

平成31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1問題を選択して解答せよ。問題2～問題4において2問以上を解答した場合は、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。

問題訂正

「共通専門科目」問題 1 の 2 行目

(誤) 問 1 ～問 9 → (正) 問 1 ～問 8

問題1

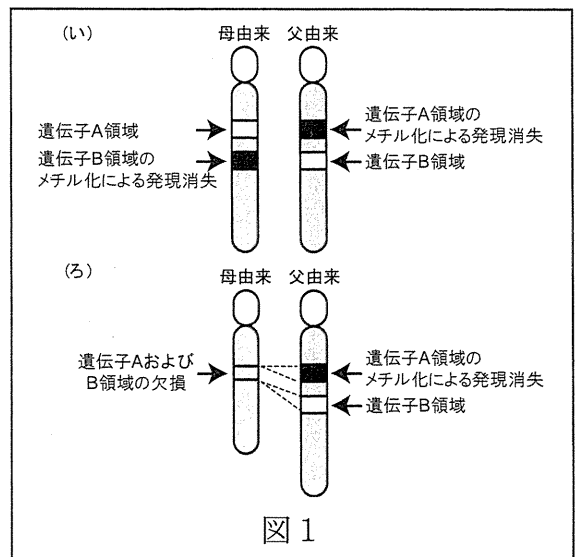
次の (A) と (B) の文章を読み、以下の問1～問9の全てに答えよ。

(A) 近年、DNAのエピジェネティック (epigenetic) な修飾が、多くの生命現象に関与することが明らかとなっている。エピジェネティックな修飾は、一般的には (ア) を伴わず、かつ (イ) 後も継承される遺伝子発現の変化をもたらす。哺乳類におけるエピジェネティックな遺伝子発現制御は、DNAのメチル化などに依存している。例えば、がん細胞では、がん抑制遺伝子の (ウ) 領域にある (エ) アイランド内のシトシンがメチル化を受け、発現が抑制される現象が報告されている。DNAのメチル化状態を解析する方法として、① バイサルファイト (bisulfite) 法 が知られている。バイサルファイト処理により非メチル化シトシンを (オ) 化し、ウラシルに変換することができる。

DNAのメチル化による遺伝子発現制御としてゲノム刷り込み (genomic imprinting) が知られている。一部の遺伝子では、ゲノム刷り込みにより、片方の親から受け継いだ遺伝子のみが発現することが知られている。例えば、図1 (い) の相同染色体をもつマウスでは、遺伝子Aの領域は父由来の染色体上でDNAのメチル化が認められ、母由来の染色体上で認められない。その結果、遺伝子Aは母由来の染色体上からのみ転写される。

問1. (ア) ～ (オ) に当てはまる最も適切な語句を答えよ。

問2. 図1 (ろ) のように、母由来の染色体において遺伝子AおよびBの欠損がみられるマウスを用意した。次の文章の (カ) ～ (コ) に当てはまる適切な数値を答えよ。ただし、遺伝子AおよびBは、常染色体上に存在し、個体発生に影響を与えず、それら遺伝子を含む染色体領域では組換えは起こらないものとする。



- ・雄 (い) と雌 (ろ) を交配して得られた第一世代では、遺伝子Aのみの発現消失が (カ) %で、遺伝子Bのみの発現消失が (キ) %で起こる。

- ・雄（ろ）と雌（ろ）を交配して得られた第一世代では、遺伝子 A のみの発現消失が（ ク ）%で、遺伝子 B のみの発現消失が（ ケ ）%で、遺伝子 A および遺伝子 B 双方の発現消失が（ コ ）%で起こる。

問3. 下線部①に関して、バイサルファイト処理後にシーケンス解析を行い、下記塩基配列情報を得た。

5'-GCTCCTGCGT-3'

この配列情報をもとに、バイサルファイト処理前の塩基配列を、シトシンのメチル化状態も含めて ATGC および下記表記法を用いて答えよ。ただし、非メチル化シトシンがウラシルに変換される効率は 100%とし、相補鎖のシトシンによる影響は受けないものとする。

mC: 5-メチルシトシン、C: 非メチル化シトシン、R: A or G、K: T or G、
Y: T or C、M: A or C

(B) 真核細胞のタンパク質合成は、細胞質に存在する（ サ ）型リボソームでおこなわれるものと、小胞体の表面に結合している（ シ ）型リボソームでおこなわれるものがある。（ サ ）型リボソームはタンパク質を細胞質で合成し、それらの一部は必要に応じて核やミトコンドリアなどの細胞小器官へ輸送される。（ シ ）型リボソームで合成されるタンパク質は、②翻訳に伴って小胞体内に送られる。さらにタンパク質は適切に折りたたまれ、（ ス ）結合、および（ セ ）の付加を受けた後、主にゴルジ体を経由して細胞膜や目的の細胞小器官に輸送される。

