

生 物 (その1)

第1問 抗体に関する次の文を読み、以下の各問いに答えよ。

哺乳類では、外来の異物（抗原）が体内に侵入すると、これに (1) 特異的に結合する抗体が形質細胞により産生される。通常、抗原分子にはエピトープ（抗原決定部位）が複数存在するので、抗体は複数種の形質細胞が産生するさまざまな抗体分子の集団となり、これをポリクローナル抗体（pAb ; polyclonal Antibody）とよぶ。一方、1個の形質細胞と抗体産生能を失った骨髄腫細胞を融合させると、無限に増殖して単一種の抗体を産生する細胞をつくることができる。これにより得られる抗体をモノクローナル抗体（mAb ; monoclonal Ab）とよぶ。mAbは高い抗原特異性を持つため反応の再現性に優れており、さまざまな検査や研究に利用されている。

免疫組織化学は、組織や細胞内における物質の局在を抗原抗体反応を利用して可視化する手法で、mAbも多く利用される。色素で標識したmAbを標本と反応させた後、標本を洗浄し観察すると、そのmAbが認識する抗原の局在を知ることができる。

(2) 異なる色素で標識した2種類以上のmAbを用いれば、複数の物質の局在を同時に調べることができる。このような、物質と反応させる抗体に標識をつける方法を直接法とよぶ。直接法では、1回の抗原抗体反応で物質の局在を検出できるが、用いるmAbの種類ごとに標識をつける必要がある。しかし、mAb（一次抗体）の定常部を認識する抗体（二次抗体）に標識をつけておいて、mAbの局在を検出すれば、mAbを個別に標識しておく必要がなくなる。(3) このような方法を間接法とよび、一般的に二次抗体にはpAbが用いられる。標識をつけられたさまざまな二次抗体が広く市販されている。

インフルエンザウイルスの検出キットにもmAbが利用されている。図1に示すように、(4) 乾燥したろ紙のY領域に、マウスで作成しそれぞれ別の色素で標識した2種類のmAb（標識抗体）を、抗原に比して過剰量吸着しておく（ろ紙に固定されていない）。また、(5) Z1, Z2, Z3領域には、標識されていない3種類の抗体をそれぞれ線状に固定しておく。患者から得た検体溶液をX領域に滴下すると、毛細管現象により検体溶液はY領域へと移動し、Y領域の標識抗体を溶解して、抗原抗体反応を起こす。検体溶液中の抗原や標識抗体は抗原抗体反応の有無にかかわらず、図の矢印方向へさらに移動する。やがてZ1, Z2, Z3領域へ達した溶液中の抗原や抗体が、これらの領域に固定されている抗体と結合した場合には、そこに捕捉され濃縮されることで標識抗体の色が観察される。このキットを用いた検査結果と判定を図2に示す。

生 物 (その2)

