

2018（平成30）年度

大阪大学医学部医学科

学士編入学試験問題

【生命科学】

問題冊子

（注意）

- 1 問題冊子及び解答用紙は、試験開始の合図があるまで開いてはいけない。
- 2 受験番号は、解答冊子の表紙及び各解答用紙の受験番号欄に左詰めで、正確に記入すること。
- 3 問題冊子は、表紙を除き9枚ある。ただし、1枚目、8枚目及び9枚目は白紙である。
- 4 問題冊子又は解答用紙の落丁、印刷の不鮮明等がある場合は、解答前に申し出ること。
- 5 解答は、解答用紙の指定されたところに記入すること。枠からはみ出してはいけない。
問題冊子に解答を書いても採点されません。
- 6 問題冊子の余白は、適宜下書きに使用してよい。
- 7 問題冊子は、持ち帰ること。

I. 以下の文章を読んで、問1～問4に答えなさい。

生物は生存のためにエネルギーを必要とするが、エネルギー源として最も重要なものは糖である。動物は食物を摂取し、食物に含まれる多糖は消化によってグルコースなどの糖類に分解される。細胞はグルコースを細胞質に取り込み、解糖と呼ばれる酸素を必要としない一連の反応によって（ア）を生成する。解糖ではグルコース1分子の分解につき（イ）分子の（ア）と（イ）分子のATPが得られる。その後、（ア）は細胞質からミトコンドリア・マトリックスに移ってただちに脱炭酸され（ウ）となる。（ウ）からクエン酸ができ、クエン酸回路という一連の反応に入り大量のNADHを生じる。そして、NADHの高エネルギー分子はミトコンドリア内膜にある（エ）と呼ばれる酵素群をたどり、ここで電子の移動に伴って放出されるエネルギーがATPの生成と分子状酸素(O_2 ガス)の消費である酸化的リン酸化という過程を引き起こす。酸化的リン酸化では1分子のグルコースから約30分子のATPが産生され、ATP産生の効率は解糖と比べはるかに高い。このように解糖と酸化的リン酸化によって、糖に蓄えられた化学結合エネルギーがATPという細胞内で使うのに便利な化学エネルギーに変換される。一般に哺乳動物の細胞は、十分な酸素が存在する好気的条件下では解糖で生じる（ア）はミトコンドリアのクエン酸回路に入る。一方、低酸素の嫌気的条件下では解糖で生じる（ア）は（オ）に変換されて細胞から排出される。

問1. 文中の（ア）～（オ）に適切な語句あるいは数字を記入しなさい。

問2. 増大するがん組織では、がん細胞は常に低酸素にさらされ、酸化的リン酸化が低下している。しかし、がん細胞は一般に低酸素であるほど増殖能が高い。がん細胞ではどのような対応が行われていると考えられるか。以下の語句を用いて200字以内で考察しなさい。

グルコース、ATP、アシドーシス

問3. フルオロデオキシグルコース(^{18}F -FDG)はグルコースの2位の水酸基を陽電子(positron)放出核種であるフッ素18で置換した誘導体である(図1)。 ^{18}F -FDGを注射し、細胞内に取り込まれた ^{18}F -FDGから放出される放射線(γ 線)を、体外からpositron emission tomography(PET、陽電子放出断層撮影)カメラで撮影して画像化するのが ^{18}F -FDG PET検査である。図2は咽頭がん患者の ^{18}F -FDG PET画像であるが、 ^{18}F -FDGが強く取り込まれた部分が黒く描出されている。 ^{18}F -FDG

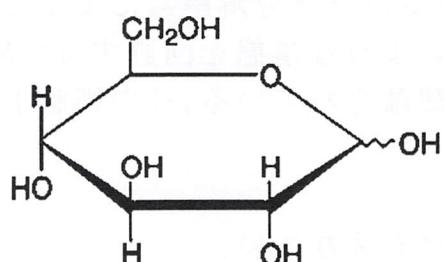
(I の続き)

PET 検査はグルコースの取り込みを反映するが、そのために ^{18}F -FDG はグルコースと比べ、どのような性質が同じで、どのような性質が異なるか。以下の語句を用いて 150 字以内で考察しなさい。

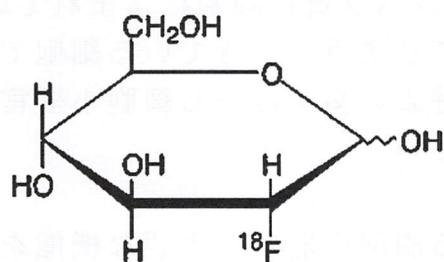
解糖

問 4. ^{18}F -FDG PET 検査はがんの発見に有用であるが、一部の臓器に発生する腫瘍の同定には限界がある。図 2 の画像を参考にして、どの臓器で、なぜ限界があるか、100 字以内で考察しなさい。

図 1.