合成されたタンパク質を分解するシステムとして、（ ソ ）とユビキチン-プロテアソーム系の2つの分解機構が知られている。（ ソ ）はタンパク質や細胞小器官を③リソソーム内部で分解する機構であり、栄養飢餓時のアミノ酸供給に重要な役割を果たしている。一方で④ユビキチン-プロテアソーム系は、主として細胞質に存在するタンパク質や小胞体内で折りたたみに失敗したタンパク質を分解している。

問4. 文中の（ サ ）～（ ソ ）に当てはまる適切な語句を答えよ。

問5. 下線部②に関して、タンパク質の合成は細胞質で開始されることが知られている。リボソームを小胞体膜に導き、翻訳されたタンパク質を小胞体内へ送り込む過程について、以下の4つの単語を全て使って、3～6行程度で説明せよ。

「シグナル配列」 「シグナル認識粒子（SRP）」 「トランスロコン」
「シグナルペプチダーゼ」

問6. タンパク質の輸送に関して、以下の(1)～(4)の輸送形態にあてはまる細胞小器官として最も適切なものを(a)～(d)より、またその細胞小器官に輸送される代表的な酵素を(I)～(IV)の選択肢からそれぞれ選べ。

- (1) COP II 被覆小胞などの輸送小胞との膜融合を経て、タンパク質を細胞小器官に輸送する。
- (2) シャペロンによってタンパク質の構造をほどこし、タンパク質輸送体を介して細胞小器官内部に引き込む。
- (3) クラスリン被覆小胞、後期エンドソームなどの輸送小胞との膜融合を経て、タンパク質を細胞小器官に輸送する。
- (4) インポーチンなどの輸送タンパク質と結合し、立体構造を保ったままタンパク質複合体を細胞小器官に輸送する。

細胞小器官		代表的な酵素	
(a)	核	(I)	チトクロム c 酸化酵素
(b)	ミトコンドリア	(II)	酸性 α -グルコシダーゼ
(c)	ゴルジ体	(III)	β 1,4-ガラクトース転移酵素
(d)	リソソーム	(IV)	DNA ポリメラーゼ

問7. 下線部③に関して、リソソームの内部は酸性(約 pH 5)である。どのような機構で酸性を保っているのか2～3行程度で説明せよ。

問8. 下線部④に関して、ユビキチン-プロテアソーム系による分解の過程を、ユビキチンの役割を含め、2～4行程度で説明せよ。

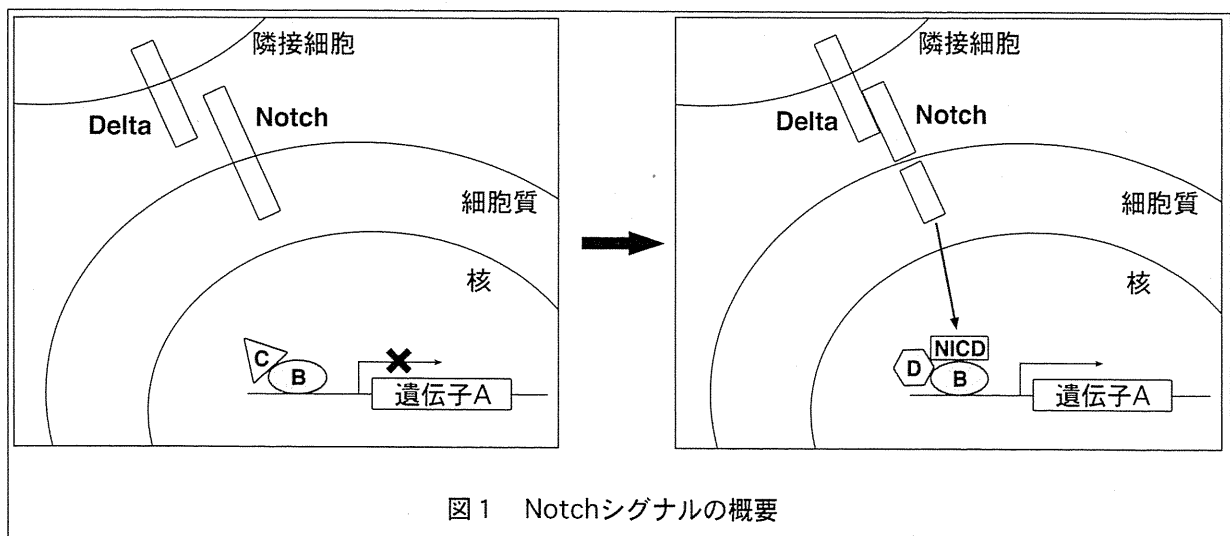
問題2

細胞の情報伝達と遺伝子発現調節についての次の文章を読み、問1～問8の全てに答えよ。

ノッチ (Notch) シグナルは細胞運命決定に重要な細胞接触型の①シグナル伝達経路で、発生過程の神経系においては神経分化を抑制することが知られている。隣接細胞に発現するシグナル分子であるデルタ (Delta) と、そのレセプターである Notch が結合すると、Notch の細胞内ドメイン (NICD) が切り出されて細胞質から核内に移行する。これが抑制型転写調節因子 (因子 A) の遺伝子座 (遺伝子 A) からの転写を活性化し、発現した因子 A が神経分化促進因子の発現および活性を抑制することにより神経分化が抑制される仕組みである (図1)。

