

2024 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、120分間である。
- 2) 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。
- 3) 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。
- 4) 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。
- 5) 特に指示のない場合は、英語で解答してもよい。
- 6) 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 (A) と (B) の文章を読み、問 1～問 8 の全てに答えよ。

(A) 遺伝子発現の第一段階では、DNA を鋳型にして遺伝情報が RNA に転写される。RNA は DNA と同様に 4 種類の異なるヌクレオチドが、隣接する糖の 5 位の炭素原子と 3 位の炭素原子の間で ( ア ) 結合した重合体であるが、①糖がデオキシリボースではなくリボースであり、塩基として DNA のチミンに代わってウラシルが含まれる。真核生物の RNA ポリメラーゼは 3 種類あり、RNA ポリメラーゼ I と III は ( イ ) RNA と tRNA、多くの低分子 RNA を転写し、RNA ポリメラーゼ II は mRNA、miRNA、一部の低分子 RNA を転写する。二本鎖である DNA とは異なり RNA は一本鎖であり、折りたたまれて複雑な立体構造をとり、タンパク質への翻訳以外にも細胞内で機能を果たす。リボスイッチはそうした RNA の折りたたみによる立体構造を介した mRNA 自身による遺伝子発現の調整機能のひとつである。大腸菌のチアミン生合成に関与する酵素をコードする mRNA は、チアミンの濃度が高くなると、チアミンまたはその誘導体と結合してリボソーム結合部位を隔離する特異な構造をとり、それによって遺伝子発現を ( ウ ) させる。また、トーマス・チェックらは原生生物であるテトラヒメナの ( エ ) RNA 前駆体のスプライシング反応がタンパク質の存在しない条件下で進み、RNA 自身が触媒することを発見した。この触媒機能をもつ RNA 分子をリボザイムと呼ぶ。リボザイムには RNA を ( オ )、( カ )、重合、リン酸化する機能をもつものが見つかっている。また、②非翻訳 RNAの中には、遺伝子の発現を抑制する miRNAがあり、ヒトではおよそ 500 種類が発現していると考えられている。miRNA は ( キ ) 配列をもつ mRNA を標的としてその安定性と翻訳を調整して発現を抑制する。このように RNA は DNA からタンパク質への遺伝情報の伝達を媒介するだけでなく、細胞内で数多くの役割を果たしている。

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、デオキシリボースとリボース、チミンとウラシルの違いを説明する以下の文章の ( キ ) ～ ( コ ) に当てはまる最も適切な語句または数字を答えよ。

リボースは ( キ ) 位の炭素原子にヒドロキシ基が付いているが、デオキシリボースは ( ク ) に置換されている。ウラシルとチミンは複素環式芳香環をもつ ( ケ ) 塩基であり、ウラシルはチミンと比べると ( コ ) 基がない。

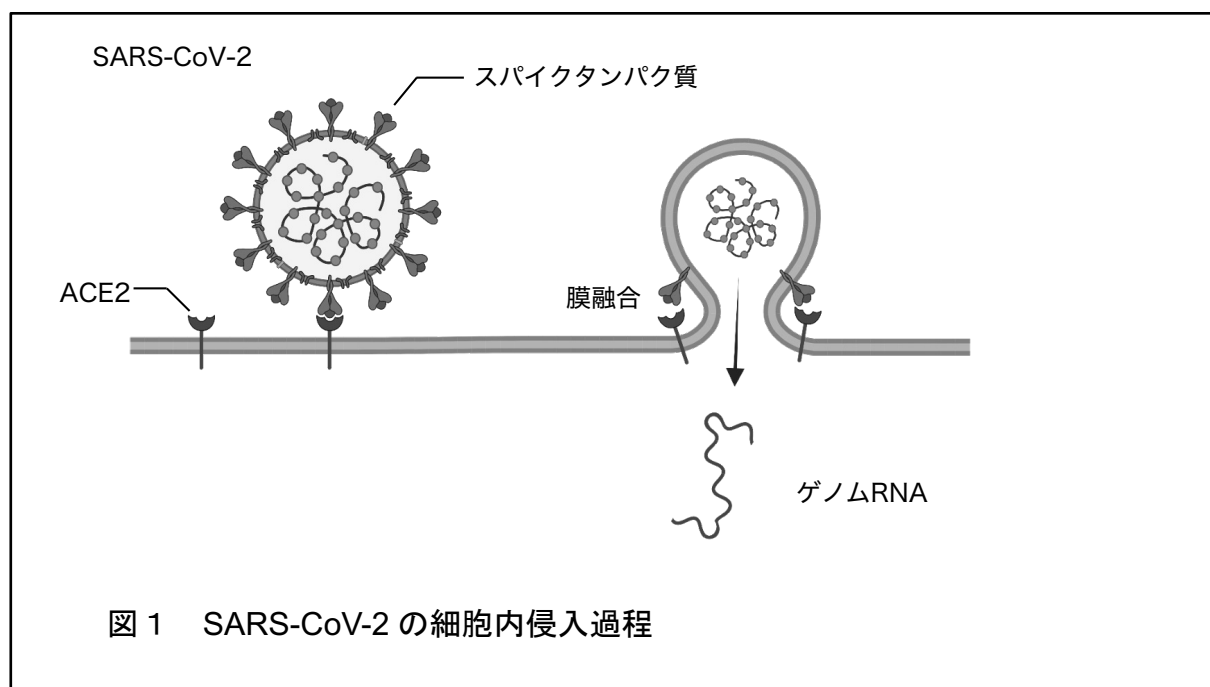
問 3. DNA ポリメラーゼによる DNA 複製と RNA ポリメラーゼによる転写は正確性に大きな違いがある。その理由を以下の 2 つの語句を用いて 2 行以内で説明せよ。

【語句】 5'→3'方向、3'→5'方向

問 4. 下線部②に関連して、以下の記述で正しいものを全て選択せよ。

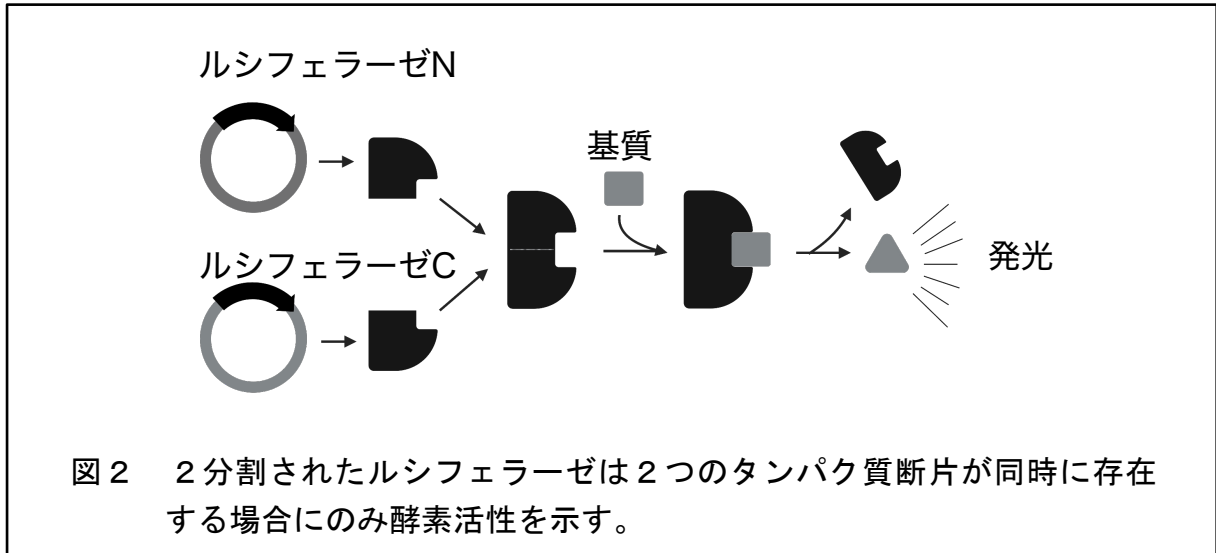
- (a) 成熟 miRNA は約 12 塩基の一本鎖 RNA である。
- (b) 核内で転写された miRNA 前駆体は加工されてまず二本鎖 RNA 中間体になる。
- (c) RNA 誘導サイレンシング複合体 (RISC) は取り込んだ二本鎖 RNA を介して、遺伝子発現の抑制を行う。
- (d) RISC にヌクレアーゼ活性はない。
- (e) miRNA 生合成に関わる Dicer は RNA 干渉における siRNA 形成にも関与する。
- (f) Dicer は抗ウイルス応答に重要な役割を果たすが、一方でウイルスもそれに対抗する遺伝子をもっている。

