

2025 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 7 の全てに答えよ。

(A) DNA の複製は、毎秒約 (ア) ヌクレオチドもの速さで進行するが、その精度は非常に高く、複製装置の誤りは (イ) 塩基対に 1 回程度しか起こらない。この正確な複製がどのようなしくみで達成されているのかについて研究が進められてきた。

DNA 二重らせんの糖ーリン酸主鎖には極性があり、2 本の鎖は互いに逆向きになっている。新しく複製された DNA 鎖は 2 本とも、複製装置が移動する方向へと伸長していくことから、1 本の鎖がある方向に合成されているならば、もう 1 本はそれとは反対の方向に合成されているはずである。しかし、DNA ポリメラーゼの反応には (I) という方向性があり、(II) 方向への合成は触媒できないために複製フォークに問題が生じる。この問題の解決法が、「返し縫い」法である。一見、(II) 方向へと伸長するように見える DNA 鎖は、実は短い断片に分けて少しずつ不連続に合成することで DNA 末端を伸ばしている。この場合、DNA ポリメラーゼは複製フォークの進行方向に対して後戻りしながら、短い断片を (III) 方向に合成する。この短い断片を、発見した日本人研究者にちなんで (ウ) とよぶ。この (ウ) の結合によって不連続に合成される鎖は (エ) 鎖、一方、連続的に (I) 方向に合成される鎖は (オ) 鎖と呼ばれる。

(エ) 鎖で不連続な複製がなされているとすれば、新しい合成を絶えず開始する必要があるが、DNA ポリメラーゼはプライマーがないと合成を開始することができない。

(ウ) の存在が提唱された当時は、まだプライマーを合成する酵素も、短い新生鎖を結合するための酵素も見つかっておらず、不連続な複製を信じる研究者は少なかった。その後しばらくして、プライマーの合成を行う (カ) と、新生鎖の結合を行う (キ) が相次いで発見された。実際、(キ) が機能しない条件下では、長い新生鎖の形成が抑制されるとともに、短い新生鎖が蓄積したことから、(エ) 鎖では (ウ) の結合による不連続な合成が行われていることが確認された。

複製の正確性を保つために、DNA ポリメラーゼには 2 つの能力が備わっている。第一に、DNA ポリメラーゼが付加するヌクレオシド三リン酸と鋳型鎖の塩基対形成をそのつど慎重に確認する。正しく対合するとポリメラーゼはわずかな (ク) 変化を起こし、その時にしか付加反応を触媒できない。第二に、DNA ポリメラーゼがごくまれに正しくないヌクレオチドを誤って付加したとしても、校正の機能によってその誤りを修正できる。
①DNA ポリメラーゼが一方向への DNA 合成しかしないからこそ、この機能は成り立つ。

上記の DNA ポリメラーゼの誤り以外にも様々な要因で DNA 複製の誤りは生じうる。例えば、DNA 上では複製装置以外にも、転写複合体が存在して常時転写を行っており、複製の進行を妨げる可能性がある。②細胞はそのようなコンフリクトに対して精巧な対処機構をもつことで、疾患などにつながるようなゲノム異常の発生を抑えていると考えられる。

問 1. (ア) ~ (ク)、(I) ~ (III) に当てはまる最も適切な語句または数字を答えよ。ただし (ア)、(イ) については以下の選択肢から適切な数字を選ぶこと。(I) ~ (III) については、最も適切な組み合わせを(a)~(d)から選ぶこと。

【(ア) の選択肢】 10^1 10^2 10^3 10^4 10^5

【(イ) の選択肢】 10^1 10^4 10^7 10^{10} 10^{13}

【(I) ~ (III) の組み合わせの選択肢】

(a) I 5'→3' II 3'→5' III 5'→3'

(b) I 5'→3' II 3'→5' III 3'→5'

(c) I 3'→5' II 5'→3' III 5'→3'

(d) I 3'→5' II 5'→3' III 3'→5'

問 2. 下線部①の理由を 4 ~ 6 行程度で説明せよ。ただし以下の語句を全て用いること。

【語句】 リン酸ジエステル結合、重合反応、エネルギー

問 3. 下線部②に関連して、転写と複製が起こすコンフリクトとゲノム異常に関して説明した次の文章を読み、(ケ) ~ (サ) については選択肢の中で最も適切な語句、(シ) については選択肢の中で当てはまらない語句を 1 つ選び、その記号で答えよ。

複製のタイミングは高度に制御されており、一般にユークロマチン領域が先に複製され、ヘテロクロマチン領域の複製は後回しになることが知られている。真核生物では転写活性化部位を概ね細胞周期の (ケ) に複製することで、転写と複製のコンフリクトに対処していると考えられているが、その詳細な分子メカニズムは不明な点が多い。近年の研究で、何らかの細胞ストレスによって転写反応に問題が生じた場合には、RNA がゲノム中の相補な配列と対合することで (コ) 構造が形成され、複製の障害となることが報告されている。それら処理するために様々な修復因子が集積するが、(サ) が DNA を切断するとゲノム異常が発生しやすい。一般に、DNA 損傷応答に問題が生じて発生するゲノム異常には (シ) など多数の種類がある。

【(ケ) の選択肢】

- (a) G₀/G₁ 期 (b) S 期の前半 (c) S 期の後半 (d) G₂ 期 (e) M 期

【(コ) の選択肢】

- (a) 投げ縄 (b) クロマチン (c) R-loop (d) ホリデイジャンクション

【(サ) の選択肢】

- (a) ペプチダーゼ (b) ヘリカーゼ (c) テロメラーゼ (d) ヌクレアーゼ

【(シ) の選択肢】(※当てはまらないものを1つ選ぶ)

- (a) 点突然変異 (b) 染色体不活性化 (c) 欠失
(d) 逆位 (e) 環状染色体 (f) 転座

(B) 細菌と (ス) の2つのドメインで構成される原核生物は、その多くが 1~10 (セ) メートル程度の長さ(長径)しかない微小な生物である。しかし、そうした原核生物に関する研究が、遺伝子工学における基礎技術をもたらしてきた。例えば、③ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法の改良には、熱水噴出孔や硫気孔に生息する原核生物に関する研究が重要な役割を果たしてきた。原核生物が持つ防御機構に関する研究も、広範な技術の基礎となってきた。原核生物の細胞内に侵入したウイルスの核酸を切断する④制限酵素は、特定の遺伝子を環状 DNA である (ソ) ベクターに組み込むクローニング技術の発展を支えてきた。