NICD がない状態では、転写調節因子 B は遺伝子 A の転写調節領域に結合しており、因子 C をリクルートして遺伝子 A の発現を抑制する (ア) として働くため、通常遺伝子 A の発現は抑えられている。そこへ細胞外からシグナルが入り、NICD が因子 B に結合すると、因子 C が離れて代わりに因子 D がリクルートされることで、因子 B は (イ) から逆に (エ) として働くようになり、遺伝子 A の発現を誘導する。

因子 A の発現が適正レベルであれば細胞増殖が維持されるが、過剰に発現すると細胞増殖が抑制されるため、因子 A の発現は一定レベルを超えないように厳密に制御される必要がある。②そのためタンパク質 A が自身 (遺伝子 A) の転写調節領域に結合して、遺伝子 A の発現を抑制する機構が存在する (図2)。タンパク質 A の発現量が減少すると、その抑制が解除 (脱抑制) されて、再び遺伝子 A の発現が活性化されるため、遺伝子 A (タンパク質 A) の発現は振動することが知られている (図2)。



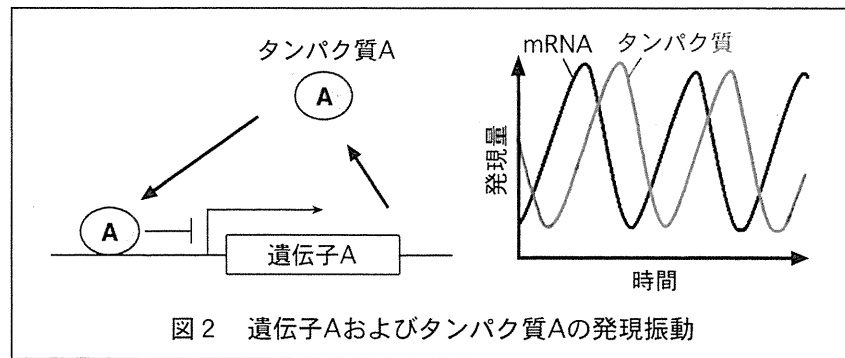


図2 遺伝子Aおよびタンパク質Aの発現振動

問1. 下線部①に関連して、以下の問題に答えよ。

- (1) 細胞間シグナル伝達様式には、細胞接触型以外にどのようなものがあるか、2つ答えよ。
- (2) 遠距離かつ広範囲に伝達するのに最も適したシグナル分子の総称を答えよ。

問2. 文章中の (ア) (イ) に当てはまる最も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3. 因子 C, D は転写因子 B と共役して働いて遺伝子発現を調節する修飾酵素である。このような修飾酵素のうち、ヒストンを修飾して転写を調節する代表的な修飾酵素の名称を1つ記せ。

問4. 転写調節因子が遺伝子発現を調節する仕組みを簡潔に述べよ。

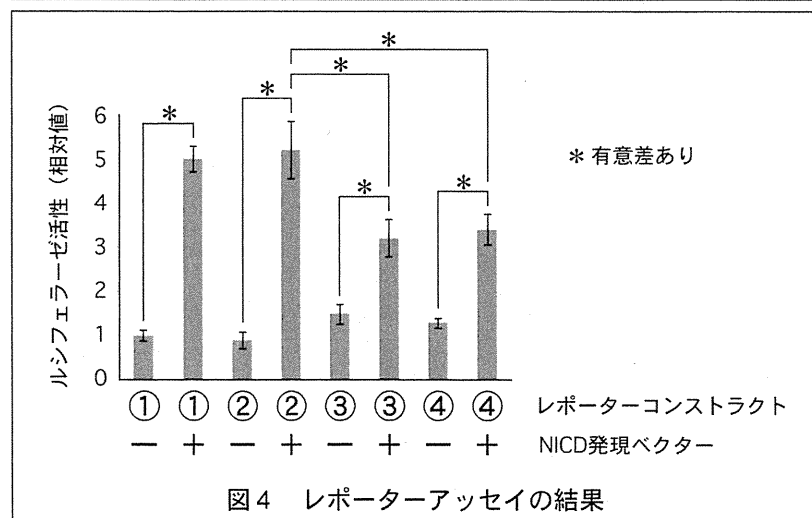
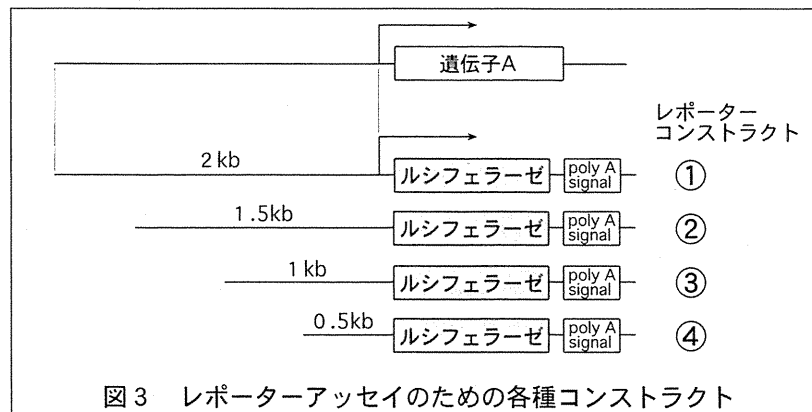
問5. 下線部②に関連して、以下の問題に答えよ。

