

2023 年度

京都大学大学院生命科学研究科修士課程

一般入試

筆答試問

共通専門科目 問 題

注意事項

- 1) 解答時間は、60分間である。
- 2) 満点は、100点である。
- 3) 全部で4問題ある。問題1は必ず解答せよ。さらに問題2～問題4の3問題から2問題を選択して解答せよ。問題2～問題4において3問すべてを解答した場合は、選択問題の全答案を無効とする。
- 4) 解答は、問題ごとに別々の解答用紙1枚を使用すること。不足する場合は裏面を使用すること。
- 5) 解答時には、まず問題番号をそれぞれ所定の欄に明記すること。
- 6) 特に指示のない場合は、英語で解答してもよい。
- 7) 解答する合計3問題の時間配分に十分注意すること。

問題 1

次の文章を読み、問 1～問 9 の全てに答えよ。

真核細胞において、①生命の遺伝情報を担うゲノム DNA は細胞核の中に収納されており、ミクロからマクロに渡る複雑な階層構造をとることが知られている。まずゲノム DNA は、約 10 塩基対毎に 1 周した（ **ア** ）構造をとる。そしてゲノム DNA は約 200 塩基対毎に、4 種類のコアヒストン（H2A、H2B、H3、H4）から成るヒストン 8 量体に巻きついて、②（ **イ** ）と呼ばれる構造をとる。さらにゲノム DNA には、領域毎に異なるタンパク質が結合することで、様々な構造が形成される。例えばゲノム DNA 上に存在する、遺伝子の転写開始領域のすぐ上流にある（ **ウ** ）領域には RNA ポリメラーゼや転写基本因子が結合し、その一方で（ **エ** ）領域に結合した転写活性化因子が（ **ウ** ）領域に引き寄せられることで、ループ構造が形成される。また、③クロマチン再構成複合体の結合や、④ヒストン修飾酵素によるヒストンの可逆的な化学修飾によっても立体構造の変化が引き起こされる場合がある。さらに染色体全体においては、高度に凝集した転写活性の低い（ **オ** ）構造と、凝集性が低く転写活性の高い（ **カ** ）構造が存在する。これらの構造を含む⑤様々な高次構造が集まって細胞核内の染色体構造が形成される。

問 1. （ **ア** ）～（ **カ** ）に当てはまる最も適切な語句を答えよ。

問 2. 下線部①に関連して、下記はヒトの KIF5B 遺伝子から転写される mRNA の塩基配列を表したものである。

5'-GU CG·····GCUGCGAGAAAGAUGGCGGACCUG·····XYA·····GAAA-3'

·····：省略された塩基配列

X、Y：U、C、A、G のいずれかの塩基

一重線で示された領域の中にある開始コドンから翻訳が開始された時に、同領域からは理論上どのようなペプチドができるか、1 文字略号を用いてアミノ酸配列を答えよ。なお、解答にあたっては、表 1 に示すコドン表を参考にしてもよい。

表 1 コドン表

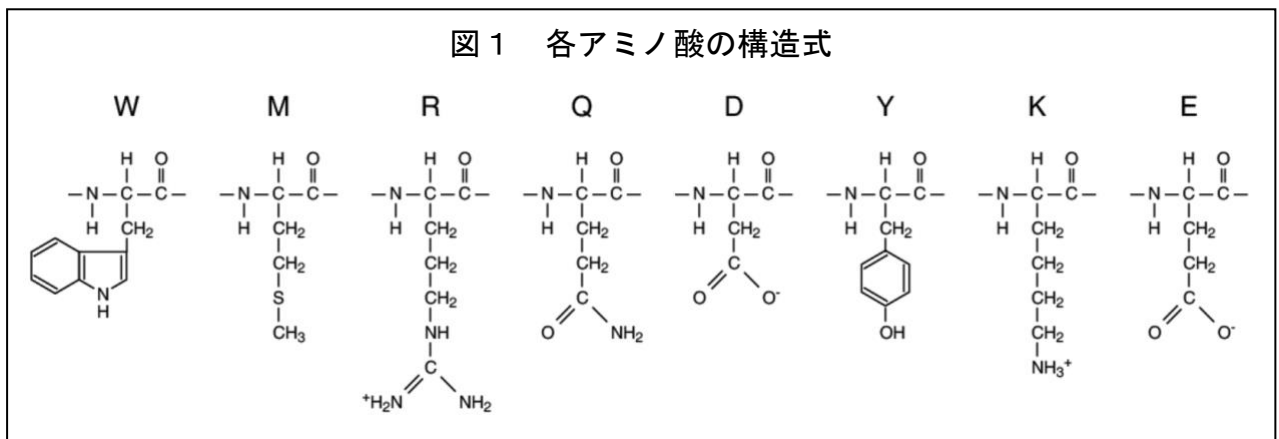
1 文字目 (5'末端側)	2 文字目								3 文字目 (3'末端側)
	U		C		A		G		
U	UUU	F	UCU	S	UAU	Y	UGU	C	U
	UUC	F	UCC	S	UAC	Y	UGC	C	C
	UUA	L	UCA	S	UAA	終止	UGA	終止	A
	UUG	L	UCG	S	UAG	終止	UGG	W	G
C	CUU	L	CCU	P	CAU	H	CGU	R	U
	CUC	L	CCC	P	CAC	H	CGC	R	C
	CUA	L	CCA	P	CAA	Q	CGA	R	A
	CUG	L	CCG	P	CAG	Q	CGG	R	G
A	AUU	I	ACU	T	AAU	N	AGU	S	U
	AUC	I	ACC	T	AAC	N	AGC	S	C
	AUA	I	ACA	T	AAA	K	AGA	R	A
	AUG	M	ACG	T	AAG	K	AGG	R	G
G	GUU	V	GCU	A	GAU	D	GGU	G	U
	GUC	V	GCC	A	GAC	D	GGC	G	C
	GUA	V	GCA	A	GAA	E	GGA	G	A
	GUG	V	GCG	A	GAG	E	GGG	G	G