問4. (ス) ~ (ソ) に当てはまる最も適切な語句を答えよ。なお、(セ) については、以下の選択肢の中から1つを選ぶこと。

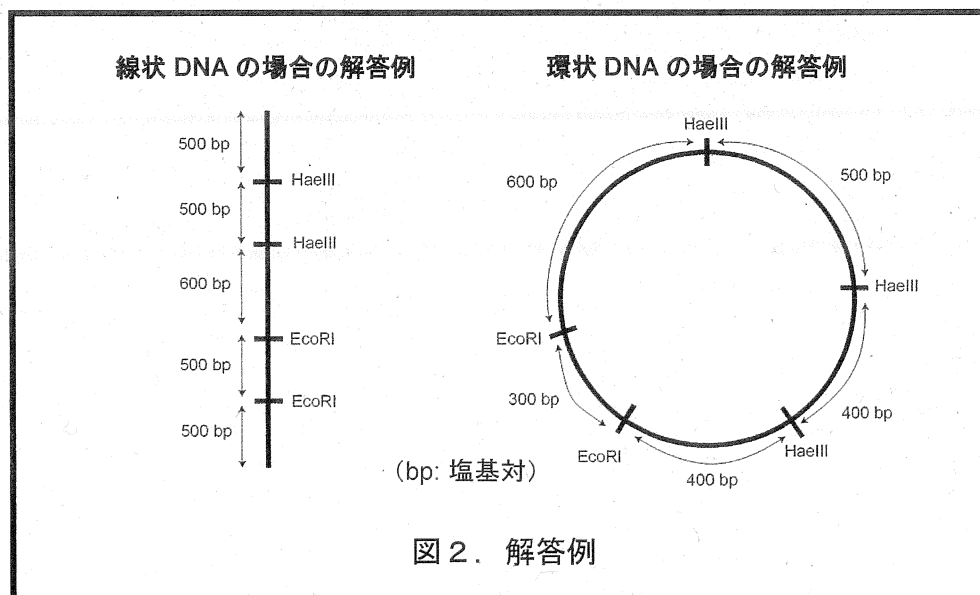
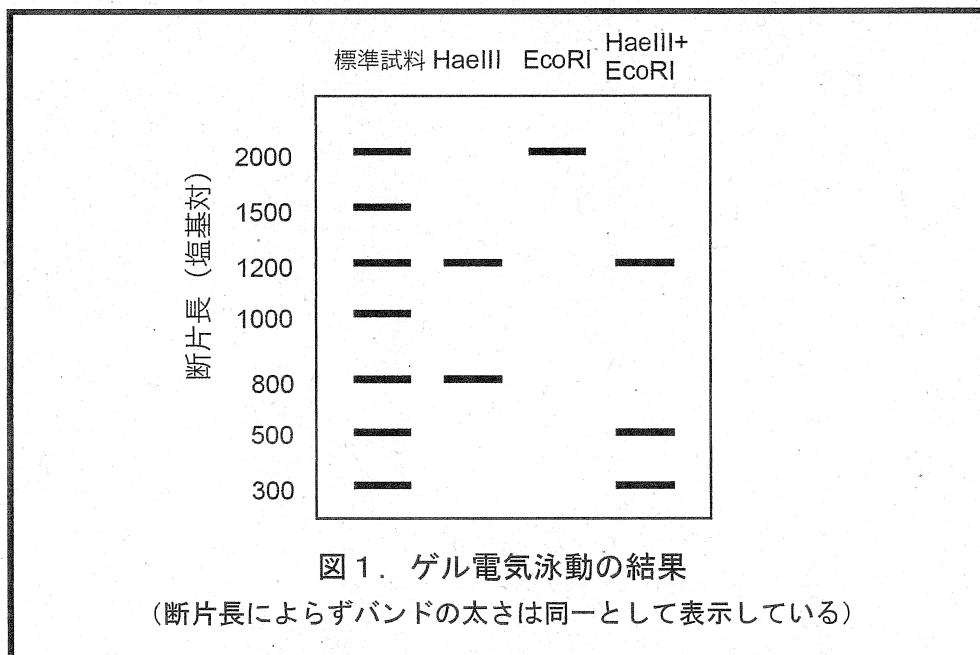
センチ フェムト ピコ マイクロ ナノ ミリ

問5. 下線部③に関連して、核酸配列の領域特異的な増幅に利用されるプライマーの塩基配列を設計する際、グアニンとシトシンが占める割合が重要となる。その理由を、PCR法の原理に言及しつつ、水素結合という語句を用いて6~8行程度で説明せよ。

問6. 500塩基対の標的領域をもつ二本鎖DNAが100分子含まれる反応溶液で40サイクルのPCRをおこなった場合、理論的に期待されるPCR増幅産物の収量を以下の選択肢(a)~(e)の中から1つ選べ。なお、PCRの増幅を抑制する不純物は反応溶液中に含まれておらず、溶液中のDNAポリメラーゼや基質となるヌクレオシド三リン酸の濃度も反応を通じて十分であるとする。DNA中のヌクレオチド1分子の平均モル質量を330 g/mol、アボガドロ定数を 6.0×10^{23} として計算して答えよ。なお、計算過程で $2^{10} \approx 10^3$ であることを利用してもよい。

- (a) 10~100 g (b) 10~100 mg (c) 10~100 μ g (d) 10~100 ng (e) 10~100 pg

- 問 7. 下線部④に関連して、遺伝子工学に用いられる制限酵素は、その種類によって標的塩基配列が異なる。制限酵素を使って、塩基配列が未知の二本鎖 DNA 分子 X を切断したとする。この二本鎖 DNA 分子 X が、線状 DNA なのか環状 DNA なのかは不明である。図 1 は、HaeIII もしくは EcoRI を単独で反応に使った場合、および、HaeIII と EcoRI を同時に反応に使った場合のそれぞれの産物を、大きさ既知のサイズマーカー（標準試料）とともにゲル電気泳動した結果である。切断断片の大きさに関する情報を基にして、二本鎖 DNA 分子 X 内に存在する HaeIII 標的塩基配列と EcoRI 標的塩基配列の相対的な位置関係を示す地図を作成せよ。解答に際しては、図 2 の解答例の様式を参考にする事。