- (1) このようなメカニズムを何と呼ぶか、適切な用語を答えよ。
- (2) この機構が働く状況下においては、遺伝子 A の mRNA およびタンパク質の発現量は一定の周期で繰り返し振動し (図2)、その周期は遺伝子発現の各ステップが厳密に制御されることで一定に保たれている。この周期に影響を与えられとされる遺伝子発現のステップを、「転写」以外で3つ答えよ。

問6. 遺伝子 A のどの領域に転写調節因子 B が結合するかを明らかにするために、以下のような実験 (レポーターアッセイ) を行った。

【実験】 遺伝子 A の転写開始点の上流 2 kb の DNA フラグメント、およびその領域内の異なる長さのフラグメントに発光酵素ルシフェラーゼの cDNA を繋いだレポーターコンストラクト (①～④) (図3) を作製し、これらを含むベクターと NICD

発現ベクターを細胞株に導入した。この細胞株において因子 B は恒常的に充分量発現しており、NICD は DNA 上の因子 B に結合した時にのみ転写促進活性を持つものとする。24 時間後に細胞を回収し、ルシフェラーゼとその発光基質であるルシフェリンの反応による発光強度を測定したところ、図 4 の結果が得られた。発光強度はルシフェラーゼ活性を反映し、ルシフェラーゼの発現量に依存するものとする。



この結果から、DNA 上における転写調節因子 B の結合部位はどの領域にあると推定されるか、(あ) ~ (え) のうち適切なものを全て答えよ。

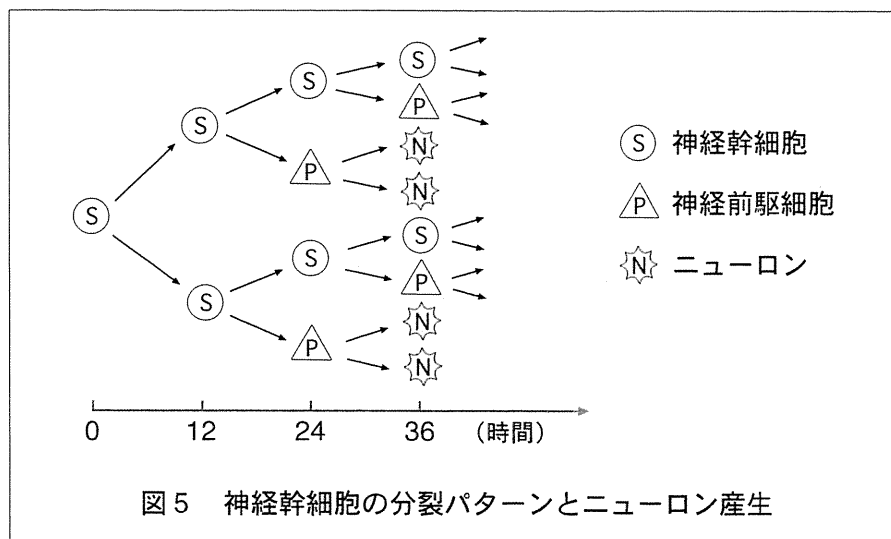
- (あ) 2 kb 上流から 1.5 kb 上流までの間の領域
- (い) 1.5 kb 上流から 1 kb 上流までの間の領域
- (う) 1 kb 上流から 0.5 kb 上流までの間の領域
- (え) 0.5 kb 上流から転写開始点までの間の領域

問 7. 発生過程の胎児の脳において、神経幹細胞は脳室に面する場所で細胞分裂を繰り返している。神経幹細胞から分化したニューロンには Delta が発現し、神経幹細胞に