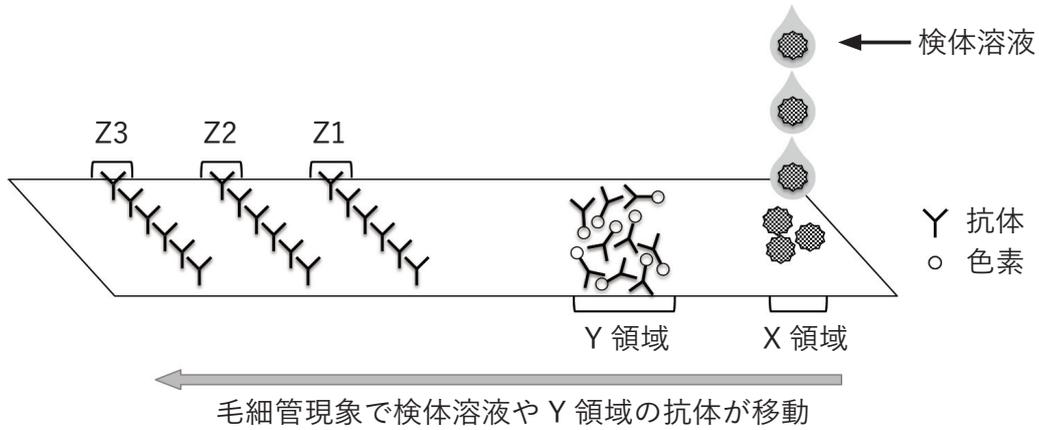


図1 インフルエンザウイルス検出キット

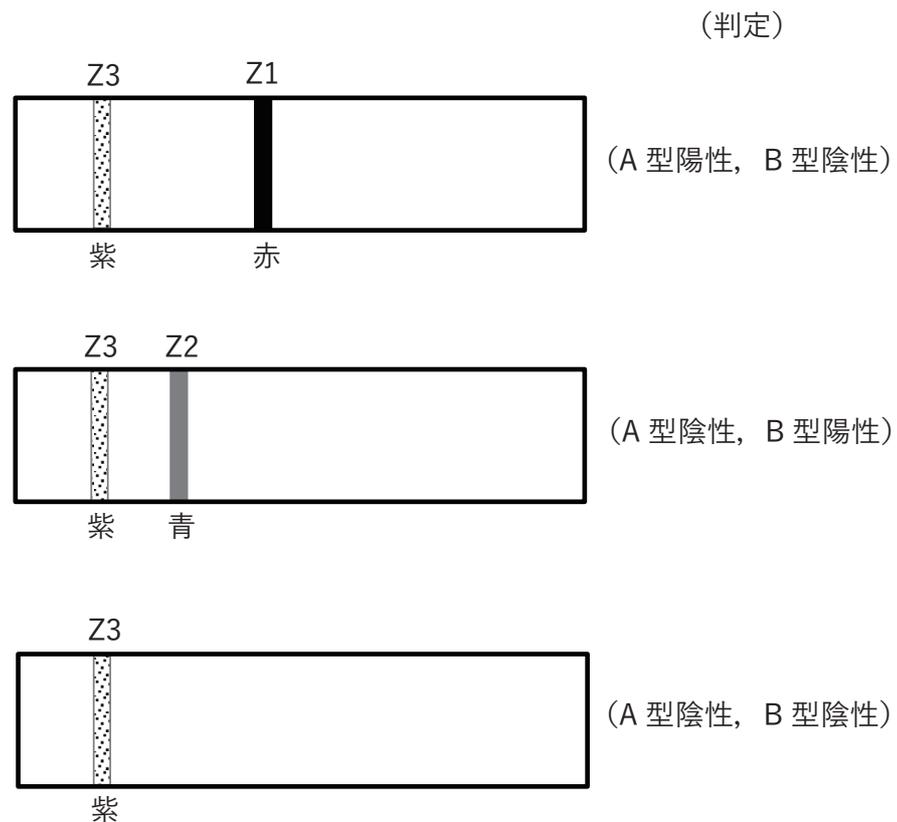


図2 検査結果と判定

生 物 (その3)

問1 下線部(1)について、抗原と反応した後も形質細胞に分化せず体内に残り、抗原の再侵入時に二次応答を引き起こす細胞を何とよぶか、名称を記せ。

問2 下線部(2)について、血液型A型の抗原を認識する抗体を緑色蛍光で標識し、血液型B型の抗原を認識する抗体を赤色蛍光で標識した。次のア)～エ)の遺伝子型のヒトから採取した赤血球に対し、これら2種類の抗体を同時に反応させ、顕微鏡で観察するとどのように見えるか。最も適当なものを以下の①～⑧から1つずつ選び、それぞれ番号で記せ。ただし、用いる顕微鏡は複数の蛍光を同時に見ることができ、また赤血球本来の蛍光は観察されないものとする。