問 3. 問 2 で示した mRNA の配列において、二重線で示された 3 つの塩基からなる領域は、KIF5B を構成するアミノ酸の 1 つをコードしており、X、Y には U、C、A、G のいずれかが入る。ある時、点変異が 3 つの塩基 (X、Y、A) それぞれに起こり、3 つの塩基が共に別の塩基に置換してしまったが、コードしているアミノ酸には変化が生じなかった。点変異が起こる前の X、Y は、それぞれどの塩基だったか答えよ。

問 4. 問 2 に関連して、アミノ酸 W、M、R、Q、D、Y、K、E が、中性 pH 条件下の側鎖の性質による以下の分類(i)~(iv)のいずれに属するか答えよ。図 1 に示す各アミノ酸の構造式を参考にしてもよい。

- (i) 酸性側鎖
- (ii) 塩基性側鎖
- (iii) 非荷電極性側鎖
- (iv) 非極性側鎖

図 1 各アミノ酸の構造式



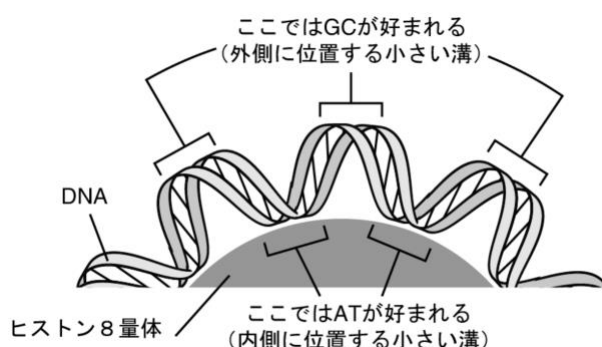
問 5. 下線部①に関連して、細胞内のクロマチンには非常に膨大な情報が刻まれており、例えばヒトクロマチンには約 30 億塩基の配列情報がコードされている。これを踏まえて次の (1)、(2) の問いに答えよ。解答用紙には途中の計算過程も記すこと。また、解答の有効数字は 2 桁とする。

- (1) 1 つの塩基が T、C、A、G の 4 つに由来した 2 ビットの情報 (00、01、10、11) を持つと仮定した場合、30 億塩基の配列情報の情報量は何バイトになるか、1 バイト = 8 ビットとして計算せよ。
- (2) ヒトクロマチンには塩基配列の情報だけでなく、DNA メチル化やヒストンの化学修飾などのエピゲノム情報も蓄積している。ゲノム DNA の 20% を占めるシトシン塩基について、DNA 両鎖それぞれにおけるメチル化のあり・なしを 1 ビットの情報 (0、1) で表し、ゲノム DNA 上に平均 200 塩基対毎に存在するヒストン 8 量体それぞれにおける様々な化学修飾状態を 6 ビットの情報 (000000、000001、……、111110、111111) で表すと仮定した場合、これらエピゲノム情報の情報量の合計は何バイトになるか、計算せよ。

問 6. 下線部②に関連して、図 2 はヒストン 8 量体に巻き付いているゲノム DNA の構造を示したものである。これを参考にして次の (1)、(2) の問いに答えよ。

- (1) なぜ対を形成した際に水素結合の数が少ない A または T に富む配列が、内側に位置する小さい溝に来やすいと考えられるか、1 ～ 2 行程度で答えよ。
- (2) DNA 分解酵素である DNase I を用いると、ヒストン 8 量体に巻き付いたゲノム DNA の切断を行うことができるが、その産物を調べたところ、約 10 塩基対おきに切断が起こりやすい箇所が存在していることがわかった。どのような理由が考えられるか、1 ～ 2 行程度で答えよ。

図 2 ヒストン 8 量体に巻きつく DNA の構造 (「細胞の分子生物学」を基に作図)

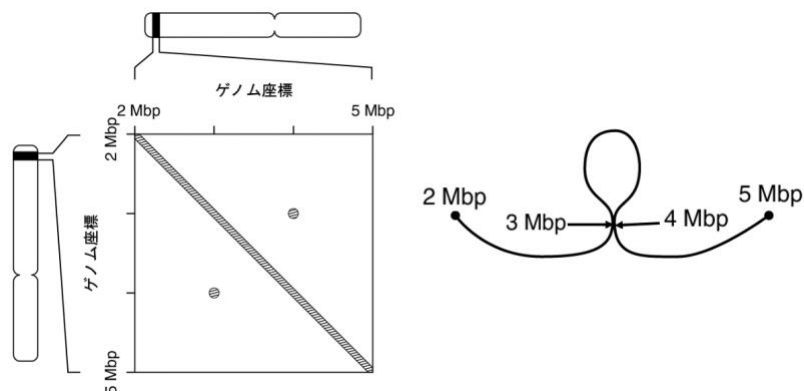


問 7. 下線部③、④に関連して、以下の A~D の全ての記述について、正しいものには○、誤ったものには×を記せ。

- A. クロマチン再構成複合体は、ヒストンに巻き付いたゲノム DNA の位置を変化させ、他のタンパク質との結合のしやすさを制御する働きを持つ。
- B. クロマチン再構成複合体は、ゲノム DNA を束ねてクロマチンのループを形成する働きを持つ。
- C. ヒストンの化学修飾は、主としてコアヒストンの N 末端または C 末端の領域において起こり、アセチル化やメチル化、ユビキチン化などの種類がある。
- D. ヒストンが化学修飾されると、様々なタンパク質の結合のターゲットとなったり、ヒストン 8 量体間の親和性が変化したりすることが知られている。

問 8. 下線部⑤に関連して、染色体内における様々な構造を解析するために、Hi-C 法と呼ばれる次世代シーケンサーを用いた解析法が最近開発された。この方法では、染色体内のそれぞれの箇所で、一定距離よりも物理的に近接したゲノム DNA 同士を互いに架橋させ、次世代シーケンサーを用いて架橋後の DNA の配列を解析することにより、近接した関係にあるゲノム座標のペアを網羅的に同定することができる。図 3 左、図 3 右はそれぞれ、この方法を用いて得られるデータの典型例と、それが示すゲノム DNA の 3 次元構造の特徴を表したものである。ただし、染色体上における位置を、染色体末端からの相対位置として Mbp 単位で表すものとする (Mbp は mega base pair の略)。図 3 左のマップは、ある 1 本の染色体の 2 Mbp~5 Mbp 領域における、近接関係にあることが示されたゲノム座標のペアを斜線部で表示したものである。図 3 の実験によって得られたマップ上の 2 つの点は、3 Mbp と 4 Mbp 領域が近接した関係にあることを示し、対角線は、2 Mbp~5 Mbp 領域が 1 本のつながったゲノム DNA であることを表している。実験結果から考えられるゲノム DNA の 3 次元構造を模式図で表すと、図 3 右のようになる。なお、本問では、対となる相同染色体のデータを区別でき、かつ、相同染色体のどちらか 1 本の染色体由来のデー

