

大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻
平成31年度入学試験問題

生物学・数学・物理学・化学
(平成30年8月4日 13:00-15:00)

注意事項

- ◆ この問題冊子には**8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、頁の表記法は、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頁からなり、そのうちの1頁目」という意味です。
- ◆ 【1】は必須問題で、必ず解答しなければなりません。さらに、【2】から【8】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】から【8】（数学・物理学・化学）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）～（13）の文中の（ア）～（ノ）に当てはまる語句を答えよ。

- （1） 植物の細胞壁の主成分は、（ア）、（イ）などの多糖類である。
- （2） 樹木の木質の細胞壁では、（ウ）が高度に架橋した網目構造を作り、堅さと疎水性を増している。
- （3） 脊椎動物の結合組織では、細胞外マトリクスの中に細胞が散在している。結合組織の細胞外マトリクスの主成分は、（エ）というタンパク質である。結合組織細胞の細胞骨格が発生する張力は（エ）繊維へと伝えられるが、その伝達には膜貫通タンパク質（オ）と細胞外タンパク質（カ）が介在する。
- （4） 脊椎動物の上皮組織には、4種の細胞間結合が見られる。上皮細胞の頂端面側に存在し上皮組織特有の（キ）、膜貫通タンパク質カドヘリンを中心に形成される（ク）、（ケ）と、無機イオンなどを通すことができる（コ）の4種である。（キ）は、（サ）と（シ）というタンパク質で形成される。
- （5） 細胞周期制御系のタンパクキナーゼは、調節サブユニットの（ス）と触媒サブユニットの（ス）依存タンパクキナーゼで構成されている。
- （6） 遺伝情報を担うDNA分子の構造単位をヌクレオチドとよぶ。ヌクレオチドは、（セ）、（ソ）、（タ）から構成されている。
- （7） 真核生物では、DNAとヒストンで構成された基本構造体をつくる。この構造体を（チ）とよぶ。

- (8) 真核細胞における染色体末端の長さを維持する逆転写酵素を (ツ) という。
- (9) tRNA と対応する適切なアミノ酸との結合は、(テ) によって触媒される。
- (10) 真核生物の転写開始には、RNA ポリメラーゼの他に (ト) というタンパク質群が必要である。
- (11) 生物の環境に対する適合性を損なう遺伝的変化は (ナ) によって排除される。
- (12) 部位特異的ヌクレアーゼを利用して、標的遺伝子を改変する技術を (ニ) という。ヌクレアーゼとしては、タレン、キャスナインなどが知られている。
- (13) 多細胞動物の個体発生が正常に進行するためには、胚内の特定の配置に特有の細胞種が形成されなければならない。動物の個体発生に特徴的なこの現象は、(ヌ) 情報という遺伝情報とは異なる高次の形態形成を制御する情報システムが介在している。この情報を担う物質である (ネ) の濃度勾配または活性勾配に依存して胚内の特定の配置を占める細胞群が適切な (ノ) を獲得し、それに応じて特有の細胞種が形成される。

【2】 遺伝子と変異に関する以下の文章を読み、問に答えよ。

生物のゲノム DNA は正確に複製され子孫に伝えられるが、ごく稀にその塩基配列に変化が生じることがあり、これを変異と呼ぶ。(1)よく見られる単一のヌクレオチドの変化は点変異と呼ばれ、DNA 複製や DNA 修復機構がごく稀に起こす誤りが原因となることが多い。

多くの真核生物では、ほとんどの遺伝子に類縁遺伝子が存在することから、進化の過程で広範なゲノム領域が倍化する (ア) と呼ばれる変異が起きたと考えられている。また、細胞内の染色体上のある場所から別の場所へと移動することができる (イ) と呼ばれる特殊な DNA 配列の挿入や、DNA 断片が一つの細胞から同種異種を問わず別の細胞のゲノムへと移動する (ウ) によっても遺伝的変化が生み出される。

また、多くの多細胞動物では (エ) 細胞に起きた変異だけが次の世代へ伝わる遺伝的変化を生み出す。多くの世代間の変異の蓄積が時には生き物の性質の大きな違いを生む結果となり、生命の進化と多様性に大きな役割を果たす。