発現する Notch にシグナルを伝えることにより、神経幹細胞の未分化性を維持している。 γ -セクレターゼはタンパク質分解酵素であり、隣接細胞の Delta と Notch が結合した際、細胞膜上の Notch から NICD を切り出すのに必須の因子である。マウス胎児の脳室内に γ -セクレターゼの機能阻害剤を投与した場合、どのような影響が出ると考えられるか、簡潔に説明せよ。

問8. 脳の発生過程において、神経幹細胞はまず対称分裂を続けて神経幹細胞のコピー数を増やすが、数回の対称分裂後に非対称分裂に切り替わり、片方の娘細胞は神経幹細胞にとどまり、もう片方の娘細胞は神経前駆細胞になる。この神経前駆細胞は1回～数回分裂してニューロンを産み出す。

そこで、神経幹細胞の対称分裂の期間の延長（対称分裂の回数の増加）が脳の細胞数の増加にどのような影響をもたらすか試算してみる。細胞周期は全期間を通して一律12時間とし、最初に100個の神経幹細胞(S)が存在し、12時間後に一斉に1回目の分裂を行うと仮定する。また、神経前駆細胞(P)は1回だけ分裂して2個のニューロン(N)を産生し、ニューロンはその後分裂せずニューロンとしてとどまることとする(図5)。



以下の問題に答えよ。

- (1) 100個の神経幹細胞が1回だけ対称分裂を行い、2回目の分裂から全ての神経幹細胞が非対称分裂に切り替わった場合(図5)、3日後(72時間後の分裂を終えた時点)の神経幹細胞、神経前駆細胞、ニューロンの数をそれぞれ答えよ。
- (2) 100個の神経幹細胞が2回対称分裂を続けた後、3回目の分裂から全ての神経幹細胞が非対称分裂に切り替わった場合、3日後(72時間後の分裂を終えた時点)の神経幹細胞、神経前駆細胞、ニューロンの数をそれぞれ答えよ。

問題3

次の文章を読み、問1～問9の全てに答えよ。

元素は物質を構成する基本的な成分で、2016年時点で118種類が知られている。このうち生物が摂取することで得る、生命維持に欠かせない元素を必須元素という。ヒトでは必須元素は12種類の主要元素と15種類の微量元素に分けられる。一方、植物の必須元素は17種類である。栄養素の必須性の定義は、次の3項目の基準を満たすこととされる。

1. その栄養素を欠くと生育が異常となり、生活環を完結できない。
2. その栄養素の機能と生理作用はその元素特有のもので、他の元素に置き換えられない。
3. その栄養素は代謝、すなわち酵素反応などの重要な代謝過程の構成成分または必須成分として直接関与している。

動物、植物ともに①微量元素のうち金属元素はイオンの形で酵素の特別な部位に結合している例が多い。

問1. 下線部①に関して、酵素に結合する金属元素の役割を2つ挙げよ。

問2. 酵素と結合する元素の組み合わせとして誤っているものを以下のA～Eより1つ選択せよ。

- A: シトクロム c 酸化酵素と Cu
- B: DNA ポリメラーゼと Mg
- C: 炭酸脱水酵素と Mo
- D: リンゴ酸脱水素酵素と Mn
- E: シトクローム P450 モノオキシゲナーゼと Fe

問3. 補酵素に関する次の文で誤っているものはどれか。以下のA～Cより1つ選択せよ。
また誤りの箇所を正しく訂正せよ。

- A: NADH と NADPH は細胞内でデヒドロゲナーゼ反応（酸化還元反応）に関与している。どちらも還元型の光吸収スペクトルは 260 nm および 340 nm にピークをもつ。
- B: 補酵素 A はコエンザイム A または CoA と呼ばれ、パントテン酸、アデノシン二リン酸および 2-メルカプトエチルアミンから構成される。2-メルカプトメチルアミン部位の末端のチオール基にアセチル基が結合したものはアセチル CoA である。
- C: ユビキノンはコエンザイム Q10 あるいは補酵素 Q と呼ばれる水溶性の成分で、ミトコンドリアのマトリックスに存在する電子伝達体のひとつである。

問4. マンガンは光合成に必要な元素である。植物の葉におけるマンガンに関する次の文で誤っているものはどれか。以下のA～Cより1つ選択せよ。また誤りの箇所を正しく訂正せよ。

- A: マンガンを含む植物酵素には光化学系 II 複合体の構成成分と、光化学系から発生する活性酸素種の除去を担うスーパーオキシドジスムターゼが含まれる。
- B: 葉においてマンガンを含むスーパーオキシドジスムターゼの 4～5% は葉緑体に存在し、90% 以上はミトコンドリアに存在している。
- C: 光合成の酸素発生中心はマンガンクラスターからなり、2 分子の水から 4 個の電子を引き抜く触媒としての役割を担っている。

