

大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻
2022年度入学試験問題

生物学、化学・数学・物理
(2021年8月7日 13:00-15:00)

注意事項

- ◆ この問題冊子には**6問**あります。
- ◆ 開始の合図の後、ページ数を確認し、不足のある場合は監督者に申し出なさい。なお、ページの表記法は、例えば右肩に「【1】1/2」の記載がある問題用紙の場合、「【1】の問題は2ページからなり、そのうちの1ページ目」という意味です。
- ◆ **【1】は必修問題で、必ず解答しなければなりません。**さらに、【2】から【6】の**選択問題**から2問を選んで解答しなさい（どの2問でもよい）。
- ◆ 選択問題の2問を【2】から【4】（生物学）から解答した場合には、入学後にB（生物科学）コースとなります。いっぽう、少なくとも1問を【5】あるいは【6】（化学・数学・物理）から解答した場合には、A（生命理学）コースとなります。
- ◆ 【1】以外に3問以上解答した場合は、採点しません。
- ◆ 解答用紙は、問題毎に1枚ずつ使用しなさい。各解答用紙の上部に「受験番号」と「氏名」を記入し、1行目を空白にして、2行目に【1】のように問題番号を記入し、解答して下さい。

- ◆ この問題用紙は持ち帰っても良い。

【1】 以下の問題文(1)～(11)の文中の(ア)～(ヤ)に当てはまる語句を答えよ。

- (1) タンパク質を構成する20種類のアミノ酸のうち、分子量が最小のものは(ア)であり、最大のものは(イ)である。
- (2) 真核生物のDNA複製時には、DNAポリメラーゼは(ウ)が合成した短いRNA断片の(エ)末端を合成開始点として、鋳型DNAの塩基配列に相補的なA,T,G,Cのいずれかの塩基を持つ(オ)を新しい鎖に付加していく。
- (3) 真核生物の染色体DNAは、細胞分裂を通して維持されるための3種類の機能領域を持つ。長いDNA全体が効率よく倍加できるように多数存在する(カ)、染色体末端を保護する(キ)、娘細胞へ分配するための動原体構造が作られる(ク)である。
- (4) mRNAの翻訳において、1つのアミノ酸はコドンと呼ばれる(ケ)個の塩基配列の並びによって指定される。翻訳が始まるコドンは(コ)と呼ばれ、アミノ酸の(サ)がコードされる。対応するアミノ酸がない(シ)種類のコドンは(ス)として使われる。
- (5) タンパク質をコードする遺伝子の転写開始点のすぐ上流には(セ)と呼ばれる基本転写因子が結合する領域がある。(セ)から離れた位置にあって転写を活性化する領域を(ソ)という。
- (6) 真核生物のクロマチンは、ヒストン(タ)量体にDNAがおよそ(チ)回巻きついた(ツ)構造を基本単位とする。
- (7) 特定の細胞が作るRNA全体を解析することを(テ)解析という。細胞から抽出したRNAを(ト)を使ってcDNAに変換し、その塩基配列を次世代シーケンサーによって大量に決定するという(ナ)法を使

- うことで、ある細胞における全遺伝子の発現量を一度に定量することができる。
- (8) 多細胞生物で遺伝子に生じた変異は、(ニ) 細胞で生じた場合は次世代へ引き継がれるが、それ以外の (ヌ) 細胞で生じた場合は引き継がれない。
- (9) 真核生物の細胞骨格は3種類のタンパク質繊維からなる。そのうち (ネ) は細胞に機械的強度を与えており、例えばラミンは (ノ) を裏打ちしている。また紡錘体を作る (ハ) は (ヒ) 二量体からなる中空の管であり、(ヒ) に結合した (フ) の加水分解によって駆動される (ヘ) 性を示すため素早い再構築が可能となっている。残りの1つは、細胞分裂時に細胞を2つにくびり切る (ホ) を作る機能も持つ。
- (10) タンパク質の翻訳後修飾では、活性運搬体が化学基の供与体となる。例えば、リン酸化では (マ) が、アセチル化では (ミ) が、メチル化では (ム) が供与体としてよく使われる。
- (11) 真核生物の細胞小器官には、細菌との共生関係を経て獲得したものがあるため、今もその細胞小器官には (メ) を持つものが存在する。真核生物の細胞は、好気性細菌の共生により (モ) を獲得し、さらに緑色植物では (ヤ) の共生により葉緑体を獲得したと考えられている。