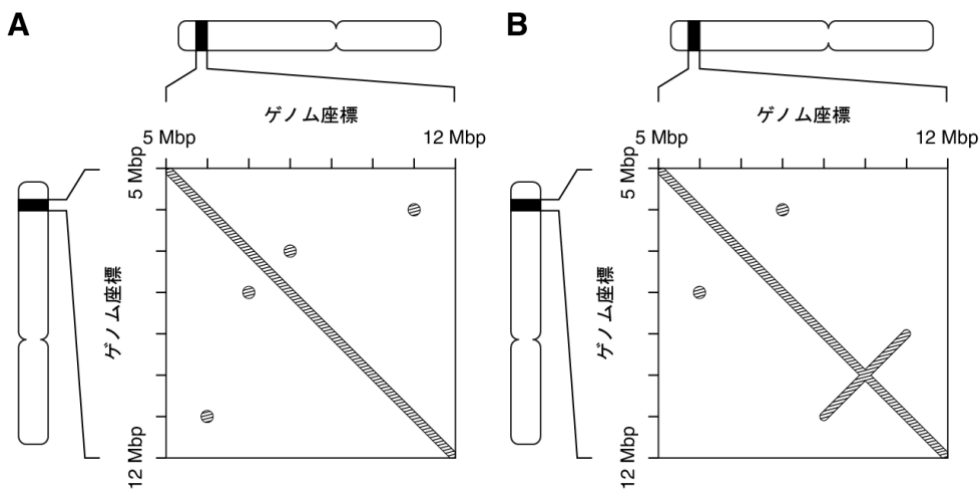
図 3 近接した関係にあるゲノム座標のマップ(左)とそれが示す構造の模式図(右)



タのみを解析しているものとする。また、細胞周期 G1 期に同調した細胞を解析に用いたとする。

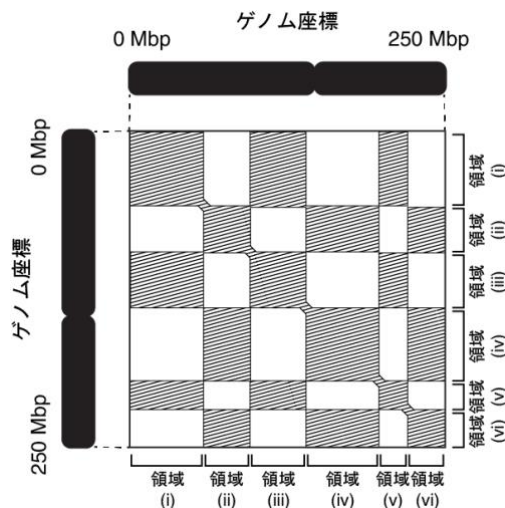
上記の Hi-C 法解析を 2 つの異なる条件で培養した細胞に対して行い、染色体の 5 Mbp～12 Mbp 領域のマップを表示したところ、それぞれ図 4 A、図 4 B に示すパターンが見られた。それぞれのマップが表すゲノム DNA の 3 次元構造を模式図で示せ。その際、図 3 右のように始点と終点である 5 Mbp と 12 Mbp の領域を点で示し、それらを結ぶ線の形状で DNA の構造を表現せよ。また、図 3 右に倣って 6 Mbp、7 Mbp、8 Mbp、9 Mbp、10 Mbp、11 Mbp の領域を矢印で示せ。

図 4 染色体の 5 Mbp～12 Mbp 領域における近接した関係にあるゲノム座標のマップ



問 9. 問 8 に関連して、図 5 は染色体の全領域 (0 Mbp～250 Mbp) における、物理的に近接する領域のマップを示したものである。ヒト染色体においては典型的にこのようなチェッカーボード様のパターンが得られることが知られているが、このパターンが示すゲノム DNA の 3 次元構造の特徴を 1～2 行で説明せよ。マップ下部と右部に示すゲノム領域(i)～(vi)の記号を説明に用いても良い。