問 1 (ア) ~ (エ) に入る適当な語句を答えよ。

問 2 変異はごく稀に偶然生じる現象のため、変異の仕組みを調べる研究では細胞増殖が極めて速く世代間のゲノムの変化を簡便に調べられる大腸菌をモデル生物とした研究が広く行われる。下線 (1) に関して、DNA 損傷を修復する仕組みに関わる異なる 4 つの遺伝子 *a, b, c, d* の働きを調べるため、以下に述べる実験を行なったとする。述べられた結果に基づき、遺伝子 *a* と *b*、*a* と *c*、*a* と *d* の関係性について考察し、簡潔に説明せよ。

[実験および結果]

遺伝子 *a, b, c, d* をそれぞれ個別に欠損した大腸菌株 4 種類を作成した。野生株およびこれら 4 種類の大腸菌株において、DNA が複製されるときにある領域に点変異が生じる頻度を調べた。その結果、野生株での点変異頻度が 3.0×10^{-9} であったのに対し、遺伝子 *a* の欠損株の点変異頻度は 2.5×10^{-8} 、遺伝子 *b* の欠損株では 6.1×10^{-8} 、遺伝子 *c* の欠損

株では 1.4×10^{-8} 、遺伝子 d の欠損株では 2.5×10^{-8} となった。

次に遺伝子 a と b の両方を欠損した大腸菌株を作製したところ、この株の点変異頻度は 3.1×10^{-6} であった。また遺伝子 a と c の両方を欠損した大腸菌株の点変異頻度は 3.9×10^{-8} 、遺伝子 a と d の両方を欠損した大腸菌の点変異頻度は 2.5×10^{-8} であった。

- 問3 真核生物のモデル生物としてよく使われる分裂酵母は、通常生育にアデニンを必要としない。しかし、ゲノム上のアデニン生合成に関わる遺伝子（仮に *ade1* 遺伝子とする）を含む領域を本来の位置からゲノム上の別の位置に移動させたところ、この酵母は生育にアデニンを必要とするようになった。*ade1* 遺伝子が本来あった領域と移動先の領域のクロマチンの凝縮度が大きく異なると仮定したとき、*ade1* 遺伝子やその発現調節領域に変異が生じていないにもかかわらず、この酵母がアデニンを必要とするようになった理由を推測し、簡潔に説明せよ。
- 問4 真核生物のタンパク質をコードする遺伝子の多くはエキソンとイントロンと呼ばれる領域を含む。ある遺伝子内に変異が起きたとき、この二つの領域のどちらに変異が起きた方が、その細胞の性質の変化を引き起こす可能性が高いと考えられるか。エキソンとイントロンの違いを簡潔に説明したうえで答えよ。

【3】 ペプチドホルモンであるインスリンに関する以下の文章を読み、問に答えよ。

インスリンは (a) 小胞体上の (b) によってプレプロ体として翻訳・合成され、翻訳産物中の (c) が認識され小胞体膜の (d) を通過し、その内腔に進む。小胞体内腔で (e) による (c) の切断を受け、さらに折りたたみ現象や翻訳後修飾を経て、インスリン前駆体（プロインスリン）が形成される。(ア)小胞体内腔で正確に折りたたまれたプロインスリンは (f) 小胞に入りゴルジ体に運ばれる。(イ)正確に折りたたまれなかった分子は分解される。ゴルジ体から出るとき C ペプチドと呼ばれる連携ペプチドが切断されて A 鎖と B 鎖の 2 量体からなる成熟インスリンになり、(g) 小胞に蓄えられる。刺激に応じて細胞膜（形質膜）と融合することでインスリンは細胞外に分泌される。このように、インスリンのような分泌物は、(ウ)小胞輸送機構により小胞体から細胞外まで運ばれる。

問1 文章中の (a) ~ (g) に当てはまる適切な語句を下記の語群から選び答えよ。

【語群】滑面、粗面、層板、エンドソーム、リボソーム、リソソーム、トランスロコン、ポーリン、核移行シグナル、シグナル配列、膜貫通ペプチド、UCP、シグナルペプチダーゼ、S1 プロテアーゼ、シナプス、クラスリン、分泌、COPI、COP II

問2 インスリンはどの組織のどの細胞で合成されるか答えよ。

問3 下線 (ア) について、以下の問に答えよ。

- (1) タンパク質の折りたたみに関与するタンパク質を総称して何と呼ぶか答えよ。
- (2) 小胞体内腔で様々なタンパク質の折りたたみに働く、最も主要な因子の名前を挙げよ。

