

平成30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。共通専門科目の問題1は必ず解答せよ。さらに問題2～問題4の3問題から1問題を選択して解答せよ。問題2から問題4のうち2問以上を解答した場合は、共通専門科目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。

## 問題 1

次の文章を読み、問1～問8の全てに答えよ。

細胞は、数千から数万ある遺伝子の中でどれを発現させるかを、どのようにして決めるのだろうか。単細胞生物は、手に入る栄養源の種類に応じて必要な代謝酵素を作っている。多細胞の植物や動物では、胚発生の過程で、1個の受精卵から構造や機能が異なる多種多様な細胞ができる。これらは、①遺伝子発現の違いによって起こり、主に転写の調節により制御されている。

たとえば、単細胞生物である大腸菌は周囲にトリプトファンが豊富にあるときには、それを細胞に取り込んで使っているが、外界からの供給が不足する場合には、トリプトファン生合成経路の酵素をコードする遺伝子群を発現させ、トリプトファンの生合成を行う。これらの遺伝子群は、②細胞内の遊離トリプトファン濃度に応じて発現調節されている。

一方、多細胞生物では、細胞の種類ごとに異なる組み合わせの③転写調節因子が作られ、その細胞に特徴的な遺伝子群が発現する。いったん平滑筋細胞や肝細胞などに（ア）した細胞は、その遺伝子発現状態を維持し、子孫細胞へも受け継ぐ。このような細胞記憶の方法として最も簡単なのは、鍵となる転写調節因子が自分自身の遺伝子の転写を活性化する正の（イ）ループである。また、ヒストン修飾により④クロマチン構造を伝える方法もある。さらに、⑤DNAのメチル化を利用する方法も使われている。これらの細胞記憶のしくみは、DNAの塩基配列を変えずに親細胞から娘細胞に情報を伝えるため、（ウ）な遺伝の例といえる。

以上のメカニズムを明らかにする上で、⑥細胞内あるいは個体内における、ある特定の遺伝子の発現量や発現時期、細胞特異性を、mRNAレベルあるいはタンパク質レベルで調べることは非常に重要である。それらは、生化学的な活性だけでは予想できないタンパク質の機能を知る手がかりとなりうる。そして近年では、ある細胞集団において、どの遺伝子が活発に発現し、どの遺伝子の発現が休止しているかを網羅的に調べる手法が複数開発されており、（ア）に伴う遺伝子発現変化の解析のみならず、あらゆる分野に利用されている。

問1. 文章中の（ア）～（ウ）に当てはまる適切な語句を答えよ。なお、同じ文字で示された空欄には同じ語句が入るものとする。

問2. 下線部①に関連して記述した以下の文章（A）～（D）が意味する語句を、下記の例にならって答えよ。

（例）触媒活性を持つRNA分子。      解答：リボザイム

- （A） mRNAの形成過程において、RNA分子からイントロンが切り取られる過程。
- （B） 真核生物の染色体の基本単位をなすビーズ状の構造。ヒストン・コアの周りにDNAが巻きついてできる。
- （C） タンパク質合成の際に、mRNAとアミノ酸の接続役（アダプター）として働く小さいRNA分子。
- （D） ステロイドホルモンなどの細胞に入り込んだシグナル分子に結合した後、核内に入り転写を調節する、真核細胞内にある受容体タンパク質。

