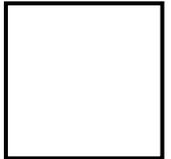


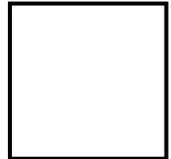
選手番号 _____ 氏名 _____

問1



- (1) (2)

問2



(i)~(iv)

表 Z

	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5
ガラス上面	74.0	65.1	81.0	77.4	80.0
ガラス下面	168.5	168.2	170.8	172.6	169.8
操作量	94.5	103.1	89.8	95.2	89.8

(v) 微動ハンドルの操作量の統計値 ± (平均値±標準偏差, 計測 5 回)

(vi) 1 目盛のステージ移動量 μm

問2のポイント；

通常の光学顕微鏡はxy平面（光軸に対して垂直）の像を観察する用途に用います。しかしながら、細胞やタンパク質分子などは立体的ですので、z（深さ）方向の形状や振る舞いを知る必要があります。観察対象のサイズを定量するためには、校正操作が必要となります。今回は、ステージを上下できる微動ハンドルのつまみと連動した目盛りの一目盛分が、何マイクロメートルのステージの移動量に相当するかを問いました。解答の数値は一例です。日頃から誤差を考慮しながら実験データを定量するように心がけましょう。

選手番号 _____ 氏名 _____



問3

(1) Stage 8

(2)

(i) 別紙1に記載せよ **省略**

(ii)~(iv)

表 A

細胞の番号	A1	A2	A3	A4	A5
面積 (μm^2)	1575	2052	684	1802	1430
厚み (μm)	27.2	27.2	25.5	28.9	23.8
体積 (μm^3)	42840.0	55814.4	17442.0	52077.8	34034.0

(ii) 細胞の面積の統計値 1509 \pm 518 μm^2 (平均値 \pm 標準偏差, 細胞数 5 個)

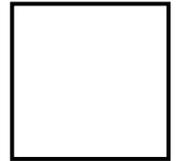
(iii) 細胞の厚みの統計値 26.5 \pm 1.9 μm (平均値 \pm 標準偏差, 細胞数 5 個)

(iv) 細胞の体積の統計値 40441.6 \pm 15390.9 μm^3 (平均値 \pm 標準偏差, 細胞数 5 個)

問3、および問4のポイント；

光学顕微鏡は、観察対象を見てスケッチするために使用する装置であるばかりか、観察対象のサイズなどを定量する装置でもあります。本問では、①生体試料を用いてプレパラートを適切に作成し、②観察対象を「定量的」にスケッチし、③観察対象のサイズを定量する点を問いました。解答の数値は一例です。考察する際には、自分の憶測だけでなく、生物学的な前提知識と共に、必ず定量結果を踏まえて解答するように心がけましょう。

選手番号 _____ 氏名 _____



問4

(1)

(i) 別紙2に記載せよ 省略

(ii) (角数が11個以上のものがあれば表の余白に適宜行を追加してよい)

角数	3	4	5	6	7	8	9	10	11
細胞数	0	2	5	6	2	0	0	0	0

(iii)~(v)

表B

細胞の番号	B 1	B 2	B 3	B 4	B 5
面積 (μm^2)	320	326	346	588	475
厚み (μm)	10.2	8.5	11.9	10.2	8.5
体積 (μm^3)	3264.0	2771.0	4117.4	5997.6	4037.5

(iii) 細胞数が最も多い角数をもつ細胞の面積の統計値

$$\boxed{411} \pm \boxed{117} \mu\text{m}^2 \text{ (平均値} \pm \text{標準偏差, 細胞数 5 個)}$$

(iv) 細胞数が最も多い角数をもつ細胞の厚みの統計値

$$\boxed{9.9} \pm \boxed{1.4} \mu\text{m} \text{ (平均値} \pm \text{標準偏差, 細胞数 5 個)}$$

(v) 細胞数が最も多い角数をもつ細胞の体積の統計値

$$\boxed{4037.5} \pm \boxed{1299.9} \mu\text{m}^3 \text{ (平均値} \pm \text{標準偏差, 細胞数 5 個)}$$