- 問4 下線（イ）について、小胞体で正確に折りたたまれなかったタンパク質は、一般的にどのように分解されるか、分解される場所と分解に関わる酵素を含めて、3行程度の文章で説明せよ。
- 問5 下線（ウ）の小胞輸送機構においては、特異的に正しい標的に内容物を輸送することができる。その過程に働く「小胞の膜」と「標的の膜」に存在するタンパク質とその機能を、3行程度の文章で説明せよ。
- 問6 ステロイドホルモンの受容体は標的細胞の細胞質や核内に存在し、ホルモンと結合することにより、特定遺伝子の転写を活性化あるいは抑制する。インスリンなどのペプチドホルモンの受容体の細胞内局在とその下流の応答について、ステロイドホルモンの応答と比較しながら、5行程度で説明せよ。図を用いてもよい。

【4】 哺乳類の発生と幹細胞に関する以下の文章を読み、問に答えよ。

幹細胞は、様々な動物組織に存在し、組織の構築や維持に重要な役割を果たしている。多くの成体組織や器官は、限定された組織や細胞種を産生する（ア）と総称される幹細胞を含んでいる。（ア）が、幹細胞でありつづけるためには、制御能力をもつ微小環境である（イ）を必要とする。多くのタイプの血球を産生する（ウ）幹細胞は、海綿骨内の空洞にある（エ）に存在する。一部の神経組織に存在する神経幹細胞からは、神経細胞、（オ）が分化する。一方、着床前の初期胚から得られる（カ）や、成体から採取した細胞に3~4種の遺伝子を導入して得られる（キ）は、成体のすべての細胞種に分化することができ、再生医療や創薬において期待されている。

問1 幹細胞とは何か、定義を2行程度で述べよ。

問2 （ア）～（キ）に当てはまる適切な用語を答えよ。

問3 （キ）を用いる再生医療上の利点を箇条書きで3点述べよ。

問4 （キ）を用いる創薬について、以下のことを指示した行数で記せ。

- (1) 患者由来の（キ）を用いる創薬について、患者由来の（キ）の作製から候補化合物の同定に至るまでの具体的な実験方法（10行程度）。
- (2) 患者由来の（キ）を用いる創薬の利点（5行程度）。

問5 ある遺伝子変異の影響を調べるために、正常遺伝子を変異遺伝子に置き換えた遺伝子改変マウスを作製したい。（カ）に標的遺伝子に変異を入れた改変遺伝子を導入した後スクリーニングを行い、標的遺伝子の対立遺伝子のうち一方が改変遺伝子に置き換わった（カ）を得た。この改変された（カ）を用いて、体を構成する全細胞中の両方の対立遺伝子が、正常遺伝子から改変遺伝子に入れ替わった遺伝子改変マウスを作製する実験方法を10行以内で示せ。

【5】 タンパク質および酵素反応に関する以下 A と B の文章を読み、問に答えよ。

A

タンパク質の構造において、アミノ酸の並びを「ア」構造とよぶ。アミノ酸の主鎖が形成する規則的な構造を「イ」構造と呼び、その構造をユニットとして、ペプチド鎖が折れたたまった結果できる構造を「ウ」構造という。また、複数のペプチド鎖で会合した高次構造を「エ」構造という。タンパク質が特定の立体構造を取る要因には、ペプチド（アミド）結合の性質が深く関与している。ペプチド結合は、電子が非局在化した「オ」構造をとることによって、窒素とカルボニル炭素との間の結合が「カ」結合性を持つため自由回転が制限され、ペプチド結合を形成している炭素、酸素、窒素、水素の各原子とペプチド結合をはさむ二つの α 炭素は同一平面上に並ぶ。これに加え、近接する主鎖のアミド基や側鎖の官能基で形成される「キ」結合も構造の安定化に重要な役割を果たしている。よって、タンパク質に尿素を高濃度加えると「キ」結合が破壊されてタンパク質は変性する。

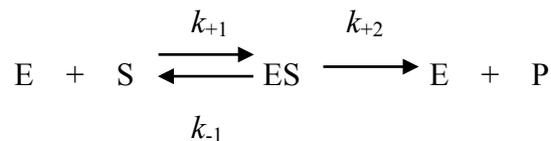
問1 空欄内のア～キに該当する適切な単語を答えよ。

問2 上記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 タンパク質の持つ機能は立体構造と密接な関係がある。タンパク質の原子レベルの立体構造を実験的に決定する方法はいくつかあるが、その中でX線結晶構造解析とクライオ電子顕微鏡による単粒子解析における、それぞれの構造決定方法について説明せよ。