【2】 逆遺伝学とゲノム改変に関する以下の文章を読み、問に答えよ。

現代の生物学では、生物の細胞や個体における遺伝子の機能を知るために逆遺伝学がしばしば使われる。逆遺伝学は生物の DNA 配列情報に基づき、遺伝子を改変し、細胞や個体内における遺伝子の機能を解析する方法論である。近年、次世代シーケンサーの開発によって、様々な生物の DNA (ゲノム) 配列が効率よく決定できるようになり、遺伝子の特定が容易になったことが、逆遺伝学的解析の発展の大きな原動力になっている。例えば、ヒトの全ゲノム配列は今から 20 年前におおよそその配列 (ドラフト配列) が決定されている。

もう 1 つの大きな原動力は、遺伝子を効率よく改変できる様々な方法が確立されたことにある。特定の遺伝子の機能を知るために、その遺伝子を破壊 (ノックアウト) する方法として、ジーンターゲッティング (標的遺伝子組換え) が古くから知られている。ES (embryonic stem) 細胞にジーンターゲッティングを適応することで、ノックアウトマウスが作製できるようになり、個体レベルでの遺伝子の機能解析が大きく進展した。また、特定の RNA を導入することで細胞や個体内の遺伝子機能を解析する RNA 干渉 (RNA interference) 法も知られている。さらに、2012 年に細菌の獲得免疫に関わる CRISPR/Cas9 と呼ばれる複合体の活性が同定された。その特性を用いて効率のよいゲノム編集方法が確立され、逆遺伝学による遺伝子機能の解析はゲノム配列が解読された生物すべてに応用できると考えられるようになった。

問 1 ヒト DNA の総塩基数 (一倍体あたり) は何塩基対か、また、タンパク質をコードする遺伝子の数は現在 (2021 年) どの程度と推定されているか、おおよその数を、それぞれ答えよ。

問 2 ヒトのタンパク質の読み取り枠は全ゲノム DNA の 3%程度と言われているが、残りの領域に特徴があることが知られている。その特徴を 2 つ答えよ。

問 3 ジーンターゲッティング (標的遺伝子組換え) はどのような方法か、仕組みを含めて、4 行程度で説明せよ。

問4 RNA干渉 (RNA interference) 法はどのような方法か、4行程度で説明せよ。

問5 ゲノム編集で使用される CRISPR/Cas9 複合体の構成要素と酵素活性の特徴について、2行程度で説明せよ。

問6 CRISPR/Cas9 を使ったゲノム編集を用いると、効率よく遺伝子を破壊 (欠損) することができる。その理由 (仕組み) を、4行程度で説明せよ。

問7 ヒト遺伝子 A の機能を知るために、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集を使い、ヒト培養細胞で遺伝子 A を破壊 (二倍体なので、2つの遺伝子 A を破壊) した細胞株を2つ得た。細胞株の性質を調べると、2つの細胞に共通の欠損 (細胞の形の変化) が見出された。一方、2つの細胞は異なる性質を持つこと (1つのみが細胞分裂の異常を持つ) も分かった。この実験結果から導き出せる可能性 (仮説) を少なくとも1つ挙げ、それらを検証する実験とその結果から予想される結論を論じよ。

【3】 骨格筋に関する以下の文章を読み、問に答えよ。

脊椎動物の骨格筋を構成する(1) 筋線維（筋繊維）は多数の筋芽細胞が融合してできた巨大な細胞である。筋線維の内部では（ア）と（イ）がそれぞれ重合してできた二種類のフィラメントが互い違いに配置されている。骨格筋が弛緩しているとき、（イ）のフィラメントに巻き付いた（ウ）によって両フィラメントの相互作用が妨げられている。骨格筋の収縮はそれに接合した神経細胞からの刺激によって引き起こされる。(2) 興奮した神経細胞の軸索で発生した活動電位が軸索終末部に到達して細胞膜を脱分極させると、細胞外から流入した（エ）イオンの作用で(3) シナプス小胞が細胞膜と融合して、内腔に蓄えられた神経伝達物質の（オ）を放出する。(4)（オ）が筋線維の表面に存在する受容体を活性化すると、この刺激はすみやかに筋線維全体に伝播し、（カ）から放出された（キ）イオンが（ク）複合体に結合して（ウ）の位置をずらすことで、（ア）と（イ）の両フィラメントの相互作用が可能となる。(5) ATPの分解により得られるエネルギーを利用して両フィラメントが互いに滑ることで骨格筋の収縮が起こる。平滑筋の収縮においても、（ア）と（イ）の両フィラメントや（キ）イオンが重要であることが知られているが、(6) その調節のしくみは骨格筋とは異なっている。