- ア) 遺伝子型がAOのヒト
- イ) 遺伝子型がBOのヒト
- ウ) 遺伝子型がABのヒト
- エ) 遺伝子型がOOのヒト

- ① すべての赤血球の表面が緑色に光る。
- ② 半数の赤血球の表面が緑色に光り、残り半数は光らない。
- ③ すべての赤血球の表面が赤色に光る。
- ④ 半数の赤血球の表面が赤色に光り、残り半数は光らない。
- ⑤ 半数の赤血球の表面が赤色に光り、残り半数は緑色に光る。
- ⑥ すべての赤血球の表面が黄色に光る。
- ⑦ すべての赤血球の表面が紫色に光る。
- ⑧ すべての赤血球が光らない。

問3 下線部(3)について、

- i) pAbを二次抗体として用いる間接法は直接法に比べて強い発色を得られ、検出感度が高くなる。その理由を簡潔に記せ。
- ii) 間接法を行う場合、標本に対し二次抗体のみを反応させる対照実験が欠かせない。この対照実験を行う理由を簡潔に記せ。

生 物 (その4)

問4 下線部(4)について、図1と2を参照しながら、Y領域に吸着しておく抗体として適当なものを①～⑥から2つ選び、番号で記せ。

- ① 赤の色素で標識した、A型インフルエンザウイルスに対するmAb
- ② 青の色素で標識した、A型インフルエンザウイルスに対するmAb
- ③ 紫の色素で標識した、A型インフルエンザウイルスに対するmAb
- ④ 赤の色素で標識した、B型インフルエンザウイルスに対するmAb
- ⑤ 青の色素で標識した、B型インフルエンザウイルスに対するmAb
- ⑥ 紫の色素で標識した、B型インフルエンザウイルスに対するmAb

問5 下線部(5)について、図1と2を参照しながら、Z1、Z2、Z3領域に固定しておく抗体として最も適当なものを①～⑥から1つずつ選び、それぞれ番号で記せ。同じものを重複して選んでも構わない。ただし、異なるmAbは異なるエピトープを認識するものとする。

- ① Y領域に用いたものと同じA型インフルエンザウイルスに対するmAb
- ② マウスで作成したY領域に用いたものとは異なる、A型インフルエンザウイルスに対するmAb
- ③ Y領域に用いたものと同じB型インフルエンザウイルスに対するmAb
- ④ マウスで作成したY領域に用いたものとは異なる、B型インフルエンザウイルスに対するmAb
- ⑤ マウスで作成した、ウサギ抗体の定常部に対するpAb
- ⑥ ウサギで作成した、マウス抗体の定常部に対するpAb

問6 図2に示す3つの判定には、Z3領域が紫色になることが必須である。その理由として適当なものを①～④からすべて選び、番号で記せ。

- ① 検体溶液にインフルエンザウイルスが含まれていたことを示しているから。
- ② 検体溶液にインフルエンザウイルスに対する抗体が含まれていたことを示しているから。
- ③ 検体溶液がZ1、Z2領域を通過したことを示しているから。
- ④ 標識抗体の標識が機能していたことを示しているから。

生 物 (その5)

第2問 乳酸脱水素酵素 (LD : Lactate Dehydrogenase) に関する次の文を読み、以下の各問いに答えよ。

ヒトの (1) 骨格筋は運動を行う際に大量のATPを消費する。安静時の筋細胞は呼吸によりATPを産生しているが、運動時にはATPの不足分をクレアチンリン酸からつくり出す。それでも足りなくなると今度は解糖によってATPを供給する。 (2) 骨格筋には瞬発力を生み出す速筋と持久力を支える遅筋があるが、速筋で起こる解糖の最終段階で、ピルビン酸はLDのはたらきで乳酸に変えられる。激しい運動をしたときには解糖によって大量の乳酸が生み出されるが、乳酸は捨てられることなくエネルギー源として再活用される。速筋で生み出された乳酸の一部は遅筋に取り込まれ、(3) ピルビン酸に戻された後、ミトコンドリアのクエン酸回路に入る。また(4) 血中に放出された乳酸は肝臓や心臓などへ運ばれ、そこで再利用される。

