

名札番号 :	氏名 :
--------	------

日本生物学オリンピック 2015 本選 広島

実験試験 I 数理生物学 問題冊子 (70 分)

- 机には、問題冊子（5 ページ）、解答用紙（7 枚）および計算用紙（10 枚）が配付されている。
- 配布されたトートバック内の電卓、定規を使用するので、机の上に準備すること。電卓、定規が無い人は挙手をすること。
- 説明が始まるまでは、問題冊子を開かずに、このページをよく読んでおくこと。
- 解答開始の合図の後、すべての解答用紙と計算用紙の 1 ページ目に名札番号と氏名を記入しなさい。また、このページにも名札番号と氏名を記入すること。
- 椅子の高さはレバーで調節できる。各自、適切な位置に調節しなさい。椅子の高さが低すぎて合わない人は、挙手をすること。
- 試験の途中で、気分が悪くなったり、トイレ等のためやむを得ず途中退室を希望したりする場合は、挙手をすること。
- 問題冊子にメモを取ってもかまわない。また途中計算は計算用紙にて行い、必要な解答を解答用紙に記入すること。試験中、予備体験冊子や予備体験解答用紙は参考にしてよい。
- 試験終了後、解答用紙を回収する。予備体験冊子、予備体験解答用紙、問題冊子、計算用紙は持ち帰ること。
- 机の上の文具や道具は自由に使ってかまわない。試験中は位置も自由に動かしてかまわない。試験終了後はなるべく元の位置に戻しておくこと。
- 実験机の上には、すでに準備されているものの他、配付されたペンケース、筆記用具、定規、電卓、時計、ハンカチ、ティッシュ、目薬以外のものは置かないこと。

評価項目

- ・論理的な考察が出来ているか。
- ・系統的な考察が出来ているか。

実験 1

概日リズムの発生について考察する。

問 1-1

概日リズムの生成には多くの遺伝子が複雑に関係し合っている。しかし近年この現象は、予備体験で紹介したように、大まかに 3 つの遺伝子からなる関係を考えることで理解できる事が示唆されている（図 1）。

ここではまず、3 つの遺伝子 A, B, C について、遺伝子 A, B, C が ON (OFF)になるとそれぞれ遺伝子 B, C, A を OFF (ON)にする、という関係が成立している場合を考える。これに基づいて各遺伝子の ON-OFF を定式化すると

時刻 t で A が ON (OFF)	ならば	時刻 t+1 で B が OFF (ON)
時刻 t で B が ON (OFF)	ならば	時刻 t+1 で C が OFF (ON)
時刻 t で C が ON (OFF)	ならば	時刻 t+1 で A が OFF (ON)

となる。そこで時刻 0 で遺伝子 A, B, C のうち 2 つが ON, 残りが OFF であった場合、その後各遺伝子の ON-OFF はどのような時間的変動を示すのか、予備体験と同様、下図のような表を用いて時刻 15 まで計算し、その結果を解答欄に表記した上、変動の様子を 3 ~ 4 行程度で述べなさい。

		時刻															
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
遺伝子	A	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	
	B	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	
	C	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	

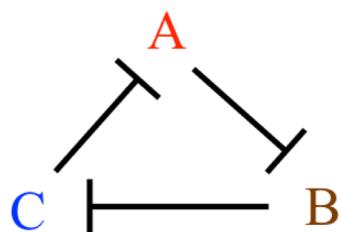


図 1 3 つの遺伝子 A, B, C と、それらの ON-OFF がリズムを刻む遺伝子間の関係

ここで T 字状の先の平たい矢印は、各遺伝子が ON (OFF) の時にその先の遺伝子を OFF (ON) にする事を示す。

問 1-2

仮に図 2 のように 4 つの遺伝子 A, B, C, D が存在し、その関係が

時刻 t で A が ON(OFF) ならば	時刻 t+1 で B が OFF(ON)
時刻 t で B が ON(OFF) ならば	時刻 t+1 で C が OFF(ON)
時刻 t で C が ON(OFF) ならば	時刻 t+1 で D が OFF(ON)
時刻 t で D が ON(OFF) ならば	時刻 t+1 で A が OFF(ON)

と定式化されているとする。ここで時刻 0 のとき、4 つの遺伝子のうち 1 つが ON で 3 つが OFF の場合、及び 2 つが ON で 2 つが OFF であった場合それについて、その後の各遺伝子の ON-OFF の時間変動がどのようになるのか、問 1-1 と同様に表を用いて計算し、その結果を解答欄に表記した上で、変動の様子を各初期条件につき 3 ~ 4 行程度で述べなさい。

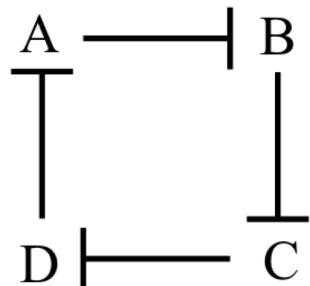


図 2 4 つの遺伝子 A, B, C, D と、それらの ON-OFF ガリズムを刻む遺伝子間の関係

ここで T 字状の先の平たい矢印は、各遺伝子が ON(OFF) の時にその先の遺伝子を OFF(ON) にする事を示す。

問 1-3

問 1-1 で考察した 3 遺伝子からなる関係と、問 1-2 で考察した 4 遺伝子からなる関係では、どちらが体内リズムを生成する関係として適していると考えられるか、3 ~ 4 行程度の理由を付けて述べなさい。

実験 2

生物群集の個体数変化の刻むリズムについて、予備体験で紹介した昆虫の個体数年変動について提案されたモデル

$$X_{n+1} = AX_n(1 - X_n)$$

を用いて、以下の問い合わせに答えなさい。以下の問題の計算では電卓を使用すること。ただし小数点第3位を四捨五入して計算すること。

問 2-1

0年目 ($n = 0$) の個体数 X_0 が $X_0 = 0.50$ であったとする。 $0.00 < A < 2.00$ のとき、 A がある値以下では十分年数が経った後、つまり十分大きな n に対して、 X_n が 0 となる。これはこの昆虫が絶滅する事を意味している。そこで A の値を $A = 0.2$ から 1.8 まで 0.2 刻みに変化させ、各年の個体数を、 X_n の値が変わらない、もしくは周期的になるまで計算し、絶滅が起こる A の条件を求めなさい。ただしその根拠となる計算結果を選別し、予備体験で作成したような表として解答欄に表記すること。

問 2-2

0年目 ($n = 0$) の個体数 X_0 が $X_0 = 0.50$ であったとする。 $A = 3.20, 3.50, 3.65$ のとき、いずれの場合もこの昆虫の個体数は周期的な年変動を示すようになる。そこで個体数変動の周期性が十分確認できる程度まで計算し、予備体験で作成したような表として解答欄に表記し、その結果に基づいてそれぞれの A について変動の周期を求めなさい。

問 2-3

0年目 ($n = 0$) の個体数 X_0 が $X_0 = 0.40$ もしくは $X_0 = 0.55$ であったとする。 $A = 3.20, 3.50, 3.65$ のとき、十分年数が経った後における昆虫の個体数の年変動をそれぞれ計算し、予備体験で作成したような表として解答欄に表記しなさい。また $A = 3.20, 3.50, 3.65$ それぞれの場合、その年変動の周期と個体数の変動値に、 X_0 の値によってどのような違いや共通点があるか、問 2-2 の結果も踏まえ述べなさい。

名札番号 :	氏名 :
--------	------

日本生物学オリンピック 2015 本選 広島

実験試験 II 生理学 問題冊子 (45 分)

- 机には、問題冊子（7 ページ），解答用紙（4枚）が配付されている。
- 説明が始まるまでは、問題冊子を開かずに、このページをよく読んでおくこと。
- 解答開始の合図の後、すべての解答用紙に名札番号と氏名を記入しなさい。また、このページにも名札番号と氏名を記入すること。
- 椅子の高さはレバーで調節できる。各自、適切な位置に調節しなさい。椅子の高さが低すぎて合わない人は、挙手をすること。
- 試験の途中で、気分が悪くなったり、トイレ等のためやむを得ず途中退室を希望したりする場合は、挙手をすること。
- 問題冊子にメモを取ってもかまわない。試験終了後、問題冊子は持ち帰ること。
- 実験机の上には、すでに準備されているものの他、予備体験資料、配付されたペンケース、筆記用具、時計、ハンカチ、ティッシュ、目薬以外のものは置かないこと。

はじめに

皮膚感覚とは皮膚にある受容器から生じる感覚であり、触圧覚、温覚、冷覚、痛覚（痒覚）に分類される。これらの感覚は、生体を取り巻く外的環境を知り、それに適応するために用いられる。皮膚に触圧、冷、温、痛覚などの刺激を与え、最小限の感覚を起こす閾値を調べると、特に閾値が低い部位が存在する（感覚点）。諸君は、先ほどの予備実験において、その例として触圧点、温点、冷点の分布測定を体験した。

試験

卷末のデータ集にある

- ① およそ 100 人を対象とした人差し指、手のひら、前腕内側、ふくらはぎの触圧点、痛点の平均密度
- ② 5 人分の温点、冷点の分布とメンソール塗布による影響
を参考にして、以下の問 1-1 から問 2-3 を解答しなさい。

評価項目

先だって実施した予備実験は、皮膚感覚点の分布計測を体験してもらうことが目的であり、得られたデータを評価の対象とはしない。設問に対する解答の論理的整合性、独創性を基準に評価する。

実験1 触圧点の分布（データ集の①を参考にして解答せよ）

問 1-1 データ集の①-1は、予備実験と同じ方法を用いて計測したヒトの体の各部位における触圧点の平均密度のグラフである。触圧点の分布の特徴を記述しなさい。また、そのような分布パターンをする機能的な意義を想像し述べなさい。