問1 文章中の（ア）～（ク）に当てはまる語句を答えよ。同じ語句を複数回答えても良い。

問2 下線部(1)について、細胞が融合した後にもとの筋芽細胞の核はどのようなになるか、下の(a)～(d)から選べ。

- (a) 細胞融合直後は残っているが、筋線維の成熟と共に細胞外に排出されてなくなる。
- (b) 細胞融合直後は残っているが、筋線維の成熟と共に細胞内で分解されてなくなる。
- (c) 細胞融合後も残り続け、筋線維のほぼ中央部分に集められて集合体を作る。
- (d) 細胞融合後も残り続け、筋線維の表面に近い部分に散在する。

問3 下線部(2)について、活動電位の発生には電位依存性ナトリウムイオンチャンネルが重要な役割を果たしている。活動電位発生時の一過性の膜電位の変化をこのチャンネルの機能状態と対応づけて5行程度で説明せよ。

問4 下線部(3)について、このように細胞内の小胞が細胞膜と融合して内腔に蓄えられた物質を細胞外に放出する現象を何というか答えよ。

問5 下線部(4)について、この受容体が活性化すると、どのような仕組みでその刺激を伝播するか、下の(e)~(g)から選べ。

- (e) 受容体に結合した G タンパク質を活性化してイノシトールリン脂質を分解し、セカンドメッセンジャーの PIP_2 や IP_3 を産生する。
- (f) 受容体自身がチロシンキナーゼであり、自己リン酸化して SH2 ドメインを持ったタンパク質などとシグナル伝達複合体を作る。
- (g) 受容体自身がイオンチャンネルであり、膜電位を変化させて電位依存性ナトリウムイオンチャンネルを開き、活動電位を発生させる。

問6 下線部(5)について、この両フィラメントの滑り運動の際に ATP を加水分解するタンパク質の名前を答えよ。

問7 下線部(6)について、(キ)イオンはどのように(ア)と(イ)に働きかけて平滑筋が収縮するのか、その分子機構を3行程度で説明せよ。

【4】 キイロショウジョウバエの胚の発生に関する以下の文章を読み、問に答えよ。

キイロショウジョウバエの胚の発生過程で *even-skipped* (*eve* と略す) 遺伝子は図1で示すように7本の縞状に発現し、体節形成に重要な働きをする。図2は *eve* 遺伝子とその周辺のゲノム DNA 領域を示している。*eve* 遺伝子の周辺のゲノムにはいくつかの遺伝子発現調節領域が存在する。例えば前から2番目の縞2の調節領域は *eve* 遺伝子の縞2での発現を、縞3の調節領域は *eve* 遺伝子の縞3での発現を制御している。縞2の調節領域は Giant (Gnt)、Bicoid (Bcd)、Hunchback (Hb)、Krüppel (Kr)の4つの転写調節因子により制御されており、縞2の調節領域の中にこれらの転写調節因子の結合配列が含まれている。これらの転写調節因子であるタンパク質は図3に示すように、胚の前後軸に沿って濃度勾配を作って分布している。例えば Bicoid タンパク質は胚の前方部では濃度が高く、後方では低い。(1) 図3の斜線で示された縞2領域では Hunchback タンパク質と Bicoid タンパク質の濃度が比較的高く、Giant タンパク質と Krüppel タンパク質の濃度が低いことが分かる。