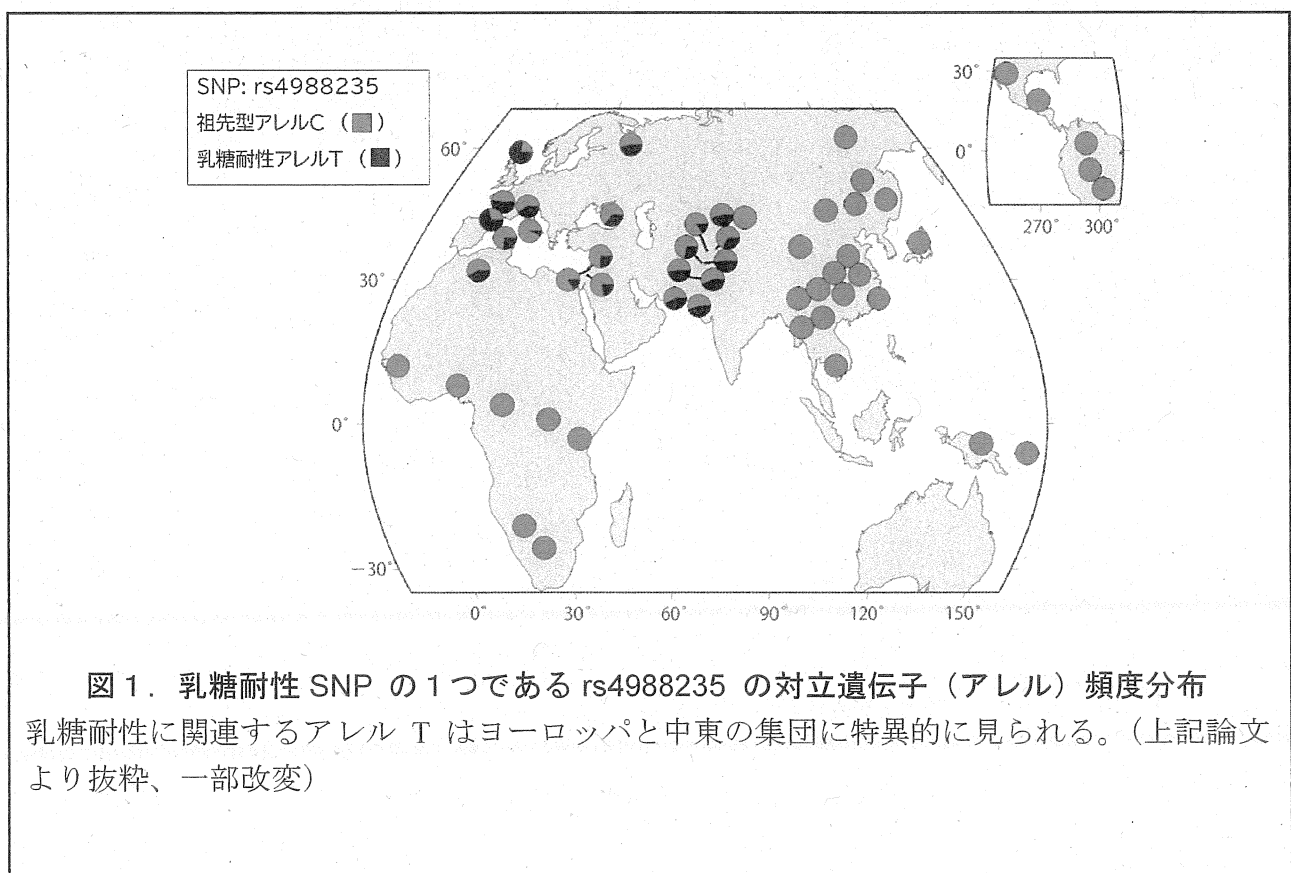


問題 2

次の文章を読み、問 1～問 7 の全てに答えよ。

ヨーロッパ人に高頻度で見出される乳糖耐性は、“正の自然選択”を受けた形質の代表例であり、*LCT* 遺伝子近傍の一塩基多型 (SNP) がその原因となっている (図 1)。哺乳動物の乳にはラクトースという二糖が含まれている。乳幼児では *LCT* 遺伝子がコードする①ラクターゼが、これを小腸で異化するので、栄養素として吸収することができる。ところが、成人では小腸での *LCT* 遺伝子の発現が低下するので、多量の乳を摂取しても、ラクトースを栄養源として利用できないばかりか、②未消化のラクトースが下痢症状を惹起してしまう。乳糖耐性の成人では、③*LCT* 遺伝子の発現調節領域に存在する SNP の影響で、*LCT* 遺伝子の発現が維持されており、ラクトースを十分に分解・利用できるのである。*LCT* 遺伝子に正の自然選択が働いたのは、ヨーロッパ人の祖先集団で、家畜の乳が離乳後の栄養源として極めて重要であったことと関連している。

(中山一大 (2015) *Anthropol. Sci. (J-Ser.)*, 123:67-73 より引用、一部改変)



問 1. 下線部①に関連して、以下の文章中の（ ア ）～（ ク ）に当てはまる語句および（ A ）～（ D ）に当てはまる数字を答えよ。

ラクトースの異化によって生成した（ ア ）は腸管細胞内を通過して血管へと輸送され、体内を循環しエネルギー源として利用される。1 分子の（ ア ）は細胞内に取り込まれると、まず（ イ ）において（ A ）分子のピルビン酸へと変換される。この過程を解糖という。この間、（ B ）分子の ATP が消費され、（ C ）分子の NADH と（ D ）分子の ATP が合成される。NADH や ATP などの高エネルギーを化学結合の形で蓄える化合物を（ ウ ）という。続いてピルビン酸はミトコンドリア・マトリックスにおいて（ エ ）へと変換され、（ エ ）はクエン酸回路で起こる連続反応に供される。クエン酸回路では（ エ ）と（ オ ）からクエン酸が合成される。クエン酸は段階的に酸化され、その過程で NADH や FADH_2 、（ カ ）といった（ ウ ）が作られ、廃棄物として CO_2 が作られる。最後に（ オ ）が再生されて次のサイクルに入る。エネルギー生産の最終段階である酸化リン酸化では、NADH や FADH_2 の持つ高エネルギー電子が電子伝達系に渡る。その結果、ミトコンドリア内膜を隔ててプロトン濃度勾配が生じ、このエネルギーが ATP の合成に利用される。

また、ラクトースの異化によって生じるもう一方の（ キ ）は、一部が門脈を経由して（ ク ）に運ばれ、（ ア ）に変換後、血中に放出されエネルギー源として利用される。

問 2. 嫌氣的条件下では、動物細胞において解糖によって生じるピルビン酸は何に変換されるか。またその反応（発酵）が生じる生理的意義について、2～3 行程度で説明せよ。

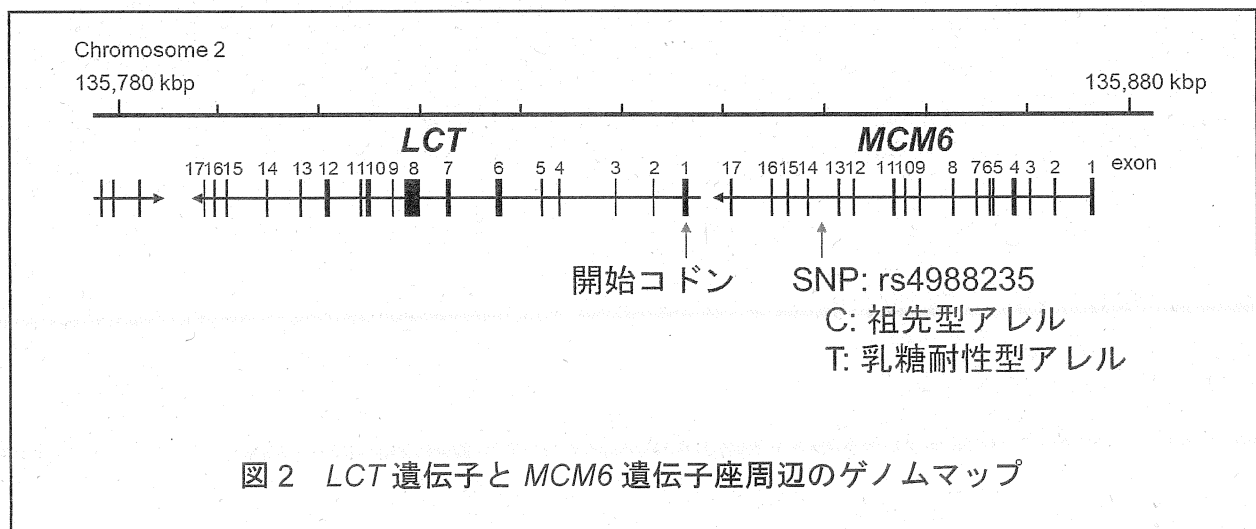
問 3. 糖新生は、事実上解糖の逆向きの連続反応である。多くの反応ステップでは同じ酵素が逆向きの反応も触媒するが、一部の不可逆的な反応ステップにおいては異なる酵素が使われ、糖をつくるか、分解するかを制御の鍵となる。このような酵素の例として解糖に関わるホスホフルクトキナーゼと、糖新生に関わるフルクトース 1,6-ビスホスファターゼがある。これら酵素の活性が調節されるしくみについて、以下の語句を全て用いて 5～7 行程度で説明せよ。

【語句】 AMP、ATP、フィードバック制御、アロステリック効果

問 4. 下線部②に関連して、ラクトース不耐症の諸症状（下痢、けいれん、腹痛、嘔吐など）は、大腸に定着する腸内細菌の代謝産物が関係すると考えられている。一方で、腸内細菌によって産生される短鎖脂肪酸には宿主に対する多くの生物活性が知られており、宿主腸上皮細胞のエネルギー源としても重要である。炭素数 4 の短鎖脂肪酸である酪酸（ブタン酸）が宿主細胞のエネルギー源として利用される経路について 2 ～ 3 行程度で説明せよ。

問 5. 下線部③に関連して、当該の SNP (rs4988235) は図 2 のように *LCT* 遺伝子の開始コドンから 13.9 kbp 上流の、*MCM6* 遺伝子のイントロン配列中に存在し、その塩基が C であるものが祖先型アレル、T であるものが乳糖耐性アレルである。この SNP は *LCT* 遺伝子の発現調節に関わることがわかっている。なお、*MCM6* 遺伝子は DNA ヘリカーゼである MCM 複合体のサブユニットをコードする。これらのことを踏まえ、乳糖耐性アレルをもつ場合に *LCT* 遺伝子の発現が成人において維持されるメカニズムとして適切なものを以下の選択肢(a)～(d)から全て選べ。

- (a) DNA メチル化の促進
- (b) エンハンサー領域への転写促進因子の結合維持
- (c) プロモーター領域への RNA ポリメラーゼの結合促進
- (d) MCM6 タンパク質の安定性の上昇



問 6. *LCT* 遺伝子の発現やラクターゼ活性に影響を及ぼす SNP は rs4988235 以外にもいくつか知られている。ここで仮に、ラクターゼ触媒ドメイン中のそれぞれ異なるアミノ酸残基の置換を引き起こす遺伝子変異 *A* および *B* があるとする。野生型酵素と変異 *A* あるいは *B* を有する変異型酵素を調製し、ラクトースに対する触媒反応について速度論的パラメータを求めたところ、表 1 のような結果が得られた。これに関して以下の (1) および (2) の問いに答えよ。