(B) 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の病原体である Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) は、細胞に侵入する際に受容体アンギオテンシン変換酵素 2 (ACE2) にスパイクタンパク質を結合させて、ウイルスのもつ膜であるエンベロープと細胞膜を融合することで、細胞内にウイルスゲノム RNA を放出する (図 1)。

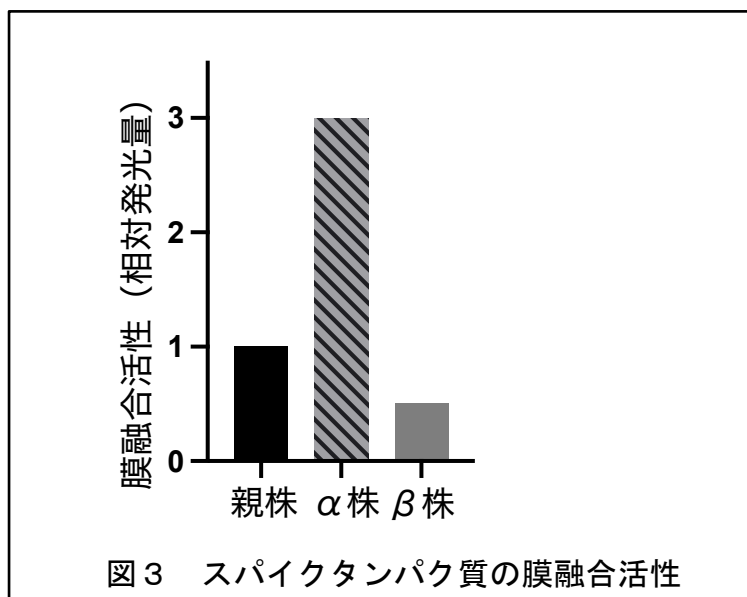


SARS-CoV-2 流行初期の親株とその後に出現した変異株  $\alpha$  と変異株  $\beta$  のスパイクタンパク質の膜融合能とウイルスの増殖性を評価するために、以下のような実験を行った。親株、 $\alpha$  株、 $\beta$  株に由来する SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質とヒト ACE2 を発現するプラスミドを作製した。次に、レポータープラスミドとして、発光酵素であるルシフェラーゼを N 末端側 (ルシフェラーゼ N) と C 末端側 (ルシフェラーゼ C) の 2 つに分割したアミノ酸配列をコードする cDNA をそれぞれ発現プラスミドに挿入した (図 2)。この 2 つのプラス

ミドから発現する 2 種類のタンパク質断片が同時に細胞内に存在するとルシフェラーゼとしての機能を発揮して、基質であるルシフェリンを与えた場合に発光が観察される(図 2)。どちらか一方のタンパク質断片が存在するだけでは酵素活性を示さない。



③作製したスパイクタンパク質、ヒト ACE2、ルシフェラーゼ N、ルシフェラーゼ C を発現する 4 種類のプラスミドを、ある組み合わせで 2 種類の細胞 X と細胞 Y に導入した。細胞 X と細胞 Y は本来 ACE2 を発現していない。この樹立した 2 種類の細胞にルシフェリンを与えることで、スパイクタンパク質による膜融合活性を測定した。親株、α 株、β 株それぞれのスパイクタンパク質による膜融合活性は図 3 に示すような結果となった。さらに、培養細胞に親株、α 株、β 株をそれぞれ接種して、経時的に上清中のウイルス量を測定したところ、図 4 のような増殖曲線となった。遺伝子解析により、α 株と β 株は親株と比較して、スパイクタンパク質にのみ、それぞれ 2 つのアミノ酸変異をもっていることが明らかとなった(表 1)。



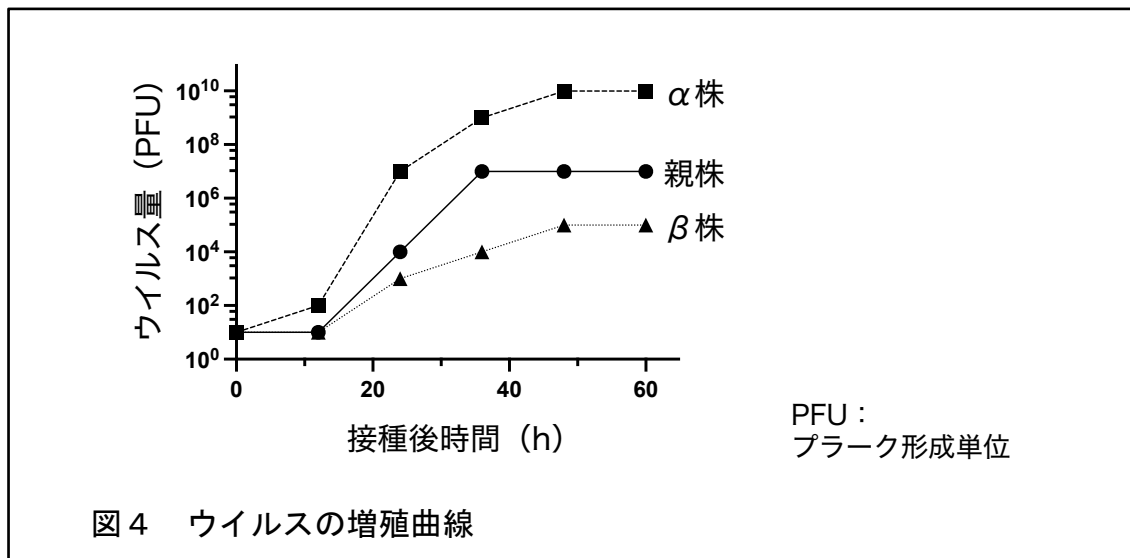


表 1 同定されたスパイクタンパク質の変異

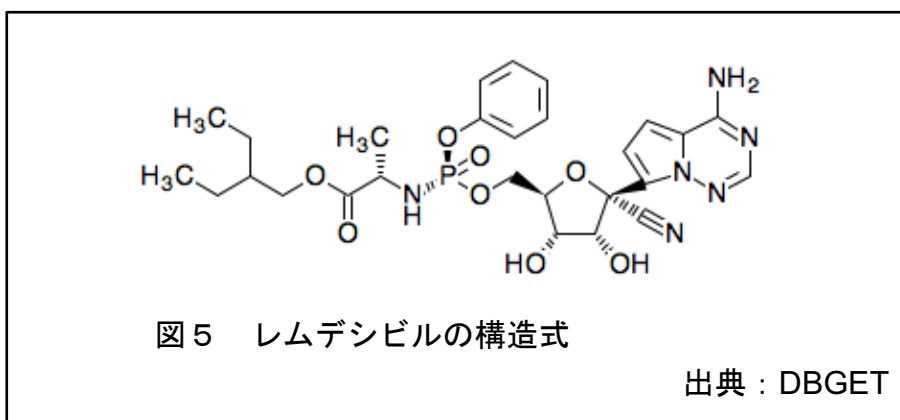
位置	62番目	159番目	231番目	487番目
親株	アルギニン	イソロイシン	アラニン	ロイシン
$\alpha$ 株	アルギニン	スレオニン	セリン	ロイシン
$\beta$ 株	バリン	イソロイシン	アラニン	ヒスチジン

問 5. COVID-19 の対策として開発された mRNA ワクチンにおいて、mRNA の分解と翻訳効率の課題を克服するために導入された工夫のうち、適切なものを全て選択せよ。