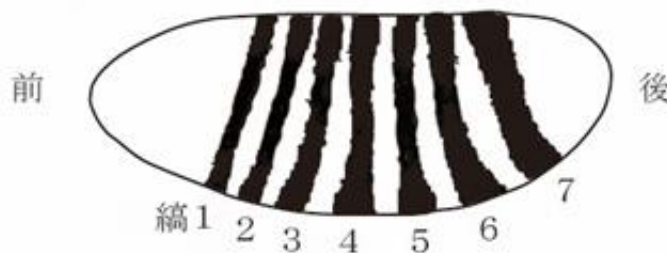


図1 *even-skipped* 遺伝子の発現を模式的に表した図



図2 *even-skipped* 遺伝子周辺のゲノム領域

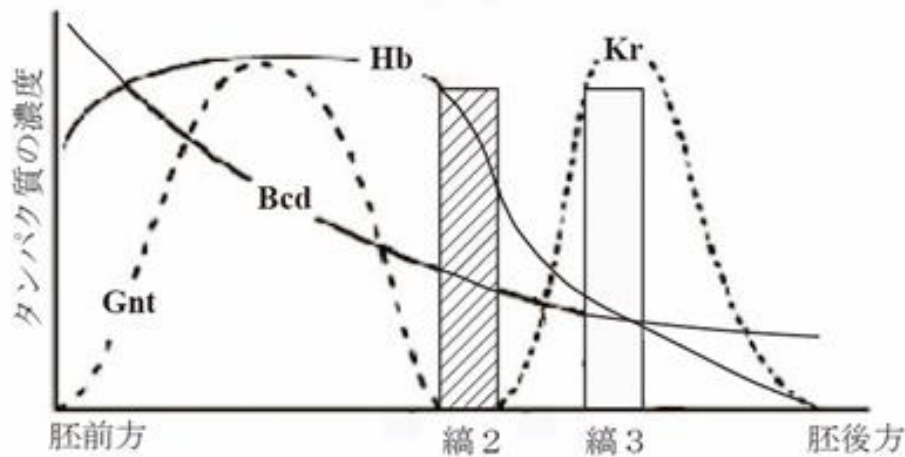


図3 胚の前後軸に沿った4つの転写制御因子のタンパク質の濃度

問1 Bicoid は母性効果因子のひとつである。母性効果因子とは何か、2行程度で説明せよ。

問2 縞2の調節領域とされるゲノム領域が *eve* 遺伝子の縞2での発現を制御していることを単純かつ直接的に示すにはどのような実験をすればよいか4行程度で答えよ。

問3 縞2では、Giant、Bicoid、Hunchback、Krüppelのうち2つは転写抑制因子で2つは転写活性化因子として働く。下線(1)の文章からこの4つの転写調節因子のうちどの2つが転写抑制因子と考えられるか答えよ。

問4 Krüppel タンパク質が欠乏した変異体では *eve* の縞2の発現範囲はどのように変化すると予想されるか、その理由とともに2行程度で答えよ。

問5 縞2の調節領域は転写調節因子の働きによって、縞2の領域でのみ *eve* を発現させ、胚の他の領域では *eve* を発現させない。このように各縞の調節領域が胚の特定の縞の位置でのみ発現を活性化することができるのはなぜか、図3から考えられる理由を3行程度でまとめよ。

問6 図3に示す Hunchback タンパク質の前後軸に沿った濃度勾配の形成には、Bicoid による Hunchback 遺伝子の転写の活性化に加え、後方で濃度が高い Nanos タンパク質の活性も必要とされることが知られている。Hunchback タンパク質の濃度勾配形成における Nanos タンパク質の働きに関して、どのような可能性が考えられるか答えよ。

【5】 タンパク質の構造および構造解析に関する以下の文章を読み、問いに答えよ。

タンパク質が特定の立体構造を取る要因には、ペプチド結合の性質が深く関与している。L. Pauling と R. Corey は、1930 年代後半にアミノ酸や単純なジペプチド、トリペプチドの X 線回折研究によってペプチド結合の C-N の結合距離は単結合の C-N 間よりも短いこと、およびこの結合に関与する原子は同一平面上にあることを見いだした (図 1)。これらの発見から、彼らはペプチドの C-N 結合は電子が非局在化した (ア) 構造をとることによって部分的に (イ) 結合の性質を有するために自由回転する事ができないと結論した。したがって、ポリペプチド鎖のとりうる構造の範囲は制限される。これに加え、近接する主鎖のアミド基やカルボキシル基、側鎖の官能基で形成される (ウ) 結合も構造の安定化に重要な役割を果たしている。α-ヘリックスやβ-シートなどの (エ) 構造は、この (ウ) 結合によって形成される。タンパク質構造中のアミノ酸残基の主鎖二面角 Φ (Phi) に対してエネルギー的に許容される Ψ (Psi) の領域をプロットしたのが (オ) である (図 2(a))。 (オ) は、国際的なデータベースである Protein Data Bank (PDB) に新規タンパク質の三次元構造を登録する際に、構造の正しさを評価するために用いられる。