図 5 染色体の全領域における近接した関係にあるゲノム座標のマップ



問題 2

次の文章を読み、問 1～問 9 の全てに答えよ。

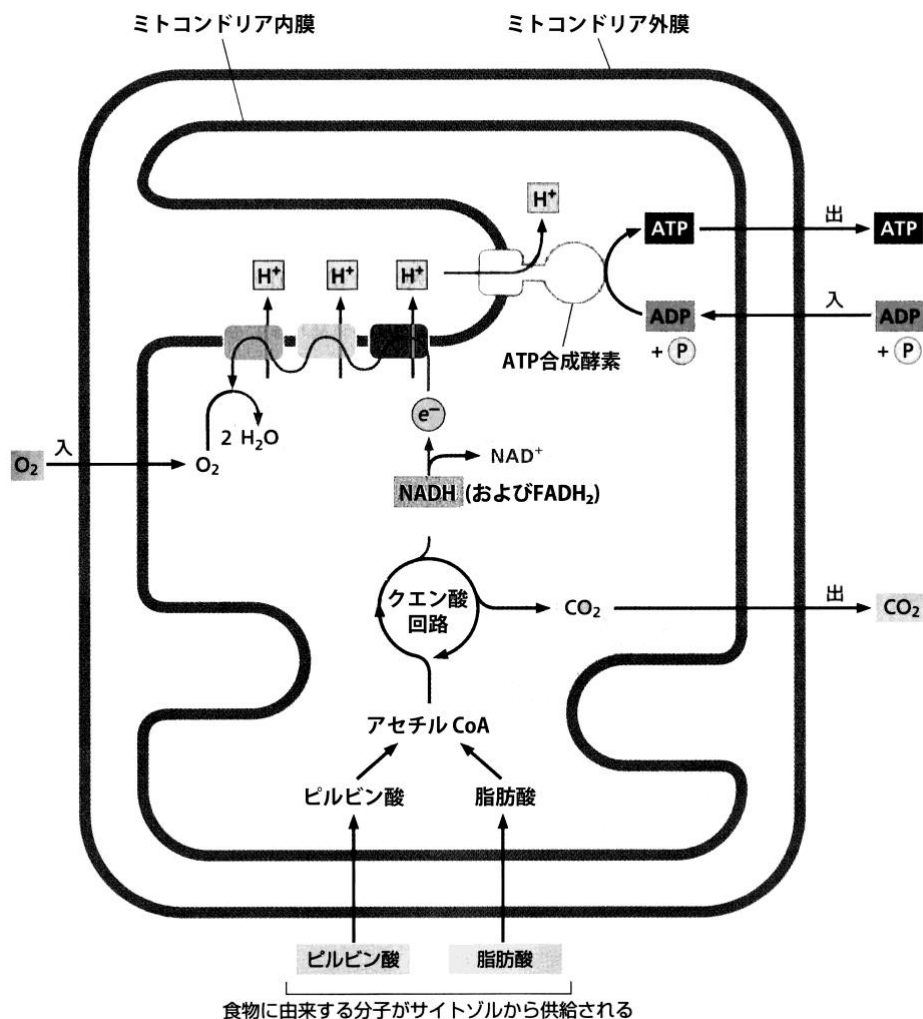
脂肪は水に溶けず、動物においては主に（ ア ）という専門化した細胞の中で大きな脂肪滴をつくる。その細胞中には様々な脂肪酸が存在しており、（ イ ）つの脂肪酸と 1 つのグリセロールからなる（ ウ ）が脂肪滴として細胞質に蓄えられている。脂肪酸分子は、化学的に性質の異なる 2 つの部分である長い炭化水素鎖と（ エ ）基からなる。炭化水素鎖の構造的分類として、①飽和脂肪酸は炭素原子間に（ オ ）がないため、直鎖状の構造をとる。一方で②不飽和脂肪酸は 1 つ以上の（ オ ）を持つために、炭化水素の尾部に折れ曲がりの構造をとる。（ カ ）の解糖によって細胞質で生成するピルビン酸と、（ ウ ）の分解によって生じる③脂肪酸は、ともにミトコンドリア内でアセチル CoA に変換されてクエン酸回路に進むが、④脂肪酸が分解すると同じ質量の（ カ ）と比較し、大量のエネルギーを発生するため、細胞にとって密度の高いエネルギー基質となっている。

（ ウ ）は、肉、バター、クリームなどの動物性脂肪や、コーン油、オリーブ油などの植物性油に含まれている。脂肪酸は水に溶けず、脂肪やベンゼンのような有機溶媒に溶ける一群の生体分子として、脂質に分類される。脂質には他に、⑤ステロイドのような環状構造がつながったものがある。脂肪酸の特徴的な機能は、細胞膜の基礎となる脂質二重層をつくることである。この薄い膜は主にリン脂質からなり、細胞を包み、内部の細胞小器官を取り囲む。脂肪酸尾部の詰まり具合は、細胞膜の流動性に影響する。また、細胞膜リン脂質は、ある種の受容体のシグナル伝達にも関わる。例えば、Gq 共役型 G タンパク質共役型受容体（GPCR）は、膜結合酵素である（ キ ）を活性化し、細胞膜のイノシトールリン脂質を切断する。その結果、2 種類の⑥二次メッセンジャー分子であるイノシトール 1,4,5-三リン酸（IP₃）と（ ク ）が生じる。IP₃は Ca²⁺チャネルに結合して、細胞内 Ca²⁺濃度を上昇させる。一方で（ ク ）は、細胞膜に埋め込まれたまま残り、タンパク質キナーゼ C（PKC）を活性化する。

問 1. （ ア ）～（ ク ）に当てはまる最も適切な語句を答えよ。

問 2. 下線部①、②について、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸を、それぞれ 1 つずつ、その名称と炭素数を答えよ。