問 1-2 皮膚の感覚受容器で感知された触圧覚の信号は、延髄の神経核や感覚情報の中継地である視床を経由して最終的に大脳皮質（人で最も大きく発達している脳領域）の体性感覚野と呼ばれる部分に伝えられて感覚情報処理が行われる（図1）。体性感覚野では、体の各部位からの触圧覚が混然と処理されるのではない。手の感覚を処理する領域、腕の感覚を処理する領域、顔の感覚を処理する領域など、体の各部位の触圧覚情報処理に関わる領域は、脳表面の2次元平面上にそれぞれ分かれて存在していることが分かっている。ただ、その分布の仕方には特徴がある。各領域の広さは体表面積を正確に反映はしておらず、基本的に感覚が鋭敏な部分は相対的に広く表現されている。脳表面上での広さを基準に体を描きなおしてみると、奇妙にゆがんだ人体像が現れてくる（ホムンクルス；図1）。

上記右図では、ホムンクルスの前腕から指先にかけての絵が描かれていな。データ集の①-1にある触圧覚密度のデータを考慮しながら、ヒトの前腕から手までの絵を想像して描きなさい。また、なぜそのような作画に至ったのか、その理由について文章で記述しなさい。

問 1-3 皮膚に絆創膏を貼り付けると、貼り付けた当初は絆創膏の存在を感じるのに、そのうち貼っていることを意識しなくなる。この現象はどのようなメカニズムを想定すれば説明できるか？考えられる可能性について述べなさい。

問 1-4 触圧点のマッピングと同様な解析を、刺激毛ではなく鋭い針を用いて行うと、痛点のマッピングをすることができる。データ集の①-2 グラフは予備体験と同様の解析で得られた痛点の平均密度のヒストグラムである。触圧点との比較を通じて、痛点についてグラフから読み取れることを述べなさい。

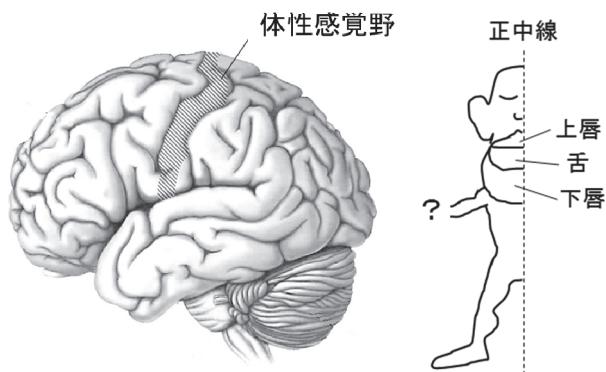


図1. ヒトの大脳皮質体性感覚野

問 1-5 近年、ヒトや動物の脳活動や筋電位を計測して義手等の補助機械を動かす技術の開発や、視覚を代用することを目指した人工網膜の開発など、人と機械の間で情報を仲介するためのプログラムや機器の開発が急速に進んでいる。これらの技術開発は、事故等で失われた身体機能を取り戻す一つの手段として、その可能性が検討されている。将来、ヒトの触圧覚の代用が可能な皮膚センサーが開発される場合、その皮膚センサーは実用化の上でどのような機能や特性を必要とするであろうか？その特性を 5 つ以上箇条書きで述べなさい。

実験 2 溫点・冷点の分布（データ集の②を参考にして解答せよ）

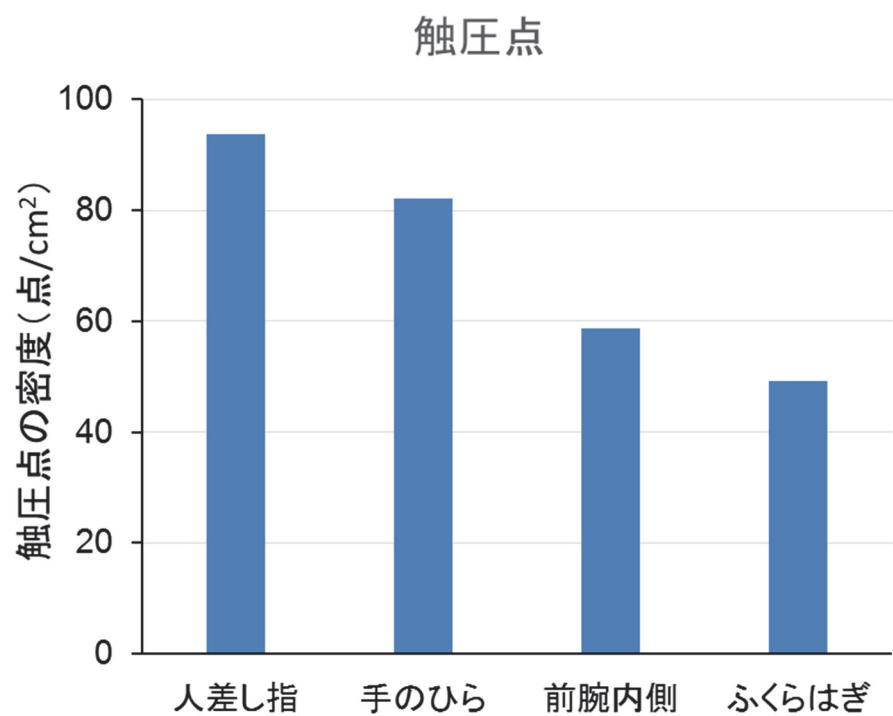
皮膚表面に分布（点在）する温点・冷点の皮下近傍には、熱さを感じる神経細胞や冷たさを感じる神経細胞の末端部（神経末端）が存在する。神経末端には熱を感じる受容体タンパク質(TRPV1)や冷を感じる受容体タンパク質(TRPM8)があり、熱さや冷たさを感じし、神経細胞に電気信号を生じさせる。その電気信号が脳に伝えられ、体のどの部分がどれくらい熱いか、もしくは冷たいかが認識される。TRPV1 をもつ神経末端が皮下近傍に存在し熱を感じする点が温点であり、TRPM8 をもつ神経末端が皮下近傍に存在し冷を感じする点が冷点である。

問 2-1 データ集の②（②-1 と②-2）の被験者 5 名のメンソール塗布前における前腕内側の温点と冷点の分布を比較し、温点と冷点の分布の特徴を述べなさい。

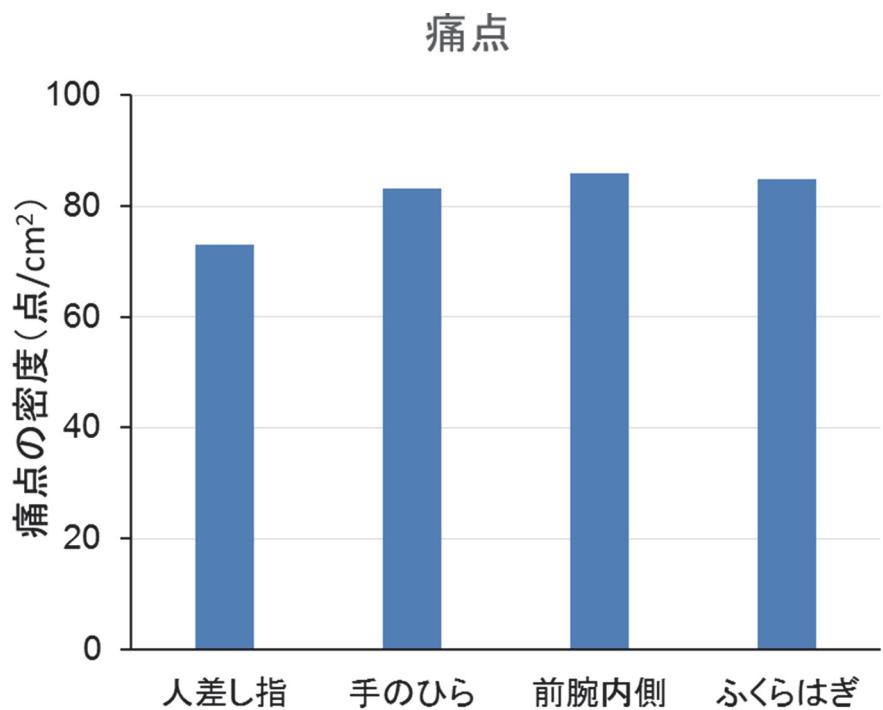
問 2-2 TRPV1 は 42°C 以上の温度になると活性化し（タンパク質が構造変化を起こし、ナトリウムイオンを通す孔が開き）ナトリウムイオンを細胞外から細胞内に入れることで、神経細胞に電気信号を生じさせる。TRPM8 は 25°C 以下の温度になると活性化し（タンパク質が構造変化を起こし、ナトリウムイオンを通す孔が開き）ナトリウムイオンを細胞外から細胞内に入れることで、神経細胞に電気信号を生じさせる。データ集の②（②-1 と②-2）のメンソール塗布の前後の温点と冷点の分布・数を分析し、メンソールは TRPV1 と TRPM8 のどちらに作用するかを示し、メンソールの作用機序について考えられることを述べなさい。

問 2-3 温点と冷点の分布とその重なり方およびメンソール塗布後の変化を分析し、それぞれの神経細胞が TRPV1 や TRPM8 をもつパターンについて述べなさい。またそう考えるに至った理由を述べなさい。