なお、反応初速度 V_0 、最大反応速度 $V_{\max}$ はそれぞれ、

$$V_0 = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

$$V_{\max} = k_{\text{cat}}[E]$$

と定義できる。ここで $[S]$ は基質濃度、 K_m はミカエリス定数、 k_{cat} は代謝回転数、 $[E]$ は酵素濃度をあらわす。

表 1 求められた速度論的パラメータ

酵素	K_m (mM)	k_{cat} (s^{-1})
野生型	0.25	60
変異 <i>A</i> 型	0.025	120
変異 <i>B</i> 型	1.00	10

- (1) 野生型酵素の触媒反応について、基質濃度 $[S]$ を横軸に、反応初速度 V_0 を縦軸に表した S - V プロットを作成したところ図 3 のようなグラフが得られた。変異 *A* 型酵素および変異 *B* 型酵素の S - V プロットとして最も適切なものを選択肢 (a) ~ (f) の中からそれぞれ 1 つ選べ。ただし、用いた酵素濃度はいずれも野生型酵素と同じとする。

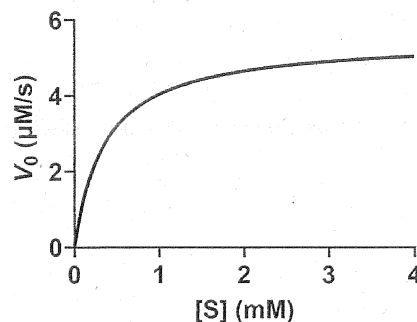
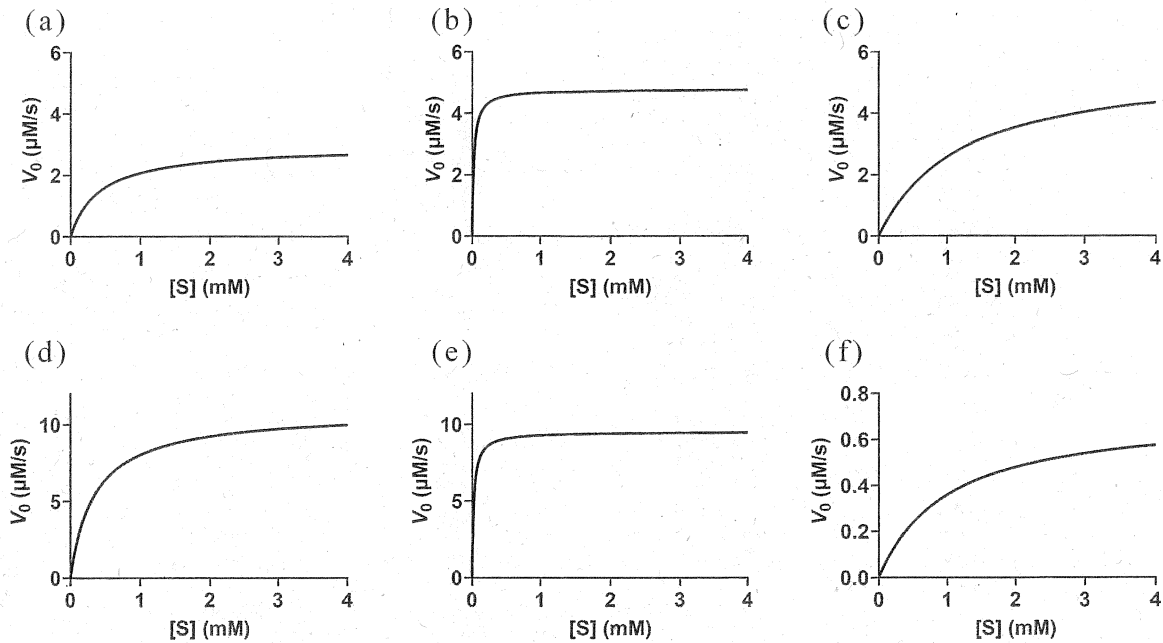


図 3 野生型酵素の S - V プロット



- (2) 野生型酵素、変異 A 型酵素、変異 B 型酵素を用いてそれぞれ同一条件で反応した場合に、最も多量にラクトースが異化される酵素を選び、その酵素によって 10 分間に異化されるラクトースの質量 (g) を有効数字 3 桁で答えよ。ただし、反応中は V_{max} の条件で反応が進行すると仮定する ($[S] \gg K_m$)。また、酵素濃度 $[E]$ は $1.0 \mu\text{M}$ 、反応溶液量は 10 mL、ラクトースのモル質量は 342 g/mol とする。

問 7. 疾患を含む表現型とゲノム配列の遺伝統計学的な関連性を明らかにする手法にゲノム関連解析 (Genome-Wide Association Study: GWAS) がある。GWAS について述べた以下の (a)~(d) の文に関して内容が誤っているものを 1 つ選べ。

- (a) GWAS の結果をもとに、個々人の遺伝子プロファイルに基づいた個別の治療法や予防策が開発される可能性がある。
- (b) 大規模なサンプルサイズと豊富な遺伝子データを用いることで、疾患のリスク因子や新たな治療法の発見に貢献できる。
- (c) GWAS のような大規模集団の研究は、頻度がまれな潜性 (劣性) 致死遺伝子座の特定にも適用することが容易である。
- (d) SNP 以外に、コピー数多型や転座、逆位などさまざまな遺伝子多型についても形質との関連を調べることが可能である。

問題 3

次の文章を読み、問 1～問 7 の全てに答えよ。

ミトコンドリアは、ほぼ全ての真核細胞に存在する細胞小器官であり、2 枚の脂質二重膜（外膜および内膜）によって区画化され、外膜と内膜の間は膜間腔、内膜の内側はマトリックスと呼ばれている。内膜は複雑に折りたたまれ、マトリックス空間に突き出た（ア）と呼ばれるひだ状の構造をつくっているため、内膜の表面積は非常に大きくなっている。

ミトコンドリアは、植物がもつ①葉緑体と同様に、10 億年以上前に祖先細胞が取り込んだ細菌から進化したものであると考えられており、それぞれ独自のゲノムをもっている。現在ではミトコンドリアタンパク質の遺伝子の大部分は核ゲノムに移行しており、②ミトコンドリアゲノムにコードされたミトコンドリアタンパク質の遺伝子はヒトではわずか 13 個である。核ゲノムにコードされたミトコンドリアタンパク質は、細胞質で合成されたのち、そのアミノ酸配列中に含まれる（イ）のはたらきでミトコンドリアへと運ばれる。

ミトコンドリアは多彩な細胞機能を担っているが、最も主要な機能は ATP の産生である。③NADH 等がもつ電子が電子伝達系を經由して酸素に受け渡される過程でプロトン (H^+) が内膜の片側からもう一方の側へとくみ出され、内膜の内外に電位差とプロトン濃度の勾配が生まれる。この電位差とプロトン濃度勾配にしたがってプロトンが膜の反対側に戻ろうとする力（プロトン駆動力）を利用して、内膜に存在する ATP 合成酵素が ADP とリン酸から ATP を合成する。ATP 合成が活発なミトコンドリアは酸化ストレスにさらされやすい。強く障害を受けたミトコンドリアは、外膜表面のタンパク質がユビキチン化され、④オートファジー経路で分解される。このしくみによって、細胞内のミトコンドリアの品質が保たれていると考えられている。

ミトコンドリアは、⑤アポトーシスにおいても重要な起点となっている。DNA 損傷などが起こると、特定の分子の活性化によってミトコンドリア外膜の透過性が変化し、呼吸鎖において電子伝達を担うヘムタンパク質である（ウ）がミトコンドリア膜間腔から細胞質へと放出される。細胞質へ放出された（ウ）はアダプタータンパク質と結合してアポトソームと呼ばれる複合体を形成する。続いてアポトソーム上で活性化された誘導型カスパーゼが実行型カスパーゼを（エ）して活性化する連鎖反応がおこり、アポトーシスが進行する。