図1 ピルビン酸および脂肪酸による ATP 生成に至る経路の概略図

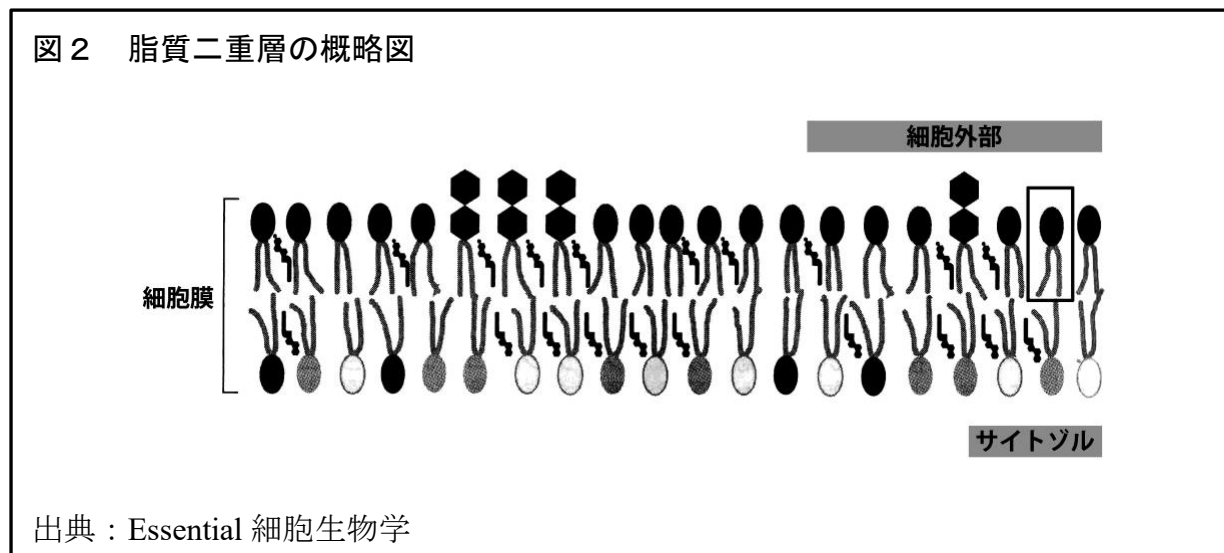


出典：Essential 細胞生物学

問3. 下線部③について、図1に示す脂肪酸からアセチル CoA を得る代謝経路を β 酸化というが、その過程における化学反応について3行程度で答えよ。

問4. 図1を参考にして、下線部④について、炭素数16個の飽和脂肪酸から、エネルギーとしてATPは最終的に何分子生じるか答えよ（途中過程の計算式も解答用紙に記述すること。また、割り切れない場合は、四捨五入して有効数字3桁で答えよ）。ただし、脂肪酸から脂肪酸アシル CoA 生成には、ATPを2分子消費する。 β 酸化の過程で生じる1分子あたりの FADH_2 から1.5分子のATPが、1分子あたりの NADH から2.5分子のATPが、それぞれ生じるとする。また、1分子あたりのアセチル CoA から10分子のATPが生じるとする。

問 5. 下線部⑤について、動物に存在するステロイドの名称を 2 つ答えよ。



問 6. 図 2 の四角で囲った部分であるリン脂質の構造について、2 行程度で答えよ。

問 7. 下線部⑥について、二次メッセンジャーとしてサイクリック AMP (cAMP) が関与する GPCR に共役している三量体 G タンパク質 α サブユニットを、Gq 以外に具体的に 1 つ取り挙げて、それが関わる細胞内シグナルについて 3 行程度で答えよ。

問 8. 絶食初期において、血糖を維持するために生体で起こる適応現象について、3 行程度で答えよ。

問 9. 寒冷地の動物や魚は、その脂肪酸組成が温暖地に生息する生物に比べて特徴的であるが、その理由について、3 行程度で答えよ。

問題 3

次の (A) と (B) の文章を読み、問 1 ～問 7 の全てに答えよ。

(A)

被子植物シロイヌナズナは二倍体のゲノムをもつ。シロイヌナズナの系統 1 と系統 2 ^(注1) の野生型の花に形成される花器官数は同数である。系統 1 背景のある突然変異体は、花器官数が著しく多くなる表現型を示す。この変異体の原因遺伝子を明らかにするため、変異体を系統 2 の野生型と交配し、F1 種子を得た。①F1 世代の花では野生型と同じ花器官数が観察された。次に、F1 世代を自家受粉させることで得た 96 粒の F2 種子を生育させ花の観察を行なった。その結果、②元々の突然変異体と同様に花の器官数が増加する個体が 24 個体、野生型と同じ表現型を示す個体が 72 個体観察された ^(注2)。そこで、元々の突然変異体と同様の表現型を示した F2 世代の 24 個体を用いて③マップベースクローニングを行なった。

(注1 系統 1 と系統 2 はどちらも純系であるとする。

(注2 表現型は明確であり、正しく判断できるものとする。

問 1. 下線部①、②について、次の (1)、(2) の問いに答えよ。

(1) 下線部①に関して、この場合の突然変異体の形質は一般的に何と呼ばれるか答えよ。

(2) 下線部②は、原因遺伝子座が 1 ヶ所の場合の観察結果である。原因遺伝子座が 2 ヶ所あり、どちらもがホモ接合で変異を持ったときのみ野生型と異なる表現型を示す場合は、花の器官数が増加する F2 世代個体は 96 個体のうち何個体となるか、理論値を答えよ。なお 2 つの原因遺伝子座はそれぞれ異なる染色体上に存在し、F1 世代での表現型は下線部①の通りだったとする。

問 2. 下線部③の手法では交配した系統間の遺伝的多型が利用される。これに関連して、次の (1) ～ (3) の問いに答えよ。

(1) よく利用される多型の 1 つに、数塩基の単純な反復配列の繰り返し回数の違いがある。多型を含む周辺領域を PCR により増幅させ、その後電気泳動をすることでどちらの系統由来であるかを判別できる。何故、判別できるかを電気泳動の原理を踏まえ 3 行程度で説明せよ。なお単語一覧 1 から 2 個以上、単語一覧 2 から 4 個以上の単語を使い、単語一覧から用いた単語には必ず下線を引くこと。

単語一覧 1 (2 個以上使用)

正に荷電、負に荷電、陽極、陰極

単語一覧 2 (4 個以上使用)

DNase、DNA、RNase、RNA、タンパク質、シリカゲル、アガロースゲル、ろ紙、ビーズ状、網目構造、分子量の大きい断片、親水性の断片、非荷電の断片

- (2) もう 1 つのよく利用される多型として DNA の 1 塩基置換の多型が存在する。この多型は一般的に何と呼ばれるかアルファベットで答えよ。
- (3) 系統 1、系統 2、それらを交配して得た F1 世代の個体からゲノムを抽出し、ある 1 塩基置換マーカーを含む DNA 断片を PCR により増幅させた。PCR 反応液の半分をそのまま、もう半分を EcoRI (認識配列:GAATTC)で処理して、ゲル電気泳動を行ない、その後エチジウムブロマイドでゲルを処理し、ゲル中の DNA を検出した。図 1 A には実験条件の詳細が、図 1 B には使用した 1 塩基置換マーカーを含む周辺領域の系統 1 と系統 2 の配列が示されている。図 1 C には、EcoRI 未処理の泳動結果が示されており、バンドの下には、バンドの濃さの相対値が書かれている。図 1 C に倣って、EcoRI 処理後の泳動結果を、バンドのサイズがわかるように図示せよ。また、各バンドの下には、バンドの濃さの相対値を記入すること。

図 1 多型を利用した遺伝的背景の決定

A. 実験条件

- ・ PCR に用いた 2 つのプライマーのうち、1 つはマーカーの 5' 側 200 bp 上流に設計した。
- ・ PCR 増幅領域においてマーカー配列を除くと、他の多型や EcoRI サイトは存在しない。
- ・ PCR のエラーは起こらないものとする。
- ・ 制限酵素処理は十分におこなわれ、切れ残りは存在しないものとする。