タンパク質の立体構造を決定する主な手法の 1 つは X 線結晶構造解析である。タンパク質の結晶内では分子が規則正しく並んでいるため、(1) 結晶に X 線を照射すると各原子から散乱された X 線が干渉し合い、特定の方向に強い回折点が観測される。これを検出器に記録することで回折強度データ I が得られる。任意の回折点の強度 $I(h k l)$ は構造因子 $\mathbf{F}(h k l)$ の絶対値の 2 乗であることが分かっており、回折強度データを収集すると $|F(h k l)|$ が求まる。構造因子 $\mathbf{F}(h k l)$ を得るためには (カ) $\varphi(h k l)$ が必要であり、これを実験的に求めるとタンパク質の構造 (キ) が決まる。単位格子内の (x, y, z) の位置における (キ) 分布 $\rho(x, y, z)$ は以下の式で表され、(キ) は構造因子の (ク) 変換である。

$$\rho(x, y, z) = \frac{1}{V} \sum_h \sum_k \sum_l |F(h k l)| \exp [-2\pi i (hx + ky + lz) + i\varphi(h k l)]$$

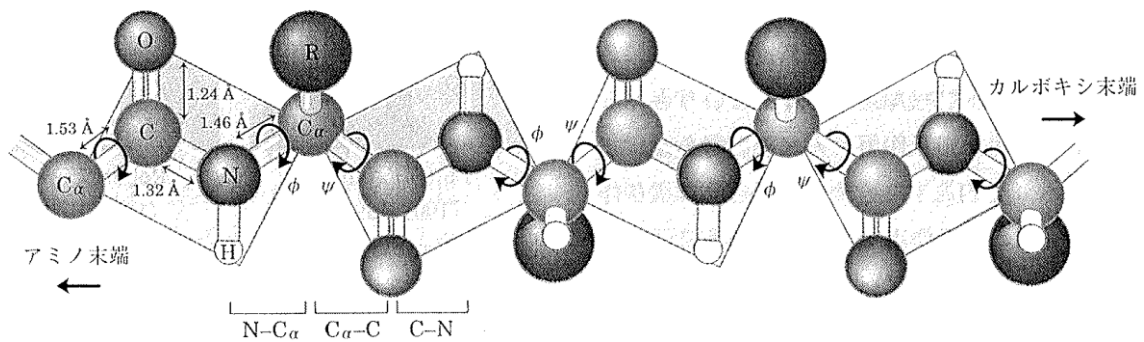


図1. ペプチド結合 (ヴォート生化学 (第四版) より)

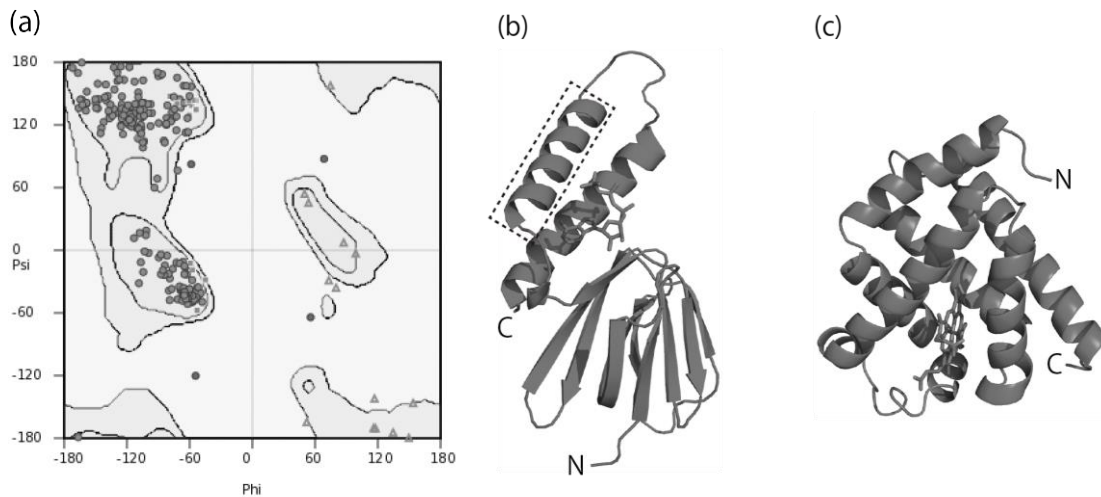


図 2. (a) あるタンパク質のアミノ酸残基の Φ に対する Ψ をプロットした図、(b), (c) あるタンパク質の立体構造

問1 文章中の (ア) ~ (ク) に当てはまる語句を答えよ。

問2 文章中の (ウ) 結合以外でタンパク質の立体構造を安定化するアミノ酸残基の側鎖による非共有結合や共有結合を 3 つ挙げ、それぞれについて簡単に説明せよ。

問3 タンパク質溶液を加熱するとタンパク質分子の各部分が協同的にほどけ、最終的にはランダムコイルになる変性という現象が生じる。熱以外にタンパク質を変性する方法を 1 つ挙げ、そのメカニズムについて説明せよ。

