

〔I〕 以下の問題文を読み、答えを解答欄に記入しなさい。

生物部に属する進と珠基と創太の3人は、文化祭の出し物の1つとして、動物の神経細胞を培養してみたいと考え、顧問のリコ先生と計画を練っている。

進：先生、できれば脳の神経細胞を増やしてみたいです。皮膚の細胞を培養したときはうまく増えたけど、神経細胞って増えるのでしょうか。

リコ先生：体を作っている細胞には、増えやすい細胞とそうでない細胞があります。神経細胞は、どちらかといえば増えにくい細胞と言われています。

珠基：実験室にイモリがいます。イモリは再生力が強い（1）から使えませんか。

リコ先生：そうですね。イモリの脳を取り出して、細胞を分散させて培養するのがよいでしょう。そうすれば、脳の中の、一部の増殖性の高い未分化の神経細胞を増やせるかもしれませんね。神経細胞を増やせたら、緑色蛍光タンパク質（GFP）を付けたタンパク質を作らせて、細胞を光らせてみましょう（2）。

創太：せっかく実験するのなら、イモリではなくてヒトの脳細胞を使った方が面白そうだけど。

リコ先生：ヒトの脳の細胞を生きた人間から取り出すのは、倫理的にも実験的にも難しいですね。

進：カエルの未受精卵の核を破壊して、皮膚細胞の核を注入すればオタマジャクシから成体まで育てることができますよね（3）。だから、イモリの脳から未分化の神経細胞を増やして、その核のDNAを壊してから、ヒトの皮膚細胞から取り出した核を入れて増やしてみたいです。そうすればイモリの神経細胞の再生力をもったヒトの神経細胞ができるかもしれない。

リコ先生：そのような細胞を作れたとしても、できた細胞がイモリの再生力を持ち続けるとは考えにくいですね（4）。ヒトの神経細胞を作るのであれば、ヒトのiPS細胞を神経細胞に分化させる（5）ほうが、より現実的でしょう。

珠基：ヒトの神経細胞を作るだけでなく、小さなヒトの脳を作ってみたいです。そこから一部を眼に分化させたりできませんか。

創太：その実験は面白そう。でも、眼や脳ができたって、どうやって確かめればいいのか（6）。作った脳でロボットを操縦させたり、パズルを解かせたりできたらすごいと思う。

リコ先生：iPS細胞から脳のオルガノイドを作る実験は興味深くて、色々な意味でも役立つ研究になると思います。同時に倫理的な問題（7）も指摘されているので、そうしたことにも配慮しながら研究していくことが大切ですね。

問1 下線部（1）に関して、イモリの水晶体を除去した際の水晶体の再生の仕組みについて説明しなさい。

問2 下線部（2）に関して、生命科学において、GFPはどのように使用されるか、以下の用語を用いて説明しなさい。
用語：ベクター、青色光、遺伝子の発現、細胞内局在

問3 下線部（3）に関して、このようにして作製した動物を何と呼ぶか。また、このようにして作製された動物は、核を供与した動物と同一のゲノムDNA配列をもつにも関わらず、核を供与した動物とは異なる性質を示すことがある。これはどのような遺伝情報の違いによって引き起こされるか。ただし、核を提供した動物と未受精卵を供与した動物に関して、ミトコンドリアDNAの配列には違いはないものとする。

問4 下線部（4）に関して、その理由を説明しなさい。

問5 下線部（5）に関して、iPS細胞は胚性幹細胞（ES細胞）と比べ、ヒトの初期胚を使わずに済むという利点だけでなく、治療における医学的な側面からも優れている。どのような点で優れているか説明しなさい。

問6 下線部(6)に関して、このようにして作製した人工的な臓器や組織をオルガノイドとよぶ。オルガノイドの眼や脳は、単に培養した神経細胞と比べ、生体に類似した神経回路が形成されている。これらのオルガノイドで形成された神経回路が、眼と脳の中で果たす本来の役割と同様の機能を備えているかどうかを調べるには、どのような実験を行えばよいか説明しなさい。

