置にともなう総骨髄細胞数(棒グラフ、縦軸右端)と移植後の骨髄中での移植片の占める割合(折れ線グラフ、縦軸左端)の推移。横軸は時間。

さらに、放射線を照射する前の骨髄細胞を回収し、細胞のもつ DNA の量を横軸に、細胞数を縦軸にプロットしたところ、図 3 のようになった。骨髄細胞における遺伝子 X の役割として予想されるものを次の①～⑧に挙げた。正しいものをすべて選べ。

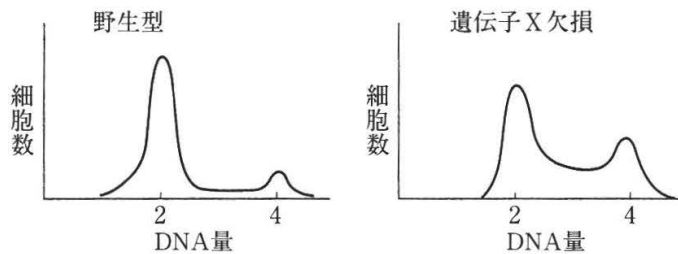


図 3 野生型マウスと遺伝子 X 欠損マウスの骨髄細胞の細胞数(縦軸)と DNA 量(横軸)。

- ① 細胞の増殖を抑制している。
 - ② 細胞の増殖を促進している。
 - ③ 細胞死を抑制している。
 - ④ 細胞死を促進している。
 - ⑤ 放射線照射で減少した骨髄細胞数を正常値に回復させるために必須である。
 - ⑥ 放射線照射で減少した骨髄細胞数を正常値に回復させるためには必須ではない。
 - ⑦ 末梢血管から移植した細胞が宿主の骨髄に到達するために必須である。
 - ⑧ 末梢血管から移植した細胞が宿主の骨髄に到達するためには必須ではない。
- B.** A系統およびB系統の異なる系統のマウスを実験動物として用いて実験した結果、Ⅰ、ⅡおよびⅢの実験結果が得られた。この実験結果をふまえてさらに実験を行った。
- Ⅰ. A系統のマウスの皮膚片をB系統のマウスに移植すると皮膚片は約10日で脱落した。
 - Ⅱ. Ⅰの実験終了後、再びA系統マウスの皮膚片を移植すると、約5日で脱落した。
 - Ⅲ. A系統のマウスの皮膚片をA系統のマウスに移植すると皮膚片は生着した。
- 問6** B系統のマウスに生後すぐにA系統のマウスのリンパ節の細胞を注射し、成長させた後、A系統のマウスの皮膚片を移植すると皮膚片は生着した。このマウスにさらに別の何も処理をしていないB系統マウスのリンパ節の細胞を注射すると移植した皮膚片はどうか、簡潔に答えよ。
- 問7** 生後すぐに胸腺を除去し、その後成長したB系統のマウスにA系統の皮膚片を移植すると皮膚片はどうか、簡潔に答えよ。
- ★ **問8** 問7でなぜそのようになるか35字以内で説明せよ。

神経細胞は他の神経細胞や効果器に情報を伝えるために、情報を細胞膜の電氣的興奮に変換する。電氣的興奮は神経細胞の軸索に沿って、軸索の長さが1メートル以上に及ぶ場合でも減衰しないで伝わる。有髄神経繊維は無髄神経繊維には見られない **ア** や **イ** の構造によって、効率的な **ウ** 伝導が生じる。この興奮の伝導は軸索の外側に電極を置くことにより電位の変化として記録することができる。臨床の現場ではこの原理を利用して末梢神経の障害の検査が行われている。以下の実験では動物の神経を用いて興奮の伝導を測定した。

実験1 イカから採取した1本の無髄神経軸索の外側に記録電極を置いて2点間の電位差を記録した(図1)。A点にごく短時間の刺激を1回与えたところ、BとEの2点間の電位差