- (a) 異物として認識されないように化学修飾されたヌクレオシドを用いて mRNA を合成することで、炎症の誘導と mRNA の分解が抑制されている。
- (b) mRNA の分解の抑制や翻訳開始の促進のため、3'末端にキャップ構造が付加されている。
- (c) ほとんどのアミノ酸には 2 つ以上のコドンがあるが、生物によって各コドンを使用する頻度が異なるため、ヒトに最適化されたコドンが使用されている。
- (d) 非翻訳領域は mRNA の安定性に関係ないので取り除かれている。
- (e) ポリ A 配列の長さは mRNA 分解の抑制と翻訳効率に関与しないため、長さは考慮しなくて良い。

問 6. 図 5 は SARS-CoV-2 やエボラウイルスなど RNA をゲノムにもつウイルスの増殖を抑制する作用がある化合物、レムデシビル<sup>®</sup>の構造式である。レムデシビルは細胞内

に取り込まれると抑制活性のある構造に変換される。構造式をもとにレムデシビルの抗ウイルス薬としての作用機序を 3 行以内で述べよ。



問 7. 下線部③に関連して、2 種類の細胞 (X、Y) に導入するプラスミドの組み合わせとして、適切なものを 1 つ選択せよ。

- (a) 細胞 X にスパイクタンパク質とヒト ACE2、細胞 Y にルシフェラーゼ N とルシフェラーゼ C を導入する。
- (b) 細胞 X にスパイクタンパク質とヒト ACE2 とルシフェラーゼ N、細胞 Y にルシフェラーゼ C を導入する。
- (c) 細胞 X にスパイクタンパク質とルシフェラーゼ N、細胞 Y にヒト ACE2 とルシフェラーゼ C を導入する。
- (d) 細胞 X にスパイクタンパク質、細胞 Y にヒト ACE2 とルシフェラーゼ N とルシフェラーゼ C を導入する。
- (e) 細胞 X にヒト ACE2、細胞 Y にスパイクタンパク質とルシフェラーゼ N とルシフェラーゼ C を導入する。
- (f) 細胞 X にスパイクタンパク質、ヒト ACE2、ルシフェラーゼ N、ルシフェラーゼ C を導入し、細胞 Y には何も導入しない。

問 8.  $\alpha$  株と  $\beta$  株がもつスパイクタンパク質のアミノ酸変異が、膜融合能とウイルスの増殖性に与える影響について、図 3、図 4 と表 1 の実験結果から示されることを 4 行以内で述べよ。ただし、両変異株は表 1 で示したスパイクタンパク質の変異以外に変異をもたないものとする。

## 問題 2

次の (A) と (B) の文章を読み、問 1～問 8 の全てに答えよ。

(A) 細胞においてタンパク質は、その機能が最適になるように、様々なしくみで調節されている。例えば、代謝経路ではたらく酵素がその下流で生成された分子によって負に制御されるしくみは (ア) と呼ばれる。また、(イ) によるタンパク質のリン酸化やプロテアソームによる分解の標識となる (ウ) などの共有結合修飾によっても、タンパク質の機能は調節されている。これらは、個々のタンパク質の機能を速やかに調節するのに適している。一方、転写調節は、不必要な中間体を合成せずに済み、細胞の分化状態や環境条件などにおいて必要とされる複数のタンパク質の量を同時に調節するのに適したしくみである。真核生物の転写は、基本転写因子と RNA ポリメラーゼがプロモーター領域に引き寄せられて (エ) を形成することで起こる。この過程は、エンハンサーへの転写活性化因子の結合によって調節されており、しばしば転写共役因子を介して (エ) の形成を促進する。一方、(エ) の形成を阻害するように機能するものは転写抑制因子と呼ばれる。これらの転写調節因子には、①クロマチン修飾タンパク質を誘引してクロマチンの状態を局所的に変化させるしくみを利用し、(エ) の形成を調節するものもある。

転写調節のしくみは、外来生物やウイルスが宿主に感染し増殖する際の格好の標的ともなる。植物病原菌は、感染後にエフェクターと呼ばれるタンパク質を植物細胞内に注入し、植物の免疫応答の抑制や自らの増殖を助けるために宿主遺伝子の転写調節を行う。*Xanthomonas* 属や *Ralstonia* 属のグラム陰性細菌がもつ TAL エフェクターは、植物細胞の核に移行して転写活性化因子として機能する。このタンパク質は 33～35 残基を 1 単位とした繰り返し配列をもち、各単位が 1 塩基を認識する。したがって、②この繰り返し配列を並び替えれば、任意の塩基配列に特異的に結合するタンパク質を創り出すことができる。この性質を利用し、DNA 二本鎖切断酵素 FokI を融合した TAL エフェクターヌクレアーゼ (TALEN) が開発され、CRISPR-Cas と共に (オ) ツールとして利用されている。

問 1. (ア) ～ (オ) 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、転写調節に関わるクロマチン修飾タンパク質のうち、ヒストン H3 の尾部中の 9 番目のリシン残基 (K9) を化学修飾する酵素の名称を 2 つ挙げ、これらの化学修飾がクロマチン構造の変化を介して転写を調節するしくみをそれぞれ 2 行程度で説明せよ。ただし、酵素の名称 (例: リブロース 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ) を解答することを求めており、略語 (例: ルビスコ、RuBisCO) や遺伝子名 (例: *rbcS*) を使用してはならない。

問 3. 下線部②に関連して、図 1 A には 4 種類の塩基をそれぞれ認識する 34 残基の繰り返し配列が示されている。このアミノ酸配列のうち下線の連続した 2 残基が塩基の種類を識別することが知られており、その様子の立体構造と構造式が図 1 B に示され

ている。塩基配列 ACTAGCGT に結合する繰り返し配列の組み合わせになるように、  
図 1 A の各アミノ酸配列の記号 a ~ d を並べよ。

- (A)
- a LTPDQVVAIASHGGGKQALETVQRLLPVLCQAHG
  - b LPPDQVVAIASNIGGKQALETVQRLLPVLCQAHG
  - c LTPAQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHG
  - d LTPDQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQDHG

