

平成30年度第1次募集（平成29年10月入学含む）  
新潟大学大学院自然科学研究科博士前期課程入学者選抜試験問題

一般入試

生命・食料科学専攻  
基礎生命科学コース

D1

専門科目（生物学）

注意事項

- 1 この問題冊子は、試験開始の合図があるまで開いてはならない。
- 2 問題冊子は、表紙を含めて全部で6ページある。
- 3 解答は、すべて解答用紙の指定された箇所に記入すること。
- 4 受験番号は、各解答用紙の指定された箇所に必ず記入すること。
- 5 解答時間は、120分である。
- 6 下書きは、問題冊子の余白を使用すること。
- 7 3問全問に解答すること。

## 問題 1

以下の I, II の設問に答えよ。

I タンパク質のオルガネラ膜透過機構の研究では、試験管内の膜透過再構成系が重要な役割をはたしてきた。以下は、タンパク質のミトコンドリア膜透過の再構成実験の例である。

- ① (ア) ウサギ網状赤血球ライセートの無細胞タンパク質合成系を用いて、放射性アミノ酸で標識したミトコンドリアタンパク質前駆体を合成する。
- ② 出芽酵母より単離したミトコンドリアを、適切なバッファー中で合成した前駆体と混合してインキュベートする。その結果、(イ) エネルギーに依存して前駆体がミトコンドリア内に輸送される。
- ③ 輸送反応後にミトコンドリアを回収し、SDS-PAGE およびオートラジオグラフィーによって解析する。

(1) 下線部 (ア) のタンパク質合成系は、ATP と GTP を必要とする。この合成系で ATP と GTP を必要とする反応は何か、それぞれ 1 つあげて説明せよ。

(2) 下線部 (イ) のエネルギーは、ATP とミトコンドリアの膜電位である。出芽酵母ミトコンドリア懸濁液に ATP を加えると、呼吸基質を与えなくても膜電位が形成する。これはなぜか。理由を説明せよ。また、形成する膜電位の方向を答えよ。

(3) 出芽酵母のシトクロム c 酸化酵素複合体サブユニット IV (COXIV) は 130 残基からなるタンパク質である。COXIV は N 末端に 25 残基の配列が付加された 155 残基の前駆体として合成される。上記の①～③に従って、COXIV 前駆体の出芽酵母ミトコンドリアへの輸送反応を行い、図 1 の結果を得た。なお、図 1 の分子種 A と B はそれぞれ 17 kDa と 14 kDa の分子種を示す。

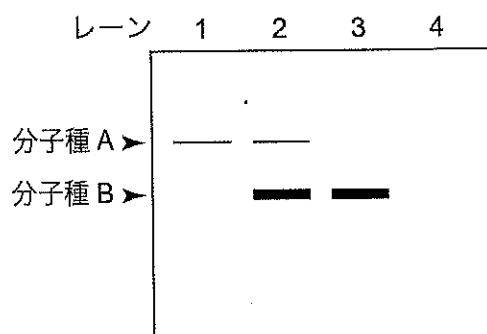


図 1. SDS-PAGE およびオートラジオグラフィーの結果

レーン 1: 前駆体タンパク質合成反応産物 (輸送反応に加えた量の 10%)

レーン 2: 輸送反応後のミトコンドリア画分

レーン 3: 輸送反応後のミトコンドリア画分をプロテアーゼ消化したもの

レーン 4: 輸送反応後のミトコンドリア画分を Triton-X100 (界面活性剤) 存在下でプロテアーゼ消化したもの

- (a) レーン 2 の分子種 A は何か。説明せよ。
- (b) レーン 3 と 4 の結果から分子種 B はどのようなものであると考えられるか。答えよ。
- (c) レーン 4 の実験を行う理由は何か。説明せよ。
- (4) マウスのジヒドロ葉酸レダクターゼ (DHFR) は、分子量約 2 万のサイトゾルのタンパク質である。無細胞タンパク質合成系で合成した DHFR を出芽酵母ミトコンドリアとインキュベートしても、DHFR のミトコンドリアへの取り込みは観察されなかった。一方で、DHFR の N 末端に COXIV 前駆体の N 末端側 22 残基を融合したタンパク質 (pCOX-DHFR) は、ミトコンドリアへ取り込まれた。この結果から、COXIV 前駆体の N 末端側配列の役割として何が考えられるか。答えよ。
- (5) DHFR の阻害剤であるメトトレキサート (MTX) は、DHFR に結合してその高次構造を安定化させる。無細胞タンパク質合成系で合成した pCOX-DHFR を MTX 存在下でミトコンドリアとインキュベートしたところ、pCOX-DHFR のミトコンドリア輸送は見られなかった。一方で、COXIV 前駆体のミトコンドリア輸送の効率は MTX の有無で変化しなかった。この結果から、ミトコンドリア輸送と前駆体の高次構造についてどのようなことが考えられるか。説明せよ。

II 単離したミトコンドリアを 0.3 M スクロースを含むリン酸緩衝液に懸濁した。これを酸素電極のチェンバーに入れて 30°C でインキュベートしながら、懸濁液中の酸素濃度を測定した。

- (1) ミトコンドリア懸濁液に呼吸基質を加えると、酸素が消費され、懸濁液中の酸素濃度が低下する。このとき、酸素が消費されるのはミトコンドリア内の反応のどの過程か。説明せよ。
- (2) ミトコンドリア懸濁液にコハク酸を加えると、ゆっくりとした酸素濃度の低下が観察された。これに ADP を加えたところ、酸素濃度の急激な低下が観察された。このような酸素消費速度の変化が観察されたのはなぜか。理由を説明せよ。