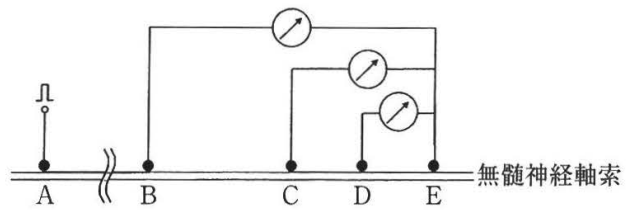


図1

は図2のように変化した。B—C間、C—D間、D—E間はそれぞれ5.0cm、2.5cm、2.5cmであり、時間は刺激した時点をもととしている。

実験2 A点にある間隔をおいてごく短時間の刺激を2回与えたところ、①BとEの2点間の電位差は図3のように変化した。

実験3 実験1の標本のE点の周囲のみを麻酔してA点にごく短時間の刺激を1回与えたところ、BとEの2点間の電位差は図4のように変化した。

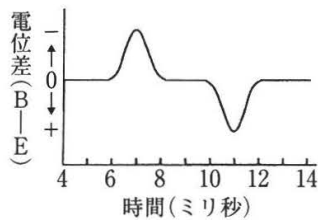


図2

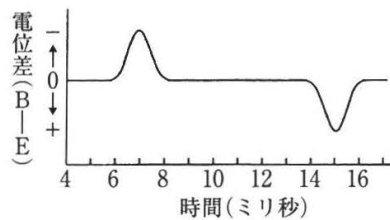


図3

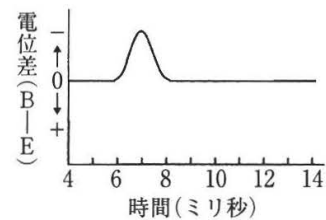


図4

実験4 次にカエルの座骨神経を取り出して図5のように電極を配置した。A—B間、B—C間、C—D間、D—E間の距離はそれぞれ2.0cm、2.0cm、

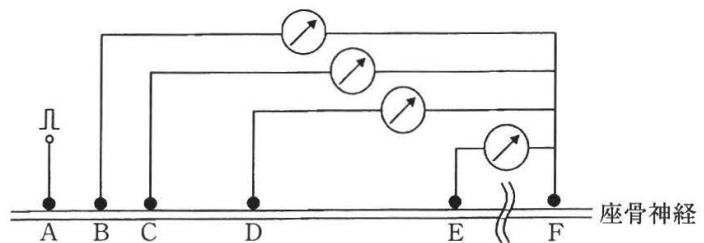


図5

4.0cm、8.0cmである。また、F点の周囲だけ麻酔をかけている。A点にごく短時間の刺激を1回与えて、②BとFの2点間、CとFの2点間、DとFの2点間、EとFの2点間の電位差を記録したところ、図6のように波形に2つの山が生じた。