問3. 下線部②の発現調節機構について、下記の語句を全て用いて3～6行程度で説明せよ。

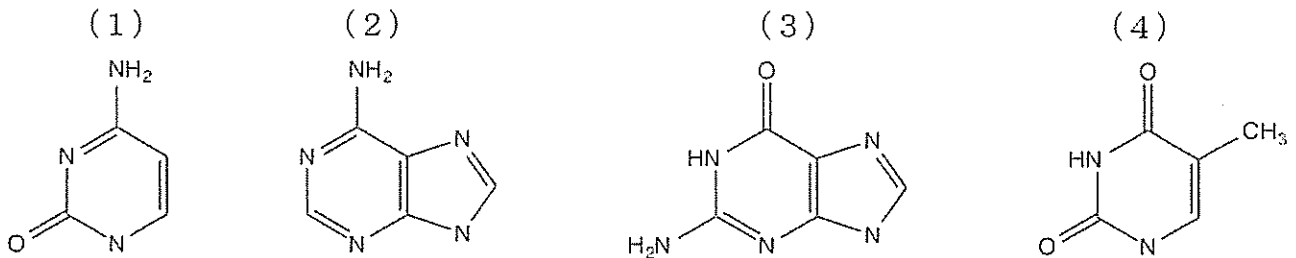
- 転写
- トリプトファンリプレッサータンパク質
- アロステリック
- オペレーター
- トリプトファン濃度

問4. 下線部③について、転写調節因子が持つ代表的なDNA結合モチーフ（ドメイン）を1つ挙げよ。

問5. 下線部④について、下記の（I）と（II）をそれぞれ何と呼ぶか答えよ。加えて、（I）と（II）のどちらのクロマチンに位置する遺伝子の方が転写されやすいかを、（I）あるいは（II）で記せ。

- （I） 凝縮度が高い間期クロマチン
- （II） （I）より凝縮度の低い間期クロマチン

問6. 下線部⑤について、脊椎動物細胞の DNA では、ある1種類の塩基がメチル化される。その塩基の名前を述べ、その構造式を下記の(1)～(4)から選択せよ。またメチル化された場合、通常、遺伝子発現はオンになるかオフになるかを述べよ。



問7. 下線部⑥で用いられる手法を2つ挙げ、それぞれについて原理を2～5行程度で簡潔に述べよ。

問8. 多細胞の動物において、多種多様な細胞から組織が構築され、安定に維持されるためには、細胞記憶以外にも、以下の2つの要因(a)(b)が重要な役割を担っている。これらの要因がどのようにして組織の構築や維持に機能しているかを、(a)(b)それぞれについて2～5行程度で簡潔に説明せよ。

- (a) 細胞間の情報伝達
- (b) 選択的な細胞接着

## 問題2

次の文章を読み、問1～問4の全てに答えよ。

細胞内には、表1に示すように、生体膜で区切られた様々な小器官が存在する。これらの①細胞内膜系および細胞膜を構成する生体膜は、両親媒性のリン脂質二重層からなり、生体高分子の自由拡散を制限している。従って、細胞内小器官が特異な機能を果たすためには、

表1. 膜構造をもつ主な細胞内小器官

細胞内小器官	主な機能
核	ゲノムを収納し、DNA複製の場となる
ミトコンドリア	酸化リン酸化によるATP合成を行う
(ア)	脂質合成や、分泌タンパク質の合成を行う
(イ)	分泌や小胞輸送の基点となる
(ウ)	光合成による炭素固定を行う
(エ)	飲・食作用により取り込んだ物質を選別する
(オ)	加水分解酵素を含み、細胞内消化を行う

は、それぞれの小器官で必要とする機能タンパク質を、膜構造を越えて適切に輸送するはたらきがなければならない。

細胞核は、脂質二重層からなる内膜と外膜によって囲まれており、細胞質との分子のやりとりは核膜孔複合体と呼ばれる構造体を通して行われる。この複合体は中央に分子通過孔をもち、その直径は約50 nmと、ほとんどのタンパク質分子にとって高次構造を保ったまま通過するのに十分な大きさである。しかし、通過孔内部は疎水性アミノ酸を豊富に含むサブユニットがゲル状のバリアを形成しており、通過分子を選別している。特に巨大タンパク質分子の通過には、②インポーチンなどの仲介因子に結合し、複合体として核膜孔を通過する仕組みが知られている。

ミトコンドリア膜には、トランスロケーターと呼ばれる内部への輸送を担う複合体がある。この複合体の通過孔は直径2 nm程度しかなく、通過タンパク質は一旦その高次構造をほどこき、通過の後にまた構造を折り畳み直す必要がある。多くの場合、通過タンパク質はアミノ末端にシグナル配列を持ち、ミトコンドリア外膜にある受容体に結合すると膜上を拡散してトランスロケーターに到達する。その後、③ミトコンドリア内膜に存在するHsp70分子と相互作用し、高次構造を解きほぐしながら徐々に内部に到達する。