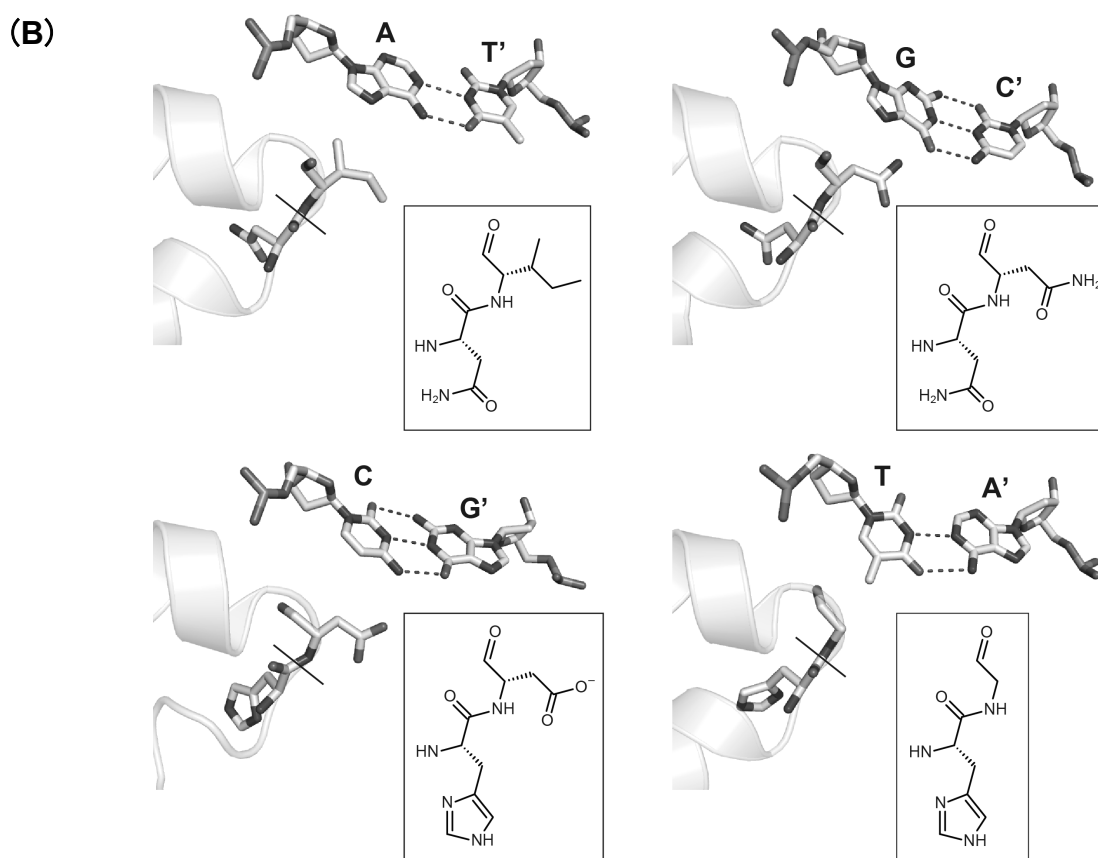


図 1 TAL エフェクターの塩基認識

- (A) 4 種類の塩基をそれぞれ認識する TAL エフェクターの繰り返し配列  
(B) 繰り返し配列中の連続する 2 残基とその認識塩基の空間配置

破線は TAL エフェクターの繰り返し配列によって認識される塩基 (A, C, G, T) とその対となる塩基 (T', G', C', A') の間の水素結合を示している。各塩基図の左側から塩基に向かって繰り返し配列の一部が近接している様子がみられ、塩基の種類の見分けに関わる 2 残基が塩基と同じスティックモデルで表されている。このモデル上の線は各残基の境界を示している。また、右枠内には 2 残基の構造式が与えられている。



(B) タンパク質は、文章 (A) で述べた酵素や転写調節因子だけでなく、細胞の機能のほとんどを担う生体高分子である。ヒトのタンパク質を構成するアミノ酸は ( カ ) 種類あり、比較的小さな 100 個のアミノ酸からなるタンパク質であっても、理論的には約  $10^{130}$  種類のアミノ酸配列をとり得る。しかし、実際に細胞でつくられるタンパク質は限られ、ヒトの遺伝子数は約 2 万個とされていることから、細胞に必要な機能を与えるアミノ酸配列が進化の過程で選抜されてきたと考えられる。

タンパク質は、その③主鎖を構成する共有結合のうち 2 か所の回転により折りたたまれ、主に 3 種類の非共有結合と ( キ ) によって、アミノ酸配列に依存したエネルギー最小のコンホメーションをとる。タンパク質を構成するアミノ酸のほとんどは L 体であるため、右巻きにねじれ易く、 $\alpha$  ヘリックスと呼ばれる規則的な繰り返し構造がタンパク質中に見られる。このような④二次構造が組み合わさって安定な立体構造をとる領域 (構造単位) は ( ク ) と呼ばれる。長いポリペプチド鎖からなるタンパク質には複数の ( ク ) で構成されるものがあり、それぞれが異なる機能を担うことが多い。また、複数のポリペプチド鎖が結合し、四次構造を形成して機能する場合もある。例えば、⑤V 型  $H^+$ -ATP アーゼは 14 種類のポリペプチド鎖からなり、V (vacuolar) 型という名称に見られるように、酸性オルガネラの液胞やリソソームなどの膜に局在する輸送体としてはたらく。各ポリペプチド鎖はサブユニットと呼ばれ、この巨大装置が稼働するための部品として不可欠である。

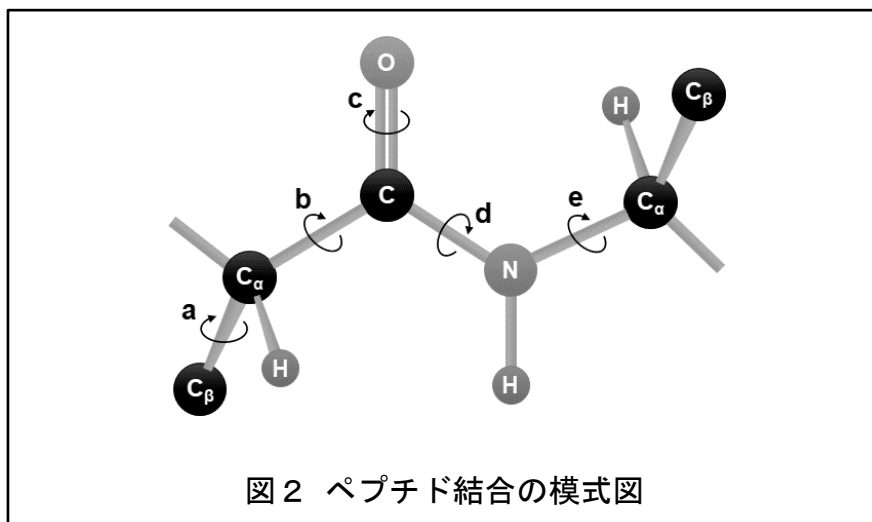
タンパク質の機能は多様であるが、その基盤となる共通の性質は他の分子と物理的に相互作用できることである。例えば、⑥細胞膜の受容体タンパク質は、内分泌細胞で産生されるインスリンなどの ( ケ ) と結合し、細胞内のシグナル伝達タンパク質の機能を調節する。これにより、筋肉や肝臓でのグリコーゲンの合成が促進されるなどの多様な細胞応答が引き起こされる。大抵のタンパク質では、生体内の膨大な種類の分子の中から 1 種類ないし数種類の分子との間でのみ有効な結合が起こる。タンパク質が結合する分子は、イオン、低分子有機化合物、他のタンパク質や DNA など多岐にわたるが、いずれもそのタンパク質のリガンドと呼ばれ、その親和性はリガンドとの間で形成される非共有結合の数と ( キ ) によって決まる。リガンドのうち、酵素により変換される分子は基質であり、ヘモグロビンが酸素を運搬する機能にとって必須なヘムは ( コ ) である。

問 4. ( カ ) ~ ( コ ) に当てはまる最も適切な語句または数字を答えよ。

問 5. 下線部③に述べられた 2 か所の回転する共有結合を図 2 の a ~ e の中から選択せよ。  
また、この 2 か所のみが回転を許される理由を説明せよ。

問 6. 下線部④に関連して、タンパク質の構造単位における二次構造の配置は、図 3 A の例 1 と例 2 のような平面図 (トポロジー図) で示すことができる。以下の文章を読み、(1) ~ (3) の問いに答えよ。

タンパク質の立体構造を解析する手法の 1 つに核磁気共鳴 (NMR) 法がある。NMR では、空間的に近接して  $5 \text{ \AA}$  以内に位置する水素原子核 ( $^1\text{H}$ ) 間で NOE (注 1) シ



グナルが観測される。NOE シグナルの強度を  $^1\text{H}$  間の距離制限情報として利用し、これを満たすようにポリペプチド鎖のエネルギー最小化計算を行うことにより、立体構造を構築することができる。図 3B のように、 $\beta$  シート中の隣接する  $\beta$  ストランド間には、水素結合が形成され  $^1\text{H}$  間の NOE シグナルが観測される。

続いて、NOE シグナルを基にしてタンパク質構造解析を行う例を示す。ラクダ科動物は、ヒトの IgG 抗体とは異なり、重鎖だけからなる抗体を産生する。その可変領域は、VHH と呼ばれる 1 つの構造単位からなり、抗原結合能をもつ。図 3C の VHH のアミノ酸配列において、下線 a ~ k は  $\beta$  ストランドをとり、両矢印の箇所ですれがたがアミノ酸残基の主鎖 N-H の  $^1\text{H}$  間で NOE シグナルが観測されているものとする。VHH では、2 つの  $\beta$  シートがその表面で接触し、さらにジスルフィド結合により構造が安定化される。こうした立体構造の形成により、VHH は 3 つの超可変ループ領域（または相補性決定領域）で抗原に結合することが可能になる。

注 1 : NOE は核オーバーハウザー効果 (nuclear Overhauser effect) の略である。磁場中に置かれた  $^1\text{H}$  は磁気双極子として振る舞い、空間的に近接した 2 つの  $^1\text{H}$  の間には、双極子-双極子相互作用がはたらく。これにより生じる交差緩和を介して  $^1\text{H}$  シグナルの強度が変化する現象を NOE と呼ぶ。タンパク質の構造解析で利用される NOE シグナルの強度は、 $^1\text{H}$  間の距離の 6 乗に反比例する。