選手番号 _____ 氏名 _____

(vi)

解答のポイント

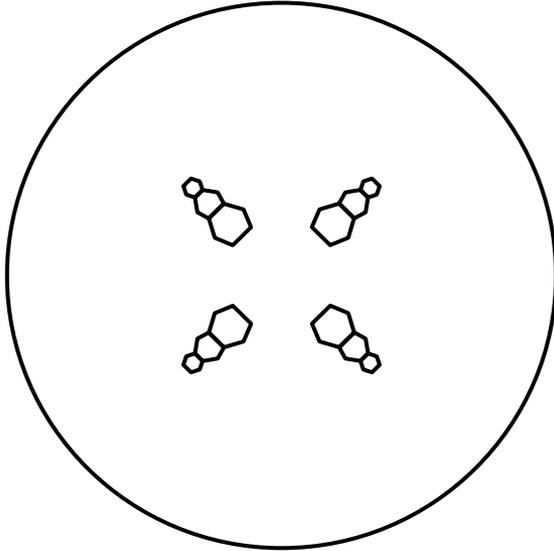
○問3-(2)で算出した胚Aの細胞、および問4で算出した胚Bの細胞の面積・厚さ・体積の平均値・標準偏差を用いて比較する。

○胚A(Stage 8)と胚B(神経胚期)それぞれの発生過程での卵割回数と、細胞の面積・厚さを実験結果に基づき考察する。

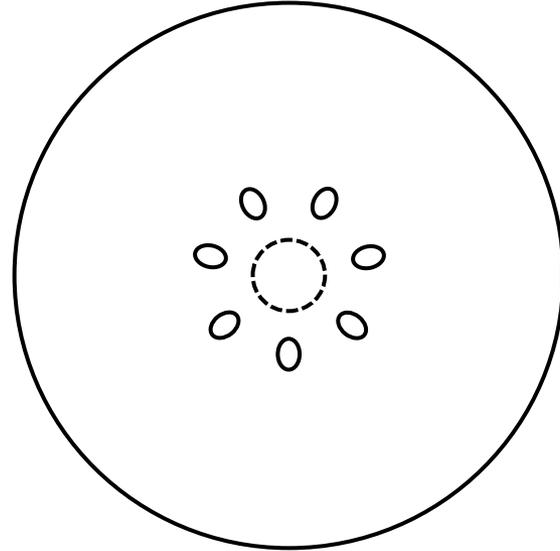
実験試験Ⅱ 植物解剖学・生理学

問1.

オクラ



マカラスムギ



実験試験Ⅱ 植物解剖学・生理学

問2.

オクラの根には、リグニンを蓄積している道管のまとまりが4つあり、これらが根の中心軸から同じくらい離れた位置にほぼ等間隔で位置し、4回回転対称性の配置となっている。一つ一つの道管のまとまりでは、2～4本程度の道管が放射方向に並んでおり、これらのうち外側の道管は細い。

マカラスムギの根には、リグニンを蓄積している道管が7本あり、中心の大きな穴の周囲にほぼ等間隔で位置し、7回回転対称性の配置となっている。

実験試験Ⅱ 植物解剖学・生理学

問3.

植物材料	野生型				<i>lig</i> 変異体			
	対照	PipA	GlcNAc	UDP-GlcNAc	対照	PipA	GlcNAc	UDP-GlcNAc
主根の長さ (mm)	15~30	15~30	15~30	15~30	2~10	2~10	15~30	2~10
呈色の強さ	— または ±	— または ±	— または ±	— または ±	++	— または ±	— または ±	++ または +

問4.

lig 変異は、根の成長を妨げるとともに、根端近傍での異常なリグニン蓄積をもたらす。

野生型への PipA, GlcNAc, UDP-GlcNAc の投与は、根の成長には大きな影響を及ぼさず、異常なリグニン蓄積を誘導することもない。

GlcNAc は *lig* 変異による根の成長の阻害と異常なリグニン蓄積をともに打ち消すが、UDP-GlcNAc にはこうした効果がない。

lig 変異体に PipA を投与すると、異常なリグニン蓄積は抑えられるが、根の成長はほとんど回復しない。

問5.