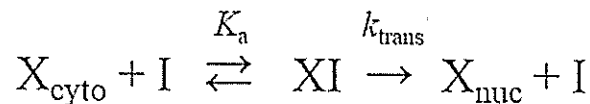
問1. 表1内の、(ア)から(オ)の細胞内小器官名を答えよ。

問2. 下線部①に関連した以下の1)～6)の記述のうち、正しいものには○、誤ったものには×を記せ。

1) リン脂質二重層は、構成成分に炭化水素鎖が長いリン脂質を含む方が、その流動性は低い。

- 2) リン脂質二重層は、構成成分に炭化水素鎖の不飽和度が高いリン脂質を含む方が、その流動性は低い。
- 3) リン脂質に糖修飾を行う酵素は細胞外部に存在するため、糖脂質は細胞膜の脂質二重層のうち細胞外部側の層にのみ多量に存在する。
- 4) 酸素 ( $O_2$ ) や二酸化炭素 ( $CO_2$ ) のような小さな疎水性分子は、拡散により迅速に脂質二重層を通過する。
- 5)  $H^+$  や  $Na^+$  といったイオンは、拡散により迅速に脂質二重層を通過する。
- 6) フリッパーゼは、脂質二重層中の脂質分子を一方の層から他方へと移動させるという、自発的には起こりにくい分子の移動を仲介する酵素である。

問3. 下線部②について、この仕組みを一般的な酵素反応のモデルに当てはめて考察した。すなわち、細胞質に存在する分子  $X$  ( $X_{cyto}$ ) を基質、核内に存在する分子  $X$  ( $X_{nuc}$ ) を生成物、仲介因子インポーチン ( $I$ ) を酵素と捉え、以下の式を適用する。また、 $X$  と  $I$  の結合平衡定数を  $K_a$  とし、代謝回転数  $k_{cat}$  に相当する数値を輸送回転数  $k_{trans}$  とする。