B

酵素反応がミカエリス-メンテンの反応機構に従う場合、その反応は以下に示すような単純な2段階反応で進む。まず、酵素 (E) は基質 (S) と酵素-基質複合体 (ES) を生成する。その後、基質は生成物 (P) に変化して酵素から解離し、酵素は再び別の反応を触媒できる状態に戻る。



それぞれの反応の速度定数 k_{+1} 、 k_{-1} 、 k_{+2} 用いてミカエリス定数 K_m を表すと、 $K_m = \boxed{\text{a}}$ となる。一般に ES の生成は非常に速く、 k_{+2} が k_{-1} よりもはるかに小さい場合、ミカエリス定数は $\boxed{\text{b}}$ と表すことができる。よって、上記の条件が満たされる場合、 K_m が小さいほど基質分子の酵素に対する親和性が $\boxed{\text{c}}$ と言える。また、P が生産される際の反応速度は ES の濃度を $[\text{ES}]$ とすると、 $v = k_{+2}[\text{ES}]$ と表すことができる。

問1 空欄内の a~c に該当する適切な式および単語を答えよ。

問2 酵素と基質の濃度を $[\text{E}]$ 、 $[\text{S}]$ 、それぞれの初期濃度を $[\text{E}]_0$ 、 $[\text{S}]_0$ とする。基質が酵素に比べて大過剰に存在するとき、ES の生成速度と解離速度は等しく、 $[\text{ES}]$ は変化しないと考えることができる (定常状態近似)。また、 $[\text{S}]_0 \gg [\text{E}]_0 > [\text{ES}]$ であるので、酵素と基質の初期濃度は、それぞれ $[\text{E}]_0 = [\text{E}] + [\text{ES}]$ 、 $[\text{S}]_0 = [\text{S}] + [\text{ES}] \div [\text{S}]$ と表すことができる。ミカエリス定数 K_m 、 $[\text{E}]_0$ 、 $[\text{S}]_0$ 、 k_{+2} を用いて酵素の反応速度 v を表す式を誘導せよ。

問3 コハク酸脱水素酵素は、コハク酸をフマル酸へ酸化する反応を触媒する。基質であるコハク酸とよく似た構造を持つマロン酸は、競合して活性中心に結合する拮抗阻害剤として知られている。コハク酸の濃度が十分に高く、マロン酸が存在しない時の最大反応速度を V_{\max} とした場合、基質濃度 $[\text{S}]$ と反応速度 v の関係は下図 A、B で表される。これらのグラフは、マロン酸存在下ではどのように変化するか。解答用紙に阻害剤なしの時の図 A と図 B のプロットを実線で写して描いた後、阻害剤を加えた時の

プロットを破線で図示せよ。また、阻害剤ありの時のミカエリス定数を K_m' 、最大反応速度を V_{\max}' 、その逆数を $1/K_m'$ 、 $1/V_{\max}'$ としてグラフ中に示せ。

図 A

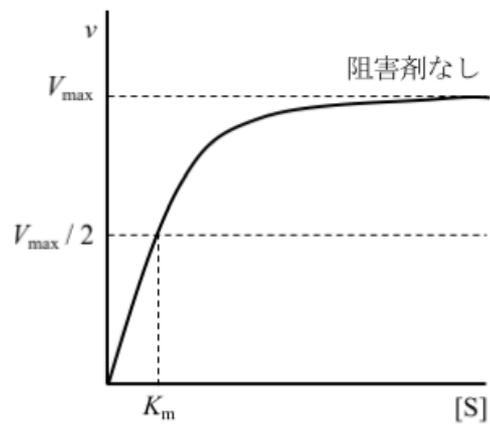
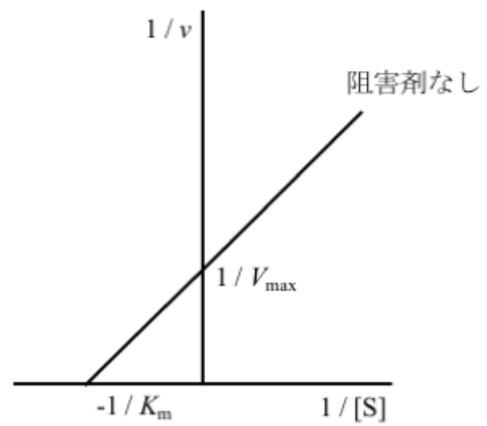