データ集①-1 触圧点の分布密度の平均値

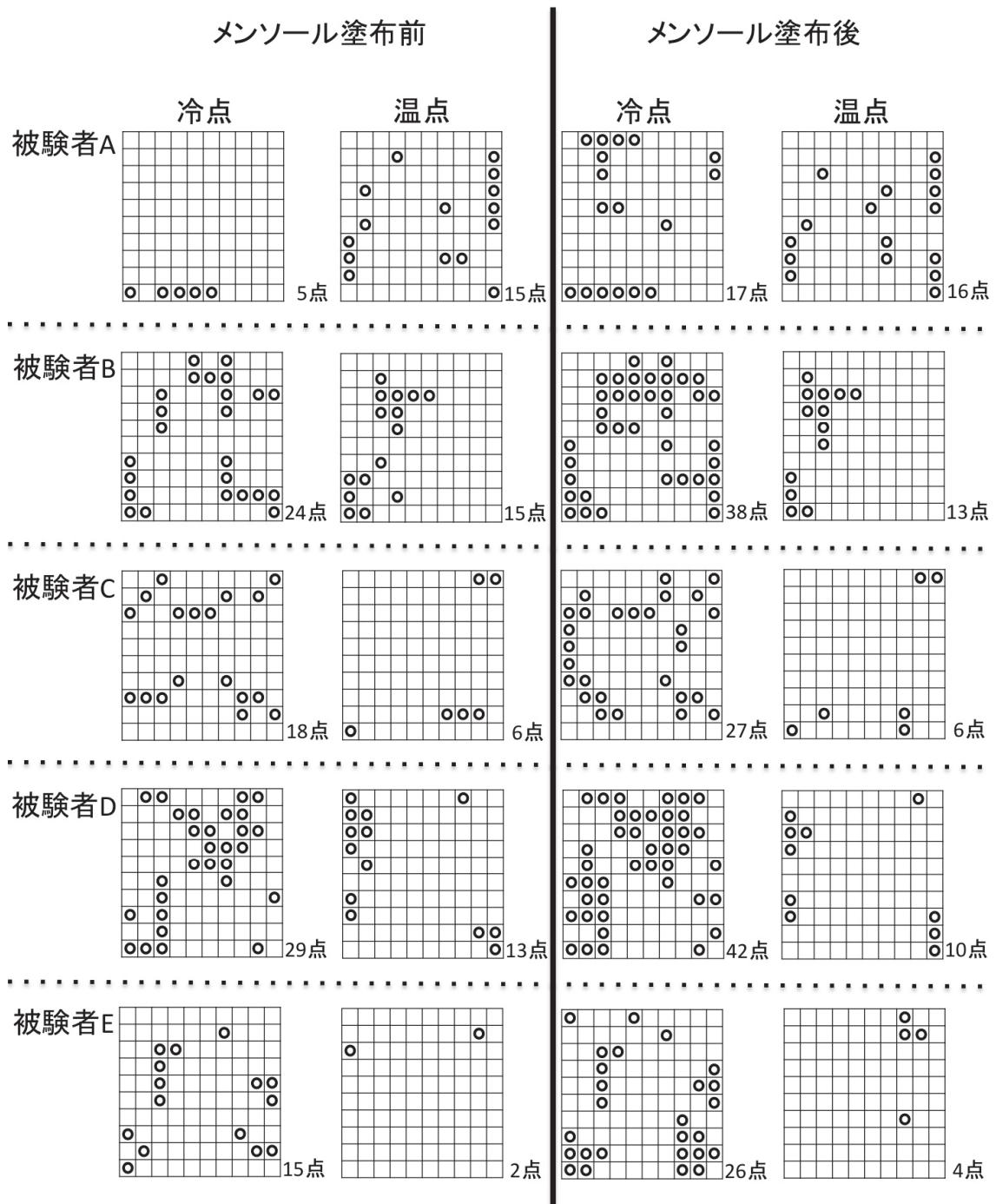


データ集①-2 痛点の分布密度の平均値

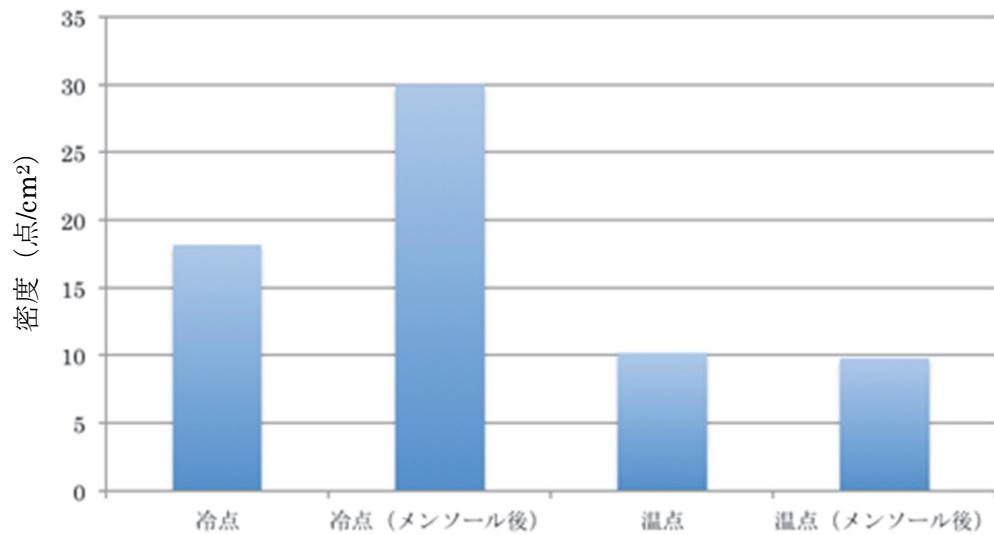


データ集② 前腕内側での冷点・温点の分布と密度のデータおよびメンソール塗布による影響

②-1 5名の冷点・温点の分布のデータ



②-2 前腕内側での冷点・温点の密度（5名の平均値）



名札番号 :	氏名 :
--------	------

日本生物学オリンピック 2015 本選 広島

実験試験Ⅲ 微生物学 問題冊子

(120分)

- 机には、問題冊子（15ページ）および解答用紙（4枚）が配付されている。
- 説明が始まるまでは、問題冊子を開かずに、このページをよく読んでおくこと。
- 解答開始の合図の後、すべての解答用紙に名札番号と氏名を記入しなさい。また、このページにも名札番号と氏名を記入すること。
- 椅子の高さはレバーで調節できる。各自、適切な位置に調節しなさい。椅子の高さが低すぎて合わない人は、挙手をすること。
- 試験の途中で、気分が悪くなったり、トイレ等のためにやむを得ず途中退室を希望したりする場合は、挙手をすること。
- 実験中は、必ず白衣を着用すること。また、実験用手袋は必要に応じて着用し、試料等が眼、口、皮膚などに直接触れないよう注意すること。
- 問題冊子にメモを取ってもかまわない。試験終了後、問題冊子は持ち帰ること。
- 実験机の上の実験道具は自由に使ってかまわない。実験中は位置も自由に動かしてかまわない。実験終了後はなるべく元の位置に戻しておくこと。
- 実験は、実験1より着手し、問題文の指示に従って解答を進めること。
- 実験机の上には、すでに準備されているものの他、配付されたペンケース、筆記用具、時計、ハンカチ、ティッシュ、目薬以外のものは置かないこと。

はじめに

環境中や動植物の表面・体内などには、肉眼では見る事が難しい「微生物」が多数存在し、地球規模での物質循環から、ヨーグルトやパンなど様々な食品の発酵、健康維持や疾病にいたるまで多様な現象に関与している。その大半は純粋培養が難しいために未同定で、地球上に何種類の微生物が存在しているかを確定する事はいまだ不可能であり、その数は無数と言っても過言ではない。微生物がいなければ我々の生活は成り立たない一方で、人類にとって不要・有害な物質を作り出したり、食中毒や感染症の原因になる事もあるなど、善くも悪くも人類とも深い関わりを持っている。

微生物の分類と種の同定は、顕微鏡を用いた形態学的観察、細胞を構成する物質の生化学的な解析、培養時の増殖に利用できる栄養分の違いにもとづく解析、染色体上の遺伝情報の解析などによって行われる。本実験では、身近な環境中に存在し、ヒトには無害である事がわかっている 5 種の微生物について、比較的新しい手法で高い特異性を持つ PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）法と、古典的な手法である顕微鏡を使った形態観察を用いて、微生物の大きさの測定や、種の同定を行う。

サンプルと器具

- マイクロピペット P20 (1本)
- P20 用ピペットチップ (1箱)
- 微生物の培養液が入ったチューブ
(1～5のいずれかの番号が表記された5本)
- PCR 反応用溶液 (緑色の液体) が入ったチューブ (1本)
- プライマーセット溶液が入ったチューブ (PS2, PS3 の2本)
- 水が入ったチューブ (1本)
- PCR 用 4 連チューブ (4本がつながったもの, 1個)
- 電卓
- 生物顕微鏡 (接眼レンズにミクロメーターが入っている)
- ろ紙 (2枚)
- スライドガラス (8枚)
- カバーガラス (8枚)
- チップ・チューブの廃棄用ポリ袋
- ガラス類廃棄用紙コップ

評価項目

- ・ 顕微鏡を適切に操作して微生物の概形を観察し、またミクロメーターを利用して微生物の概寸を測定する能力。
- ・ 微生物の分類に関する重要な指標を理解しているか。
- ・ 微生物培養液中に含まれる細胞の濃度に関する課題について計算を行い、適切な解答を導く能力。
- ・ PCR 法の原理に関する知識と、適切なプライマーを設定する能力。
- ・ 電気泳動の結果を適切に解釈する能力。
- ・ 核酸の構造に関する知識。

実験 1 PCR による微生物の分類と同定

微生物は、核を持つ真核微生物と核を持たない細菌（原核微生物）に分類され、更に真正細菌は大きく分けて、グラム陽性細菌とグラム陰性細菌に分類される。この分類は、グラム染色を行った場合に染色性が異なることに基づいた古典的な方法である。一般的に、グラム陽性菌の細胞壁はグラム陰性菌に比較してペプチドグリカン層が厚く堅固である。一方、大腸菌等のグラム陰性菌ではペプチドグリカン層は薄い。染色操作に伴うアルコール処理によって膜成分は破壊されるので、ペプチドグリカン層の厚さがグラム染色の染色性に重要であり、ペプチドグリカン層が厚い菌はグラム染色で陽性として検出される。グラム染色性は、近年の分子生物学の発展により可能になった塩基配列に基づく分類体系を非常に正確に反映している。