問7 下線部(7)に関して、どのような倫理的問題を生じる可能性があるか説明しなさい。

〔Ⅱ〕 以下の問題文を読み、答えを解答欄に記入しなさい。

DNA が複製される際は、ゲノム DNA 上の特定の領域が複製起点（複製開始点）としてはたらし、その部分の DNA の 2 本鎖が解離して、部分的に 1 本ずつのヌクレオチド鎖になる。次に、それぞれのヌクレオチド鎖を鋳型として、それに（あ）的な塩基をもつヌクレオチドが結合していく。ここで、（い）と呼ばれる酵素がこのヌクレオチドどうしを連結し、新たなヌクレオチド鎖が形成される。

このように DNA 複製において重要となる複製起点の働きを確認したいと考え、まず、原核生物である大腸菌のプラスミド配列に興味を持ち、**実験 1**をおこなった。

実験 1

図 1 に示すように、大腸菌に由来する環状のプラスミドを人工的に改変したもの（プラスミド P と名付けた）を準備した。このプラスミド P は、大腸菌 DNA の複製起点として働く DNA 配列と、薬剤 A への耐性遺伝子（A 耐性遺伝子）をあわせ持つ。ここで薬剤 A は、原核細胞および真核細胞に共通してそれらの生存率を著しく低下させる化合物とする。細胞が A 耐性遺伝子を含むプラスミドを持ち続けた場合は、薬剤 A に耐性を示し、コロニーを形成する。プラスミド P を大腸菌の細胞内に導入する操作をおこなった後に、薬剤 A を含む寒天プレート（大腸菌の培養用）にこれらの細胞を塗り広げ、一晚培養したところ、多数の大腸菌コロニーが生育することが分かった。

次に、大腸菌のような原核生物と、酵母のような真核生物において、DNA 複製が共通の複製起点を用いておこなわれるのかを調べるために、**実験 2**・**実験 3**をおこなった。

実験 2

図 2 に示すように、酵母細胞の中にもプラスミド P を導入することが可能である。その導入操作を適切におこなったのち、薬剤 A を含む寒天プレート（酵母の培養用）にこれを広げた。しかし、酵母細胞のコロニーは出現しなかった。

実験 3

図 3 に示すように、酵母のゲノム DNA を制限酵素で切断した。生じた各 DNA 断片を、プラスミド P（ベクター）の特定の部分に挿入することで、プラスミドの集団を作った。その後、**実験 2**と同様に、これらのプラスミド集団を酵母細胞に導入する操作をおこなった。ベクターに挿入された断片の種類は各プラスミドで異なり、このような細胞集団は「ライブラリー」と呼ばれる。この細胞集団を、薬剤 A を含む寒天プレート（酵母用）に広げたところ、大部分の細胞は生育できなかったが、一部のプラスミドを導入した酵母細胞のみがコロニーとして出現した。

問 1 文中の空欄（あ）と（い）にあてはまる適切な語句を解答欄に記入しなさい。

問 2 **実験 1** に用いたプラスミド P から A 耐性遺伝子の配列部分だけを除去した環状プラスミド P1 を作製した。これをプラスミド P の代わりに用いて**実験 1**と同様に大腸菌への導入実験をおこなった。薬剤 A を含む寒天プレート（大腸菌用）の上ではどのような様子が見られるか。また、その理由も説明しなさい。