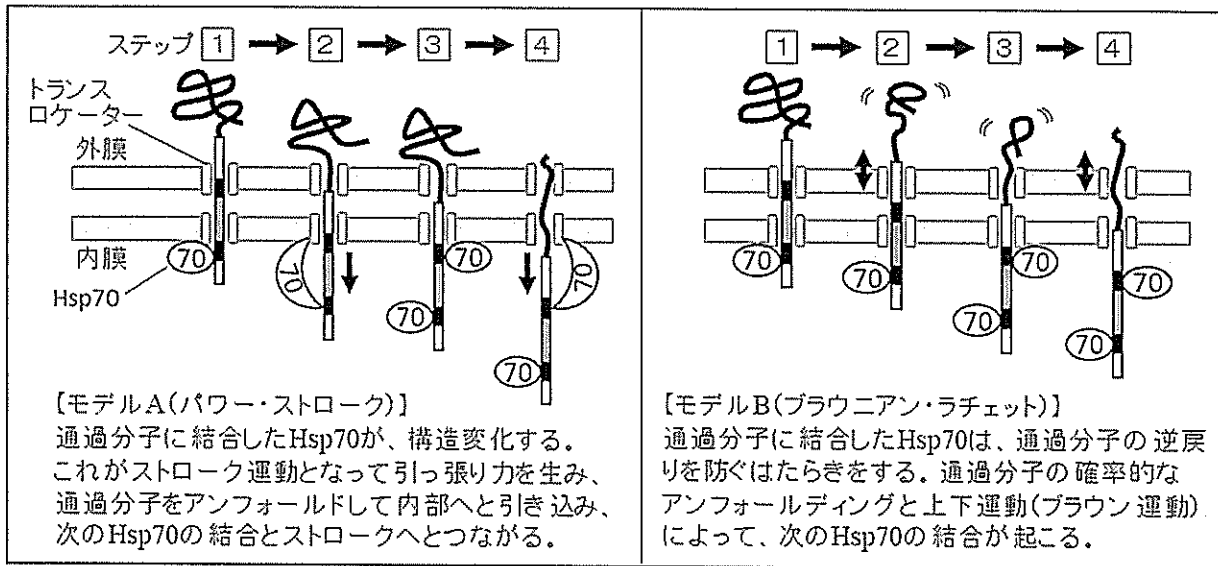


- 1) 精製した分子を用いた試験管内の実験系において、結合平衡定数  $K_a$  は、 $X$ ,  $I$ ,  $XI$  のそれぞれの分子濃度  $[X]$ ,  $[I]$ ,  $[XI]$  を用いてどのように表されるか、答えよ。
- 2) 精製した分子  $X$  とインポーチンを用いて、結合平衡定数  $K_a$  を求めるためにはどのような実験を行えばよいか、その手順を簡潔に述べよ。
- 3) 二つの異なる通過分子  $X_A$  と  $X_B$  について、インポーチンとの結合平衡定数  $K_a$  を調べたところ、 $X_A$  が  $X_B$  より 10 倍程度大きな値を示した。 $k_{trans}$  が同じと仮定すると、効率よく核内に輸送される方はどちらと予測されるか。
- 4) 単離精製した細胞核と、精製したインポーチンおよび様々な通過分子を用いて実際の輸送速度を調べると、上記3)の予測に従わないものもあった。これは、通過分子によって  $k_{trans}$  の値が異なることを意味する。 $k_{trans}$  に影響を与える要因としてどのようなものが考えられるか、その一つを簡潔に述べよ。

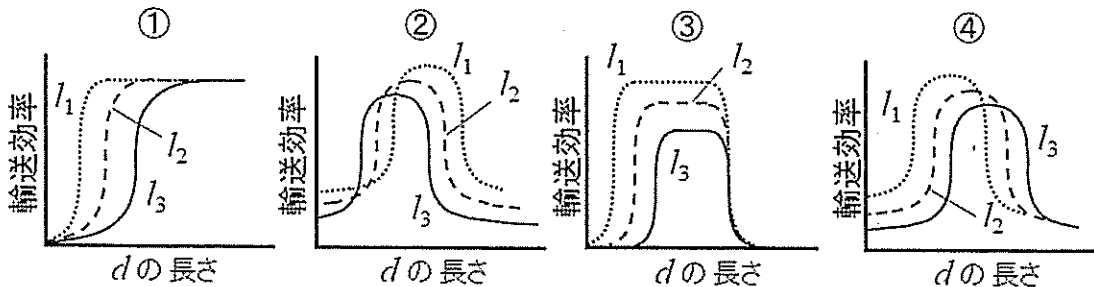
問4. 下線部③について、この機構を解明するため、以下のように人工設計したタンパク質分子を準備し、細胞から単離精製したミトコンドリアに対して、内部への輸送効率を測定する実験を行った。



通過に関わる分子メカニズムとして、以下の図に示す二つのモデルA・Bを想定した。



1) 同一のフォールディング部と、三種類の異なる長さの  $l$  ( $l_1 < l_2 < l_3$ ) を持つ分子で、 $d$  を様々に変えたもの ( $0 \leq d < l$ ) を準備した。これらを用いて輸送効率を測定する実験を行った場合、モデルAあるいはモデルBを支持する結果として想定される図はどれか、以下のグラフ①~④より選び、それぞれ番号で答えよ。また、そのように考えた理由を簡潔に述べよ。



2) 実験の結果、モデルBが支持された。このモデルに従ってミトコンドリアに輸送されるタンパク質について、フォールディング部の安定性と輸送効率の関係を考察した以下の文について、カッコ内の選択肢から適切な語句を選べ。

効率的な輸送のためには、フォールディング部の安定性の高い分子ほど、Hsp70 結合配列を (少なく/多く) 持ち、結合配列間の長さは (短い/長い) 必要がある。