図 B



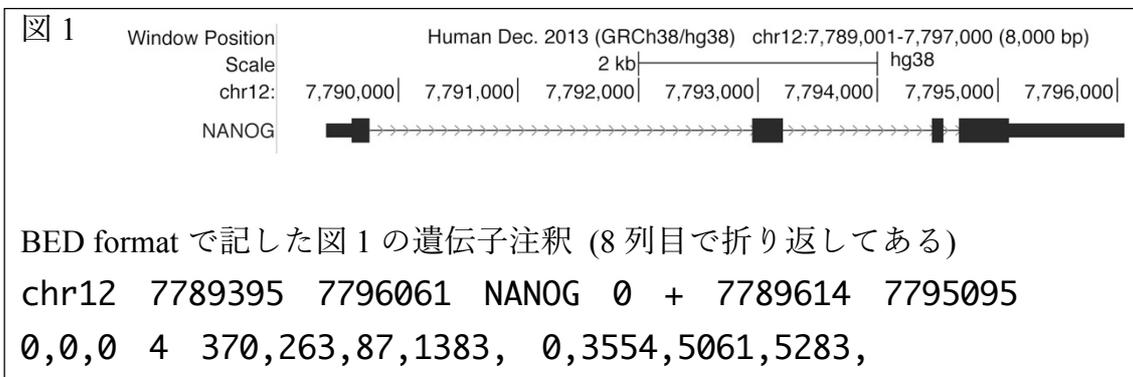
【6】 次世代シーケンサーを使った解析に関する以下の文章を読み、問に答えよ。

次世代シーケンサーを使ったオミクス解析には、遺伝子発現を解析する RNA シーケンス (RNA-seq) 法や、ヒストン修飾やクロマチン結合タンパク質のゲノム上での局在分布を解析するクロマチン免疫沈降シーケンス (ChIP-seq) 法などがある。その生の配列データや解析後のデータは、公共データベースに登録されており、また代表的なデータは、さまざまなゲノム注釈と比較しながら可視化できるようにゲノムブラウザにも登録されている。そのためバイオインフォマテイクスの技術を用い、自分の興味に応じてこのようなデータを再解析することが可能となっている。

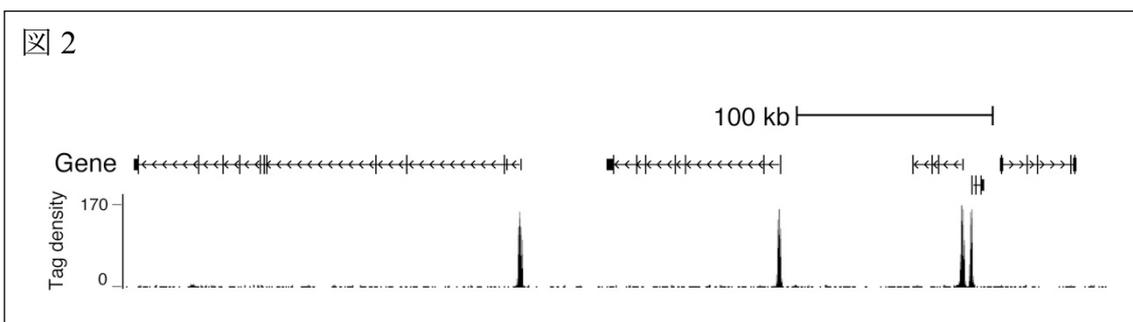
- 問1 かつてはトランスクリプトーム解析には、マイクロアレイが用いられてきたが、近年では次世代シーケンサーを用いた RNA-seq 法が用いられることが多い。マイクロアレイ解析に対する RNA-seq 法の優位性を、「特異性」「定量性」「参照配列」という3つの観点から説明せよ。
- 問2 RNA-seq 法において、各転写産物の発現量を表す値としてよく用いられる FPKM (Fragments Per Kilobase of transcript per Million mapped fragments) 値について、その計算式を記せ。ただし、シングルエンドのシーケンスによる解析とし、ゲノム上にマップされたリードの数を N 、そのうち目的の転写産物にマップされたリードの数を n_i 、目的の転写産物の長さ (bp) を L_i とする。
- 問3 UCSC (University of California, Santa Cruz) ゲノムブラウザでは、図1のように遺伝子注釈を可視化することができる。遺伝子注釈を保持する書式の一つである BED (Browser Extensible Data) format で記された図1の遺伝子注釈について、後述の BED format の仕様を参考に以下(1)～(3)