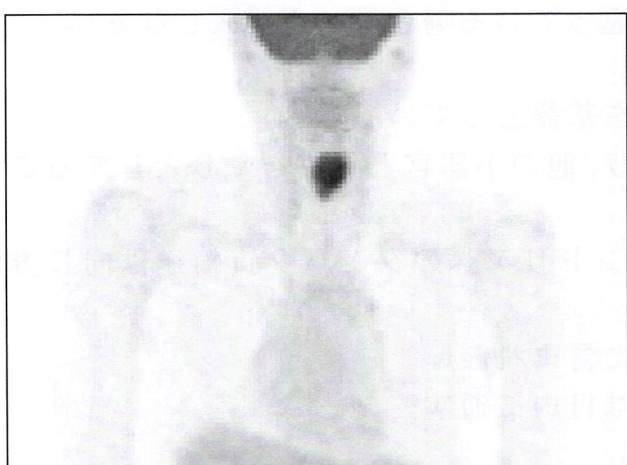


グルコース



フルオロデオキシグルコース

図 2.



II. 以下の文章を読んで、問1～問5に答えなさい。

生命の本質は、化学反応であるといつても過言では無い。実際に細胞内では数千もの異なる化学反応が同時に起こっている。その中には互いに両立しないものも多くあり、例えばアミノ酸からタンパク質をペプチド結合で作る反応がある一方で、タンパク質のペプチド結合を切断してアミノ酸に分解する反応も存在する。また基質や酵素が細胞内に分散していくは、化学反応は効率よく進行しない。

真核生物の細胞内の膜で囲まれた小区画は、上記の問題を解決する大変有効な手段である。それらは細胞小器官と呼ばれ、各代謝系とそれに必要なタンパク質をその中に別々に閉じこめることで、多数の化学反応を互いに隔離し効果的に進行させることができる。

問1. 肝臓の細胞を破碎し、内容物を全部試験管に入れると化学的な混乱状態となり、酵素などのタンパク質は細胞に含まれていたタンパク質分解酵素によってすみやかに分解されてしまう。生きている細胞ではそのような事態を回避するために、タンパク質分解酵素の多くはある細胞小器官内に隔離されている。その細胞小器官の名称を述べなさい。

問2. 次に挙げる細胞小器官の主要な機能を簡潔に答えなさい。

- (1) ペルオキシソーム
- (2) 小胞体 (ER)
- (3) 核
- (4) ゴルジ体

問3. 次の文章が正しい場合は○を、間違っている場合は×を記入しなさい。

- A. 細胞小器官の膜は、糖質2重層を基盤としている。
- B. 各々の細胞小器官は独立しており、他の小器官と物質をやりとりすることは無い。
- C. 核へのタンパク質輸送とミトコンドリアへのタンパク質輸送は同じ方法で行われる。
- D. タンパク質は、細胞小器官の膜に含まれない。
- E. 細胞小器官の膜は、水素イオンは自由に通す。

(Ⅱの続き)

問4. オートファジー（自食作用）は、細胞小器官を介して行われる細胞機能の一つである。どのような細胞小器官を介して何を行っているのか、200字以内で述べなさい。

問5. 下村脩博士によって発見された緑色蛍光タンパク質（GFP）はオワンクラゲが持つ蛍光性を持ったタンパク質で、細胞小器官やタンパク質輸送などの研究に欠かせない存在となっている。下村博士はこの発見により2008年にノーベル化学賞を受賞した。なぜGFPが研究に有用なのか200字以内で説明しなさい。

III. 哺乳類の腸管上皮の幹細胞に関する以下の文を読み、問1～問5に答えなさい。

栄養を吸収し、粘液を分泌する小腸の内腔は、上皮細胞で覆われており、絨毛と呼ばれる多数の突起と、陰窩と呼ばれる多数のくぼみからなる。吸収は主として絨毛の上皮細胞が行う。絨毛の先端付近の細胞は、細胞死(1)によって常に失われ続けるが、陰窩に局在する腸管上皮幹細胞(2)が新しい上皮細胞を產生し、残った絨毛上皮細胞を先端に向けて押しやって補充し、恒常性が維持されている。

腸管上皮幹細胞は、1990年代には陰窩の底から約4番目の細胞(+4細胞)ではないかと考えられていた。しかし、2000年代にオランダの研究者が、+4細胞より底部の陰窩に分布するLgr5(3)を発現する細胞をCBC細胞と命名し、CBC細胞が腸管上皮幹細胞であるとの結論を発表した。この研究で、彼らは、薬剤Tを投与すると、Lgr5を発現する細胞でのみLacZ(大腸菌由来)が恒常的に発現するようにゲノムが変異するマウス(ここではLgr5-LacZマウスと呼ぶ)を作製した。次に、Lgr5-LacZマウスに薬剤Tを一回投与した後、翌日と60日後に小腸を観察した(実験1)。