問5. 酵素のミカエリス定数 (K_m) を説明する次の文で正しいものはどれか。以下のA～Eより1つ選択せよ。

- A: 酵素と基質の親和性を表し、値が大きいほど親和性が強い。
- B: 阻害剤の酵素への結合定数である。
- C: 基質と阻害剤の酵素への親和性の比を表す。
- D: アロステリック酵素へのアロステリックエフェクターの結合定数である。
- E: 最大反応速度の半分の速度を与える基質濃度である。

- 問6. カタラーゼは過酸化水素を分解して水と酸素に変換する酵素である。この酵素は過酸化水素の分解速度を 10^8 倍に加速させる。カタラーゼ存在下で 1 g の過酸化水素が 5 分間の反応で完全に分解されたとすると、カタラーゼ無しの場合には過酸化水素 1 g の完全分解に必要な反応時間は何年になるか計算せよ。
- 問7. 酵素 A は基質 S を化合物 M に変換する。基質 S に対するミカエリス定数 K_m は 0.20 mM である。一方酵素 B は同じ基質 S を化合物 N に変換し、基質 S に対する K_m 値は 2.0 mM である。1.0 mM の基質 S と同量ずつの酵素 A および B を全て混合した場合に、5 分間の反応後の M と N の量比を計算せよ。ただし、酵素 A と酵素 B の最大反応速度 $V_{\max}$ は同じ値であり、これらの酵素反応はミカエリス・メンテン式に従う。また、5 分間の間は反応初速度が維持され、基質は十分量供給されていると仮定する。
- 問8. ある酵素について酵素反応速度を図1の通り Lineweaver=Burk プロットに表した。この酵素反応のミカエリス定数 (K_m) および最大反応速度 ($V_{\max}$) を有効数字2桁で求めよ。なお、反応初速度を v 、基質濃度を $[S]$ とした場合に Lineweaver=Burk 式は以下の通りに表される。

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

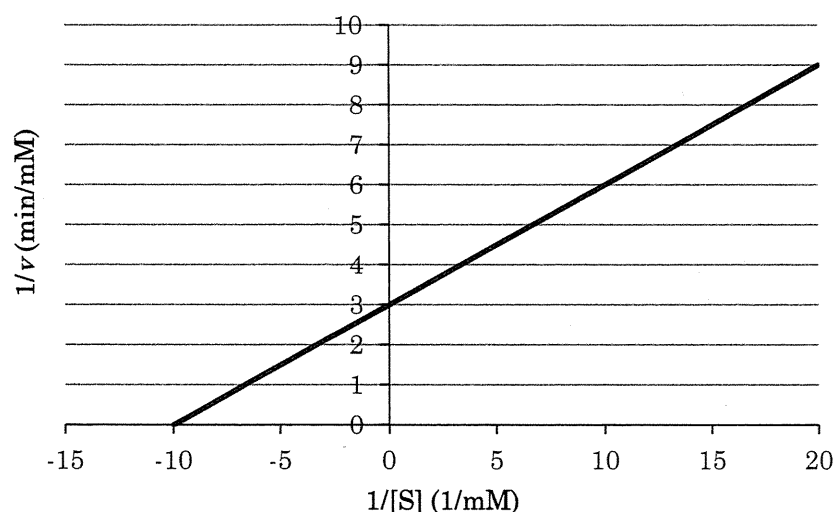


図1. ある酵素反応速度の Lineweaver=Burk プロット

問9. ある酵素反応について3種類の阻害剤(X、Y、Z)を添加した場合と阻害剤を添加しない場合のグラフを図2に示す。阻害剤X～Zによる阻害効果として正しいものを以下のA～Cの中から1つずつ選べ。