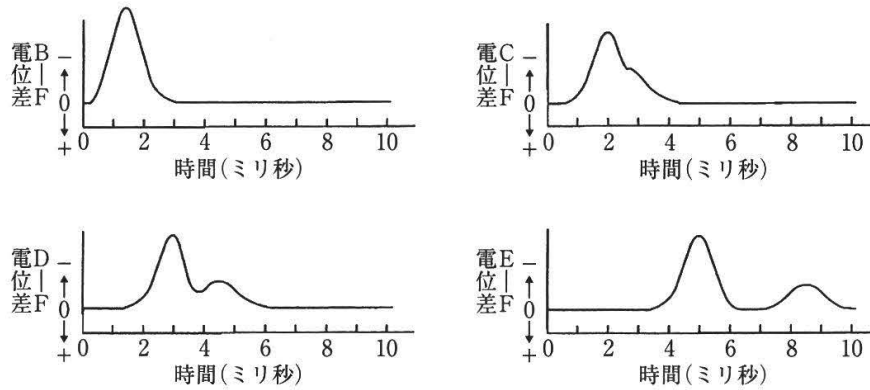


図6

また、③刺激の強度を弱くしたらEとFの2点間の電位差は図7のように変化した。

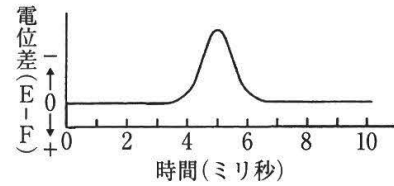


図7

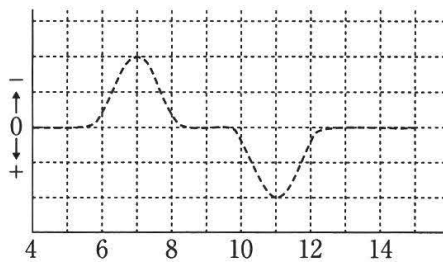
問1 文中の空欄にあてはまる適切な用語を入れよ。

問2 実験1について、この神経軸索の伝導速度を求めよ。

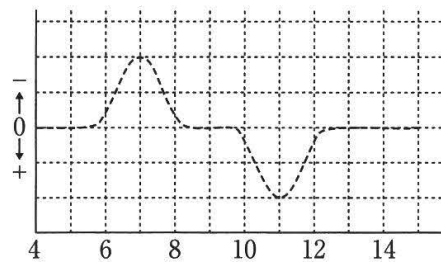
問3 実験1におけるA—B間の距離を求めよ。

★問4 実験1においてCとEの2点間およびDとEの2点間の電位差を計測した場合、波形はようになるか、下のそれぞれのグラフに書き入れよ。なおグラフには参考として、B—E間の電位変化が点線で示してある。

C—E間の電位差



D—E間の電位差



★問5 下線部①について、2回の刺激の間隔を答えよ。

問6 実験3において、図2の波形が図4の波形に変化した理由を説明せよ。

★問7 下線部②について、波形に2つの山が生じた理由を説明せよ。

★★問8 下線部③について、刺激の強弱で波形が異なった理由を説明せよ。

現在では、遺伝様式の理解や遺伝子解析技術が進み、集団内および集団間の遺伝的変異の詳細な解析も可能となり、進化の要因を理解するために遺伝子レベルの研究が行われている。右表には、日本産ノウサギの3つの地域集団における3つの遺伝子の遺伝子頻度の解析結果が示されている。各地域集団で100個体のサンプルが使用され、表中の数値は観察された個体数が記されている。この表から、対立遺伝子の出現頻度に地域間、遺伝子間で異なる傾向があることが分かる。

表 日本産ノウサギの3つの遺伝子における遺伝子頻度の地理的な違い

地域集団	遺伝子A		遺伝子B		遺伝子C	
I (東北)	AA	56	BB	97	CC	ア
	Aa	30	Bb	3	Cc	イ
	aa	14	bb	0	cc	16
II (佐渡)	AA	98	BB	0	CC	0
	Aa	2	Bb	0	Cc	0
	aa	0	bb	100	cc	100
III (九州)	AA	39	BB	0	CC	61
	Aa	48	Bb	2	Cc	25
	aa	13	bb	98	cc	14

問1 次の①～⑥は、ハードィ・ワインベルグの法則が成り立つための集団の条件を列挙したものである。誤っているものをすべて選べ。

- ① 集団が大きい ② 一定の頻度で突然変異が起きている
- ③ 移入、移出がない ④ 個体間の繁殖力に差がない
- ⑤ 任意交配しない ⑥ 自然選択がない

問2 ハードィ・ワインベルグの法則が成り立つ集団では、対立遺伝子A, aの遺伝子頻度をそれぞれ p, q ($p+q=1$)とすると、AA, Aa, aaの遺伝子型の出現頻度はどのようになるか。 p, q を用いて示せ。

★問3 表の地域集団Iの遺伝子Cにおいてハードィ・ワインベルグの法則が成り立つ場合、空欄 , に入る適当な数値を記せ。

★★問4 表から知ることができる以下の2つの傾向(1), (2)のそれぞれについて、遺伝的浮動あるいは自然選択という用語のどちらか1つを用い、それぞれの傾向が生じた理由について簡潔に記せ(各40字以内)。

- (1) 地域集団IとIIIを比較すると、遺伝子Bにおいて他の遺伝子とは異なる傾向がある。なお、遺伝子Bの対立遺伝子Bとbはそれぞれ毛色変異に直接関与することが知られている。
- (2) 地域集団IIにおいては、全体的な傾向が他の地域集団の場合と異なっている。