問4 図 2(a)のプロットは図 2(b)あるいは(c)のどちらのタンパク質を表したものを答え、その理由について説明せよ。

問5 図 2(b)のタンパク質の四角で囲った構造のアミノ酸配列は下記に示す配列 1 あるいは 2 のどちらであると考えられるか。また、その理由を答えよ。

配列 1 : LGILPGHIPLVAPLE

配列 2 : LRAKAAKERAERRLQ

問6 下線(1)の現象は中性子線を用いた実験においても同様に起こり、これを利用した中性子結晶構造解析は水素の原子座標を決定するのに有効な手段である。それに対して、一般的にX線結晶構造解析では水素の原子座標を決定することは困難である場合が多い。両者の違いはどのような理由によるものか説明せよ。

問7 生体高分子の構造決定手法の1つであるクライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析法について構造決定原理を説明せよ。

【6】 生物情報科学に関する以下の文章を読み、問に答えよ。

A 近年の生物学研究では、様々な生物種に関する DNA、RNA、タンパク質、代謝物などの生体分子の網羅的計測が進み、計測されたデータや分子情報は、公共のデータベースに登録されるようになった。研究者は、このようなデータベースに自分自身が計測したデータを登録したり、あるいは他の研究者が登録したデータを自由に利用することができる。

問1 生物学研究でよく用いられる公共データベースの名称を以下に記した。この中で、様々な生物由来のゲノム配列を収集したデータベースはどれか。3つ選択せよ。

InterPro, DDBJ, Ensembl, GEO, GenBank, Gene Ontology,
HapMap, JASPAR, KEGG, PANTHER, PubChem, PubMed,
Reactome, RefSeq, Swiss-Prot

問2 問1のデータベースのひとつを利用し、ある分子の配列を取得した。この配列の出力形式を以下に示した。

(1) この出力形式は何と呼ばれるものか。

```
>sp|Q9C8Z9|148-197  
KRRVSVLRLNKKVIPDVRKVRVLRVLPVPGCGKQSVPVILEEATDYIQAL
```

(2) この出力形式はどのようなことを調べる時に用いられることが多いか。その解析法とともに3行程度で説明せよ。

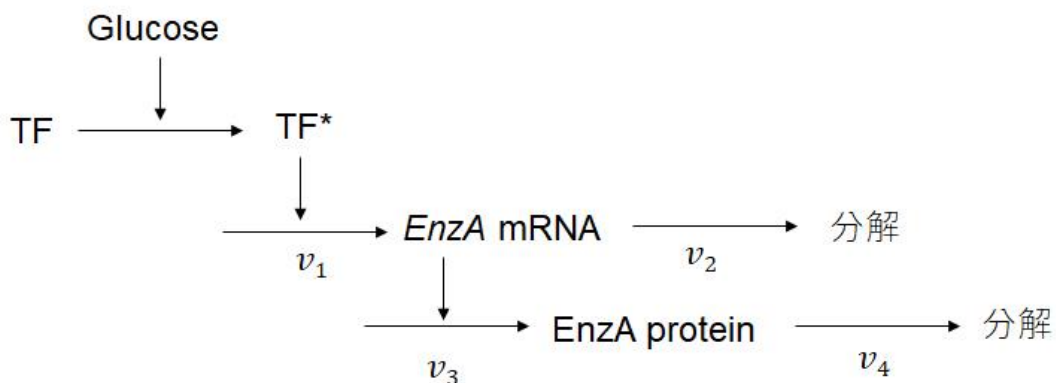
B 以下の図は、7つの生物種ア～キにおいて、あるタンパク質ファミリーの部分配列を比較したものである。