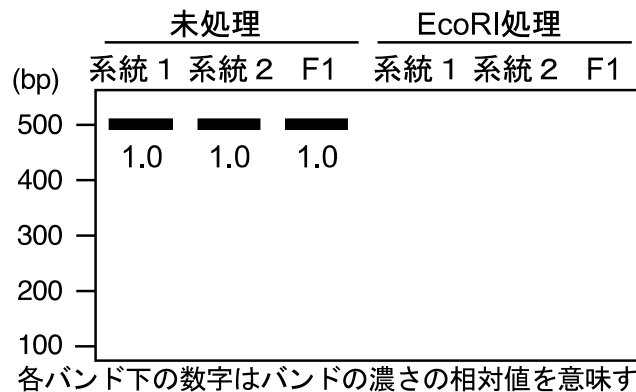
B. マーカー周辺の配列

系統 1
5'-ACGCCGCGAGTTCAACCGTTGCCGT-3'

系統 2
5'-ACGCCGCGAATTCAACCGTTGCCGT-3'

bp: base pair の略

C. 電気泳動の結果



問 3. 下線部③の手法においては、相同組換えと呼ばれる現象を利用している。これに関連した以下の文章を読み、(ア) ~ (オ) に入る適切な語句または数字を答えよ。

真核生物が精細胞や卵細胞といった (ア) を作る過程では (イ) と呼ばれる細胞分裂が起こる。この細胞分裂に先立ち、2本の相同染色体それぞれが複製し2対の (ウ) となる。2対の (ウ) は対合し、その後、DNA の (エ) 切断が起こり、相同組換えが開始する。その後、(オ) 回の細胞分裂を経て (イ) は完了する。

問 4. 下線部③の解析を進めたところ、原因遺伝子があると考えられる染色体を絞り込むことができた。表 1 にその染色体上の 10 個のマーカーにおける遺伝的背景を示している。これに関連して、次の (1)、(2) の問いに答えよ。

- (1) 表 1 の結果から原因遺伝子が存在すると考えられる領域として判定することができる最も狭い領域を 2 つのマーカーを用いて答えよ (例: M1 と M10 の間)。ただし、隣同士のマーカーが同じ遺伝的背景であった場合、その間で組換えは起こらないものとする。
- (2) (1)の解答を考えた理由を 3 行程度で説明せよ。

表 1 各マーカーにおける遺伝的背景

		個体番号 (1~24)																							
マーカー番号	Mbp	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
M1	0.3	1	H	H	H	2	H	1	1	H	2	H	1	H	1	H	1	2	H	H	1	1	H	1	H
M2	3	1	H	H	1	2	H	1	1	H	H	1	1	H	1	1	1	H	H	H	1	1	H	1	H
M3	5	1	H	H	1	H	1	1	1	H	H	1	1	1	1	1	1	H	H	H	1	1	H	1	1
M4	7	1	H	1	1	H	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	H	1	1	1	1	1	1
M5	10	1	1	1	H	1	1	H	1	1	1	1	1	1	H	H	1	1	1	H	1	H	1	H	H
M6	13	H	1	1	2	1	H	H	1	1	1	H	1	H	H	H	H	H	1	H	1	H	H	H	H
M7	16	H	1	H	2	1	H	H	H	1	1	H	H	H	H	H	2	H	1	H	H	H	H	2	2
M8	18	2	H	H	2	H	H	2	2	1	H	H	H	H	2	H	2	H	H	2	H	H	H	2	2
M9	20	2	H	2	2	H	2	2	2	H	2	2	H	2	2	2	2	H	2	2	2	H	2	2	2
M10	23	H	2	2	2	2	2	2	H	2	2	2	2	2	H	2	H	2	2	2	2	2	2	H	2

Mbp (mega base pairの略) の欄はマーカーの染色体上の位置を染色体末端からの相対位置として示したものである。

- 1 ホモ接合で系統 1 由来 2 ホモ接合で系統 2 由来
H 系統 1 と系統 2 のヘテロ接合

(B)

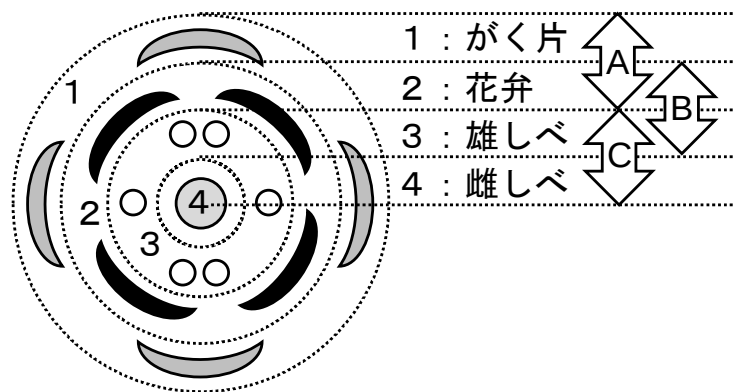
多細胞生物において、発生に重要な調節遺伝子が異常になった突然変異体では、④本来特定の器官が作られる場所に、別の器官が置き換わることがある。例えばショウジョウバエでは頭部の触覚の代わりに脚が発生する変異体が知られている。

陸上植物は、幹細胞の性質をもつ細胞をメリステムと呼ばれる器官に保持して、その発生を維持する。一般的な被子植物の花メリステムでは、まずがく片が、次に花弁が、そして雄しべが、最後に雌しべが分化する。これらの⑤花器官は同心円状の1～4に区画された場にそれぞれ配置する。ある被子植物では、特定の花器官ができる場所に異なる花器官が発生する突然変異体を用いた解析から、3種類の調節遺伝子が機能する領域が決まっており、調節遺伝子の組み合わせにより発生する花器官が決定することがわかっている。これら調節遺伝子のうち、⑥クラス A の遺伝子のみが機能するとがく片が、クラス A とクラス B の遺伝子が機能すると花弁が、クラス B とクラス C の遺伝子が機能すると雄しべが、クラス C の遺伝子のみが機能すると雌しべが分化する。ABC 全てのクラスの遺伝子の機能が失われると花器官は全て葉になる。また、これらの遺伝子の産物は、それぞれの遺伝子が発現する場所で機能することとする。