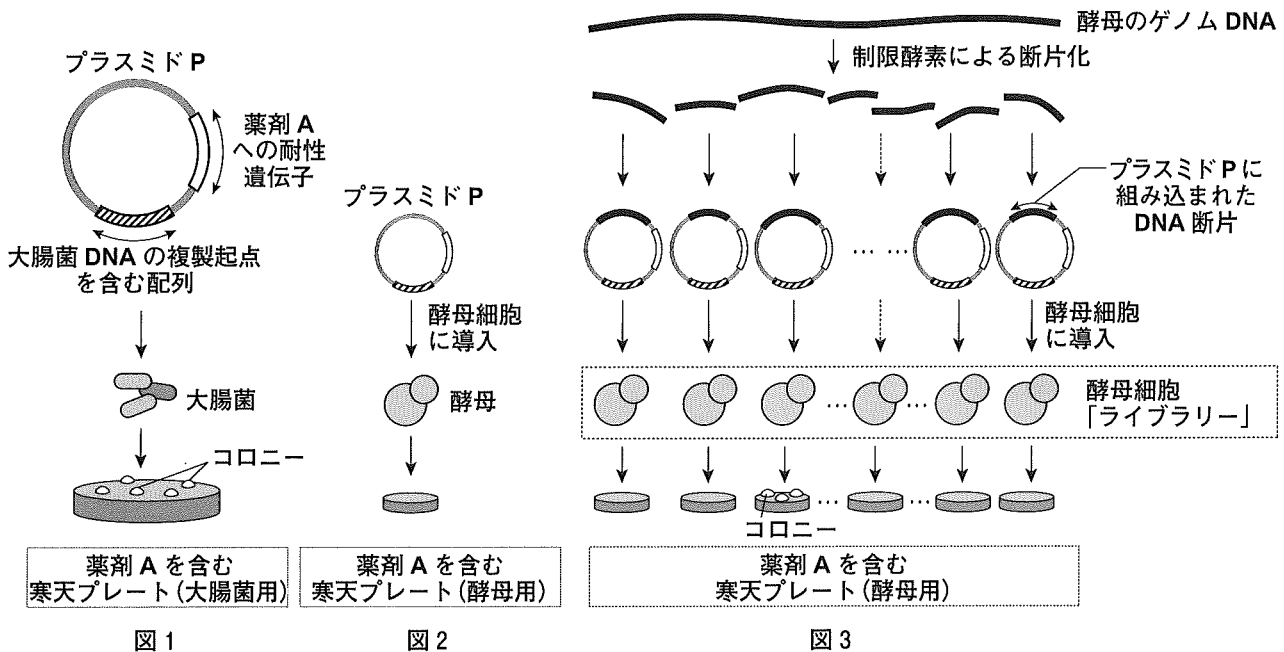
問 3 **実験 1** に用いたプラスミド P から 複製起点を含む配列部分だけを除去した環状プラスミド P2 を作製した。これをプラスミド P の代わりに用いて**実験 1**と同様に大腸菌への導入実験をおこなった。薬剤 A を含む寒天プレート（大腸菌用）の上ではどのような様子が見られるか。また、その理由も説明しなさい。

問4 実験2でプラスミドPをもつコロニーが生育できなかった原因として考えられることを、以下の文章のように考察した。空欄（う）～（お）にあてはまる適切な語句を解答欄に記入しなさい。

考察：プラスミドPを導入した細胞（大腸菌または酵母）がコロニーをつくるためには、プラスミドPが持つ2種類の配列（図1）の働きが重要であると考えた。薬剤Aへの耐性遺伝子は酵母細胞でも大腸菌の場合と同様に発現して機能することが知られているので、これらの細胞がプラスミドを持つ限り、そのコロニーが現れるはずである。実際にはコロニーが現れなかったため、酵母細胞内ではプラスミドPが持つ（う）が機能しなかったものと考えられる。すなわち、プラスミドPは酵母細胞内では（え）されないので、（お）の作用により細胞が生育できずにコロニーが出現しなかったと考えられる。