生物種	残基数	アミノ酸配列	残基数
ア	110	AILANRIKLLKFRKQRRPRATMAIPAMTT---VVSSSNRSRKRKRVSVLRLNKKKSI PDVNR	166
イ	107	AILANRIKLLKFRKQKRPKTPTKIPSMTT---VVN-SSNRSRTRRVSVLRLNKKNI PDVNR	162
ウ	106	AILANRIKLLKFRKHKRPRTTAI-PAITTVVSTGSSSSNRSKRRVSVVRLNKKSLPAINR	164
エ	114	AILANRIKLLKFRKRKRPRPTASVHAMIS-----TGSSSRKRKRSVSVVRLNKKSLPAVNR	168
オ	105	AILANRIKLLKFRKQKRPRQTV-VPAVTTVVTTGASSSSRGRKRKRVSVVGLNKKSLPTVNR	163
カ	105	AILTSRIKLLKFRKQHKRQKVSAPTGSV----AVTGSNRSLKKPRVGVFRLKKKSLPTVQR	160
キ	102	AILTNRLKLLKFMKNKRQ-----RV----KVTGSNR-SKKPRVSI LRLKSKNLPAMQR	148
ア	167	KVRVLGRLVPGCGKQSVPVILEEATDYIQALEMQVRAMNSLVQLLSSYGS-A-----	217
イ	163	KVRVLGRLVPGCGKQSVPVILEEATDYIQALEMQVRAMNSLVQLLSSYGS-A-----	213
ウ	165	KVRVLGRLVPGCGKQSVPVILEEATDYIQALEMQVKAMNSLAELLSSYSSSSSSGGGSA	224
エ	169	KARVLGRLVPGCGKESVPPVILEEATDYIQALEMQVRAMKSLMDLLSGYSGSA-----	220
オ	164	KVRSLGRLVPGCGKESVPPVILEEATDYIQALEMQVRAMNSLVELLSGYSGSA-----	215
カ	161	KVRVLGRLVPGCRKQPLPVILEEATDYIAALEMQVRAMSA LAELLSGSTSTSSSAA---S	217
キ	149	KVRVLGRLVPGCRKEPLPVILEEATDYIAALEMQIKAMSA LAELLSGAGSSAGPQSQLSS	208

問3 生物間のアミノ酸配列を比較し、7つの生物間で共通に保存されているアミノ酸残基のパターンから、この分子がどのような分子と相互作用するかを推察し、理由とともに説明せよ。

問4 図中の7つの生物種において、四角で囲った部分のアミノ酸残基は、ある程度保存されているが、QSVP、ESVP、QPLP、EPLPといった違いがある。この4種類のアミノ酸配列について、異なる文字を相違の尺度として、距離行列を用いて系統樹を作成せよ。

C 以下の図は、分子生物学のセントラルドグマに基づいた、遺伝子、メッセンジャーRNA (mRNA)、タンパク質の関係を示している。例えば、培地中のグルコースは、転写因子 (TF)を活性化して TF*を生成し、EnzA 酵素の mRNA (*EnzA* mRNA)、続いて、タンパク質 (*EnzA* protein) の合成を促す。 v_1 は mRNA の転写速度、 v_2 は mRNA の分解速度、 v_3 はタンパク質の翻訳速度、 v_4 はタンパク質の分解速度を表す。反応速度 v_1, v_2, v_3, v_4 はそれぞれの速度定数 (k_1, k_2, k_3, k_4) 依存的に分子基質濃度に比例する。



問5 定常状態を仮定した場合、EnzA の mRNA およびタンパク質のそれぞれの濃度を活性化された転写因子の濃度[TF*]を用いて数式で記述せよ。

問6 EnzA タンパク質の濃度を増加させるためには、グルコース量を増やす以外に、この系をどのように実験的に操作すればよいか、定常状態を仮定し、問5の答を利用して、変数や定数を交えて説明せよ。

問7 *EnzA* 遺伝子に対する RNA 干渉実験を行った場合、活性化された転写因子濃度[TF*]、EnzA の mRNA およびタンパク質の濃度はどのように変化するか、2行程度で答えよ。

問8 EnzA タンパク質を精製し、ある阻害剤 B の存在下または非存在下で、酵素反応解析を行った。阻害剤 B 非存在下での EnzA の反応の K_m 値は 10 mM であったが、阻害剤を 5 mM 加えたところ、見かけの K_m 値は 15 mM を示した。ただし、 V_{max} 値は変化しなかった。

- (1) この阻害剤 B の阻害機構はなにか。
- (2) 阻害剤 B の阻害定数 K_i の値を計算式とともに示せ。