問5. 下線部④のような突然変異は何と呼ばれているか答えよ。

問6. 下線部⑤と⑥に関連して、図2に野生型の花器官の発生パターンとクラスA～C遺伝子が機能する区画を示している。1の区画ではがく片が、2の区画では花弁が、3の区画では雄しべが、4の区画では雌しべが発生する。クラスBの遺伝子が機能できなくなった変異体において、同心円上の1から4の場所に発生すると考えられる花器官をそれぞれ答えよ。ただしクラスBの遺伝子の機能はクラスAとクラスCの遺伝子発現には影響しないものとする。

図2 花器官形成のパターンと調節遺伝子が機能する場所



- 問 7. クラス A の遺伝子が機能できなくなった変異体では、1 の区画では雌しべが、2 の区画では雄しべが、3 の区画では雄しべが、4 の区画では雌しべが形成されていた。この結果から、下線部⑥に加え、存在すると考えられる制御機構を答えよ。またそれを証明するためにできる実験を考えて説明せよ。解答は合わせて 3 行程度とすること。

問題 4

次の文章を読み、問 1～問 9 の全てに答えよ。

小胞輸送は、膜で囲まれた小胞を介して細胞内で物質を運ぶ仕組みである。細胞小器官同士または細胞膜と細胞小器官の間で、輸送小胞の出芽や標的との選択的な融合を介して物質が輸送される。小胞輸送の最初の標的識別過程では、小胞表面の単量体 GTP アーゼである（ ア ）タンパク質とそれに対応する標的膜表面の係留タンパク質が結合する照合機構によって、小胞が正しい標的の膜に接着する。その後、小胞の（ イ ）タンパク質が標的の相補的な（ ウ ）タンパク質と相互作用することにより、小胞が標的に融合する。小胞輸送には、①エンドサイトーシスと②エキソサイトーシスの経路がある。

エンドサイトーシスの経路により、細胞外からの様々な物質が小胞を介して細胞内に運び込まれる。エンドサイトーシスは、エンドサイトーシス小胞の大きさによって、（ エ ）と（ オ ）の 2 つに大きく分類される。（ エ ）では、直径 250 nm より大きい小胞が微生物や大型粒子を取り込み、（ オ ）では、直径 150 nm 未満の小胞が液体や溶質分子などを取り込む。エンドサイトーシスにより細胞外から細胞内に取り込まれた物質の多くは、細胞小器官のリソソームで分解される。リソソームは、膜で包まれた袋状の構造体の内部に、（ カ ）、（ キ ）、（ ク ）などの様々な加水分解酵素を含む。これらの加水分解酵素は、pH（ ③ ）の④環境で最大の活性を持つ。リソソームに物質が供給される他の経路として、⑤自食作用ともよばれる（ ケ ）がある。（ ケ ）経路では、二重膜がミトコンドリアなどの細胞小器官を包み込んで（ コ ）を形成し、それがリソソームと融合することで細胞小器官を分解する。

エキソサイトーシスの経路では、タンパク質は⑥小胞体からゴルジ体を経由して細胞膜へ向かう。エキソサイトーシスにより細胞内から細胞外に分泌される物質の中には、⑦細胞外マトリックスを分解する酵素も含まれるが、⑧これらの酵素の発現や分泌の亢進は、がん細胞の悪性化の促進に關与する。

問 1. （ ア ）～（ コ ）に入る最も適切な語句を答えよ。

問 2. 下線部①に関連する以下の A～D のすべての記述について、正しいものには○、誤ったものには×を記せ。

- A. ウイルスが細胞に侵入する際には、受容体を介したエンドサイトーシスは利用されない。

- B. 低密度リポタンパク質 (LDL) は、細胞表面にある LDL 受容体に結合し、クラスリン被覆小胞によって細胞内に取り込まれる。
- C. 細胞内に取り込まれた LDL 受容体は、LDL と遊離したのち、輸送小胞により細胞表面の細胞膜に戻される。
- D. LDL 受容体は、コレステロールが結合している場合は、細胞内に入ってから 20 時間程度で細胞表面の細胞膜に戻る。

問 3. 下線部②に関連する以下の A~D のすべての記述について、正しいものには○、誤ったものには×を記せ。

- A. 真核細胞では、構成性エキソサイトーシス経路により、新たに合成されたタンパク質が細胞膜に補給される。
- B. 構成性エキソサイトーシスは細胞外シグナルによる刺激を必要とする。
- C. 分泌細胞は調節性エキソサイトーシス経路によって、外部からの刺激なしにホルモンなどを細胞外に放出する。
- D. 分泌細胞は、濃縮された分泌タンパク質を細胞膜付近の分泌小胞に蓄えている。