LDには速筋に多く見られる骨格筋型(M型)と心臓に多く見られる心筋型(H型)の2つの型があり、これらが4量体を形成している。M型とH型の発現量は細胞ごとに異なっているために、(5) M型とH型の比率が異なるさまざまな4量体が存在し、これらをアイソザイムとよんでいる。アイソザイムの種類とそれらの発現比率は器官ごとにほぼ決まっている。そのため、(6) 血液検査によって検出されるLDのアイソザイムを調べることで特定の器官に起こった異変を知ることができる。

M型とH型は同じ反応を触媒する。しかし(7) 両者を比較すると乳酸に対するH型の親和性はM型よりも高く、また4量体を形成したときにH型は高濃度のピルビン酸によってアロステリック阻害を受けるが、M型は阻害されない。

問1 下線部(1)について、運動エネルギーを生み出すためにATPを消費する骨格筋タンパク質の名称を記せ。

問2 下線部(2)について、速筋と遅筋ではそれらを構成する細胞小器官や細胞内タンパク質の量に差があるために見た目の様子も異なり、それぞれ白筋、赤筋ともよばれる。速筋と比べて遅筋に多く見られる a) 細胞小器官と、 b) 細胞内タンパク質の名称をそれぞれ記せ。

生 物 (その6)

問3 下線部(3)について、ピルビン酸はミトコンドリアに取り込まれた後、クエン酸回路に入る際に別の物質に変換される。この物質は何か、名称を記せ。

問4 下線部(4)について、

- i) 肝臓に取り込まれた乳酸は、解糖系を逆行する反応により糖新生にも使われ、その一部は肝臓で貯蔵される。肝臓に蓄えられる糖でできた貯蔵物質は何か、名称を記せ。
- ii) 血中の乳酸の中には骨格筋から放出されたものの他に、赤血球から放出されたものも含まれる。赤血球がATP産生に呼吸ではなく、解糖を用いる理由を簡潔に記せ。

問5 下線部(5)について、LDのアイソザイムの種類は全部で何通り存在するか、整数で記せ。ただし、4量体を形成している各単量体の位置はお互い等価であるものとする。

問6 下線部(6)について、この検査でどうして特定の器官の異変を知ることができるのか、理由を簡潔に記せ。

問7 下線部(7)の記述から、心筋ではたらくLDの反応は主にどちら側に向いていると考えられるか、解答用紙の()内に反応の向きを矢印で記せ。

問8 ヒトの体で産生された乳酸は、ほとんどの場合再びピルビン酸に戻して再利用される。骨格筋や赤血球では解糖系で生じたピルビン酸はどうしてLDによって乳酸に変える必要があるのか、理由を簡潔に記せ。

生 物 (その7)

第3問 DNA ポリメラーゼに関する次の文を読み、以下の各問いに答えよ。

(1) DNA ポリメラーゼと RNA ポリメラーゼはともに DNA の 1 本鎖を鋳型として相補的なポリヌクレオチドを合成する酵素である。そのため、この両者はよく似たはたらきを持つ酵素であるが、DNA ポリメラーゼはプライマーを必要とし、一方で RNA ポリメラーゼはプライマーを必要としない。

DNA は 4 種類のヌクレオチドがつながった 2 本の鎖が逆平行に向いた二重らせん構造をとっている。このとき、ヌクレオチドを構成する 4 つの塩基のうち、A と T、C と G は同一平面上に配置され、それぞれ二重らせんの内側で相補的な水素結合を形成している (図 3)。DNA が複製されるとき、この水素結合は切断され DNA は 1 本鎖の状態になる。塩基間の相補的な水素結合は、2 か所あるいは 3 か所だけで形成されている。そのため、鋳型鎖上の A に対して DNA ポリメラーゼの基質として取り込まれるヌクレオチドは、少し向きを変えることによって T 以外に C や G の塩基でも A と 2 か所の水素結合をつくるのが可能である (図 4)。しかし、A に対して C が向き合った場合には新たに合成された DNA と鋳型鎖 DNA との間で 2 本鎖の平行が保たれなくなる (図 4 左)。また、A に対して G が向き合った場合には 2 本鎖の間隔が広がってしまい (図 4 右)、いずれの場合でも合成後の DNA で二重らせん構造が保てなくなる。すなわち、A と T、C と G という相補的塩基対は、ポリヌクレオチド鎖 2 本が逆平行二重らせんを形成しているときにだけ成立するのである。