問 1. （ア）～（エ）に当てはまる最も適切な語句を答えよ。

問 2. 哺乳類のミトコンドリアゲノムの親から子への伝達について、最も適切な説明を以下の選択肢(a)~(f)の中から 1 つ選べ。

- (a) 卵にはミトコンドリアが含まれないため、子には父親由来のミトコンドリアゲノムが引き継がれる。
- (b) 精子にはミトコンドリアが含まれないため、子には母親由来のミトコンドリアゲノムが引き継がれる。
- (c) 受精後、卵由来のミトコンドリアは除去されるため、子には父親由来のミトコンドリアゲノムが引き継がれる。
- (d) 受精後、精子由来のミトコンドリアは除去されるため、子には母親由来のミトコンドリアゲノムが引き継がれる。
- (e) 受精卵中で両親由来のミトコンドリアゲノムが組換えをおこすため、子のミトコンドリアゲノムは父親と母親のミトコンドリアゲノムのハイブリッドである。
- (f) 受精卵中では両親由来のミトコンドリアゲノムは組換えをおこさず、子のミトコンドリアゲノムは、母親由来のものと父親由来のものの両方をもっている。

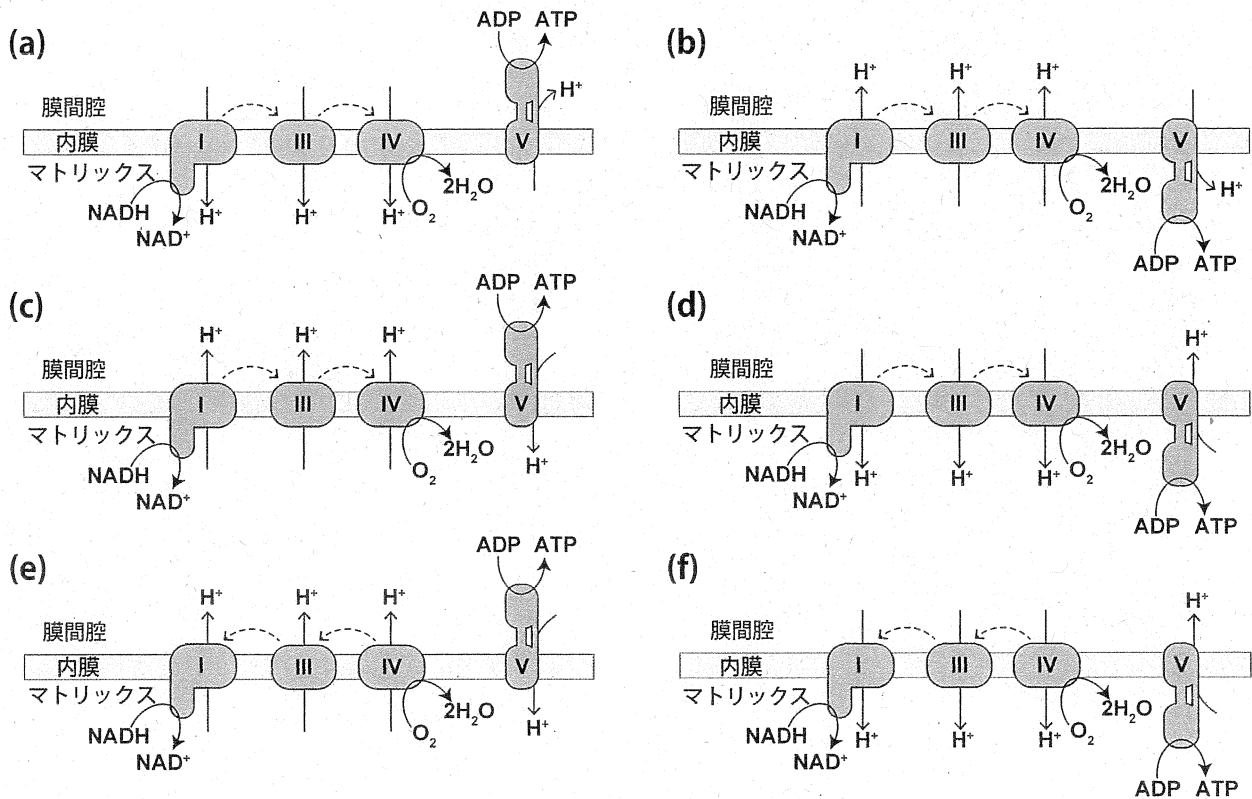
問 3. 下線部①に関連して、葉緑体に関する説明として最も適切なものを以下の選択肢(a)~(f)の中から 1 つ選べ。

- (a) チラコイド膜にあるアンテナ複合体には多数のカロテノイド分子が配置されており、光のエネルギーを吸収して効率的に反応中心へと送り込む。
- (b) 光化学系 II において、電子受容体に電子を渡すことで電子を失ったスペシャルペアに、水が酸素に分解される過程で生じた電子が補充される。
- (c) 葉緑体内膜に存在する ATP 合成酵素は、明反応で形成されるプロトン駆動力を利用して ATP を合成している。
- (d) 明反応でつくられた ATP と NADH は、主に葉緑体内で炭素固定回路を駆動するために用いられる。
- (e) 炭素固定でつくられた糖の多くはチラコイド内腔にとどまり、デンプンに変換される。
- (f) 光合成に必要なタンパク質をコードしている遺伝子は、全て葉緑体ゲノム上に存在する。

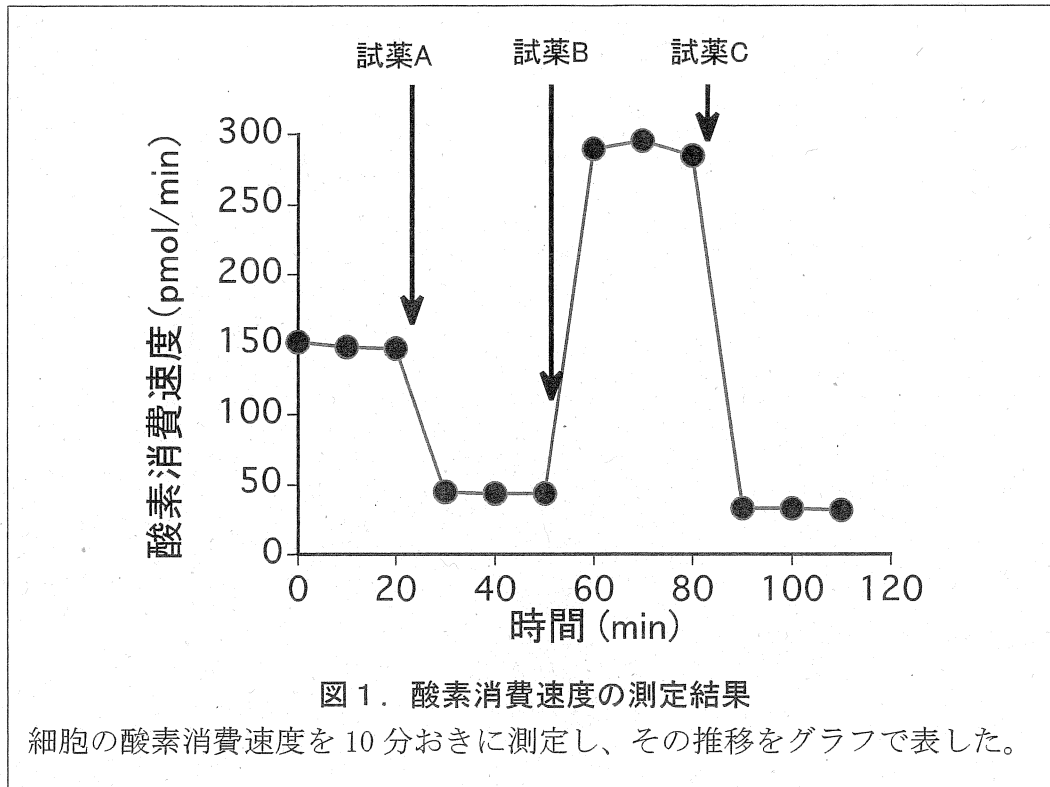
問 4. 下線部②に関連して、ミトコンドリアゲノム上に残っている遺伝子にコードされたタンパク質は全て膜内在性であり、極めて疎水性度が高いという特徴がある。仮にこれらの遺伝子が核ゲノムにコードされた場合、どのような問題が生じると考えられるか。2~4 行程度で答えよ。なお、核ゲノムにコードされたミトコンドリアタンパク質はサイトゾルで翻訳され、小胞輸送にはよらない経路でミトコンドリアに輸送されることとする。