GlcN-6-P → GlcNAc-6-P → UDP-GlcNAc → 糖鎖修飾前駆体という経路において、*lig* 変異は GlcN-6-P → GlcNAc-6-P の反応段階の活性を低下させ、UDP-GlcNAc の欠乏をもたらすことで、*lig* 変異体に特徴的な表現型を引き起こす。この表現型が GlcNAc 添加で抑圧されたことから、GlcN-6-P → GlcNAc-6-P の反応段階を経ずに、GlcNAc から UDP-GlcNAc が生じる経路が存在すると考えられる（実際にはこの実験結果をきっかけに、それまで植物では知られていなかった GlcNAc をリン酸化して GlcNAc-6-P にする酵素が見つかった）。

lig 変異体の表現型が UDP-GlcNAc の欠乏によるにもかかわらず、UDP-GlcNAc の添加が表現型をほとんど抑圧しなかったことは、与えた UDP-GlcNAc が UDP-GlcNAc → 糖鎖修飾前駆体の反応の場に到達しなかったことを示唆する。UDP-GlcNAc が電荷をもつ分子であることから、細胞膜を通過できなかつた可能性が考えられる。

- GlcNAcの効果に関する考察。→ 4点
- UDP-GlcNAcの効果に関する考察。→ 4点

4+4=8点

問6.

PipA 添加で *lig* 変異体の異常なリグニン蓄積は完全に抑えられたが、根の成長はほとんど回復しなかった。このことから、*lig* 変異体の根の成長不全は、異常なリグニン蓄積の結果ではないと推定される。成長不全とリグニン異常蓄積の因果関係としては、成長不全がリグニン異常蓄積の原因となっている可能性と、成長不全とリグニン異常蓄積が平行して起きている可能性が考えられる。

- リグニン過剰蓄積が成長不全の直接の原因であるかどうかに関する考察。
→ 2点
- 因果関係について他の可能性への言及。→ 4点

2+4=6点

日本生物学オリンピック 2018 東京本選 問題 III 分子生物学 解説

3.3

$6.78 \times 50 = 339 \mu\text{g}/\text{mL}$ つまり、 $339 \text{ ng}/\mu\text{L}$ である。

グラフを読み取るさい、目盛の間まで読み取ること。これはどう見ても 6.8 ではない。

同様に 280nm の吸光度を 3.70 と読み取り、 $r = 6.78 \div 3.70 = 1.83$ となる。

3.4

図 2 より、タンパク質は波長 280nm 近辺に吸光度の極大を有することが分かる。ここで図 1 の曲線と図 2 の曲線を合成して得られる新たな曲線は、260nm から 280nm 近辺の曲線の傾きがタンパク質の 280nm の山に引っ張られて緩やかになるだろう。従って核酸溶液にタンパク質が混入していた場合、 r の値は 1.8 よりも低くなると考えられる。

4.1

3.3 の解答に従って計算する。本稿の解答に従えば、DNA $11.8 \mu\text{L}$ 、超純水 $4.2 \mu\text{L}$ 必要である。

5.2

一番始めの ATG から実際に翻訳が始まるわけではない。なぜなら、この ATG から三つ組みで遺伝暗号を区切っていくと、306-308 番目に TAA (終始コドン) が生じ、105 アミノ酸で翻訳が終わってしまうからである。問題とする遺伝子は 360 アミノ酸で構成されるので、矛盾が生じる。つまり、この ATG は問題とする遺伝子の開始コドンではない。

改めて見ると 68-70 番目に ATG があり、1148-1150 番目に TGA がある。従って、この領域が有力候補となる。しかしこの位置に開始コドンと終始コドンがあるというだけで安心して答とするのでは、必要十分条件を満たしていない。実際に 68 番目の塩基から三つ組みで区切り、1150 番目の塩基に至るまで終始コドンが出現しないことを検証し、確認するべきである。そのような検証無しに、単に数が合っていたから答としていた解答は、実際の研究で通用する考え方ではない。