の3つの値を答えよ。なお、BED format の遺伝子注釈において、start codon、stop codon の位置は、それぞれ最初、最後の塩基の位置を示す。

- (1) 12 番染色体上での転写開始点の位置 (染色体の最初の塩基を 1 とする 1-based coordinate で答えよ)
- (2) 遺伝子注釈が示す転写産物の長さ
- (3) 5' UTR の長さ



問 4 ヒト細胞を用いてあるヒストン修飾の ChIP-seq を行い、得られたリードをヒト参照配列にマップし、その分布をゲノムブラウザで可視化したところ、このヒストン修飾は図 2 のように転写開始点に局在している様子が見られた。このヒストン修飾の度合いが、下流の転写の発現状態と正の相関を示すのではという考えを検証するには、ChIP-seq のマッピング結果からどのような値を計算し、どのような図を作成すればよいだろうか答えよ。作製する図の模式図を用いてもよい。



- BED format の仕様- (UCSC ゲノムブラウザの仕様から抜粋、改変)

BED (Browser Extensible Data) format provides a flexible way to define the data lines that are displayed in an annotation track. BED lines have three required fields and nine additional optional fields. The number of fields per line must be consistent throughout any single set of data in an annotation track. The order of the optional fields is binding: lower-numbered fields must always be populated if higher-numbered fields are used.

The first three required BED fields are:

1. chrom - The name of the chromosome (e.g. chr3, chrY, chr2_random) or scaffold (e.g. scaffold10671).
2. chromStart - The starting position of the feature in the chromosome or scaffold. The first base in a chromosome is numbered 0.
3. chromEnd - The ending position of the feature in the chromosome or scaffold.

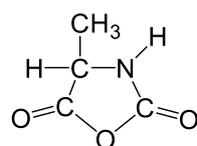
The 9 additional optional BED fields are:

4. name - Defines the name of the BED line. This label is displayed to the left of the BED line in the Genome Browser.
5. score - A score between 0 and 1000.
6. strand - Defines the strand. Either "." (=no strand) or "+" or "-".
7. thickStart - The starting position at which the feature is drawn thickly (for example, the start codon in gene displays). The first base in a chromosome is numbered 0.
8. thickEnd - The ending position at which the feature is drawn thickly (for example, the stop codon in gene displays).
9. itemRgb - An RGB value of the form R,G,B (e.g. 255,0,0).
10. blockCount - The number of blocks (exons) in the BED line.
11. blockSizes - A comma-separated list of the block sizes. The number of items in this list should correspond to blockCount.
12. blockStarts - A comma-separated list of block starts. All of the blockStart positions should be calculated relative to chromStart. The number of items in this list should correspond to blockCount.

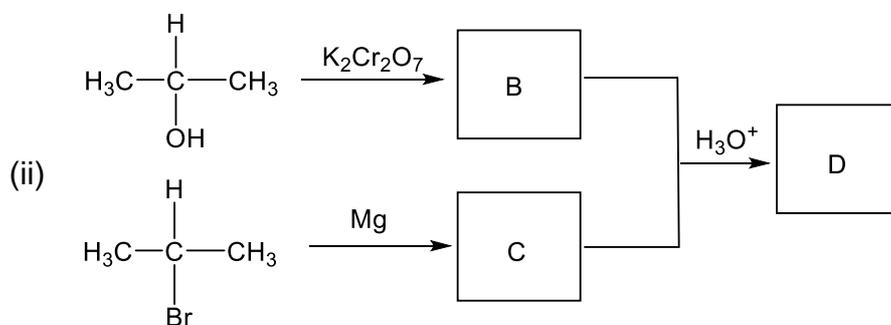
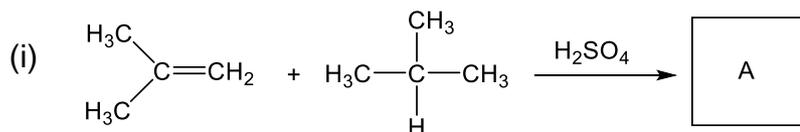
【7】 有機化学に関する以下の問に答えよ。