問5. 下線部③に関連して、(1)と(2)の問いに答えよ。

- (1) 哺乳類のミトコンドリア内膜には呼吸鎖複合体と呼ばれる5種類のタンパク質複合体(I~V)が存在している。呼吸鎖複合体VはATP合成酵素である。NADHの酸化で駆動されるATP合成を説明する模式図として、最も適切なものを以下の選択肢(a)~(f)の中から1つ選べ。破線の矢印は電子の移動方向を示している。なお、呼吸鎖複合体IIは図示していない。



- (2) 細胞の酸素消費速度を測定する装置を用いて、試薬 A～C を逐次加えた際の酸素消費速度の変化を観察したところ、図 1 に示す結果が得られた。



試薬 A～C は、①呼吸鎖複合体 I と III の阻害剤の混合物、②呼吸鎖複合体 V (ATP 合成酵素) の阻害剤、③ミトコンドリア内膜のプロトン駆動力解消剤、のいずれかである。試薬 A～C の内容物として正しい組み合わせを以下の選択肢(a)～(f)の中から 1 つ選べ。

- (a) A: ① B: ② C: ③
- (b) A: ① B: ③ C: ②
- (c) A: ② B: ① C: ③
- (d) A: ② B: ③ C: ①
- (e) A: ③ B: ① C: ②
- (f) A: ③ B: ② C: ①

問 6. 下線部④に関連して、蛍光タンパク質を利用した実験を計画した。蛍光タンパク質がもつ発色団は、励起光を吸収すると基底状態から励起状態へと移行し、励起光より長波長の光（蛍光）を発して基底状態へと戻る性質をもつ。図 2 は、ある蛍光タンパク質 K の 620 nm における蛍光強度を、励起波長を 350 nm から 610 nm の間で変化させながら測定したグラフである。測定は 2 つの異なる pH (pH 5.5 と pH 8.0) でおこなった。

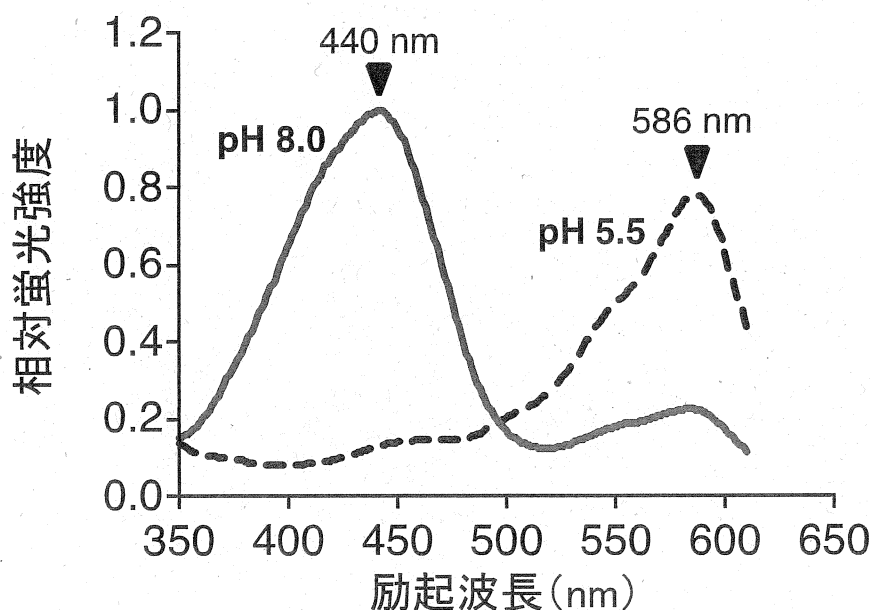


図 2. 蛍光タンパク質 K の蛍光強度の励起波長依存性

精製した蛍光タンパク質 K の 620 nm における蛍光強度を、pH 8.0 (実線) と pH 5.5 (破線) の緩衝液中で、励起波長を変化させながら測定した。用いた蛍光タンパク質 K の濃度は、どちらの pH でも同じである。縦軸は pH 8.0 緩衝液中で、440 nm で励起した際の蛍光強度を 1 とする蛍光強度の相対値である。

実験は以下の手順でおこなう。まず、蛍光タンパク質 K をミトコンドリア・マトリックスに発現した細胞を用意し、細胞の培地にミトコンドリアのオートファジーを誘導する化合物 M を加える。化合物 M を添加した直後とオートファジーが十分に進むと考えられる 4 時間後に、蛍光顕微鏡を用いて、440 nm の光で励起した際の 620 nm における蛍光画像と、586 nm の光で励起した際の 620 nm における蛍光画像を取得する。この実験において、ミトコンドリアは蛍光性を示す多数の細胞内構造体として観察される。最後に、画像解析ソフトを用い、440 nm で励起したときの蛍光強度を 586 nm で励起したときの蛍光強度で割った比率 (440/586 比) を、各ミトコンドリア粒子について計算する。

化合物 M 添加後 4 時間では、添加直後と比べどのような変化が起こると予想されるか。以下の選択肢(a)~(d)の中から正しいと考えられるものを 1 つ選び、そのように考えた理由をオートファジーのしくみをふまえながら 3 ~ 5 行程度で説明せよ。

- (a) 大部分のミトコンドリア粒子において 440/586 比は変化しない。
- (b) 440/586 比が高いミトコンドリア粒子の数が増加する。
- (c) 440/586 比が低いミトコンドリア粒子の数が増加する。
- (d) 440/586 比が高いミトコンドリア粒子と低いミトコンドリア粒子がほぼ同じ数増加する。

問 7. 下線部⑤に関連して、細胞のアポトーシスとネクローシス（壊死）の違いを、形態学的な特徴や生理学的な影響の観点から説明し、なぜアポトーシスが「プログラムされた細胞死」と呼ばれるのかを 5 ~ 8 行程度で述べよ。記述にあたっては、下の語句を全て用いること。