今回の試験では、細菌を分類するための PCR の結果について解析するとともに、一部の検体については実際に PCR 反応液の調製を行う。また PCR 法の原理に関連する知識についての試問を行う。

実験作業

配布した 5 本のチューブには以下の微生物の培養液が入っている

チューブ 1 : *Schizosaccharomyces pombe* (分裂酵母、真核微生物)

チューブ 1 はこの作業では使用せず、実験 2 で使用する。

チューブ 2 ~ 5 : 以下の原核微生物のいずれかが入っている (順不同)。

Ralstonia solanacearum

Micrococcus luteus

Bacillus subtilis (枯草菌)

Escherichia coli (大腸菌)

チューブ 3, 4, 5 の微生物培養液について種を判別するために、PCR 用反応液を下記の手順に従って 20 分以内で調製する。調製が完了した受験者は、机の上に調製済みのチューブを置き、補助員が試料を回収できるように準備する。回収できるように準備したら次の解答に移ってよい。

(注) 実験に使用する PS2 はグラム陰性菌検出用、PS3 は大腸菌検出用のプライマーセットである。

- 以下の操作はチューブの開口部や蓋に指を触れないように注意して作業する。PCR 用 4 連チューブの左側に二桁の数字が記入されている事を確認する。不備がある場合は挙手して補助員に知らせる。
- マイクロピペット P20 を用いて PCR 反応溶液（緑色）を $20 \mu\text{L}$ ずつ、PCR 用 4 連チューブの左から 3 本に分注する（一番右のチューブは使用しない）。チップは一回ごとに交換し、溶液はチューブの底に確実に入れること。
- PCR 反応溶液を入れた 3 本のチューブに、マイクロピペット P20 を用いて $5 \mu\text{L}$ ずつ水を加える。チップは一回ごとに交換する。
- PS 2 のプライマーセット溶液を $5 \mu\text{L}$ ずつ 3 本全ての PCR 反応液に加える。チップは一回ごとに交換する。
- PS 3 のプライマーセット溶液を $5 \mu\text{L}$ ずつ 3 本全ての PCR 反応液に加える。チップは一回ごとに交換する。
- 細胞が沈殿している場合があるので、マイクロチューブの底を指の腹でやさしくはじいて中の培養液をよく混ぜてから、PCR 用 4 連チューブの左から順に、チューブ 3, チューブ 4, チューブ 5 の細胞培養液を $5 \mu\text{L}$ ずつ PCR 反応液に加え、全量を $40 \mu\text{L}$ にする。
- 未使用の一本を含めて、PCR 用 4 連チューブの全てに蓋をしたら、机の上に置き、補助員が回収するのに備える。
(注) 回収した試料は、補助員が PCR 反応とアガロースゲルによる電気泳動を行った後、各自の電気泳動の結果を採点し、写真を試験終了後に返却する。
- チューブの回収の準備ができたら、以下の問題の解答に着手する。
実験 2 の顕微鏡操作を含む作業と問題から先に解答してもかまわない。

PCR 法と核酸の構造に関する以下の問いに答えなさい

図 1 と図 4 は細菌の分類を行うために実施した PCR のアガロースゲル電気泳動による解析結果を模式的に示した図である。電気泳動用の緩衝液中では核酸は負に帯電しているため、ゲル中を陽極側（図の下方向）に移動する。アガロースゲルの篩（ふるい）効果のために、分子量が小さい核酸断片は移動速度が速い。

なお、PCR に利用したプライマーのセットは、下記の通りである。

PS1：グラム陽性菌を検出する。反応産物のサイズは未知である。

PS2：グラム陰性菌を検出する。反応産物のサイズは 350 bp である。

PS3：大腸菌(*Escherichia coli*)を特異的に検出する。反応産物のサイズは 580 bp である。

PS4：*Ralstonia solanacearum* を特異的に検出する。反応産物のサイズは 700 bp である。

（注）PS2, PS3 は実験作業で PCR 用反応液を調製した際に使用したものと同一である。

問 1-1

この電気泳動結果の模式図(図 1)は、反応液中にプライマーセット PS1 が存在している条件での反応結果である。M のレーンには分子量を測定するための分子量マーカー(100 bp, 200 bp, 300 bp, 400 bp, 500 bp, 600 bp, 700 bp)が泳動されている。2～5 の数字は微生物の入ったチューブの番号に対応しており、番号の下の太い黒線は、PCR 反応液をセットした穴の位置を示している。

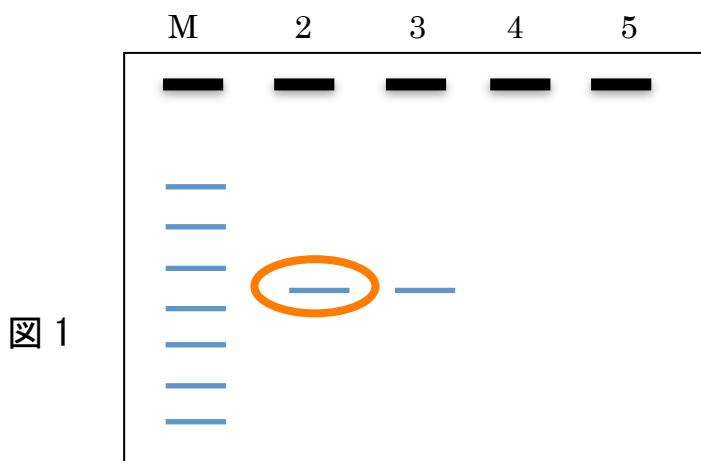


図 1

図1の○で囲ったサイズのDNA断片のおおよその大きさを求め下記の選択肢から適切な番号を選びなさい。

- 1) 100~200 bp, 2) 200~400 bp, 3) 400~600 bp, 4) 600~1000 bp

問 1-2

図2と図3は、グラム陰性菌またはグラム陽性菌の細胞壁の構造を模式的に示した図である。

チューブ3の微生物培養液に含まれる菌の細胞壁は、図2、図3のいずれのタイプであると予想されるか、選択しなさい。

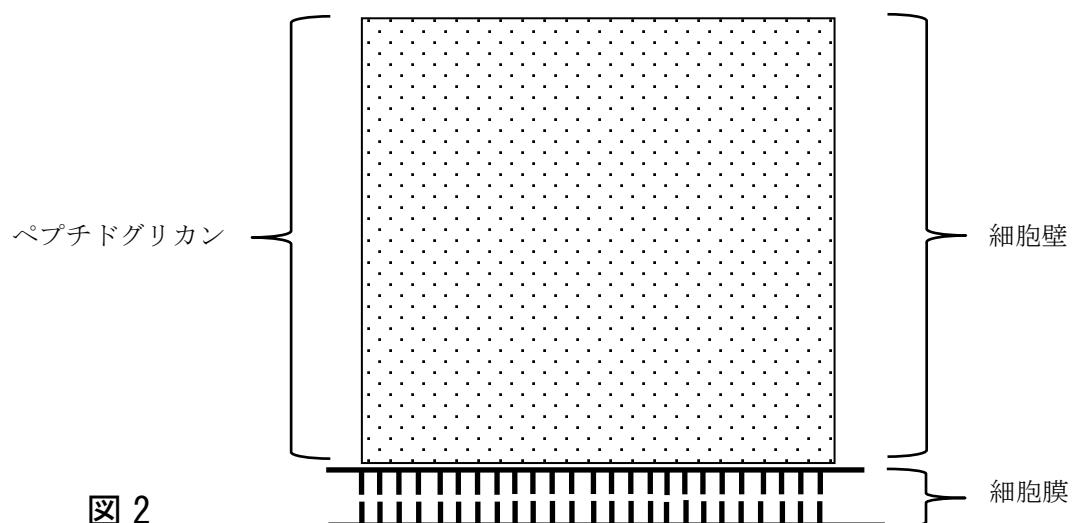


図 2

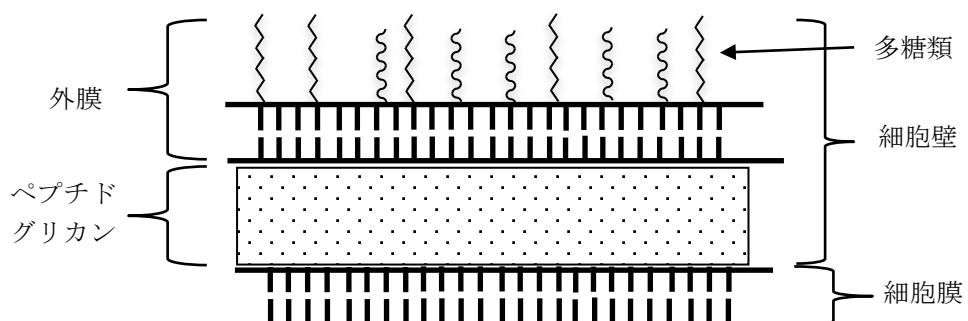


図 3

問 1-3

電気泳動結果の模式図(図 4)は、反応液中に 3 種類のプライマーセット PS2, PS3, PS4 が共在している条件での反応結果である。3～5 の番号は微生物の入ったチューブの番号に対応するが、3, 4 の結果については、試験の設問に関係するために示していない。

M のレーンには分子量を測定するための分子量マーカー(100 bp, 200 bp, 300 bp, 400 bp, 500 bp, 600 bp, 700 bp)が泳動されている。