### 問題3

次の文章 (A)、(B)、(C) を読み、問1～問9の全てに答えよ。

(A) ゲノム DNA の塩基配列に起こる突然変異のうち、1塩基の置換により引き起こされる点変異のなかには、その DNA 配列が指定するアミノ酸配列には影響を及ぼさない (ア) 変異もあるが、一方で、アミノ酸の置換を引き起こす (イ) 変異や、タンパク質への翻訳を途中で終了させる (ウ) 変異もある。また、1塩基の挿入・欠失による変異は、コドンの読み枠がずれる (エ) 変異を引き起こす場合があり、これにより、アミノ酸配列の変化が引き起こされる。

寿命に関わる遺伝子を同定するために、塩基置換を誘導する変異原物質 ethyl methanesulfonate (EMS) で線虫を処理し、それにより、寿命が延長する変異体  $a1$ 、 $a2$  を単離した。変異体  $a1$ 、 $a2$  はどちらも、ホモ接合体で致死ではなく、子孫を残すことができる変異体であった。また、変異体  $a1$ 、 $a2$  において寿命延長を引き起こす変異について調べたところ、いずれも1遺伝子座に起因する劣性の機能欠損型変異であること、および、①同じ遺伝子 (遺伝子  $a$ ) 内に引き起こされた変異であることが分かった。

そこで遺伝子  $a$  の、寿命における役割を調べるために、「寿命制御に関わる転写因子をコードする遺伝子  $b$  の機能欠損型変異体  $b1$ 」と「 $a1$  変異体」から2重ホモ変異体 ( $b1$ ,  $a1$  変異体) を作製し、寿命を測定したところ、野生型と同程度の寿命を示すことが分かった。さらに  $a1$  変異体では、遺伝子  $b$  にコードされた転写活性化因子 B の特異的ターゲットである寿命関連遺伝子  $c$  の発現が亢進することが分かった。これらの結果から、遺伝子  $a$  にコードされたタンパク質 A は、転写活性化因子 B と同じシグナル伝達経路内で寿命を制御する可能性が考えられた。

問1. (ア)～(エ)に入る最も適切な語句を答えよ。

問2. 下線部①について、変異体  $a1$  と変異体  $a2$  とを交配することで検証する方法を数行程度で述べよ。



問3. 遺伝子  $a$  と遺伝子  $b$  の、寿命制御における関係について、以下のうち最も適切なものを答えよ。

- (W)  $a \xrightarrow{\text{抑制}} b$   
(X)  $b \xrightarrow{\text{抑制}} a$   
(Y)  $a \xrightarrow{\text{活性化}} b$   
(Z)  $b \xrightarrow{\text{活性化}} a$

(B) トーマス・ハント・モーガンは、ショウジョウバエを用いた研究で、「遺伝子が染色体上に存在する」とする染色体説を実証した。その発端となったのは、飼育していた赤眼の野生型ショウジョウバエの集団に、白眼の突然変異体 *white* を見つけたことであると言われている。モーガンらは以下の交配 (I) (II) を行い、その表現型を観察した。

(I) *white* のオスと野生型のメスを交配すると、その雑種第1代 ( $F_1$  世代) は全て赤眼であった。

(II) 続いて、 $F_1$  世代の赤眼のオスと赤眼のメスを交配すると、②その雑種第2代 ( $F_2$  世代) は赤眼、あるいは白眼のショウジョウバエであったが、白眼は全てオスであった。

これらの観察された表現型から、③「(オ) 遺伝」 という遺伝形式が存在することが明らかとなった。

ショウジョウバエの *white* 遺伝子と同様に、③「(オ) 遺伝」 の様式により発症するヒトの病気として、「血友病」と「赤緑色盲」が知られている。④血友病の原因遺伝子は赤緑色盲の原因遺伝子と同じ染色体上に存在するが、それぞれの変異が一緒に遺伝せず、分離して遺伝するケースもある。

問4. 下線部②について、赤眼と白眼のショウジョウバエの比を理由とともに答えよ。ショウジョウバエは四対の染色体があり、一対がXY型の性染色体(オスがXY、メスがXX)、残りの三対が常染色体である。