- (1) 図 3C の VHH のアミノ酸配列について、そのトポロジー図の一部が図 3D に示されている。このトポロジー図を完成させよ。その際には、図 3C の NOE シグナルの関係を満たす配置になるように、下線 c ~ h の  $\beta$  ストランドを図 3D のトポロジー図に追加し、図 3A と同様に  $\beta$  ストランド間を線でつなぎなさい。また、トポロジー図の  $\beta$  ストランドには図 3C の配列中の下線 c ~ h を記しなさい。図 3D の b と k で示される  $\beta$  ストランドの並びを除き、他の隣接する  $\beta$  ストランドは全て互いに逆平行に並ぶものとする。

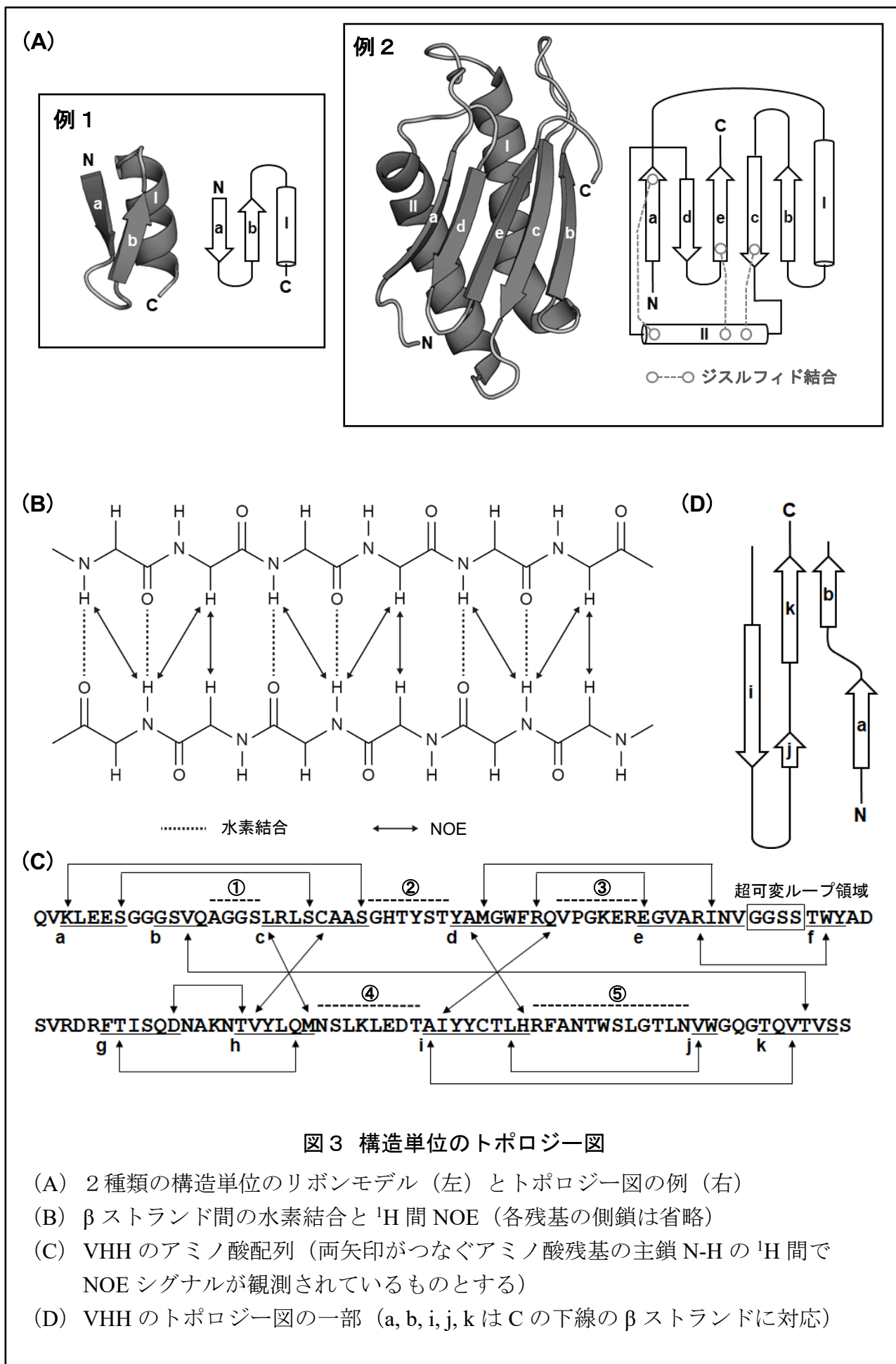


図 3 構造単位のとポロジー図

- (2) ジスルフィド結合の形成箇所を図 3A の例 2 と同様に (1) で描画したトポロジー図に示せ。
- (3) 図 3C の四角い枠で囲まれた配列は超可変ループ領域の 1 つを示している。  
(1) で描画したトポロジー図に基づき、残り 2 つの超可変ループ領域上の配列を図 3C の破線①～⑤の中から選択せよ。また、それらを選択した理由を説明せよ。

問 7. 下線部⑤に関連して、この輸送体による膜を隔てた物質輸送について、以下の全ての語句を用いて 1～2 行程度で説明せよ。

【語句】  $H^+$ 、ATP、輸送、細胞質、液胞

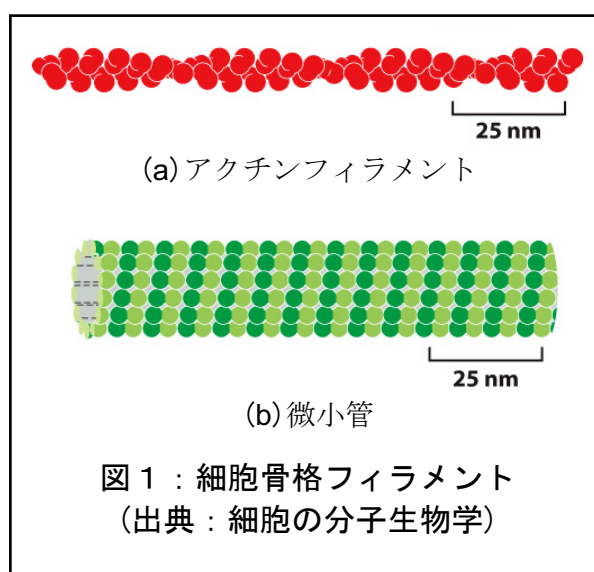
問 8. 下線部⑥に関連して、内分泌細胞で合成されたインスリンが細胞外に分泌されるしくみ（経路）を 2～3 行程度で説明せよ。

### 問題 3

次の (A) と (B) の文章を読み、問 1～問 8 の全てに答えよ。

(A) 細胞骨格がつくり出す構造は、細胞の形をつくり、その動的な構造変化は、様々な細胞機能の調節に関わっている。細胞骨格として、アクチンフィラメント、微小管、(ア) と呼ばれるタンパク質線維が知られており、それぞれ、サブユニットからなる細長い集合体を形成する。これらの線維は、①様々なタンパク質分子との結合や相互作用を介して、多様な構造をつくり出しており、また、②細胞内部や細胞間で作用する力を生み出している。

図 1 に示すように、アクチンフィラメントは、直径約 7 nm の (イ) 構造をもつ線維である。微小管は、外側の直径が約 25 nm の中空の筒状構造をもつ。アクチンフィラメントを構成する球状のサブユニットには、くぼみがあり、非対称な構造をもつことから、フィラメントには (ウ) が生じる。また、そのくぼみの部位に ATP が結合し、ATP の加水分解によりサブユニットの構造が変化する。これにより、フィラメントのプラス端とマイナス端で構造の安定性に差が生じる。その結果、フィラメント全体としては、常に動的に重合・脱重合が繰り返され、個々のサブユニットが、フィラメント上をプラス端からマイナス端へと移動する (エ) 状態が生じる。



以上のように、細胞骨格は、様々なタンパク質分子と相互作用しながら動的に構造を変化させることで、様々な細胞機能を生み出しており、例えば、③免疫細胞の遊走、神経細胞の突起形成、がん細胞の浸潤などの細胞運動、また、発生における多細胞組織の形態形成において、重要な役割を果たしている。