A: 拮抗阻害、 B: 反拮抗阻害、 C: 非拮抗阻害

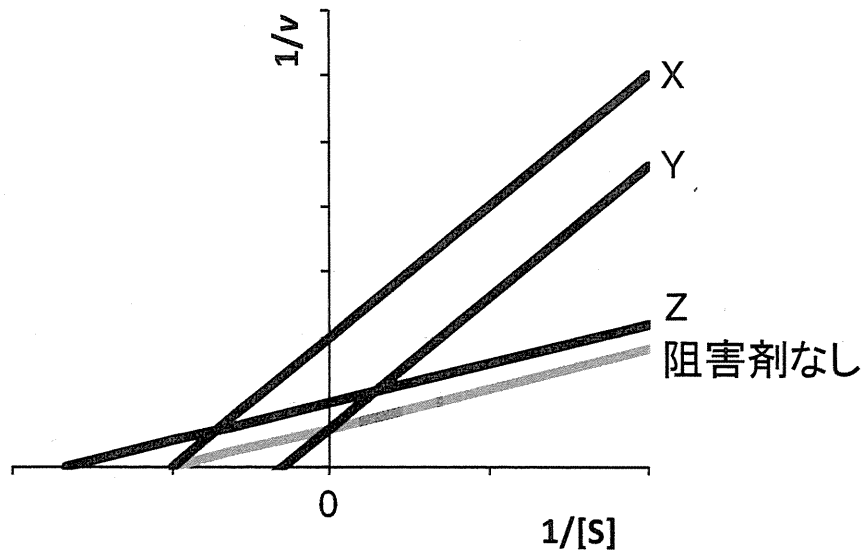


図2. ある酵素反応に3種類の阻害剤(X、Y、Z)をそれぞれ添加した場合の Lineweaver=Burk プロット

問題4

次の文章を読み、問1～問5の全てに答えよ。

細胞骨格は、細胞の形状維持、運動、細胞内物質輸送、および細胞内の反応制御において重要な役割を果たしており、構成タンパク質や構造の違いにより①微小管、アクチンフィラメント、中間径フィラメント、細胞外骨格に分類できる。微小管はチューブリンと呼ばれるタンパク質が重合した線維から構成されており、細胞内の物質輸送とともに、②分裂期の染色体分離において中心的役割を果たしている。アクチン線維は球状タンパク質であるアクチンが右巻きらせん構造でつながった線維である。アクチンの③重合脱重合反応は、様々なタンパク質により制御されており、細胞運動や細胞表層における細胞膜、膜タンパク質の動態制御において重要な役割を果たしている。中間径フィラメントは、アクチンと微小管の中間である約10 nm 幅の線維である。構成タンパク質は多種にのぼり、細胞や組織ごとに異なる分子が発現し、機能している。細胞外骨格は細胞外基質とも呼ばれ、④コイルドコイル等の構造や⑤様々な糖鎖により足場を作り上げ、組織・器官形成で重要な役割を果たしている。

問1. 下線部①に関して、下記(A)～(J)の細胞内構造・分子と最も関係の深い細胞骨格を、(ア)微小管、(イ)アクチン、(ウ)中間径フィラメント、(エ)細胞外骨格の中からそれぞれ1つ選び、記号で答えよ。

- (A) フィブロネクチン, (B) 核ラミナ, (C) ラミニン, (D) 収縮環,
(E) ケラチン, (F) 葉状仮足, (G) ベン毛, (H) プロテオグリカン,
(I) デスモソーム, (J) セルロース

問2. 下線部②に関して、微小管に関する下記の説明文の空欄(ア)～(ク)に当てはまる適切な語句を答えよ。

微小管はその両端でチューブリンのヘテロ二量体(α, β)が重合あるいは脱重合することで伸長と短縮を繰り返す。線維の両端では重合速度が大きく異なり、重合が遅い末端をマイナス端、速い末端をプラス端と呼ぶ。多くの動物細胞では、中心体から伸びる微小管は、その(ア)端を中心体側に向けて放射状に伸びている。中心体では、(イ)と呼ばれるタンパク質がらせん状の立体構造を形成しており、これが

チューブリンの重合を促進する。この機能のため、中心体は(ウ)として機能している。中心体は細胞周期の(エ)期に複製され、分裂期に入るとお互いに離れて細胞の両極へと移動し、紡錘体極を形成する。分裂期では、構造や機能の違いによって、少なくとも3種類の微小管が存在していると考えられている。(オ)は、染色体のセントロメア領域と極を繋ぐ微小管であり、染色体を赤道面に並べるための原動力となる。(カ)は、両極からお互いに向かって逆平行に伸びており、その中間点付近で重なり合う。この場所では、(キ)と呼ばれるモータータンパク質が、両極から伸びてきた微小管に結合し、中心体を離す力を生み出している。最後の(ク)は、紡錘体極と細胞表層とを繋ぐ微小管であり、モータータンパク質が生み出す力が、紡錘体極を細胞膜方向へ引っ張る牽引力になると考えられている。

- 問3. 下線部③に関して、アクチンの重合は、線維の末端で図1のように進行するが、線維には方向性があるため、各末端(B端とP端と呼ぶ)での反応速度は大きく異なることが知られている。B端、P端での重合および脱重合の速度定数をそれぞれ k_{on}^B , k_{off}^B , k_{on}^P , k_{off}^P として、その値を図2に示す。アクチン線維の重合・脱重合のダイナミクスを調べるために、単量体アクチン(Gアクチン)溶液に線維状アクチン(Fアクチン)を添加し、Fアクチンの長さの変化を顕微鏡下で計測した。これに関して、以下の(I)～(III)の問いに答えよ。ただし、Gアクチン1分子が重合するごとに、アクチン線維は2.7 nm 伸長し、添加したFアクチンは、Gアクチンに対して無視できる量であり、その長さは十分に長いものとする。解答は2桁の有効数字を用いること。