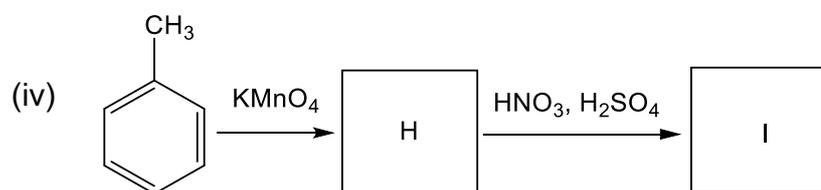
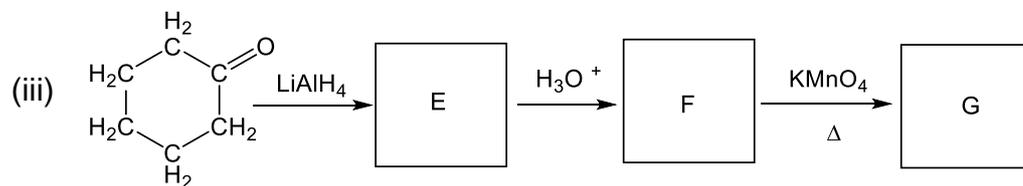
問1 プロピレンに臭化水素を付加させると臭化イソプロピルが得られる。一方、この反応を過酸化物 (R-O-O-R) 存在下で行うと臭化 *n*-プロピルが生成する。それぞれの反応機構を示し、過酸化物の有無で異なる生成物が得られる理由を説明せよ。

問2 下図のようなアラニンから調製できるアラニン-*N*-カルボン酸無水物に一級アミン (RNH₂) を添加するとポリアラニン誘導体を得られる。この反応がどのように起こるのか、順次生成する化合物の構造を書いて説明せよ。



問3 次の反応式(i)~(iv)の空欄A~Iにあてはまる化合物の構造を示せ。

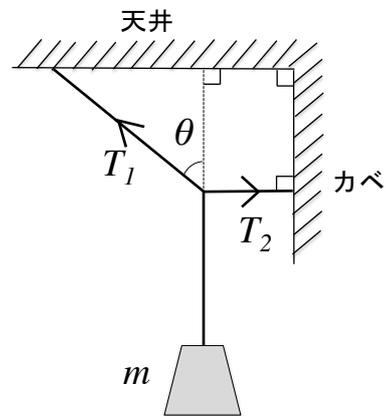




【8】 古典力学に関する以下の文章を読み、以下の問に答えよ。計算の途中過程も解答用紙に簡潔に書くこと。

問1 時刻 t における位置が、二次元極座標 (r, φ) を用いて $r=A, \varphi=\omega t$ と与えられる質点がある。この質点の加速度の大きさと方向を求めよ。 A と ω は定数である。

問2 図のように3本のヒモで質量 m の重りが吊っている。重力加速度を g とする。ヒモ1は天井と角度 θ をなす ($0 < \theta \leq \pi/2$)。ヒモ2は天井と垂直なカベから水平に張っている。この系が釣り合いの状態にあるとして、ヒモ1に生じる張力 T_1 およびヒモ2に生じる張力 T_2 を、 m, g, θ を用いて表せ。



問3 以下の運動方程式(1)の時間発展を表す解として $x(t) = \exp(\lambda t)$ がある。 λ を定数 ω を用いて表せ。

$$\frac{d^2x}{dt^2} = -\omega^2 x \quad (1)$$

問4 式(1)の時間発展を表す一般解を λ は用いずに ω と t を用いて求めよ。必要な定数 (積分定数) があれば、適宜定義した上で用いること。

問5 問4について、 $t=0$ における2種類の初期条件 $(x, dx/dt) = (0, 1)$ および $(x, dx/dt) = (2, 0)$ それぞれに対する $x(t)$ を求めよ。問4で定数を定義した場合にはその定数は用いてはならない。

問 6 空気抵抗などの動摩擦が働く場合には、運動方程式は以下の式(2)で与えられる。 γ は摩擦係数である。(2)の時間発展を表す解として $x(t) = \exp(\lambda t)$ がある。 λ を ω と γ を用いて表せ。

$$\frac{d^2x}{dt^2} = -\gamma \frac{dx}{dt} - \omega^2 x \quad (2)$$

問 7 問 6 について、 $(\gamma, \omega) = (2, 2), (5, 2)$ の 2 通りの場合それぞれについて、 $t=0$ における初期条件 $(x, dx/dt) = (0, 2)$ に対する $x(t)$ を求めよ。それぞれの時間発展の違いを簡単に述べよ。