デザインするべきプライマーの配列は、配列を常に 5' 側から書くことに注意して、

Forward primer : 5'-atgaaaccagtaacgtta-3'

Reverse primer : 5'-tcactgcccgtttccag-3'

となる。特に、Reverse primer が 5'-ctggaaagcgggcagtga-3' とならないことをしっかりと理解するべきである。

6.1.1

得られる断片は大きい順に 23130、9416、6557、4361、2322、2027、564、125 である。

6.1.2

電気泳動の結果を予測すると右図の通りとなる。

6.2.1

制限酵素反応させる際に 125 ng/μL の濃度としたのだから、実際に用いる DNA 溶液の容量は以下の通りとなる。

500 ng の DNA : 制限酵素反応済みサンプルを 4 μL 用いる。

1000 ng の DNA : 制限酵素反応済みサンプルを 8 μL 用いる

2000 ng の DNA : 制限酵素反応済みサンプルを 16 μL 用いる

6.2.2

6.2.1 のサンプルを比較対象として、濃度未知のサンプル濃度を推し測りたい。一般に濃度未知のサンプルの濃度を知りたい場合、サンプル濃度が濃すぎても薄すぎても上手く行かないことが懸念される。従って、たった一通りのサンプル量で試すよりは何通りか段階的に変化させて希釈系列を作って調べると良いだろう。

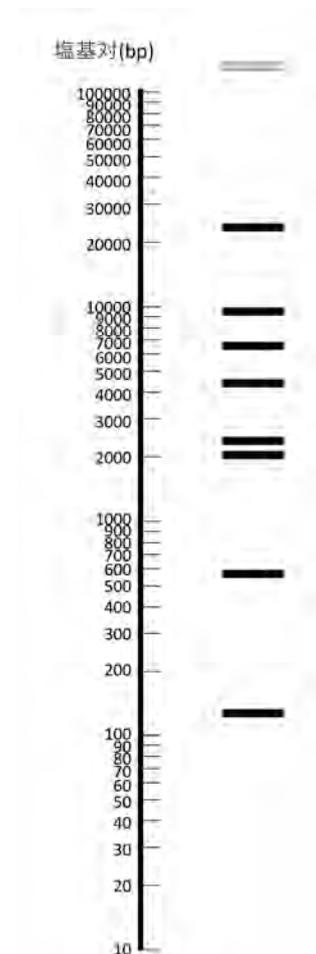
一方で、今回の PCR 断片の濃度がどのくらいかということは計算で予測できる。10 ng のプライマーを PCR に用いており、かつ、プライマーの塩基数は 18 塩基である。5.2 より、PCR 断片の全長は 1083 塩基であるから、10 ng のプライマーが全て消費しつくされた場合、生成する DNA 鎖は、理論上以下の通りとなる。

$$10(\text{ng}) \times \frac{1083}{18} = 601.7(\text{ng})$$

しかし、上記計算は一本鎖 DNA の場合である。実際の DNA は二本鎖であり、プライマーも両側を挟む二種類用いているから、実際に生成する二本鎖 DNA は、

$$10(\text{ng}) \times \frac{1083}{18} \times 2 = 1203(\text{ng})$$

また、PCR 反応液は 200 μL なので、全てのプライマーが PCR で消費しつくされた場合に生成する



DNA 断片の濃度は、

$$1203(\text{ng}) \div 200\mu\text{L} = 6(\text{ng}/\mu\text{L})$$

となる。つまり、PCR はごく微量の DNA 配列を指数関数的に増幅する実験技術であるが、無限に増幅するわけではなく、生成する PCR 断片の量には上限がある。最初に加えたプライマーの量は、生成する PCR 断片の量を規定する要素のひとつなのである。

一方でたいいの場合、実験において反応が完璧に進むことはない。溶液中に含まれる夾雑物や、PCR に用いる酵素の活性なども反応に影響するだろう。一般に PCR の場合、以下の式に示すような様式で反応が進む。

$$[\text{得られる DNA 断片の分子数}] = [\text{始めに存在する鋳型 DNA の分子数}] \times (1 + \alpha)^n \quad \text{ただし } 0 \leq \alpha \leq 1$$