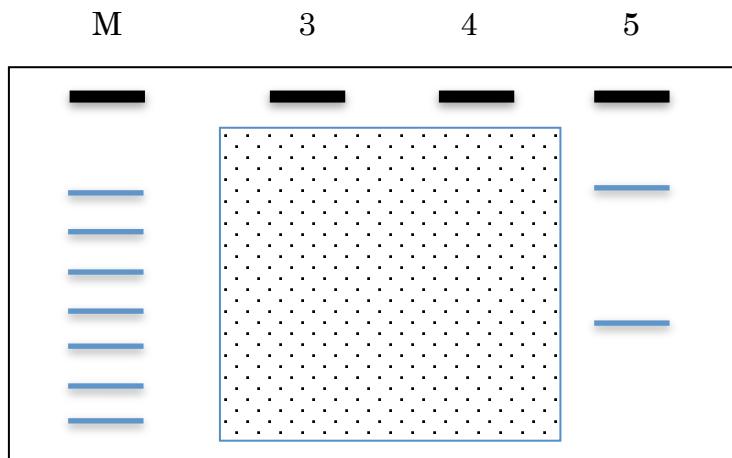


図 4

1) 5 番の菌はグラム陽性菌、グラム陰性菌のどちらであるかを、理由と共に解答しなさい。

2) チューブ 3 の微生物と大腸菌ではどのような電気泳動パターンが期待されるか、解答用紙に示されている図 5 に予想されるバンドを図示しなさい。

また、予想した際の理由を、チューブ 3 の微生物と大腸菌について簡潔に述べなさい。

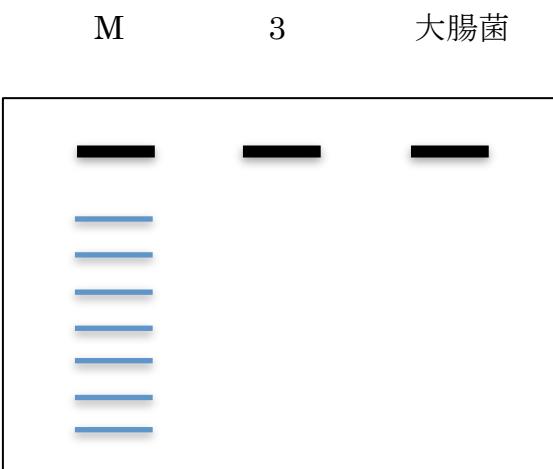


図 5

3) 図 1 と図 4 の結果から考えて、以下の微生物は何番のサンプルチューブに入っていると予想されるか。チューブの番号を書きなさい。

Escherichia coli (大腸菌), *Ralstonia solanacearum*

4) 上記の実験結果を総合的に考察して、*Bacillus subtilis* (枯草菌) はグラム陽性、陰性のどちらと考えられるか。理由を含めて書きなさい。

問 1-4

細菌を系統分類する場合に、細胞の光学顕微鏡的観察による形態観察と遺伝情報の解析による結果で相違が見られた場合、どちらの信用性が高いと考えられるか？その理由を含めて解答しなさい。

問 1-5

PCR 法では、核酸の特定の領域を酵素で増幅するが、使用する酵素の名前を書きなさい（一般名でよい）。

問 1-6

下に示す配列を持つ DNA の下線部の領域を PCR 法で増幅したい場合、どの配列のプライマーを利用すればよいか、番号を書きなさい。ただし、表記の 5' と 3' は DNA の方向性、(N)n は任意の塩基が任意の個数で続いている事を示す。

（一般的にはプライマーには 20 塩基程度の塩基長が必要だが、本試験では簡便にするため、短い配列を表記している。）

5' CAATGGGTCAGCATTGATTGG (N)n ACTGCTAGTCGATGCCTCCGCTA 3'

- | | |
|-------------------|-------------------|
| ① 5' GGGTCAGCA 3' | ⑤ 5' TCGATGCCT 3' |
| ② 3' GGGTCAGCA 5' | ⑥ 5' AGCTACGGA 3' |
| ③ 5' CCCAGTCGT 3' | ⑦ 3' AGCTACGGA 5' |
| ④ 3' CCCAGTCGT 5' | ⑧ 3' TGACGATCA 5' |

問 1-7

以下の配列のオリゴヌクレオチド DNA を PCR 反応のプライマーとして使用するため、機器を使って合成した。

ATTGACGCTCAGAGACGTTTC

(5'端はリン酸化されておらず、ナトリウム塩ではないものとする)

- 1) 合成したオリゴヌクレオチド DNA の乾燥重量が、0.1222 mg の時、100 μmole/L の溶液にするために加える水の量を計算し、必要量を μL（小数点以下を四捨五入）で示しなさい。答えのみではなく、計算の根拠がわかる様に、説明と計算式も、適宜、記入すること。

分子量の計算には次の式を用いる（電卓は使用してもよい）。

$$\text{オリゴヌクレオチドDNAの分子量} = (\text{Aの数} \times 249.09) + (\text{Gの数} \times 265.08) + (\text{Cの数} \times 225.07) + (\text{Tの数} \times 240.08) + \{(63.97) \times (\text{塩基数}-1)\} + 2.02$$

- 2) PCR反応液に20 pmole (= 20×10^{-12} mole) 分のプライマーを加えるには、
1) で作成した100 μmole/Lの溶液から何μLを測り取ればよいか、計算しなさい。

問 1-8 以下の構造式の物質について、問題に答えなさい。

図 6 a)

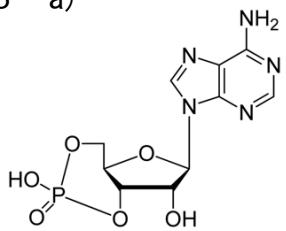
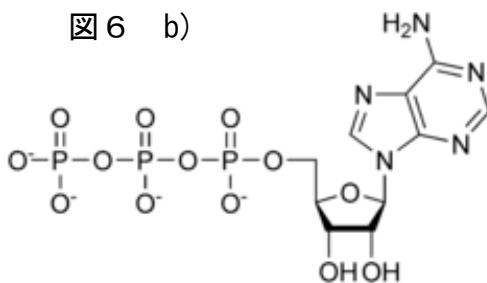


図 6 b)



- 1) 生物が、呼吸による糖の分解などの生化学反応で生じるエネルギーを蓄えるために使っている物質は a)と b)のどちらか、記号とその名前を書きなさい。
- 2) b)の物質は核酸の合成の材料（基質）としても使われるが、それは DNA, RNA のどちらか。

問 1-9 以下の組み合わせの候補物質について、一般的な細胞の核酸に含まれるかどうかを、含まれるものには○、含まれないものには×で（　　）に示しなさい。

- | | | |
|-----------|------------|--------|
| () アデニン | - デオキシリボース | - リン酸 |
| () アラニン | - デオキシリボース | - リン酸 |
| () アデノシン | - デオキシリボース | - 亜リン酸 |
| () グリシン | - デオキシリボース | - リン酸 |
| () グアニン | - リボース | - 亜リン酸 |
| () グアニジン | - リボース | - リン酸 |
| () チミン | - リボース | - 亜リン酸 |
| () チアミン | - リボース | - リン酸 |
| () チロシン | - リボース | - 亜リン酸 |
| () ウラシル | - リボース | - リン酸 |
| () シトシン | - デオキシリボース | - 亜リン酸 |
| () シトルリン | - リボース | - 亜リン酸 |

実験2 頭微鏡による微生物の観察

顕微鏡観察操作

1. 試料は予備体験で微生物を観察した時の要領で観察する。
2. 微生物培養液をよく混ぜてから、マイクロピペットで $1 \mu\text{L}$ を吸い取ってスライドガラスに乗せる。
(注) マイクロピペット P20 では $1 \mu\text{L}$ を正確に測り取る事は困難だが、今回の観察では正確性は必要ないので、マイクロピペット P20 で $1 \mu\text{L}$ を測り取る。
3. 細胞液の上にカバーガラスをかぶせ、更にその上にろ紙を乗せて、指で軽く押す。
4. 作成した標本（スライドガラス）を顕微鏡にセットし、最初は 10 倍の対物レンズでおおよそのピントを合わせ、最終的には 40 倍の対物レンズで観察する。
5. 顕微鏡のレンズが汚れていて、観察に支障がある場合は挙手して連絡する。

問 2-1

分裂酵母の培養液（チューブ 1）を用いて上記の操作を行い、図 7 に示されている a), あるいは中央に分裂板を持つ b) の様な細胞を選んで、細胞の大きさと接眼ミクロメータの目盛り（一目盛りの大きさは $2.5 \mu\text{m}$ とする）から、細胞 1 個の長径（図中の両矢印）を測定しなさい。測定には極端に長い細胞、変形した細胞、あるいは c) の様な細胞分裂途中の細胞は選ばない事。

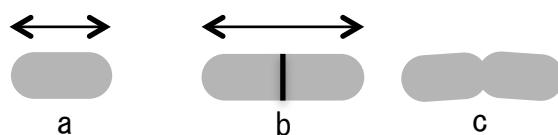


図 7

スライドガラスはそのまままで測定対象の細胞を変えて同じ操作を繰り返し、合計で 5 個の異なる分裂酵母の細胞を測定し、平均値を求めなさい。

問 2-2

チューブ 2, 3, 4に含まれる微生物について、上の手順（12ページの顕微鏡観察操作）を繰り返して観察しなさい。それぞれに対応する細胞の概形を図8の a), b), c), d)の中から選びなさい。また、チューブ 5の培養液については細胞のおおよその長径を接眼ミクロメーターとの比較から求め、下記の選択肢(e, f, g, h)から選びなさい。複数の細胞が連なっている場合は、細胞一つあたりの長径を求めなさい。