注) 小腸の全ての絨毛上皮細胞は、1ヶ月以内に新しい細胞に置き換わると仮定する。

問1. 下線(1)について、以下の空欄に単語を一つ記入しなさい。

細胞が自ら死ぬ現象は(a)と呼ばれ、(b)はその抑制に必須の分子である。

問2. 下線(2)について、幹細胞の定義を簡潔に述べなさい。

問3. 下線(3)のLgr5はWntと関連すると考えられている。Wntとはどのような分子か、知るところを簡潔に述べなさい。その中で、Wntの発生における役割や機能に必須の分子名を含めなさい。

(Ⅲの続き)

問4. 二重線を引いた実験1について、以下の問いに答えなさい。

組織切片をX-galを用いて染色すると、LacZを発現する細胞のみが紫色に染色される（ここではX-gal染色と呼ぶ）。Lgr5-LacZマウスに薬剤Tを投与した翌日に、X-gal染色で陰窩の+4細胞より底部に局在するCBC細胞は紫色に染色され、+4細胞より絨毛に近い上皮細胞は紫色に染色されなかった。CBC細胞が腸管上皮幹細胞である場合、60日後的小腸でどのようなことが観察されたと予想されるか、要点を簡潔に述べなさい。

問5. 二重線を引いた実験1と関連する研究について、以下の問い合わせに答えなさい。
実験1の結果が発表された後、米国の研究者が、薬剤Dを投与するとLgr5の発現が高い細胞のみが壊死するマウスを作製した。彼らは、このマウスに薬剤Dを10日間投与したところ、CBC細胞は消失したが、その後、小腸の絨毛上皮細胞に異常は観察されなかったと発表した（実験2）。

この実験2の結果と実験1の結果より、CBC細胞と腸管上皮幹細胞との関係について、どのようなことが考えられるか、実験1と実験2の結果の解釈を含め、要点を簡潔に述べなさい。

IV. 以下の英文をよく読んで、問1～問5に答えなさい。なお、専門性の高い単語については、問題文の文末に日本語訳を記載しました。

The ability to add, remove, or change DNA sequences is essential to studies that

The CRISPR-Cas9 editing technology is derived from the CRISPR system, which consists of a short DNA sequence and a set of Cas9 proteins. By adding a single guide RNA molecule, the Cas9 protein can specifically bind to a target DNA sequence and cleave it. This allows for precise gene editing, where specific genes can be removed, added, or modified. Following gene editing, the effects of the changes can be monitored using various methods, such as sequencing or fluorescent protein assays. In addition, the Cas9 protein can be used to regulate gene expression by adding small molecules that inhibit or activate gene expression. This makes it possible to study the function of specific genes in different contexts, such as in different cell types or under different conditions.

In the CRISPR-Cas9 system, the Cas9 endonuclease is guided to the target DNA by a CRISPR RNA (crRNA), which directs Cas9 to the intended DNA sequence. After binding Cas9, crRNA directs one of the Cas9 monomers to bind to the target DNA sequence with the other Cas9 monomer. The Cas9 monomer binds to the target DNA sequence and cleaves it at the specific site, while the second monomer remains bound to the target DNA sequence, forming a dimerized complex (see Figure 1). Specificity is determined by the crRNA sequence, which targets complementary DNA, flanked by a short protospacer adjacent motif (PAM). A single guide RNA (gRNA) molecule can be engineered to target the entire genome, and this technology has revolutionized the field of genetic engineering. In addition, the

nucleotide NGG PAM consensus associated with the Cas9 endonuclease is present at

(IVの続き)