(2) 細胞で DNA 複製が行われる際には、約 10 ヌクレオチドの長さのプライマーがまず合成され、鋳型鎖 DNA との間で二重らせんが形成される。DNA ポリメラーゼはこの二重らせんを抱え込んだ状態で、プライマーの 3' 末端にヌクレオチドをつないでいくことにより DNA の合成を開始する。DNA ポリメラーゼはこのように、常に DNA の二重らせん構造を保ちながら伸長反応を行っているために、DNA を正確に複製することができる。ところが (3) プライマーの部分は正確に複製されていないので、DNA 伸長後プライマーの部分は削られて別の DNA ポリメラーゼによって正確につくり直される。

DNA 複製の際にプライマーを必要とする DNA ポリメラーゼの特性をうまく利用することにより、PCR という技術が発明された。(4) プライマーの長さを適切に設計することにより、とてつもない大きさを持つゲノム DNA の特定の領域だけを短時間で大量に複製することが可能になった。

生 物 (その8)

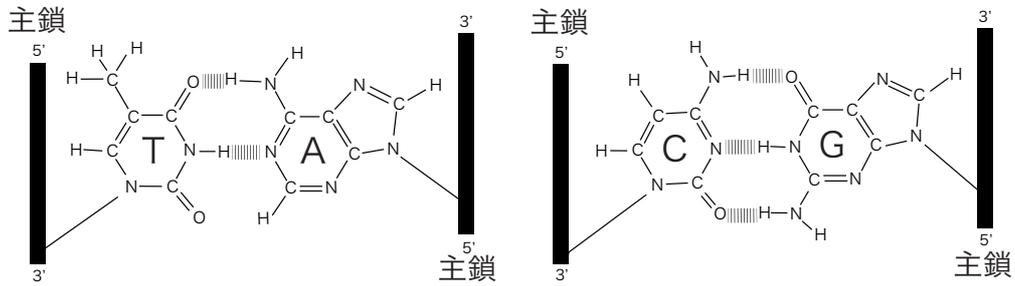


図3 DNAの二重らせん内における相補的塩基対

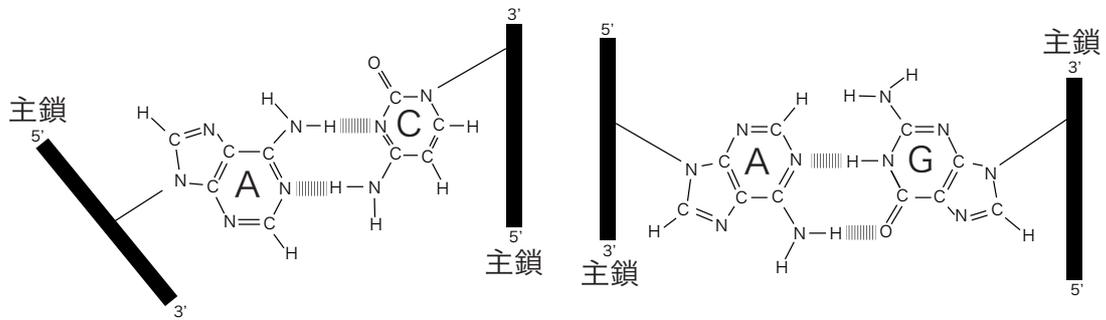


図4 DNAの二重らせんを考慮せずに形成されたヌクレオチド間の水素結合

生 物 (その9)

問1 下線部(1)について、DNAポリメラーゼの基質となる4種類のヌクレオチドはデオキシリボースにリン酸が3個つながったデオキシリボヌクレオチドで、それぞれdGTP, dCTP, dATP, dTTPと表記される。RNAポリメラーゼの基質となる4種類のヌクレオチドを同様にアルファベットの略号で記せ。