問5 実験2においてはコロニーが出現しなかったが、実験3のように作製した多種類のプラスミドを用いた場合、一部のプラスミドをもつ細胞のみがコロニーを形成した。すなわち、ゲノムDNA配列の中で、ある特定の機能を有する配列がプラスミドに組み込まれた場合のみ、それを持つ酵母細胞が安定的に生育可能になったといえる。そのようなDNA配列は、酵母の染色体においてどのような働きをする配列だと考えられるか。問2～問4の内容も含めて総合的に考察し、その配列がもつ働きを説明しなさい。

問6 実験3で出現したコロニーの酵母細胞からプラスミドを取り出す操作をおこなった。次に、このプラスミドが持つ「大腸菌DNAの複製起点を含む配列」（図1）を除去した環状プラスミドQを作製した。このプラスミドQを、プラスミドPの代わりに用いて実験2と同様に酵母細胞内への導入実験をおこなったところ、薬剤Aを含む寒天プレート上に多数のコロニーを形成した。これに対して、プラスミドQを大腸菌に導入する実験をおこなったところ、薬剤Aを含むプレート上に大腸菌のコロニーは出現しなかった。これらの実験結果から、大腸菌と酵母におけるDNAの複製起点について何が明らかになったのか、説明しなさい。



〔Ⅲ〕 以下の問題文を読み、答えを解答欄に記入しなさい。

筋紡錘は骨格筋の筋周膜内に存在し、筋の伸長速度や伸長程度を受容する受容器である。この受容器から中枢に向かう（あ）という細胞は、筋が引き伸ばされたときに、その伸びた長さや伸びる速さを興奮として中枢に伝える。脳での判断を介さずに瞬間的に筋肉を動かす反応では、中枢神経系である（い）内で情報が処理される。それには、（あ）が1つのシナプスだけを介して（う）という細胞に興奮を伝える場合と、（あ）が（え）という細胞を介して（う）に興奮を伝える場合がある。刺激を受容して筋肉を動かすまでの興奮を伝える神経の経路を（お）という。

静止状態のニューロンの軸索の電位は、内側が外側に対して（か）になっている。ところが、この状態の軸索の一部に電気刺激を与えると、その部分の内側が瞬間的に（き）の膜電位となり、隣接する部分との間に局所的に電流が発生する興奮（1）を生じ、その興奮状態は軸索の（く）方向に伝わる。そして、興奮が終わりつつある部分では不応期の状態となっている（2）。興奮は常に静止状態の部分がある方向に（け）伝導する。もし、一つの軸索内で、中枢から神経終末に向かう興奮と神経終末から中枢に向かう興奮とが衝突すれば、興奮は（こ）する。

（う）の神経終末は、筋線維と神経筋接合部を形成している。興奮がこの接合部まで伝わると、一連の過程によって筋細胞の膜電位が上昇して（3）興奮が伝わる。筋細胞のT管を介して筋小胞体に興奮が伝わると、筋小胞体内に蓄えられているカルシウムイオンが細胞質に放出され、アクチンとミオシンが相互作用できるようになり筋線維の収縮が起こる（4）。骨格筋は筋線維が束状に集まったものであり、これが興奮して収縮する様子は、皮膚の表面に設置した電極を介して筋電位の変化（筋電図）として観察することができる。

脚部のヒラメ筋と呼ばれる筋肉（図1）上の皮膚に電極を設置して筋電位の変化を観測できるようにして、膝裏に刺激電極を設置して強さを変えながらごく短い電気刺激を与えた。膝裏にはヒラメ筋の筋紡錘から（い）に向かう（あ）と、（い）からヒラメ筋に向かう（う）が通っている。（あ）は（う）よりも興奮する刺激の値は低いことが知られている。また、（あ）は（う）よりも興奮が伝わる速度が高いことが知られている。

電気刺激の相対強度を変えながら取得したヒラメ筋の筋電図では、10ミリ秒経過した時点で観測されるパルスAと30ミリ秒経過した時点で観測されるパルスBの2種類の波が観察された（図2）。