【語句】 クロマチン、マクロファージ、炎症反応、恒常性

問題 4

次の (A) と (B) の文章を読み、問 1～問 7 の全てに答えよ。

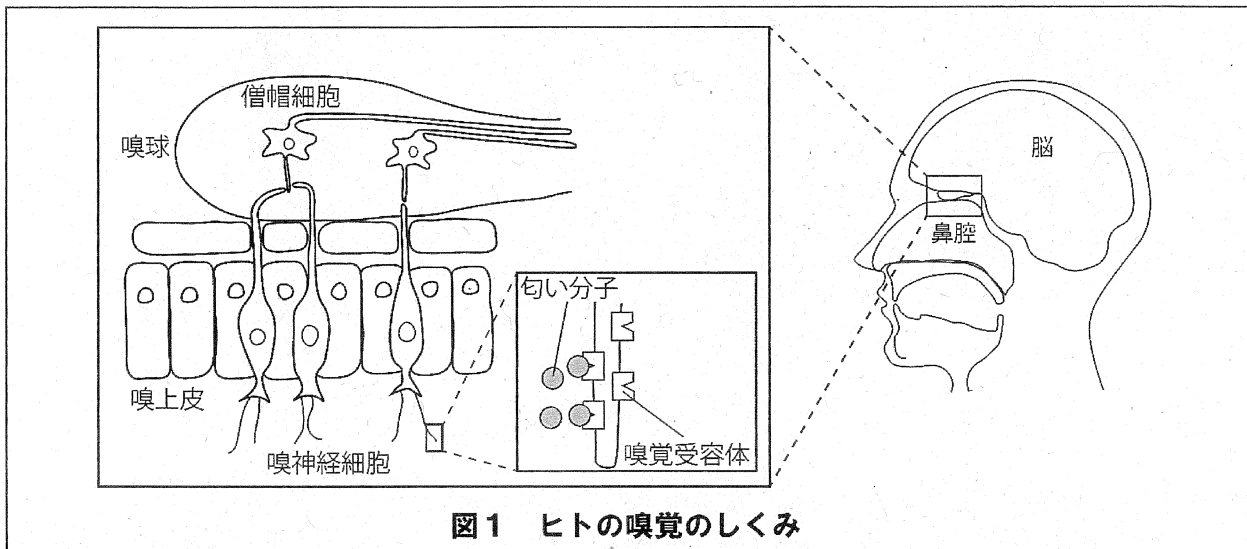
(A) ヒトの生体内において、細胞は様々な刺激によってシグナルの入力を受け、その刺激に応じた応答を引き起こす。①細胞外シグナル分子は、細胞膜に存在する受容体のリガンドとして作用し、受容体を介してシグナルが細胞内に伝達される。これら受容体は、シグナル伝達の分子機構の違いによって、イオンチャネル共役型受容体、②酵素共役型受容体、Gタンパク質共役型受容体の 3 つのグループに分類される。イオンチャネル共役型受容体はリガンドが結合すると、チャネルが開いてイオンが細胞内に流入し、細胞の膜電位が変化する。ヒトにおける酵素共役型受容体は (ア) 回膜貫通型の受容体であり、これらの多くは細胞内ドメインに標的タンパク質の (イ) 残基をリン酸化する酵素活性をもつ。リン酸化された標的タンパク質は、その下流の遺伝子の発現調節をおこなうことで細胞機能を制御している。Gタンパク質共役型受容体は (ウ) 回膜貫通型であり、受容体の (エ) 末端側が細胞内にある。受容体にリガンドが結合すると受容体が活性化され、下流の分子を活性化あるいは阻害して細胞の活動を変化させる。これら 3 つの受容体グループのうち、ヒトの生体内においては (オ) 共役型受容体が最も種類が多く存在し、今日使用されている医薬品のおよそ 3 分の 1 がこの受容体グループを標的としている。

問 1. (ア) ～ (オ) に当てはまる最も適切な語句、文字または数字を答えよ。

問 2. 下線部①に関連して、血流によって遠く離れた標的細胞まで運ばれるシグナル分子の具体的な名称を 2 つ挙げよ。

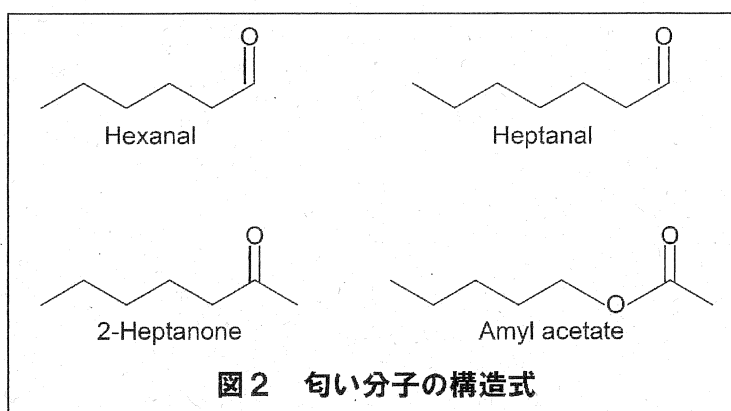
問 3. 下線部②に関連して、結合したリガンドが受容体から解離する以外に、活性化された受容体の反応を終了させるメカニズムについて 3～5 行程度で説明せよ。

(B) 図1はヒトの嗅覚のしくみを模式的に示したものである。嗅覚受容体は、鼻腔の奥にある嗅上皮に存在する嗅神経細胞の繊毛の表面に発現している。空気中に存在する揮発性の有機化合物である匂い分子が鼻腔の粘液に溶解し嗅神経細胞の嗅覚受容体に結合すると、環状ヌクレオチド作動性チャネルを介してナトリウムイオンやカルシウムイオンが細胞内に流入する。その結果、嗅神経細胞に活動電位を発生（「発火」）させる。嗅神経細胞で発生した電氣的信号は、嗅球の僧帽細胞を介して脳へ伝わることで匂いの感覚が生じる。ヒトの嗅覚受容体は約 400 種類存在し、1 個の嗅神経細胞は1種類の嗅覚受容体だけを選択的に発現している。脳は匂いに対して、③400 種類の嗅覚受容体の組み合わせや活性化の程度を符号化し処理することで匂いを識別していると考えられる。



問4. 下線部③に関連して、匂い分子に対する個々の嗅神経細胞の発火パターンが「発火する」と「発火しない」だけと仮定すると、ヒトが識別可能な匂いの数は最大何種類と概算できるか答えよ。解答は「 3^2 」のように、指数のかたちで表記してもよい。

問 5. 匂い分子と神経活動の関係について調べるため、嗅覚受容体 OR-X を発現している嗅神経細胞を単離し培養した。神経活動を計測するため、蛍光カルシウム指示薬を細胞内に導入し、顕微鏡で観察をおこなった。蛍光カルシウム指示薬の蛍光強度変化は、嗅神経細胞の発火頻度と正に相関している。図 2 に示した 4 種類の匂い分子（液体）について、濃度を変えて培地に添加したところ、表 1 のような結果が得られた。これらの実験結果から考えられることとして、最も適切なものを(a)～(d)から 1 つ選択せよ。ただし、培養した嗅神経細胞は OR-X 以外の嗅覚受容体は発現していないものとする。また、4 種類の匂い分子はいずれも OR-X 以外の内在性受容体には結合しないものとする。



蛍光強度変化率 $\Delta F/F_0$ (%)				
匂い分子	濃度 (mM)			
	0.1	1.0	10	100
Hexanal	10	50	100	300
Heptanal	10	50	100	300
2-Heptanone	0	0	20	300
Amyl acetate	30	100	200	300