問 4. リソソーム内の pH について、(③) に入る最も近い数字を以下の A~D のの中から選び、アルファベットで答えよ。

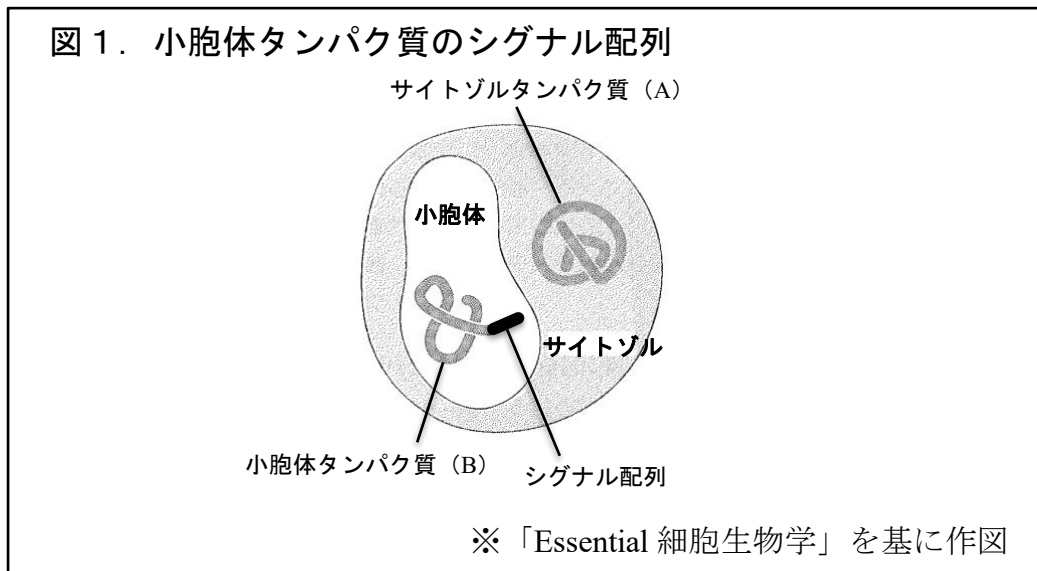
- A. 3 B. 5 C. 7 D. 9

問 5. 下線部④に関連して、リソソーム内の pH をエネルギー消費により保つ仕組みを 2 行程度で説明せよ。

問 6. 下線部⑤に関連する以下の A~E のすべての記述について、正しいものには○、誤ったものには×を記せ。

- A. 真核生物に備わっている細胞内の老廃物の分解システムである。
- B. 真核細胞の飢餓状態で減少する。
- C. 消化によって生じるアミノ酸は再利用される。
- D. 正常細胞の恒常性維持の過程では働かない。
- E. 分解対象となるタンパク質の一部は、ユビキチン修飾などにより標識される。

問 7. 下線部⑥について、小胞体に運ばれるべきタンパク質は、小胞体に誘導されるシグナル配列を持っている (図 1)。DNA 組換え技術を用いて、サイトゾルに運ばれるべきタンパク質 (A) を小胞体に誘導し、小胞体に運ばれるタンパク質 (B) をサイトゾルにとどまるようにするにはどうすればよいか、2 行程度で答えよ。



問 8. 下線部⑦について、細胞外マトリックスの主成分として知られているタンパク質の名称を 2 つ挙げよ。また、細胞外マトリックスに接着する機能を持つ、代表的な細胞表面タンパク質の名称を 1 つ答えよ。

問 9. 下線部⑧について、がん細胞の悪性化の指標の一つである「浸潤能」を測定するための *in vitro* 実験系として、invasion assay (図 2) が広く使われている。Invasion assay に用いるチャンバーは、上側チャンバーの膜に細胞が通り抜けられる小さい穴があり、その上に細胞外マトリックス成分を含むゲルがコートされている。

図 2. Invasion assay の概要

化学誘引物質を含まない培地 (上側チャンバー)

がん細胞

細胞外マトリックス

ポリカーボネート膜

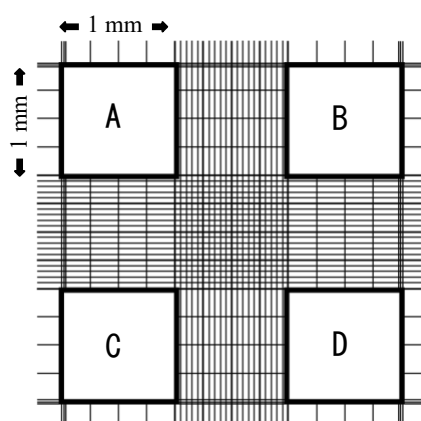
化学誘引物質 (上皮増殖因子) を含む培地

＜実験順序＞

1. 生細胞 1×10^5 個 / $500 \mu\text{L}$ になるように調製した細胞懸濁液を上側チャンバーに入れる (左図)。
2. 8 時間培養したのち、4%パラホルムアルデヒドで細胞を固定する。
3. 浸潤した細胞を数える。

- (1) ディッシュに培養した接着細胞である MDA-MB-231 乳がん細胞株を回収して 4 ml の細胞懸濁液（溶液 a とする）を調製した。そのうち 100 μL を別容器に採取し、死細胞を青色に染色するために、0.4%トリパンブルー溶液 400 μL を加え混合した後、その混合液の一部を血球計算盤の 4 区画（図 3 A～D）に注入して、細胞数を計測した。その際、血球計算盤の 4 区画のそれぞれが目一杯になるように混合液を注入した。計測した生細胞と死細胞の数を下の表に示す。図 2 の上側チャンバーに、 1×10^5 個の生細胞を入れるために必要な溶液 a の量（ μL ）を、下の表の 4 区画の値を使って計算し、四捨五入して有効数字 2 桁で答えよ。

図 3. 血球計算盤

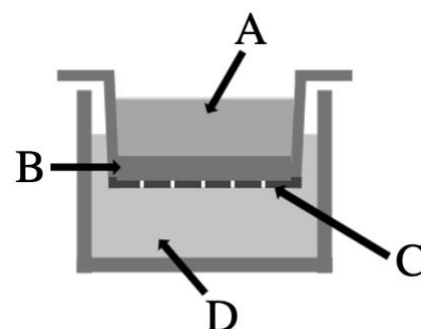


※細胞を注入できる 1 区画の体積：
 縦×横×高さ = 1 mm×1 mm×0.1 mm

	生細胞	死細胞
A	84	5
B	93	3
C	88	4
D	95	6

- (2) 前述のように、invasion assay はがん細胞が化学誘引物質に引かれて細胞外マトリックスを貫き移動する「浸潤能」を確かめる方法である。この方法は「浸潤能」を阻害する薬剤のスクリーニングにも利用できる。
- 多数の候補阻害剤を検討する場合、図 4 において A、B、D のどの部分に阻害剤を加えるのが適当であるか答えよ。
 - 阻害剤添加後に図 2 のように MDA-MB-231 乳がん細胞株と化学誘引物質である EGF（上皮増殖因子）を加え、培養後に図 4 C に現れる細胞数を比較した場合、効果のある阻害剤では阻害剤無しのコントロール条件に比較してどのように変化するか答えよ。

図 4. Invasion chamber



- iii) この方法で得られた「浸潤能」を阻害する薬剤について、予想されるがん細胞における作用点を2つ挙げよ。ただし、1つは下線部⑧に関連するメカニズムを記載すること。なお、がん細胞の細胞増殖と死滅は考慮しないとする。