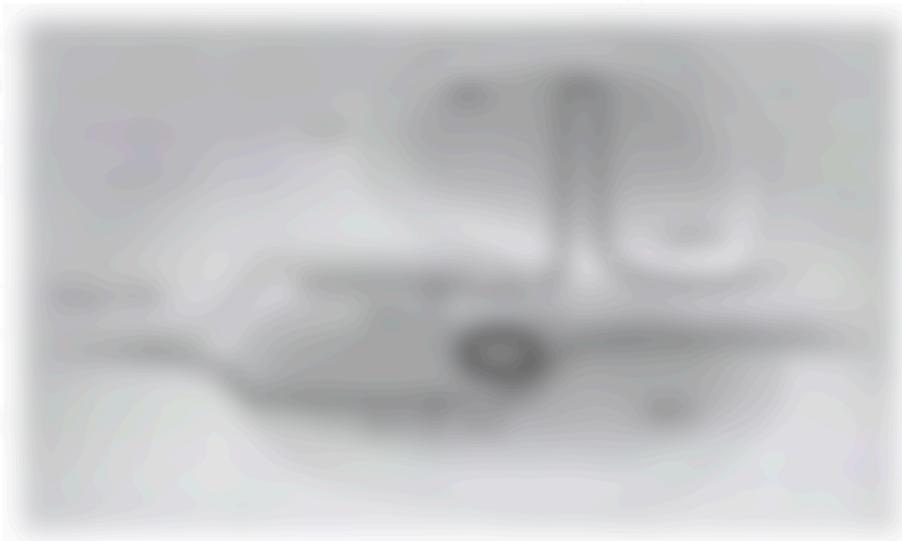


Figure 1. Schematic diagram of the CRISPR-Cas9 system

high frequency to cleave DNA sequences. The Cas9 protein specifically and efficiently cleaves a single DNA target in the non-coding region of a promoter-free recombinant construct. Using single-molecule and live fluorescence microscopy, Hwang et al. have revealed that new DNA cleavage is induced by Cas9 at the PAM site, the DNA site is cleaved and cleaved via the DNA sites in discontinuous manner. The complementary DNA double helix around the distal end of the target sequence, creating a nuclease target DNA superstructure and trapping a long distance. Following target double cleavage at the PAM, a switch of several complementary bases between the sgRNA and the target DNA is critical to ensure non-cleavage cleaving and heteroduplex formation. This enabled the nuclease continuously cleave the new unknown bases of the nucleic acid to specifically generate a double strand break in the target DNA molecule, exactly those associated with the previous homologous to the guides.

Until recently, the cellular response was thought to be all-regression for Cas9 cleavage of complementary DNA. Hwang et al. have also evaluated that PAMs are the key drivers of target DNA cleavage sites, helping to determine the orientation, and that the sgRNA subsequently drives cleavage sites of complementary DNA sequences. Results indicate that Cas9 cleavage based on both ends of the cleaved DNA molecules, probably involving the release of cleaved bases and allowing re-annealing of the DNA target sequence. Recent studies have found that in the Cas9–sgRNA complex between Cas9 and the sgRNA, as well as Cas9 and the target DNA, Cas9 has a direct binding interaction with a sgRNA domain, a region upstream the sgRNA domain which is hypothesized to carry the PAM interaction domain. The sgRNA–target DNA

(IVの続き)

mismatch tolerance for various Cas9 protein families, as well as the similarities and differences between different CRISPR systems.

※本文に使用されている専門性が高い用語

heteroduplex：ヘテロ2本鎖

R-loop: 2本鎖DNAのうちの片方の鎖が1本鎖RNAと相補的な結合によって複合体を形成し、もう片方のDNA鎖が1本鎖となる状態のことをいう

nuclease, endonuclease: 核酸分解酵素 (endonucleaseはnucleaseの種類の1つ)

nickase: ニッカーゼ。1本鎖DNAを切断する酵素。

interrogation: 調べること、検索

lobe: 葉（ドメインとほぼ同じ意味）

off-target effect: 標的配列以外の塩基配列に与える影響

PAM: a short proto-spacer adjacent motif (スペーサー前隣接モチーフ)。5'端から3'端に向かい, NGGという3塩基の配列からなる(Nは任意の塩基, Gはグアニン)。

出典 : R. Barrangou *Science* 344 (6185) 707-708 (2014) より改変

(IVの続き)

問1. ゲノムを望みの場所で切断することが出来る CRISPR–Cas9 system は近年ゲノム操作に革命を起こしたといわれている。同様なゲノム操作の方法は以前にもあったが、CRISPR–Cas9 system より使いにくいため現在はあまり使われなくなっている。それらの方法の名前を本文中から2つ抜き出しなさい。

問2. CRISPR–Cas9 system によって殆どの目的とする遺伝子に変異を入れられる理由はなぜか。それを説明している箇所を抜き出して英語20語程度で記入しなさい。

問3. CRISPR–Cas9 system の標的とするDNAの長さは20塩基前後で設計することが多いが、ある特定の20塩基の配列は、ヒトのゲノム（30億塩基対、つまり塩基数としては60億塩基）の中に何か所あると推定されるか。その計算式と答えを記しなさい。但し $2^{10}=1000$ で計算しなさい。

問4. Sternbergらの実験によって明らかになった、Cas9タンパク質が特異的にDNAを認識し、DNAの2本鎖を切断するに至る機構を日本語に訳して200字程度で説明しなさい。但し、問題文中の専門用語は英語を用いてもよい。

問5. 最近の構造解析からCas9はどのようなドメインをいくつ持っていると著者らは述べているか。日本語に訳して100字程度で述べなさい。但し、問題文中の専門用語は英語を用いてもよい。