問5. 下線部③について、(オ)に入る語句を記せ。また、その遺伝形式について説明せよ。なお、同じ文字で示された空欄には同じ語句が入るものとする。

問6. 下線部④に関連して、下記の問題(1)(2)に答えよ。

- (1) 同じ染色体上に存在する遺伝子変異が一緒に遺伝することを何というか
- (2) 同じ染色体上に遺伝子変異が存在する場合でも、一緒に遺伝する場合と、分離して遺伝する場合があるのはなぜか、また、一緒に遺伝する確率から分かることを述べよ。

問7. 「血友病・赤緑色盲のいずれも発症していない健常な男性」と、「健常だが、血友病の原因遺伝子と赤緑色盲の原因遺伝子の変異の両方を同じ染色体上に保因している女性」との間に子供が生まれた場合、「健常者：血友病の発症者：赤緑色盲の発症者：血友病かつ赤緑色盲の発症者」の比を、男児について答えよ。ただし、同じ染色体上にある血友病の原因遺伝子と赤緑色盲の原因遺伝子が一緒に遺伝する確率は95%とする。

(C) 遺伝性の疾患は、ゲノムDNAの塩基配列に起こる突然変異に加え、染色体異常によっても引き起こされることが知られている。たとえばヒトにおけるダウン症は、第21番染色体が1本余分なために起こる。以下の問いに答えよ。

問8. ダウン症において、染色体が1本余分に生じる理由として、考えられる可能性を挙げよ。

問9. どの常染色体も1本余分な状態(トリソミー)になり得るのに、生まれてきたヒトの個体で観察されるのは、第21染色体・第13染色体・第18染色体のトリソミーが主である。考えられる理由を述べよ。また、性染色体であるXが1本余分になった際には、比較的症状が軽く、一生発見されない場合もある。その理由を述べよ。

## 問題4

次の文章 (A) と (B) を読み、以下の問1～問9に全て答えよ。

(A) 我々の①遺伝情報はDNAに書き込まれており、これは複製と細胞質分裂を経て親細胞から娘細胞に受け継がれる。核内にあるDNAは、S期で複製され倍加する。しかしDNAポリメラーゼは、②一定の割合で間違った塩基を取り込んでしまうことがある。このような複製エラーがそのまま変異としてDNAに蓄積すると生存に不利となるので、③多くのDNAポリメラーゼは自身もつ校正機構によって複製エラーの頻度を低く抑えている。

細胞周期の進行は、細胞周期制御因子によって厳密に制御されている。その中心を担う2種類の因子は、サイクリンと、サイクリンによって活性が制御されている(ア)である。例えばG<sub>1</sub>期では、複製開始に必要な種々の因子が(イ)に集積し、S期の直前に発現するサイクリンによって(ア)が活性化され、その結果、(イ)からDNA複製が開始される。もし④G<sub>1</sub>期あるいはG<sub>2</sub>期にDNA損傷が生じた場合、細胞は(ア)の活性を阻害することでS期あるいはM期への進行をそれぞれ停止させる。この他にもM期では、(ウ)に紡錘体が正しく接着していない場合、コヒーシンやM期特異的なサイクリンの分解を制御する(エ)の活性化が阻害され、染色体分配の時期が遅れる。このように、異常を検知して細胞周期の進行を停止もしくは遅延する制御機構を(オ)とよぶ。

問1. 文章中の(ア)～(オ)に当てはまる適切な語句を答えよ。なお、同じ文字で示された空欄には同じ語句が入るものとし、語句に略語がある場合はそれを解答としてもよい。

問2. 下線部①について、DNAの塩基配列を決定する手法として、ジデオキシ法(サンガー法)が現在でも広く用いられている。この方法の原理を次の語句を全て用いて簡潔に説明せよ。

(ヒドロキシ基、蛍光色素、伸長反応、ゲル電気泳動、dNTP、ddNTP)

問3. 下線部②について、もしDNA合成中に $1 \times 10^{-4}$ の頻度でDNA複製エラーがおこったと仮定すると、1回のDNA複製の直後にヒトの核DNA上に生じる誤った塩基対の数はいくつになるか答えよ。ただし、DNA複製前のヒトの核DNAは60億塩基対として計算せよ。