問2 下線部(2)について、DNAが複製される際に形成されるプライマーは、プライマーゼという酵素でつくられ、RNAでできている。どうしてプライマーはDNAではなくRNAでつくられるのか。その理由を考察し、簡潔に記せ。

問3 下線部(3)について、真核生物のDNAでは2本鎖DNAの5'末端側で使われたプライマーの部分をDNAに置き換えることができず、DNAは複製されるたびに短くなっていく。これはDNA複製の末端問題とよばれ、真核生物ではDNAの末端に特殊な構造を付与し、短くなった末端を発生のある時期に伸長することでこの問題を解決している。

- i) 真核生物のDNA末端に見られる特殊な構造を何とよぶか、名称を記せ。
- ii) 大腸菌ではDNA複製の末端問題は生じない。その理由を記せ。

問4 下線部(4)について、

- i) 核内でDNAが複製される際のプライマーの長さはおよそ10ヌクレオチド程度である。しかしPCRを行う際には、それよりも長いプライマーが使用される。ヒトのゲノムDNAのある1領域だけをPCRで増やしたい場合、プライマーの長さは最低何塩基以上にする必要があるか、計算式とともに記せ。ただし、プライマーの長さをnとし、ヒトのゲノムサイズを30億塩基対とする。必要であれば $\log_{10}2 = 0.30$ $\log_{10}3 = 0.48$ を使用せよ。
- ii) PCR反応では試薬を入れた反応溶液で $95^{\circ}\text{C} \rightarrow 55^{\circ}\text{C} \rightarrow 72^{\circ}\text{C} \rightarrow 95^{\circ}\text{C}$ という温度変化のサイクルを何回も繰り返してDNAを増幅する。このサイクルを30回繰り返すとDNAは約何倍に増幅されるか。 1×10^x 倍の形で表したときのXの値を整数で記せ。

生 物 (その10)

iii) プライマーと鋳型 DNA を結合 (アニール) させる温度は, プライマーの種類によって異なり, 一般的に 50°C ~ 60°C の間で設定する。アニールさせる温度はどのようにして決まるか。① ~ ⑧ から適当なものをすべて選び, 番号で記せ。

- ① プライマーが長いほどアニール温度は高い。
- ② プライマーが短いほどアニール温度は高い。
- ③ プライマーに含まれる A の頻度が高いほどアニール温度は高い。
- ④ プライマーに含まれる C の頻度が高いほどアニール温度は高い。
- ⑤ プライマーに含まれる G の頻度が高いほどアニール温度は高い。
- ⑥ プライマーに含まれる T の頻度が高いほどアニール温度は高い。
- ⑦ 複製する DNA が長いほどアニール温度は高い。
- ⑧ 複製する DNA が短いほどアニール温度は高い。

iv) PCR 反応では反応溶液の温度を最初に 95°C に上げることによって, 鋳型 DNA の二重らせんをほどいて 1 本鎖にする。次に 55°C まで冷却したときにプライマーが鋳型の DNA とアニールする。1 本鎖の鋳型 DNA 同士が二重らせんを形成する前に, プライマーが鋳型 DNA とアニールする理由を簡潔に記せ。

生 物 (その11)

第4問 止血に関する次の文を読み、以下の各問いに答えよ。

ヒトの体には出血を止める機構(止血)が備わっている。血管内皮が損傷するとコラーゲンが露出し、これに⁽¹⁾ 血小板が集まってくる。また、血小板はコラーゲンなどによって活性化されて突起を伸ばし、細長いタンパク質を使って互いをつなぎ合わせる。小さな損傷の場合はこの時点で出血が止まる。ここまでの過程を一次止血とよぶ。

一次止血だけでは損傷した血管を修復し終えるまで止血しておくには不十分なので、さらに強固に止血するための血液凝固反応が始まる。血液凝固反応は凝固因子の連続的な活性化が起こるため、カスケード反応とよばれている。血液凝固因子は全部で12種類あり、⁽²⁾ 凝固因子の1つである第Ⅷ因子は他の因子とともに第Ⅹ因子を活性化し、さらに第Ⅹ因子は第Ⅱ因子を活性化する。⁽³⁾ 活性化された第Ⅱ因子は血小板をつないでいた細長いタンパク質を繊維状に変化させ、血球とともに血ぺいをつくる。この血ぺいを使って強固に止血するシステムを二次止血とよぶ。