問 1. (ア) ～ (エ) 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、アクチンフィラメントに結合するタンパク質について、(1)～(4)のタンパク質に対応する説明を(a)～(e)の中からそれぞれ一つずつ選択せよ。

(1)  $\alpha$ -アクチニン (2) フィンブリン (3) フィラミン (4) スペクトリン

- (a) 赤血球で発見されたタンパク質であり、アクチンフィラメントからなる網目構造をつくる。
- (b) 二量体を形成するタンパク質であり、アクチンフィラメントを架橋して、ゆるいフィラメントの束をつくる。
- (c) 2本のアクチンフィラメントを交差するようにゆるやかに架橋する。

- (d) あるアクチンフィラメントに対して約 70 度の傾いた枝のような別のアクチンフィラメントをつなぐことで、網目構造をつくる。
- (e) 小さな単量体のタンパク質であり、アクチンフィラメントを密に架橋する。

問 3. 下線部②に関連して、細胞内でアクチンフィラメントの束や網目構造が収縮力を生み出す際にアクチンフィラメントと相互作用するモータータンパク質を挙げよ。また、フィラメントの束の収縮機構の説明図を描き、その図を用いて、収縮機構について 3～4 行程度で説明せよ。

問 4. 下線部③に関連して、細胞が運動するとき、細胞の進む先端部分において、糸状仮足や葉状仮足と呼ばれる構造が形成される。この先端部分において、細胞膜を突出する力はどのように生み出されるか、1～2 行程度で説明せよ。

問 5. 1 本のアクチンフィラメントに小さな引張力を与えると、その伸び量は引張力の大きさにほぼ比例する。これに対して、細胞内においては、アクチンフィラメントは複数のフィラメントからなる束や網目構造を形成し、その構造体に作用する引張力の大きさと伸び量の関係は比例しない。この比例しない理由を【線維配向、架橋、結合、活性】の 4 つの語句を全て用いて、3～4 行程度で説明せよ。

(B) 脊椎動物の生体組織は、結合組織や上皮組織などに分類される。結合組織においては、細胞内の細胞骨格に加えて、細胞の周囲に存在する線維性の（オ）が、組織の力学的強度を与えている。（オ）の内、主に張力に抗する分子として三重らせん構造をもつ（カ）が知られ、圧力に抗する分子としてグリコサミノグリカンが知られる。一方、上皮組織においては、細胞は、（キ）と呼ばれる薄い線維性の層に接着し、細胞同士の直接的な結合を介して、組織全体としての強度を保っている。

上皮細胞間をつなぐ接着結合部位には、細胞膜を貫通して結合する（ク）と呼ばれるタンパク質が存在し、タンパク質複合体を介して細胞内のアクチン細胞骨格につながっている。そのため、④上皮細胞内のアクチンフィラメントの束や網目構造に生じる力は、周囲の上皮細胞へと伝達される。この細胞間で力を伝達する場所は、主に上皮細胞の頂端面付近にあり、⑤アクチンフィラメントの束や網目構造の収縮は、上皮組織に変形をもたらす。

胚発生時にみられる上皮細胞層からなる上皮組織の形態変化における力の役割を考える。図 2 (a) は、上皮細胞層を頂端面側から観察した概略図である。図 2 (b) は、図 2 (a) の拡大図であり、細胞 A の内部にアクチンフィラメントの束や網目構造からなるアクチンネットワークが示されている。図 2 (c) は、図 2 (a) の破線における断面図である。全ての上皮細胞が、ほぼ同程度の小さな収縮力を発生しながら、力の釣り合い状態にあるものとする。この収縮力は、頂端面付近に分布するアクチンネットワークにおいて、問 3 で尋ねたモータータンパク質とアクチンフィラメントとの相互作用により生じているものとする。なお、図 2 (a) 中央付近の細胞 A に対して、それに隣接する 6 個の細胞を B、さらにそれらの細胞 B に外側で隣接する細胞を C とする。また、I～IV は、それぞれの頂点を表している。

問 6. (オ) ~ (ク) に当てはまる最も適切な語句を答えよ。

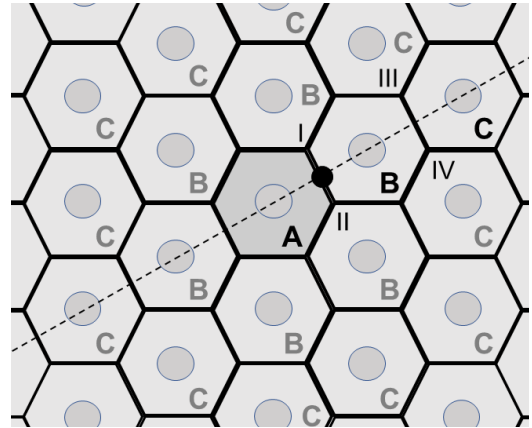
問 7. 下線部④に関連して、上皮細胞内に存在する力を確認するため、図 2 (b) の線分 I-II と破線の交点部分 (図中の●部分) に頂端面側から局所的にレーザーを照射し、細胞 A と細胞 B の境界に集積しているアクチンフィラメントの束を切断した。このとき、頂点 I と II は、それぞれ、どのように移動するか、理由とあわせて 2 ~ 3 行程度で説明せよ。

問 8. 次の (1)、(2) の問いに答えよ。

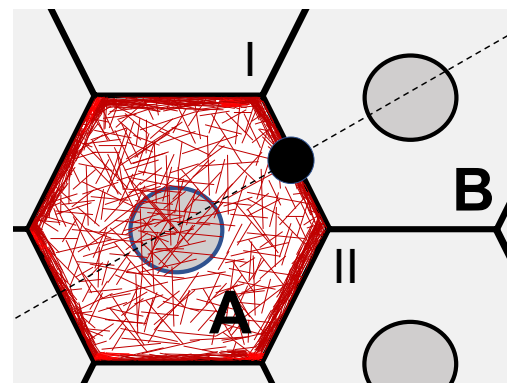
- (1) 下線部⑤に関連して、細胞 A と細胞 B の合計 7 個の細胞において、頂端面付近に存在するアクチンネットワークが一斉に収縮した場合、図 2 (d) に示すように上皮細胞層が変形した。この時、細胞 B と細胞 C の境界 (図 2 (a) の線分 III-IV) の頂端面付近において、細胞 C には細胞 B からある力 X が作用している。ここで、上皮細胞層の変形が生じた直後に問 3 で尋ねたモータータンパク質の活性を薬剤により低下させたところ、上皮細胞層にはある変形 Y が生じた。

以上の実験において、どのような力 X が作用し、どのような変形 Y が生じたか、それぞれ 1 ~ 2 行程度で説明せよ。

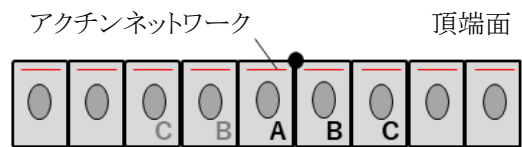
- (2) 図 2 (a) の状態において、細胞 C とさらに外側の細胞の変形や移動が、周囲の組織により制限されている場合を考える。この状態で細胞 A と細胞 B の合計 7 個の細胞が分裂を複数回繰り返した。ここで、細胞分裂後、個々の細胞の体積は、分裂前と同程度の体積に戻るとする。この時、どのような力が上皮細胞層内に発生し、また、上皮細胞層全体にどのような変形が生じるか、それぞれ 2 ~ 3 行程度で説明せよ。



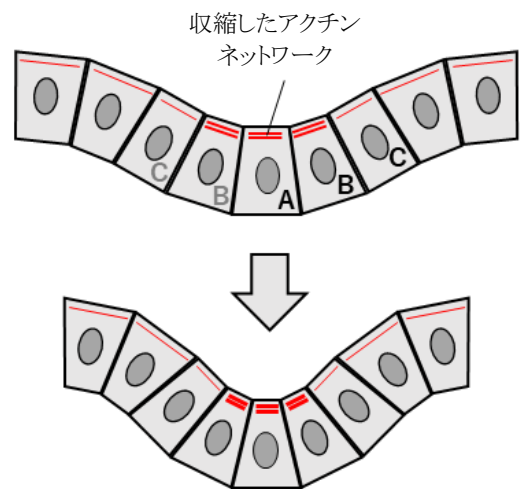
(a) 上皮細胞層 (頂端面側)