## 問題 2

以下の I, II の設問に答えよ。

I 減数分裂について、次の問いに答えよ。

(1) 染色体の乗り換えが起こる時期を次の中から選び、記号で答えよ。

(a) 第一減数分裂前期 (b) 第一減数分裂中期

(c) 第二減数分裂前期 (d) 第二減数分裂中期

(2) 染色体の乗り換えが起こる時期の染色体を描き、次の名称の部位を指し示せ。

二価染色体 染色分体 キアズマ シナプトネマ複合体

(3) ショウジョウバエでは、同じ染色体上の3つの異なる遺伝子について、部分連鎖が起こる現象を利用して遺伝子地図(遺伝子座の位置と距離)が作成された。3つの遺伝子を a, b, c として、これらの遺伝子の並びかたを決めるための実験方法を説明せよ。

II 動物の性分化について、次の問いに答えよ。

(1) 性染色体の核型には XY 型と ZW 型がある。2つの核型における性分化のしかたを比較して説明せよ。

(2) カエルの染色体の核型は ZW 型である。両生類胚では始原生殖細胞の由来が明らかにされているので、移植による核型キメラ胚の作成が容易にできる。もし、移植された ZW 型の始原生殖細胞が ZZ 型の生殖原基に入ったとしたら、この生殖細胞から分化するのは精子か卵かを答えよ。またその理由も述べよ。

(3) ショウジョウバエの性染色体の核型は XY 型であるが、Y 染色体は性決定に関与せず、X 染色体と常染色体(A)の比によって性が決まる。X/A 比が 1 以上であればメスに、0.5 以下であればオスとなる。この事実をもとに、ショウジョウバエの X 染色体と常染色体上にはそれぞれどのような遺伝子が存在すると考えればよいのかを説明せよ。

### 問題 3

Rubisco に関する以下の文章を読んで (1) ~ (5) の問いに答えよ。

リブローズ-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ / オキシゲナーゼ (Rubisco) は緑葉の可溶性タンパク質の 50% を占める、分子量約 55 万の複合体酵素である。この酵素は光合成の炭素固定の中心酵素であり、葉緑体の (a) に局在している。Rubisco は大小 2 種類のサブユニット 8 個ずつからなるヘテロ 16 量体であり、大サブユニットは (b) DNA にコードされ (a) で合成されるのに対して、小サブユニットは (c) DNA にコードされ (d) で合成される。小サブユニットに比べ、大サブユニットは一次構造の進化的保存性が高く、触媒部位が大サブユニットにあることを反映していると考えられる。

植物からの Rubisco の結晶化に最初に成功したのは、当時日本専売公社から UCLA の Sam G. Wildman の研究室に留学していた川島伸麿であり、タバコの葉を材料として行われた (1971)。その後、同研究室の坂野勝啓らによって簡便な結晶化法が発見された (1972)。これらの方法はタバコおよび近縁の植物にのみ有効であるが、これは (ア) タバコ類の Rubisco が、葉の主要な可溶性タンパク質であるという Rubisco 一般に共通の性質に加え、食塩水に溶けやすく食塩無しでは不溶性であるという性質を合わせもつことを利用したものである。

Wildman はもともと Rubisco を研究しようとしていたわけではなく、一連の研究は、ホウレンソウの葉から可溶性タンパク質を抽出する以下のような方法から始まった。(イ) ホウレンソウの葉をまるごとジエチルエーテルに一瞬浸した後に、葉を揉むようにして絞ると、低分子でほとんどタンパク質を含まない褐色の液が浸み出てくる。絞ってやわらかくなった葉を蒸留水に浸して吸収させた後にまた絞って、液に色が着かなくなるまでこの操作を繰り返す。次に、この処理を行った葉を少量の緩衝塩溶液中でホモジナイズして、不溶物を遠心分離によって除去すると、濃緑色の抽出液が得られる。(ウ) この抽出液に硫酸アンモニウム (硫安) を加えて 35% 飽和硫安溶液にすると大半のタンパク質が沈殿し、上清を 50% 飽和硫安溶液にしてもごく少量のタンパク質しか沈殿しない。前者を Fraction I、後者を Fraction II と呼び、Fraction I の主要なタンパク質である Rubisco は従来 Fraction I タンパ

ク質と呼ばれていた。ホウレンソウの Rubisco の食塩水に対する溶解性はタバコ類のそれとは異なるため、ホウレンソウを材料としたままでは Rubisco の結晶化は容易ではなかったと思われる。

- (1) 上記の文章中の (a) ~ (d) にあてはまる適切な語句を入れよ。
- (2) 酵素は通常少量ではたらくのが一般的なのに、Rubisco がまるで貯蔵タンパク質であるかのように緑葉に大量に存在する理由を簡潔に説明せよ。
- (3) Rubisco がオキシゲナーゼ活性を有することから必要とされる代謝経路の名称を記せ。
- (4) 下線部 (ア) の例のように、塩の添加によってタンパク質の溶解性が上昇する場合がある一方で、下線部 (ウ) の例のように、高濃度の塩溶液中でタンパク質の溶解性が低下する場合が知られており、前者を「塩溶」、後者を「塩析」と呼ぶ。塩溶と塩析のそれぞれの場合でどんなことが起こっているのかを簡潔に説明せよ。
- (5) 下線部 (イ) の例で、ホウレンソウの葉を一瞬ジエチルエーテルに浸した後に蒸留水中で葉を絞ると低分子の夾雑物が除去できて、タンパク質は葉に残る理由を説明せよ。