動脈硬化による血管内皮細胞の損傷や長時間同じ姿勢をとることで血流が滞るなど、さまざまな原因によっても血ぺいが形成される。⁽⁴⁾ 過剰な血ぺいは血管をつまらせる原因となり、最悪の場合には死に至ることもある。

問1 下線部(1)について、

- i) 正常な血小板の大きさとして最も適当なものを①～⑤から1つ選び、番号で記せ。

- ① 0.1～1 μm ② 2～4 μm ③ 7～8 μm
④ 10～15 μm ⑤ 20～30 μm

- ii) 健常者の血液1 mm³の中に存在する血小板の数として最も適当なものを①～⑤から1つ選び、番号で記せ。

- ① 6,000～9,000 ② 1万～2万 ③ 5万～8万
④ 15万～40万 ⑤ 400万～500万

生 物 (その12)

iii) 血小板がつくられる場所として最も適当なものを ①～⑥ から 1つ選び、番号で記せ。

- ① ひ臓 ② 骨髄 ③ すい臓 ④ 肝臓 ⑤ 小腸 ⑥ 血管

問2 下線部(2)について、

- i) あらかじめクエン酸ナトリウムを入れた試験管に血液を入れると、この反応は起こらない。その理由を簡潔に記せ。
- ii) 遺伝子に変異が入ることで、第Ⅷ因子の欠損または活性低下が起こる疾患を血友病という。この第Ⅷ因子遺伝子は性染色体である X 染色体上に存在する。X 染色体を 2 本持つ女性の場合、男性と遺伝子の発現量を合わせるために 2 本のうち 1 本の染色体が丸ごと不活性化される。変異型第Ⅷ因子の遺伝子と正常な遺伝子をヘテロに持つ女性でも X 染色体の不活性化は起こるが、血友病を発症することは極めてまれである。その理由として最も適当なものを ①～④ から 1つ選び、番号で記せ。

- ① 変異型第Ⅷ因子遺伝子を持った X 染色体が選択的に不活性化されるから。
- ② X 染色体の不活性化はランダムに起こるため血液中の正常な第Ⅷ因子の量は半分になるが、血液凝固にはさしつかえないから。
- ③ 変異型第Ⅷ因子遺伝子を持った X 染色体が不活性化された細胞は、凝固因子を産生する細胞に分化できないから。
- ④ ヘテロの女性では血液中の正常な第Ⅷ因子の量が、正常男性と同じ量になるように遺伝子の発現量が調節されるから。

問3 下線部(3)について、

- i) 細長いタンパク質を何とよぶか、名称を記せ。
- ii) 血液凝固のカスケード反応は試験管の中でも進み、血ペいを形成する。このとき、血ペい以外の液体成分を何とよぶか、名称を記せ。

問4 下線部(4)について、

- i) 血ペいが血管をつまらせることを何とよぶか、名称を記せ。
- ii) 不要な血ペいを溶かして取り除くしくみを何とよぶか、名称を記せ。

生 物 (その13)

問5 止血の機能に異常がないかを調べるため、

a) 耳たぶに小さな傷をつけて出血させ、この出血が止まるまでの時間

b) 採血した血液が試験管内で凝固し、血ぺいができるまでの時間

を測定した。次のア)～エ)のような患者では、健常者と比べてa)とb)の時間はどのように変化すると考えられるか。最も適当なものを以下の①～③からそれぞれ1つずつ選び、番号で記せ。

ア) 血友病の患者

イ) 血小板減少症(血小板の数が異常に減少した状態)の患者

ウ) トロンビンのはたらきを阻害する薬を服用している患者

エ) 血小板同士がくっつくのを防ぐ薬を服用している患者

① 短くなる

② 変わらない

③ 長くなる