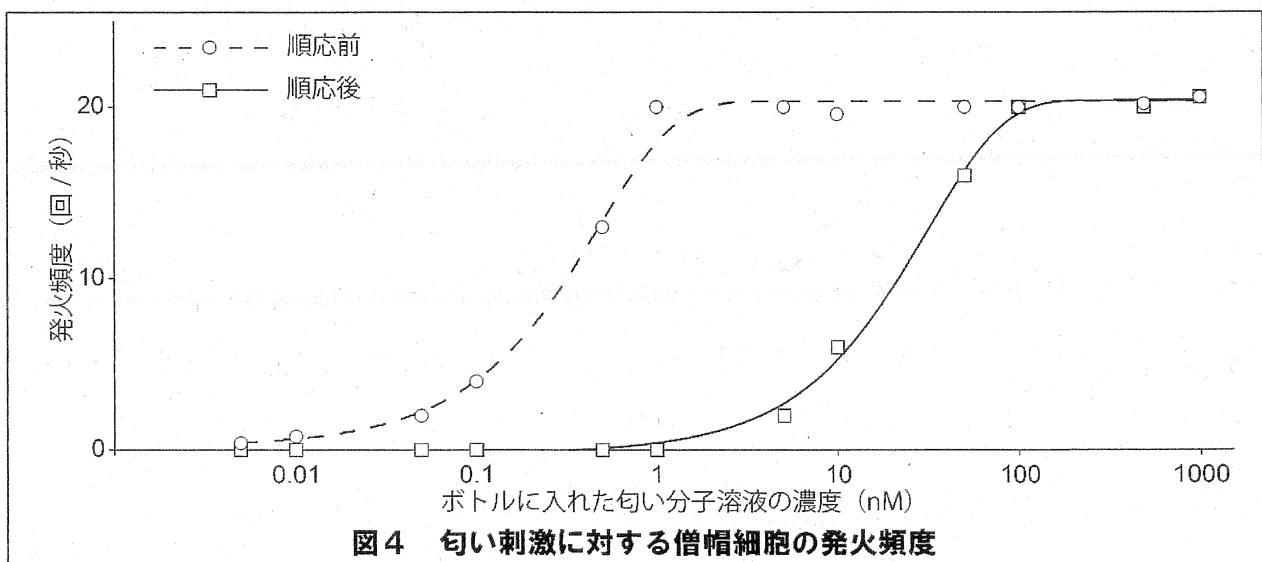
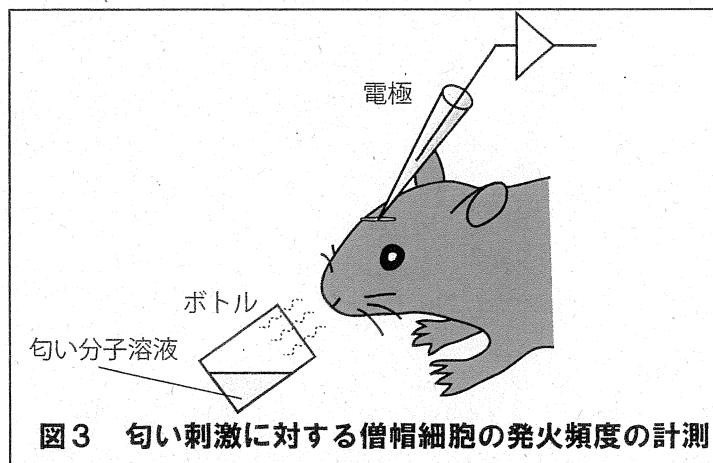
$$\Delta F/F_0 (\%) = \frac{F - F_0}{F_0} \times 100$$

F : 匂い刺激後の嗅神経細胞の蛍光強度の最大値
 F_0 : 匂い刺激直前の嗅神経細胞の蛍光強度

表 1 匂い刺激に対するカルシウム指示薬の蛍光強度変化率

- (a) 匂い分子の分子量が小さいほど、低濃度で嗅神経細胞を発火させる。
- (b) 構造異性体の関係にある匂い分子に対して、嗅神経細胞は同じ発火頻度を示す。
- (c) 同じ官能基を持つ匂い分子は、炭素鎖の長さが異なっても発火頻度の濃度依存性は同じである。
- (d) 匂い分子の濃度が高い場合のみ、嗅覚受容体は匂い分子の構造に基づいた特徴的な発火頻度を示す。

問6. 嗅球の僧帽細胞の神経活動について電極を使って計測をおこない、匂い刺激に対する応答性の変化について調べた。図3に示すように、匂い分子溶液の入ったボトルをマウスの鼻に近づけることで匂い刺激（3秒間）を与え、生じた活動電位の頻度（発火頻度）を測定した。ボトルに入れた匂い分子の濃度と僧帽細胞の発火頻度の関係について調べたところ、図4の破線のような結果となった。次に、10 nM の濃度の匂い分子の溶液を入れたボトルを使って匂い刺激を毎日5分間、3日間繰り返して順応を起こさせたのち、再びボトルに入れた匂い分子溶液の濃度と発火頻度の関係について調べたところ、図4の実線のような結果が得られた。この結果をもとに、匂い分子に対する僧帽細胞の応答性は順応前後でどのように変化したかを簡潔に述べよ。また、このような変化は匂い分子の濃度変化の知覚にどのような利点があると考えられるか、理由とともに3～5行程度で説明せよ。ただし、実験に用いた匂い分子に対して、マウスは先天的な嗜好性や忌避性はないものとする。



問7. 恐怖条件付け試験は、学習や記憶といった高次脳機能を評価するために利用される行動実験の一つである。この試験では、匂いなどそれ自体では恐怖反応を誘導しない条件刺激と電気ショックなどの恐怖反応を誘導する非条件刺激を提示することで、動物は両者の関連を学習し、条件刺激だけで恐怖反応を示すようになる。野生型マウスと遺伝子Yのノックアウトマウスを用いて恐怖条件付け試験をおこなった。図5に示すように、実験1日目に匂い分子（気体）を満たした箱Aに入れたマウスに対して電気ショックを与え5分間行動を観察したところ、野生型マウスと遺伝子Yノックアウトマウスはともに強いすくみ反応を示した。翌日以降（実験2～8日目）、箱Aとは異なる形状の箱Bに実験1日目と同じ匂い分子（気体）で満たし、マウスを箱の中に5分間入れた。この時、マウスには電気ショックは与えない。箱の中でマウスがすくみ反応を示した時間を記録したところ、図6のような結果が得られた。記憶に関する遺伝子Yの機能について、図6のグラフから読み取れることに言及しつつ、3～5行程度で説明せよ。ただし、実験に用いた匂い分子に対して、マウスは先天的な嗜好性や忌避性はもたないものとする。

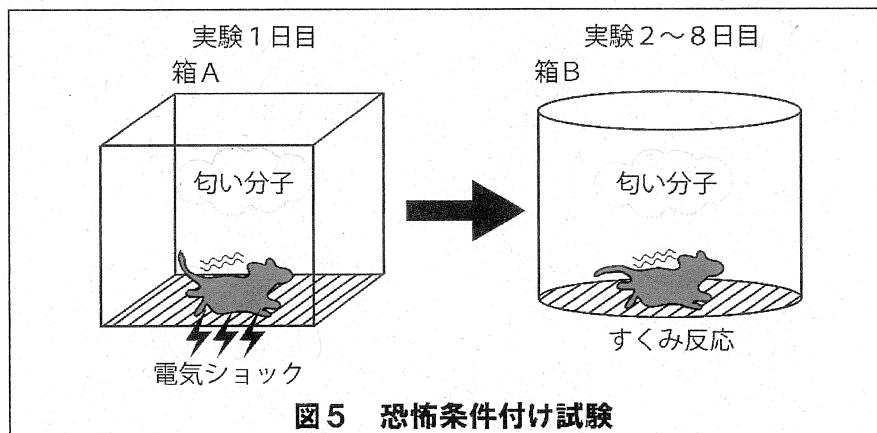


図5 恐怖条件付け試験

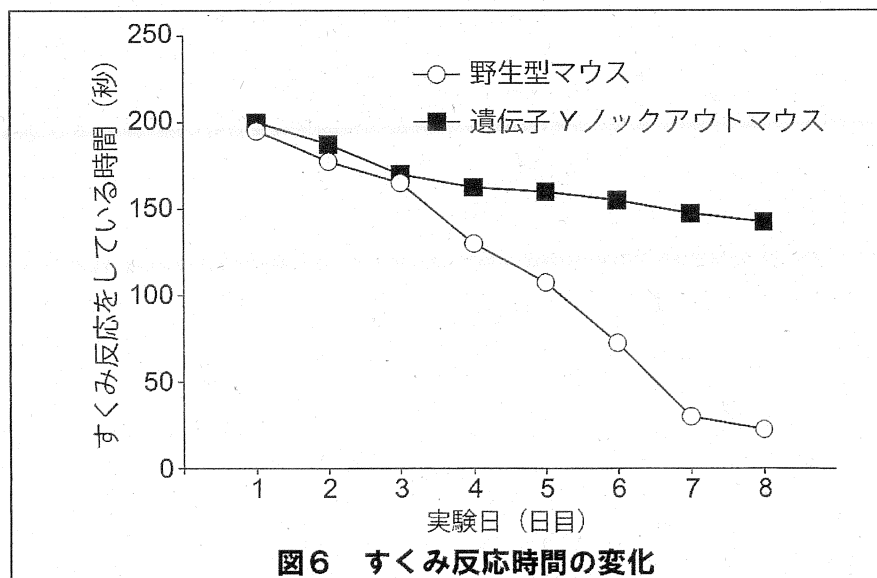


図6 すくみ反応時間の変化