問4. 下線部③の校正機構について1～3行で簡潔に説明せよ。

問5. 下線部④に関して、DNA二本鎖切断の修復機構の1つである相同組換え修復は主にS期後期からG<sub>2</sub>期におこるが、G<sub>1</sub>期では殆どおこらない。このように相同組換え修復が細胞周期依存的におこる理由と、相同組換え修復をDNA二本鎖切断の修復に用いる利点について、それぞれ1～3行で簡潔に説明せよ。

問6. 異なる細胞周期にある2つの細胞を融合させて、それぞれの細胞に由来する核を1つの細胞内に共存させると、細胞周期の組み合わせによっては2つの核の細胞周期を同調させることができる。次の実験結果のうち、間違っただけのものを1つ選び番号で答えよ。

- 1) M期の細胞と融合させたG<sub>2</sub>期の細胞の核では、ただちに染色体凝縮が観察された。
- 2) S期の細胞と融合させたG<sub>1</sub>期の細胞の核では、ただちにDNA複製が開始された。
- 3) S期の細胞と融合させたG<sub>2</sub>期の細胞の核では、ただちにDNA複製が開始された。

(B) DNA損傷が起こると、この損傷を検出したタンパク質からシグナルが発せられ、⑥ある転写活性化因子Xを介して一連の遺伝子の発現上昇が誘導されることが知られている。Xによって発現上昇する遺伝子産物には、細胞周期の停止やDNA修復に関わるタンパク質が含まれており、これによって細胞は細胞周期を停止させ、その間DNA損傷を修復する。

ある研究室では、DNA損傷を与えても細胞周期の停止がおこらないマウス変異細胞株aを単離した。染色体の倍数性や全ゲノムDNA配列を解析したところ、この細胞株aは2倍体であり、野生型と変異型の遺伝子Xをヘテロにもつことが分かった。また遺伝子X以外に変異は確認されなかった。変異をもたない正常なマウスの細胞に、この変異型遺伝子Xを発現させると、細胞株aと同様にDNA損傷存在下でも細胞周期の停止が観察されなかった。

問7. 下線部⑤に関して、遺伝子XのmRNA量を解析したところ、DNA損傷の有無で大きな変化は見られなかった。一方タンパク質Xの半減期は、DNA損傷を与える前では非常に短い、DNA損傷を与えた後では顕著に長くなることが分かった。これについて次の1)と2)の問いに答えよ。

1) Xの半減期の制御が、DNA損傷の応答に適すると考えられる理由を1～3行で簡潔に説明せよ。

2) 細胞内のタンパク質の半減期を調べる実験手法の1つを1～3行で簡潔に説明せよ。

問8. 細胞株 a に存在する遺伝子 X の変異の名称として正しいものを、次の中から選び番号で答えよ。

- 1) 劣性変異
- 2) 共優性変異
- 3) 中立変異
- 4) 優性変異
- 5) 復帰変異

問9. 転写因子 X はホモ四量体を形成することで DNA に結合し、転写活性化を行うことが分かった。X は N 末端に転写活性化ドメイン、中央領域に配列特異的な DNA 結合ドメイン、C 末端に X 同士の四量体形成に関わるドメインをそれぞれもっていた。細胞株 a における変異型の遺伝子 X 上には、DNA 結合ドメインをコードする領域にアミノ酸置換を引き起こす変異が 1 箇所だけ見つかった。これについて次の 1) と 2) の問いに答えよ。ただし、野生型と変異型 X タンパク質の半減期は同じであり、対立遺伝子間の発現量も等しいとする。

1) 細胞株 a では、野生型 X のみからなる四量体が形成される確率はいくつになるか答えよ。なお、変異型 X の四量体形成能は野生型と等しいものとする。

2) 野生型と変異型 X が等量発現しているにも関わらず、細胞株 a において変異型遺伝子 X の表現型が現れた原因として考えられる可能性を、「DNA 結合」、「四量体」、「転写活性化」の 3 語全てを用いて 3～6 行で簡潔に述べよ。