(b) 細胞 A 内のアクチンネットワーク



(c) 破線部の断面図



(d) アクチンネットワークの収縮による上皮細胞層の変形

図 2 : 上皮細胞層の形態変化

## 問題 4

次の (A) と (B) の文章を読み、問 1～問 8 の全てに答えよ。

(A) ニューロン (神経細胞) は、核と放射状に伸びた多数の細長い突起をもつ 1 個の細胞体からなる。通常、細胞体から電気的なシグナルを伝達する (ア) と呼ばれる長い突起が 1 本あり、その他に数本の短く枝分かれした (イ) が放射状にアンテナのように伸びて、他のニューロンからシグナルを受け取る表面積を増やしている。伸びた (ア) の先端は、通常多くの枝に分かれ、その端は (ウ) になっており、筋細胞、腺細胞、他のニューロンなど多数の (1) にニューロンからのシグナルを同時に伝える。(イ) にも多くの枝分かれをするものがあり、1 個のニューロンが多くのシグナルを受けられるようになっていることもある。

ニューロンは、別のニューロンからのシグナルがその細胞表面の特定の場所に伝えられた時に刺激される。このシグナルが、その場所の膜電位を変化させるのである。刺激を受けるのは通常 (イ) か細胞体の表面であり、シグナルをさらに伝達するため、この局所的な膜電位の変化を (ウ) に伝搬し、さらにそこから (2) を形成している次の細胞に膜電位の変化を送る。

シグナルが生み出した膜電位の局所的な変動は、受動的に広がって隣接する細胞膜領域に向かう。しかし、このような受動的伝搬は発生源からの距離が遠くなると急激に弱くなってしまいうため、長距離の伝達には不适当である。ニューロンはシグナルを (3) に送る機構を使って、この長距離伝達の問題を解決している。この機構では、局所的な一定の (4) 以上の電気刺激を受けると細胞膜の電気的活動が爆発的に始まり、それが (ア) の膜に沿って絶えず更新されながら迅速に伝達される。この電気的興奮が伝わる波は (エ) と呼ばれ、弱まることなく全行程を毎秒 100 m におよぶ速度で伝わってシグナルを運ぶ。

出典：Essential 細胞生物学

問 1. (ア) ～ (エ) に当てはまる最も適切な語句を答えよ。

問 2. (1) ～ (4) に入る最も適切な語句を以下の a ～ jの中から選択せよ。

- |          |         |         |
|----------|---------|---------|
| a. 末梢神経系 | e. しきい値 | i. 感覚神経 |
| b. 標的細胞  | f. 負の値  | j. 能動的  |
| c. 中枢神経系 | g. 細胞外液 |         |
| d. 神経回路  | h. 不活性化 |         |

問 3. ニューロンの静止膜電位は約  $-70 \text{ mV}$  である。この静止膜電位が形成されるためにはニューロンのサイトゾルと細胞外液の非対称的なイオンの分布と、細胞膜に存在するイオンを通すイオンチャネルが必要である。ひとつのイオン A を通すイオンチャネルにおいて、正味のイオンの流れがなくなる膜電位を平衡膜電位 ( $E_A$ ) という。



イオン A のサイトゾルにおける濃度  $[A]_i$  と細胞外液における濃度  $[A]_o$  がわかれば、イオン A の平衡膜電位  $E_A$  はネルンストの式 (Nernst equation) を使って算出することができる。

$$\text{平衡膜電位 } E_A = \frac{26.7}{z} \ln \frac{[A]_o}{[A]_i} \text{ (mV)}$$

表 1 に示す  $K^+$  と  $Na^+$  と  $Cl^-$  のサイトゾルと細胞外液の濃度において、 $K^+$  チャンネルと  $Na^+$  チャンネルと  $Cl^-$  チャンネルのそれぞれが単独で恒常的に開いている場合の平衡膜電位  $E_{K^+}$ 、 $E_{Na^+}$ 、 $E_{Cl^-}$  をそれぞれ求めて有効数字 3 桁で答えよ。

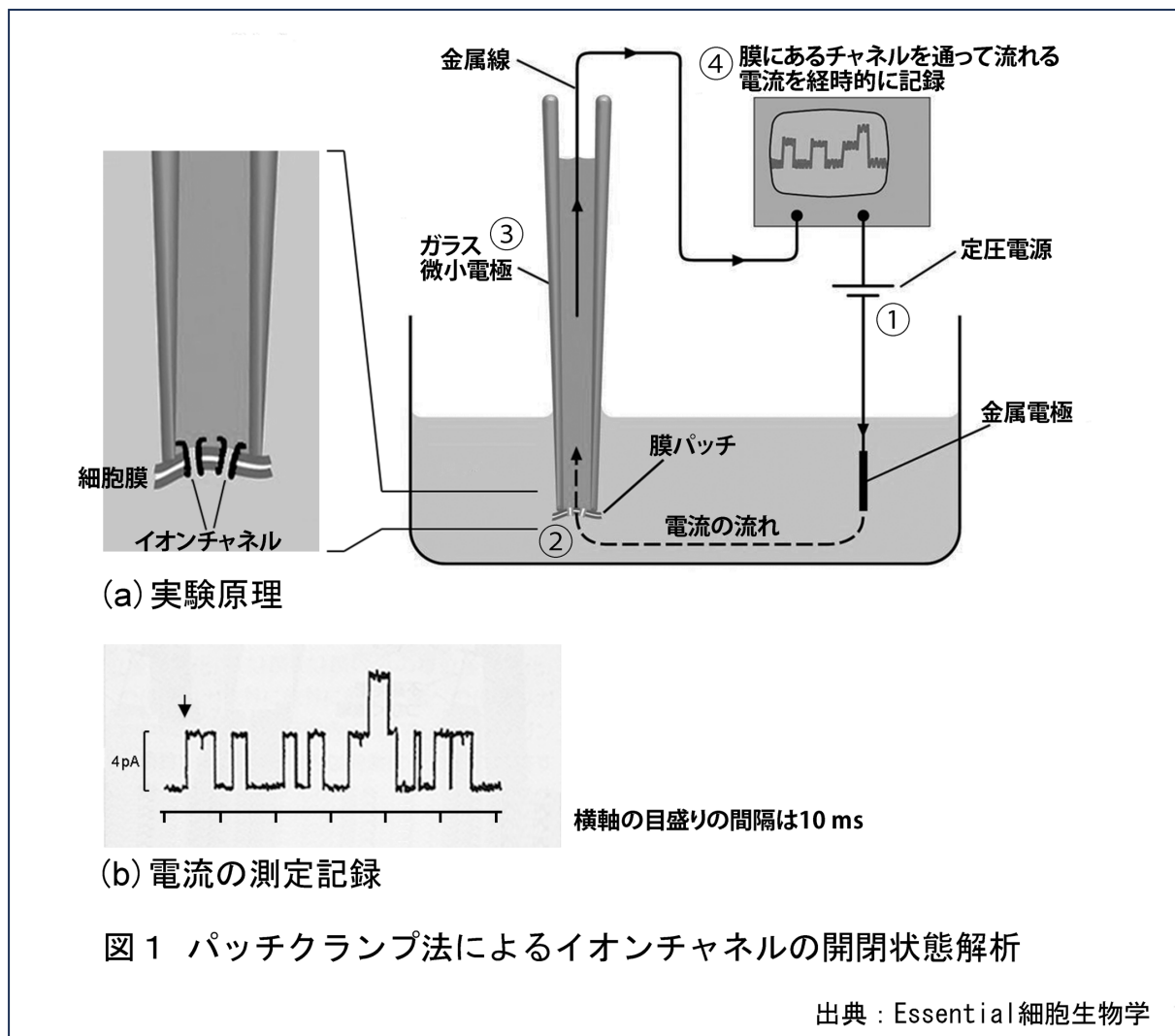
ただし、 $z$  = 電荷数 (正あるいは負の整数)、 $\ln 40 = 3.689$ 、 $\ln 30 = 3.401$ 、 $\ln 20 = 2.996$ 、 $\ln 5 = 1.609$ 、 $\ln 4 = 1.386$ 、 $\ln 3 = 1.099$ 、 $\ln 2 = 0.693$ 、 $\ln 4^{-1} = -1.386$ 、 $\ln 30^{-1} = -3.401$ 、 $\ln 40^{-1} = -3.689$  とする。