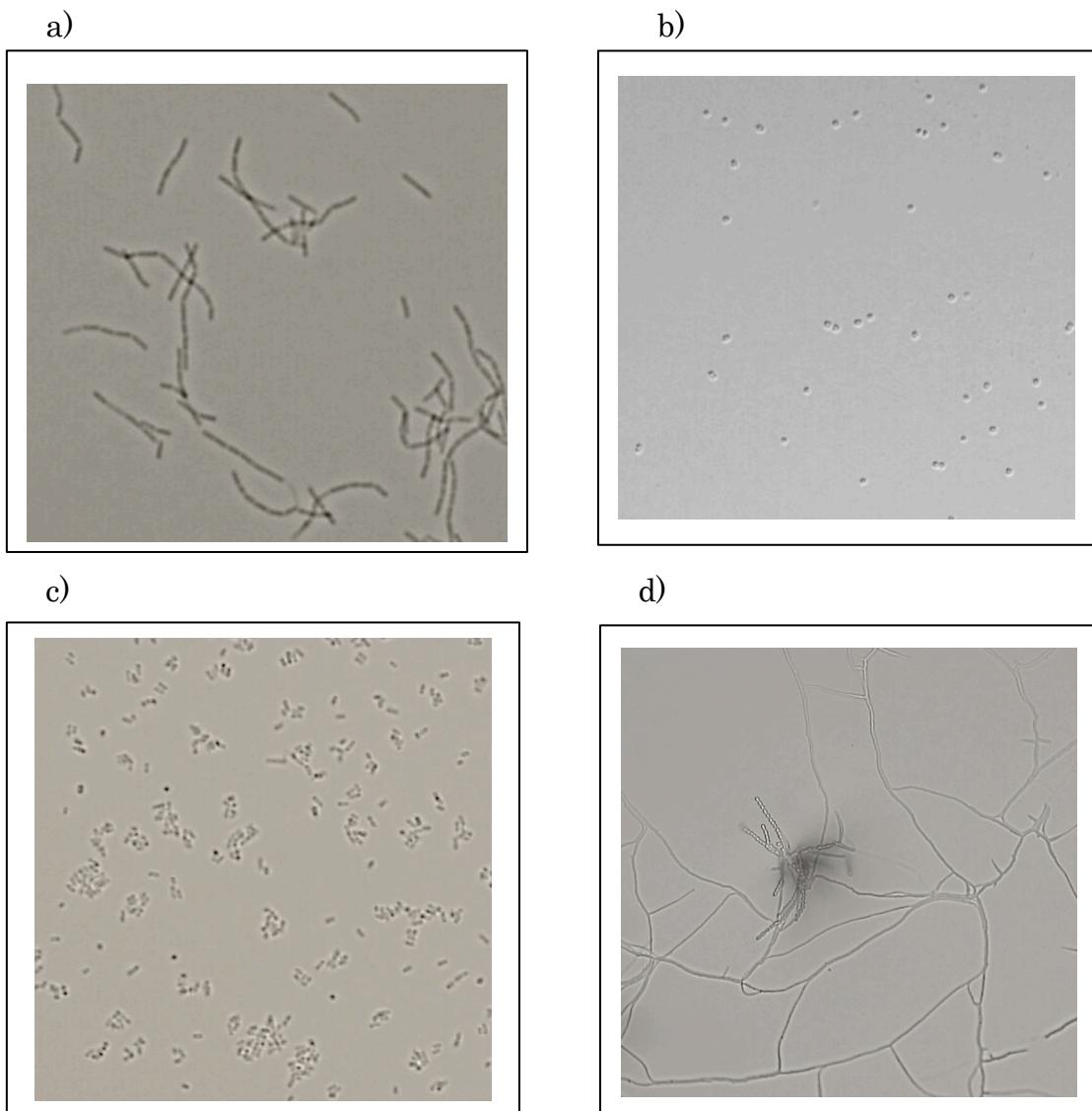


図 8

- e) 0.04~0.2 μm , f) 0.2~1 μm , g) 1~5 μm , h) 5~25 μm

問 2-3

接眼ミクロメーターは接眼レンズに装着して使用する。対物レンズの倍率を変えると対象の観察物の像が拡大縮小するのに対して、接眼ミクロメーターの目に映る目盛りの像は変化しないが、接眼ミクロメーターの実際の一目盛りのサイズは対物レンズの倍率の変化に対応して増減する。一方で、接眼レンズの倍率を増大させると、接眼ミクロメーターの目に映る目盛りの間隔は接眼レンズの倍率に応じて広く見える。

- 1) 40 倍の対物レンズで観察すると、図 9 に示す様に細胞の大きさは接眼ミクロメーターのちょうど 5 目盛り分だった。100 倍の対物レンズで観察すると、細胞はどのように見えるか解答用紙に図示し、長径は何目盛り分になるか書きなさい。

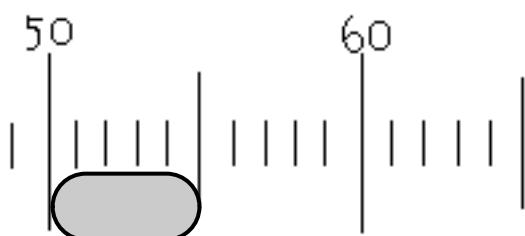


図 9

- 2) 40 倍の対物レンズと 10 倍の接眼レンズの組み合わせで観察した時に、接眼ミクロメーターの一目盛りが $2.5 \mu\text{m}$ だった場合、対物レンズは 40 倍のまま、20 倍の接眼レンズを使って観察すると、接眼ミクロメーターの一目盛りはいくらに対応するか。

問 2-4

血液中の血球細胞数や、培養液中の細胞数などを数えるために使用する血球計算盤は、1 mm を更に等分化する線が縦横方向に刻まれ、カバーガラスを乗せると深さが 0.1 mm となる様に作られた特殊なスライドガラスである。

図 10 の左側は血球計算盤、右の拡大図はある微生物の培養液を 200 倍希釈した後に血球計算盤を用いて観察したところを示している。1 番で示した枠内 ($0.05 \text{ mm} \times 0.05 \text{ mm}$ のマスが 16 個) の細胞を数えたところ、16 個の細胞が含まれ

ており（右の拡大図の点線内），1～5で示した5つ全ての枠内の細胞数の合計は107個だった（1～5の枠内の面積は同一である）。血球計算盤を洗浄後、同じ希釈培養液の測定を更に3回繰り返すと、5つの枠内の合計細胞数は、それぞれ111, 105, 117だった。4回の計測の平均値から、希釈前の培養液1mLに含まれる細胞数を計算し、例にならって答えなさい（例 3.8×10^5 個/mL）。最終的な答えのみではなく、計算の過程がわかるように、適宜、説明や式も記入すること。

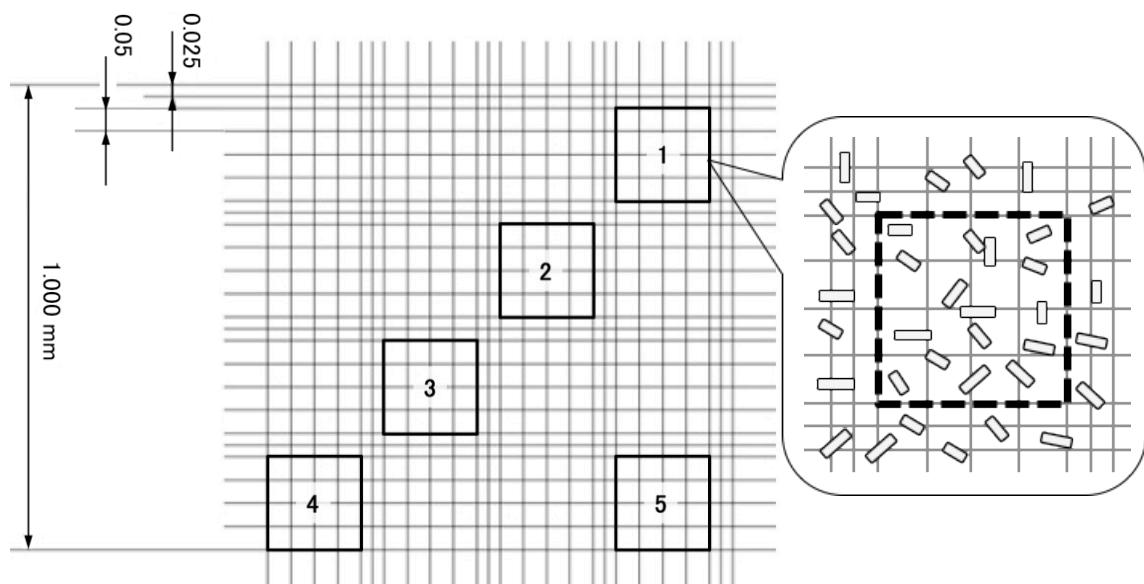


図 10

名札番号 :	氏名 :
--------	------

日本生物学オリンピック 2015 本選 広島

実験試験 IV 植物学 問題冊子 (120 分)

- 机には、問題冊子（9 ページ），解答用紙（3 枚）が配付されている。
- 説明が始まるまでは、問題冊子を開かずに、このページをよく読んでおくこと。
- 解答開始の合図の後、すべての解答用紙に名札番号と氏名を記入しなさい。また、このページにも名札番号と氏名を記入すること。
- 椅子の高さはレバーで調節できる。各自、適切な位置に調節しなさい。椅子の高さが低すぎて合わない人は、挙手をすること。
- 試験の途中で、気分が悪くなったり、トイレ等のためにやむを得ず途中退室を希望したりする場合は、挙手をすること。
- 実験中は、必ず白衣を着用すること。また、実験用手袋や親指保護用サックについては必要に応じて着用すること。試料等が眼、口、皮膚などに直接触れないよう注意すること。実験用手袋や親指保護用サックのサイズが合わないとき、また数が足りないときは、挙手をすること。
- 問題冊子にメモを取ってもかまわない。試験終了後、問題冊子は持ち帰ること。
- 実験机の上および引き出しの中の文具や実験道具は自由に使ってかまわない。実験中は位置も自由に動かしてかまわない。実験終了後はなるべく元の位置に戻しておくこと。
- 実験は、実験 1, 2 の順に行うこと。実験 1, 2 はそれぞれ 50 分間程度で実験操作と解答を終えるように行うこと。
- 実験机の上には、すでに準備されているものの他、予備体験冊子(実験試験 III・IV)、配付されたペンケース（定規やピンセット、鉛筆等が入ったもの）、筆記用具、時計、ハンカチ、ティッシュ、目薬以外のものは置かないこと。