図1

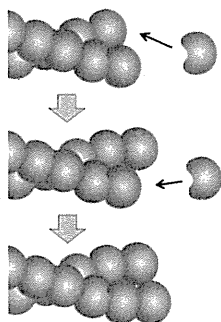
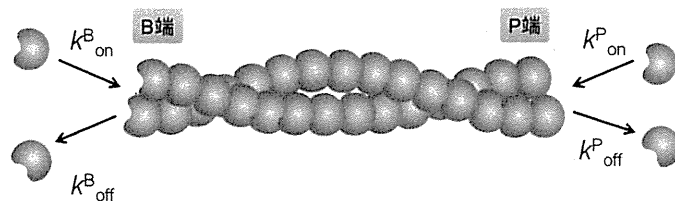


図2



	B 端	P 端
$k_{on} (\mu M^{-1} s^{-1})$	k_{on}^B : 11.6	k_{on}^P : 1.3
$k_{off} (s^{-1})$	k_{off}^B : 1.4	k_{off}^P : 0.8

- (I) 500 nM の G アクチン溶液に F アクチンを添加したときに見られる、F アクチンのみかけの伸長速度 (nm s^{-1}) を求めよ。
- (II) F アクチンのみかけの伸長速度が 0 になる G アクチン溶液の濃度を求めよ。
- (III) タンパク質 X は G アクチンに結合し (解離定数 (K_D) は 100 nM とする)、F アクチン末端 (B 端および P 端) への G アクチンの結合 (重合) を阻害する。タンパク質 X が F アクチンのみかけの伸長速度に及ぼす影響を調べるために、異なる濃度のタンパク質 X を含む 500 nM の G アクチン溶液を用いて F アクチンの長さの変化を調べた。この時に得られるグラフ (タンパク質 X の濃度と F アクチンの伸長速度との関係を示す) として最も適切なものを下の (A)~(D) から選べ。ただし、500 nM の G アクチン溶液にタンパク質 X を添加していった際の、溶液中の遊離 G アクチン (X と結合していない G アクチン) 濃度は図 3 に示す通りとする。また、タンパク質 X は G アクチン以外には結合しないものとする。

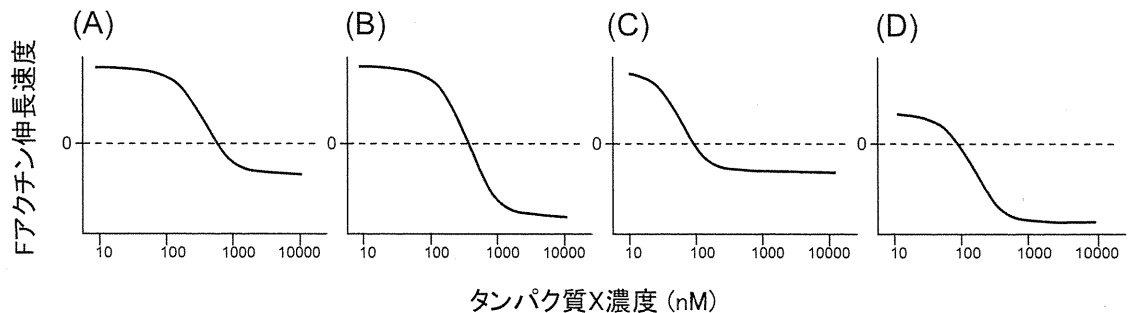
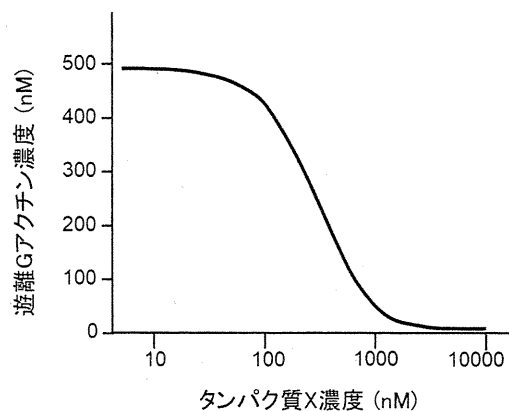


図 3



問4. 下線部④に関して、細胞外骨格を構成するタンパク質には、二重鎖および三重鎖コイルドコイルを形成するものが存在する。ポリペプチド鎖がコイルドコイルを形成するしくみを、下記の単語を全て用いて4～5行程度で記述せよ。

水素結合, 疎水性相互作用, 静電的相互作用

問5. 下線部⑤に関して、細胞外骨格を構成するタンパク質の中には糖鎖を持ち、高い保湿性・水分保持力を示すものが存在する。細胞外骨格を構成する糖タンパク質がこのような性質を示す理由を、糖およびタンパク質の構造・性質に言及しながら3～4行程度で説明せよ。