イオン	サイトゾル	細胞外液
$K^+$	90	3
$Na^+$	30	120
$Cl^-$	3	120

問 4. 細胞膜にあるイオンチャンネルは、開口確率を調節する刺激によって 3 種類に分けられる。3 種類のチャンネル名と、チャンネルのゲートの開閉法をそれぞれ 1 ~ 2 行で述べよ。

問 5. パッチクランプ法は、イオンチャンネルの開閉状態を電流により解析するために開発された研究手法である。図 1 (a) 中の①~④を用いて、解析方法の概略を以下に説明する。

- ①パッチクランプ回路へ定圧電源から通電を開始する
- ② 1 ~ 数個のイオンチャンネルを含む膜パッチに電流が到達し、電流がイオンチャンネルを通過する
- ③イオンチャンネルを通過した電流がガラス微小電極中の金属線に到達する
- ④電流の増減を感知し経時的に記録する



次の(1)～(4)の問いに答えよ。

- (1) 図 1 (b) はパッチクランプ法によって膜パッチ上のチャネルを通過する電流の変化を経時的に測定したものである。膜パッチにはアセチルコリン受容体分子が含まれている。この受容体は細胞外ドメインにアセチルコリンが結合するとイオンチャネルが開く。矢印の時点で微小電極の中の溶液にアセチルコリンを加えた。この記録を見て、膜パッチに含まれているイオンチャネルについてどのようなことがわかるか、3～4行で述べよ。
- (2) 図 1 (b) に記録された反応はアセチルコリンがアセチルコリン受容体に結合してイオンチャネルが開いた結果によることを証明する方法を考えて2～3行で述べよ。
- (3) アミノ酸配列に基づいてイオンチャネルと推測される、ある膜タンパク質Xについて、パッチクランプ法によってイオンの通過性を調べることにした。そこで膜タンパク質Xの遺伝子Xをアフリカツメガエルの卵母細胞に発現させて膜パッチを作

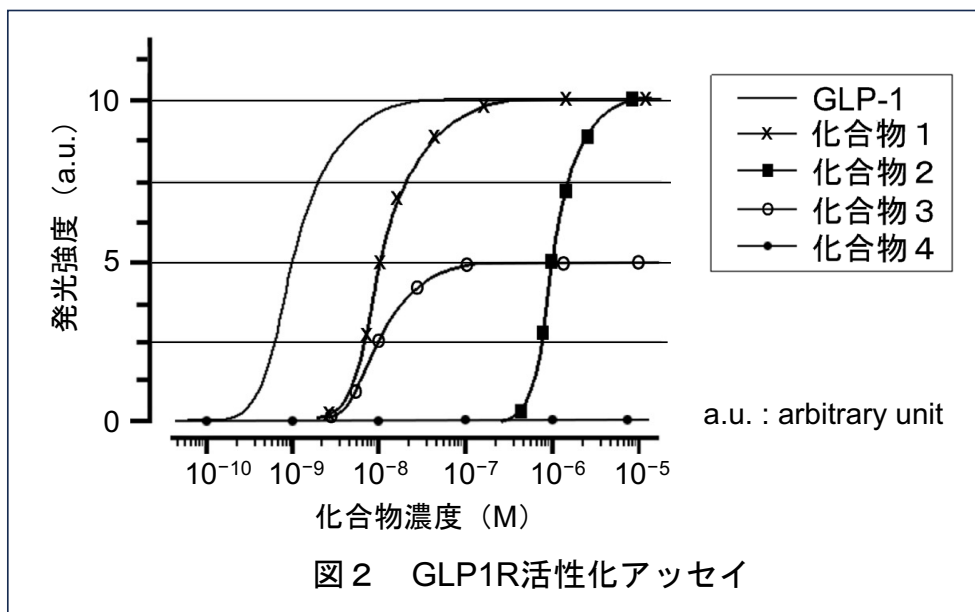
り、実験を行った。微小電極の中の溶液にアセチルコリンを加えて電流を記録したが、電流の変化は見られなかった。実験を複数回繰り返したが、結果はいずれも同様であった。これらの実験結果から、膜タンパク質 X はイオンチャネルではないと結論できるかどうか、その理由を 1 ~ 2 行で述べよ。

- (4) 大きさが  $1500 \mu\text{m}^3$  でサイトゾルの  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が  $100 \text{ nM}$  という細胞の細胞膜に、500 個の  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルがあるとすると、サイトゾル中の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を  $5 \mu\text{M}$  に上昇させるには、チャネルが 1 個あたり平均何秒開いている必要があるか。外部の溶液中にある利用可能な  $\text{Ca}^{2+}$  の量は実質的には無制限としてよく、1 個のチャネルは 1 秒あたり  $10^6$  個の  $\text{Ca}^{2+}$  を通過させるとする。アボガドロ定数は  $6.0 \times 10^{23}$  分子  $\text{mol}^{-1}$  とする。有効数字 2 桁で答えよ。

(B) イオンチャネル共役型受容体は、神経や筋細胞など電氣的に興奮する細胞では特に重要だが、これに対して、G タンパク質共役型受容体 (GPCR) は実質的にあらゆる細胞で重要である。GPCR を介して作用する細胞外シグナル分子の多くは、アデニル酸シクラーゼ活性に影響して二次メッセンジャー分子であるサイクリック AMP (cAMP) の細胞内濃度を変化させる。G タンパク質の一種 ( $G_s$ ) の活性型  $\alpha$  サブユニットがアデニル酸シクラーゼを活性化して、ATP からの cAMP の合成を急増させる。

$G_s$ /アデニル酸シクラーゼ/cAMP 経路と共役している GPCR の一種として、胃腸内分泌細胞や膵臓細胞に分布する GLP1R (GLP-1 receptor) という受容体がある。GLP-1 は体内で特異的に GLP1R に結合し、これを活性化することにより血糖値を下げる効果をもつ。そのため、GLP1R は糖尿病や肥満症等の創薬標的としても注目されており、この受容体に作用する人工化合物の開発が続けられている。

特定の受容体と結合してその受容体を活性化させる機能をもつ分子は、内因性、外因性の作用薬等のいずれもアゴニストと呼ばれる。図 2 は、GLP1R の内因性アゴニスト GLP-1 と、アゴニスト候補化合物 1 ~ 4 の、GLP1R 活性化アッセイの結果である。この実験では GLP1R と Nano-lantern (cAMP-1.6) をヒト由来 HEK293 細胞に発現させ、そこにアゴニスト候補化合物を加えた。Nano-lantern (cAMP-1.6) は cAMP インジケーターで、細胞内の cAMP 濃度が低い時には発光しないが、細胞内の cAMP 濃度が上昇すると発光する性質をもち、cAMP 濃度が高いほど発光強度が高くなる。したがってアゴニスト候補化合物を加えて HEK293 細胞において発光が観察された場合、GLP1R が活性化していると判断される。



- 問6. ある化合物の「効力」の指標の一つとして、最低値からの最大反応強度（「効果」）の50%の値を示す化合物濃度を指す50%効果濃度（half-maximal effective concentration,  $EC_{50}$ ）がある。図2におけるGLP-1と化合物1～3の発光強度に基づき、4種それぞれの $EC_{50}$ を求めよ。
- 問7. 図2の結果をもとにして、調べた濃度範囲において得られた考察として、以下の文から正しいものを全て選択せよ。
- (a) 化合物1はGLP1RのアゴニストとしてGLP-1より「効力」が高い。
  - (b) GLP-1は全ての化合物より「効力」が高い。
  - (c) 化合物2は4つの化合物の中で最も「効力」が低い。
  - (d) 化合物4はGLP1Rのアゴニストではない。
- 問8. 化合物1～4の中で新薬候補化合物として最もふさわしいものを選び、その理由を1～2行で述べよ。
- また、人に実際に使用可能な新薬を開発するために $EC_{50}$ や効果に加え、検討しなければならない生物学的な事柄について3つ挙げ、それぞれ1～2行で述べよ。