はじめに

高等植物は根や茎、葉といった器官を発達させる。植物が生きていいくうえで、根や茎、葉は様々な役割をになっている。例えば、根は地上部を支える働きのほか、土壤から生育に必要な水分や様々な栄養分を獲得する働きを持つ。また、根は地上部から供給される光合成産物を利用し、呼吸を行うことでその構造を発達させる。茎は地上部を支える働きを持ち、葉と根の間で輸送される水分や栄養分の輸送路にもなっている。葉は太陽光を利用して光合成を行う場であり、植物が独立栄養を営むために重要な役割を果たしている。

植物は発芽した後、ひとたび根ざすとその場所から移動することができないために、環境変化に適応する能力に優れている。温度変化や光強度の変化、養水分の過不足などに応答して、植物は体内の代謝系を調節したり、また器官の内部構造を変化させたりすることが知られている。本実験では、植物が持つそのような環境への適応機構の一部について理解するために、水稻を用い、葉中の代謝物の分析と根の組織構造の観察を行う。水稻はイネ科イネ属の单子葉類であり、日本をはじめアジアやアフリカ諸国において、主食となる穀類として栽培されている。また、イネ科は約1万種からなる大きな分類群で、コムギ、オオムギ、トウモロコシなどの主要な穀物のほか、牧草やサトウキビ、タケなど、重要な資源植物を多く含んでいる。

サンプルと器具

実験試験の最初に以下のものがすべてそろっているかを読みあげて確認します。確認できた場合には、□に✓を入れてください。無いものがあれば、確認作業が終わった後に挙手により知らせてください。

実験1と実験2で使用する植物材料

本実験では明所と暗所でそれぞれ栽培した水稻幼植物体を使用する。

- 水稻幼植物体 (A) 10 本
- 水稻幼植物体 (B) 10 本

実験台に設置された器具類

- 生物顕微鏡 1 台
- 実験用ティッシュ (キムワイプ) 1 箱
- ペーパータオル 1 袋
- マイクロビペット (P20) 1 本
- 廃液回収用プラスチック容器 (200 mL 容) 1 個

- 廃チップ回収用プラスチック容器（500 mL 容） 1 個
- 可燃ゴミ用プラスチック容器（500 mL 容） 1 個

実験 1 水稻の代謝物量の測定（緑色のトレイ）

- ビタミンC溶液(50 μ L) 1 本
- ヨウ素溶液(2 mL) 1 本
- 抽出溶液(8 mL) 1 本
- 1.5 mL 容マイクロチューブ（図 1） 4 本
- 5 mL 容マイクロチューブ（図 1） 3 本
- はさみ 1 本
- スポイト（図 1） 4 本
- プラスチック製ホモジナイザーペッスル（図 1） 3 本
- A4 用紙 3 枚
- 油性ペン 1 本

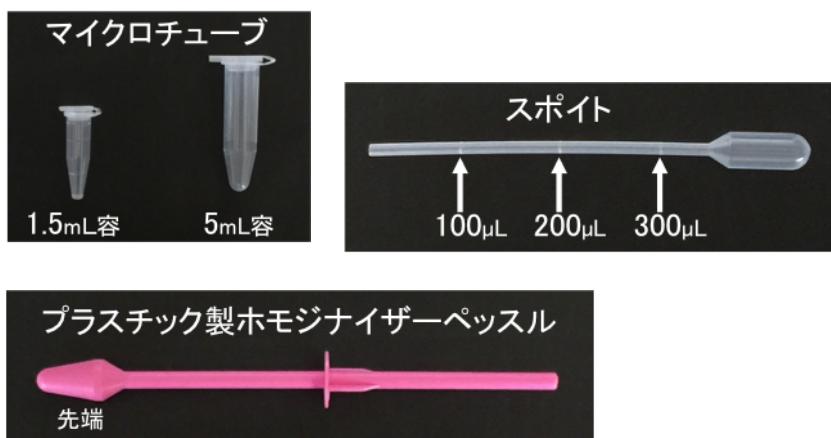


図 1 実験器具の写真

実験 2 水稻の根の観察（赤色のトレイ）

- スライドガラス 2 枚
- カバーガラス 2 枚
- ピス 2 本
- カミソリ 4 枚
- スポイト 3 本
- ペトリ皿(大) 3 枚
- ペトリ皿(小) 1 枚
- 0.5%サフラニン溶液(10 mL) 1 本
- 水道水(100 mL)が入ったコップ 1 個

- | | |
|--|-------|
| <input type="checkbox"/> タイマー | 1 個 |
| <input type="checkbox"/> 親指保護用サック（大・小） | 各 1 個 |

トートバッグから出しておくもの

- | | |
|--|-----|
| <input type="checkbox"/> ペンケース（鉛筆、消しゴム、定規、ピンセット） | 1 個 |
| <input type="checkbox"/> ピペットチップ | 1 個 |
| <input type="checkbox"/> 実験試験Ⅲ・IV 予備体験冊子 | 1 部 |

評価項目

実験 1

- 栽培条件の異なる 2 種類の水稻幼植物体について、葉に含まれるビタミン C 量を比較し、栽培条件を答えることができるか。
- 葉におけるビタミン C の役割を考察することができるか。

実験 2

- 水稻の根の構造を把握できるか、オオムギの根との違いを把握できるか。
- 水稻の根が持つ特徴的な構造が果たす機能について推察することができるか。
- 植物が根から水を取り込み輸送する仕組みや、植物細胞が水を取り込む基本的な仕組みについて理解しているか。

実験 1 水稻の代謝物量の測定

地中に根を張って移動することができない植物は、細胞内で物質の生合成などを行って周囲の環境変化に応答している。植物を取り巻く環境要因の中で光は重要なものである。図 2 に示すように葉緑体では光エネルギーを化学エネルギーに変換していることは有名である。葉緑体は特徴的な植物の細胞内小器官であり、高濃度のビタミンCを含んでいる。ビタミンCは人の健康維持に重要な役割を果たしているため、栄養機能食品などに使用されている。ビタミンCの代表的な機能に還元能があり、細胞内で発生した酸素より生じた過酸化水素などの反応性の高い酸素種(活性酸素)を還元する。活性酸素が細胞内で蓄積すると細胞にとって有害となる。人間はビタミンCを合成することができず果物や野菜からビタミンCを摂取する必要があるが、植物ではグルコースからビタミンCを合成することができる。本実験では、栽培条件の異なる水稻幼植物体に含まれるビタミンC量を比較し、植物におけるビタミンCの役割について考察する。

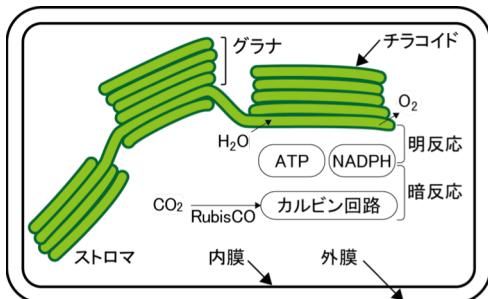


図 2 葉緑体の構造と光合成の概要

操作

反応終点の確認

本実験ではヨウ素溶液を用いて、ヨウ素がヨウ化水素になるときに、溶液の色(紫-オレンジ)が無色になることを利用して、ビタミンC量を測定する。

1. スポイトを用いて、ヨウ素溶液 300 μL を空の 1.5 mL 容マイクロチューブに入れる。
2. マイクロピペットを用いて、ビタミンC溶液 20 μL をヨウ素溶液を入れた 1.5 mL 容マイクロチューブに加えて混合する。溶液を混合する時は、チューブのフタを閉め、チューブの側面を人差し指の裏などで軽くはじいて混合する。溶液を混合した後、溶液の色が無色になっていることを確認し、この色を反応終点とする。

ビタミンC量の測定

本実験では、A と B の2グループの水稻幼植物体の葉身(図3)から、それぞれ細胞抽出液を調製し、抽出液に含まれるビタミン C 量を測定する。

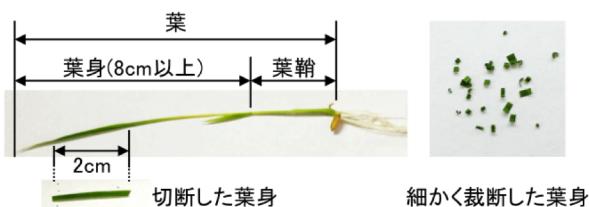


図 3 水稻幼植物体からの葉の切り出し

3. 空の 1.5 mL 容マイクロチューブに、スポットを用いてヨウ素溶液 300 μL を入れておく。
4. 最初に、AまたはBのいずれか一方のグループから、葉身が 8 cm 以上の中よく育つ

た水稻幼植物体を 5 本選ぶ。次に選んだ水稻幼植物体の 5 本全てについて、図 3 を参考にして、はさみを用いて葉身から 2 cm ほど葉を切り出す。次に、A4 用紙の上で切り出した葉身を細かく裁断する。