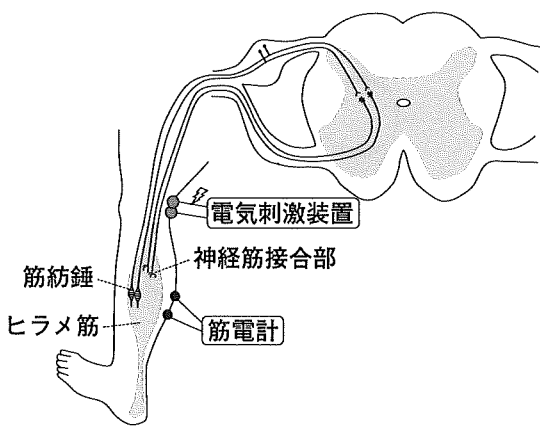


図1 膝裏に電気刺激を与えたときのヒラメ筋の筋電位の測定（筋肉とニューロン束も示している）

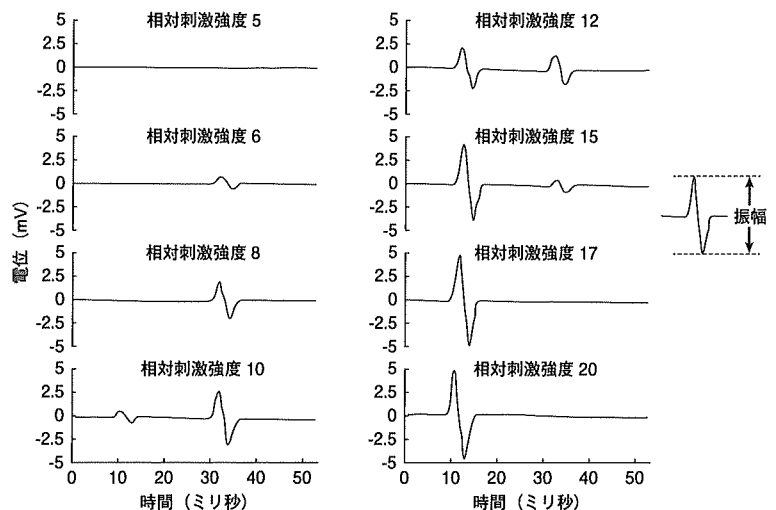


図2 電気刺激を与えてからの筋電位の変化

- 問1 空欄（あ）～（お）に入る適切な語句を解答欄に記入しなさい。
- 問2 空欄（か）～（こ）に入る適切な語句を解答欄から選んで丸で囲みなさい。
- 問3 下線部（1）の興奮は、電気刺激が弱いときには起こらないが、刺激の強さが（さ）以上になると起こる。また、（さ）を超える強度の電気刺激を与えても、興奮の大きさは変わらない。以上の性質を（し）と呼ぶ。空欄（さ）と（し）に入る適切な語句を解答欄に記入しなさい。
- 問4 下線部（2）の不応期の状態を、チャンネルという単語を入れて説明しなさい。
- 問5 下線部（3）について、筋細胞において上昇する膜電位を何と呼ぶか、名称を答えなさい。また、一連の過程について、下線部（4）の文章にならって神経伝達物質やイオンの動きから説明しなさい。
- 問6 図2から相対刺激強度と振幅の関係を表すグラフを作成しなさい。パルスAを黒丸、パルスBを白丸で記しなさい。
- 問7 パルスAとパルスBは各々どのような経路を経た興奮なのか、パルスAの経路を破線、パルスBの経路を実線で示しなさい。
- 問8 パルスAはパルスBよりも高い相対刺激強度で発生した。その理由を説明しなさい。
- 問9 パルスAの振幅は、相対刺激強度の上昇とともに増大して一定値を示した。その理由を説明しなさい。
- 問10 相対刺激強度の上昇にともなって、問6で描いたようにパルスBの振幅が変化する理由について、中枢、衝突、不応期の単語を使って説明しなさい。

〔以下余白〕