5. 裁断した葉片を 5 mL 容マイクロチューブに入れた後、スポットを用いて抽出溶液 1.2 mL を加える。次に、プラスチック製ホモジナイザーペッスルを用い、抽出溶液をこぼさないように気をつけながら、葉片をすりつぶして細胞抽出液を調製する(図 4)。葉をすりつぶすには、葉片にペッスルの先端を押しつけながら、ペッスルを 30 回ほど回転させる。
6. マイクロピペットを用いて、破碎した葉(固体物)をなるべく吸わないように気をつけながら、細胞抽出液 20 μ L を、操作3.でヨウ素溶液を入れたチューブに加えて混合する。ヨウ素溶液の元の色と比較したりしながら、ヨウ素溶液の色の変化が確認できなくなるまで細胞抽出液を 20 μ L ずつ加える作業を繰り返す。ヨウ素溶液の色の変化が確認できなくなるまでに加えた細胞抽出液の量を記録する。なお細胞抽出液は無色ではないので、この点も考慮して反応終点を決定する。
7. 別のグループから水稻幼植物体を 5 本選んで操作3.から操作6.までの作業を行い、ビタミン C 量を測定する。



図 4 細胞抽出液

問 1-1 ヨウ素溶液の色の変化が確認できなくなるまでに加えた細胞抽出液の量を、A と B のグループについてそれぞれ答えなさい。さらに、どちらのグループの水稻幼植物体の葉身に含まれるビタミン C 量が多いと判断されるかを理由も含めて答えなさい。

問 1-2 A と B のグループは、明所または暗所のいずれかで育てた水稻幼植物体である。水稻幼植物体の状態や問 1-1 の解答を考慮して A と B は、それぞれ明所と暗所のどちらで育てたのかを、理由も含めて答えなさい。

問 1-3 図 5 は植物を 2 種類の光環境下(弱光と強光)においていたときの細胞内における葉緑体の配置を図示したものである。なぜ、それぞれの光環境下で葉緑体の配置が異なっているのかを答えなさい。

問 1-4 問 1-1 から 1-3 の解答より、考えられる水稻の葉におけるビタミン C の役割について答えなさい。

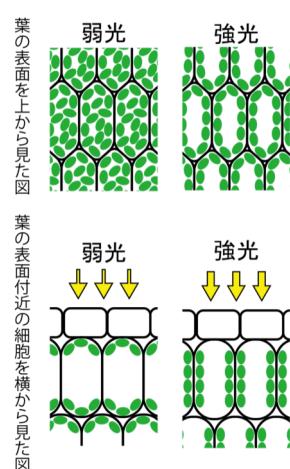


図 5 細胞内の葉緑体の配置図
矢印は光の向きを表し、緑は葉緑体を表す。

実験2 水稻の根の観察

下の図6は、単子葉類のイネ科植物オオムギの根の横断面図である。最も外側に表皮細胞があり、その内側に数層からなる皮層細胞、さらに内側に内皮細胞があり、それより内側が維管束系を含んだ中心柱である。このような根の構造は多くの種子植物に共通して見られるものである。この実験ではオオムギと同じイネ科植物の水稻の根の構造を観察する。水稻とは水田で栽培されるイネ科植物であり、我々の生活にも身近な植物の代表例といえる。水稻の根の徒手切片を作成し、横断面の組織構造について顕微鏡観察を行うことで、その内部構造について調べる。また、オオムギの根の構造との違いについても比較し、水稻の根が持つ特徴的な構造が果たす機能について考察する。

*切片作成時にカミソリで指を切らないよう、じゅうぶん気を付けること。
必要であれば、配付された親指保護用サック（あるいは手袋）を利き手ではないほうの親指（右手でカミソリを持つ場合には左手の親指）に装着して保護すること。

*なお、植物組織の徒手切片の作成方法や顕微鏡の操作方法については、「予備体験冊子」を参考にしてもよい。

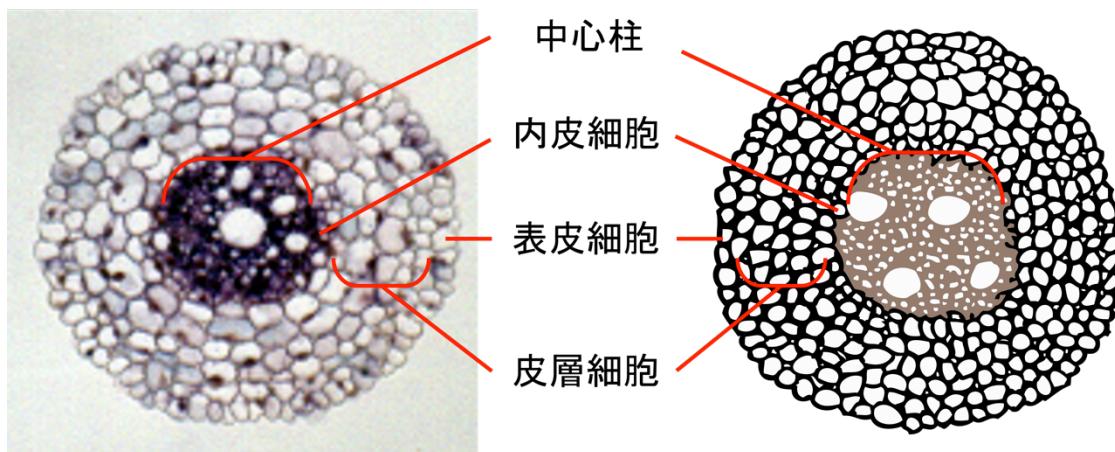


図6 オオムギの根の横断面の写真（左）とその模式図（右）

操作

ピスの準備

1. 切片の作成にはカミソリを用いる。使用し続けていると切れが悪くなることがあるので、そのつど、交換すること。
2. コップに入った水道水をペトリ皿（大）2枚に半分程度の深さまで注いでおく。2枚のペトリ皿のうち、1枚はサフラニン染色後の根の洗浄に、もう1枚は根をピスごと切り出した際に根の切片を浮かべるのに、それぞれ用いる。またペトリ皿のふたは、以下の操作5.において水稻の根をカミソリで切り出すときの下じきとして使用する。
3. カミソリを用いてピスを5 cm程度の長さに切りだし、縦方向に3~4 cm程度の切れ込みを入れる。

水稻の根の染色と徒手切片の作成

4. ペトリ皿（小）に0.5%サフラニン溶液を全量入れる。
5. 水稻の幼植物体（A, Bのどちらの水稻を使用しても良い）を一本とりだし、ペトリ皿のふたの上に置く。
6. 図7のように5 mm程度の長さの根片をカミソリを用いて切り出す。このとき、なるべく茎に近い部分を切り出すこと。
7. 切り出した根の小片1本をつぶさないように、ピンセットを用いて0.5%サフラニン溶液中に移す。
8. 0.5%サフラニン溶液中で根を約30秒間染色する。
9. 染色後、水を注いだペトリ皿（大）に根を移して余分なサフラニン溶液を除去する。
(洗浄用の水道水が赤くなりすぎた場合には、そのつど、交換してもよい。なお、廃液は廃液回収用プラスチック容器に廃棄すること。)
10. 赤く染色された根をつぶさないようにしてピスにはさみこむ。この時、根の横断面を切り出せるように、根の断面を上に向けてピスにはさんでおくこと。
11. 根の徒手切片を作成する。切り出された根の切片はペトリ皿中の水面に浮かべておく。
12. 4~5枚ほど根の切片を切り出した後、切片をスポットで吸い上げ、スライドガラス上にのせる。
13. カバーガラスをかける。余分な水分はカバーガラスの横からペーパータオルを当てて吸水・除去する。
14. 水稻の根の切片を顕微鏡下で観察する。

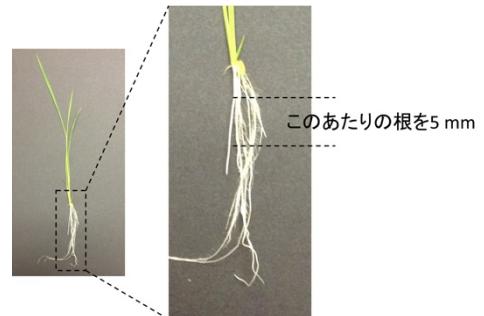


図7 根片の切り出し部位

問 2-1 図 6 のオオムギの根の構造と比較すると、水稻の根はしばしば特徴的な構造を発達させることができている。オオムギの根の構造と異なる点がはつきりと分かるように水稻の根の横断面のスケッチを行いなさい。もし、作成した水稻の根の切片を観察しても特徴的な構造が見つけられない場合には、別の水稻幼植物体を用いて再度、切片を作成すること。また、図 6 の例にならって各部位の名称（表皮、皮層、内皮、中心柱）を記入しなさい。

問 2-2 水稻に見られるこのような特徴的な根の構造についての記述としてふさわしいと思われるものを以下の（ア）～（エ）より過不足なく選びなさい。

- (ア) このような構造は水稻の根の先端部（茎から遠い部分）に多く見られる。
- (イ) このような構造は水稻の根の基部（茎から近い部分）に多く見られる。
- (ウ) このような構造は水稻の茎では決して見られることはない。
- (エ) このような構造は水稻の茎でも見られることがある。

問 2-3 水稻の根はオオムギのような畑作物の根と大きく異なる構造を有している。水稻に特徴的な根の構造は、水稻の生育環境が大きく影響している。水稻がこのような根の構造を持つことは、どのようなメリットがあると考えられるのか。問 2-1 および問 2-2 の解答内容をふまえて考察しなさい。

問 2-4 植物が根から水を取り込むしくみについて、以下の問い合わせに答えなさい。

- 1) 草本植物が根から水を取り込み、輸送するしくみについて述べなさい。
- 2) 植物組織には、2つの主要な区画（細胞膜の外側をアポプラスト、細胞膜の内側をシンプラストとよぶ）がある。次の領域について、アポプラストとシンプラストに属するものに分けなさい。

道管要素内 師管内 サイトゾル 原形質連絡
細胞間の空隙 細胞壁

- 3) 植物細胞から細胞壁を取り除いたプロトプラストを純水中におくと、何が起こるか、次の（ア）～（オ）から選びなさい。
- (ア) 縮む (イ) 分裂する (ウ) 変わらない
 - (エ) 細長く伸びる (オ) 破裂する