つまり、反応が理論通りに進んでいない可能性を見越して、多めに試すサンプルを用意しても良いだろう。

また、4.1 の DNA に対し、6.2.1 に従って電気泳動にかけると、それぞれのバンドの DNA 量は以下の通りとなる。これを比較対照とすればよい。

	500ng	1000ng	2000ng
23130 bp	238 ng	477 ng	954 ng
9416 bp	97 ng	194 ng	388 ng
6557 bp	68 ng	135 ng	270 ng
4361 bp	45 ng	90 ng	180 ng
2322 bp	24 ng	48 ng	96 ng
2027 bp	21 ng	42 ng	84 ng
564 bp	6 ng	12 ng	23 ng
125 bp	1.3 ng	2.6 ng	5.2 ng

これらのことを踏まえ、出題者なら、アガロースゲルの空いた穴に対して $2\mu\text{L}$ 、 $4\mu\text{L}$ 、 $8\mu\text{L}$ 、 $16\mu\text{L}$ の順でサンプルを注ぎ込むだろう。 $2\mu\text{L}$ というのはピペットマン P20 の最少許容量であり、 $16\mu\text{L}$ というのはアガロースゲルの穴に安定して注ぎ込める最大容量である。もちろん予備のチューブを用いてサンプルを希釈し、それを用いても良いだろう。

本来は、この問題にじっくりと皆さんの時間を割いて頂き、考えて欲しかったところである。『6.2.1 に書いてある通りの $4\mu\text{L}$ 、 $8\mu\text{L}$ 、 $16\mu\text{L}$ とした』というのでは、6.2.1 に指定された容量と本問の容量が全くの独立した事柄であることを思えば、いかにも安直で残念な答えである。それぞれの実験操作を始める前に、それなりに自分で考えた根拠があって然るべきだと思う。

なお、ピペットマンの許容範囲を超えて操作しようとした者には猛省を促したい。ピペットマンは精密な実験道具であり、そのような操作をしたら簡単に壊れる。

7.1

電気泳動の結果の一例をここに示す。これを見ると、500 ng の 564 bp と 2 μ L、1000 ng の 564 bp と 4 μ L、2000 ng の 564 bp と 8 μ L のバンドの光具合が、だいたい同じように見える。今回の正常対照は電気泳動が問題なく行われたことを示すための対照であり、バンドの濃度に意味は無い。

さきほどの一覧表を基にすると、6 ng/2 μ L、12 ng/4 μ L、24 ng/8 μ L となる。つまり、3 ng/ μ L の濃度だということが分かる。また、もとの PCR チューブには

$$3(\text{ng}/\mu\text{L}) \times 200(\mu\text{L}) = 600(\text{ng})$$

の PCR 断片が入っていたことになる。

ちなみに、この実験に用いた PCR 溶液の吸光度を計測し、DNA 濃度を計算したところ、3.89 ng/ μ L となった。電気泳動の結果と良い一致を見せていると考えられる。

7.2

600 ng (6.0×10^{-7} g) の二本鎖 DNA 断片の分子数は、この鎖長が 1083 塩基対であり、1 塩基対の平均分子量が 660 であることを踏まえると、

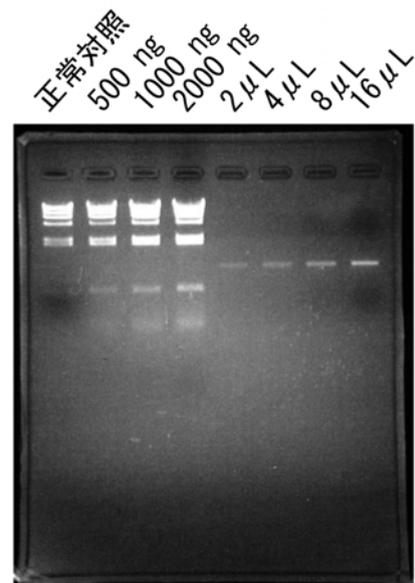
$$\frac{6.0 \times 10^{-7}}{1083 \times 660} \times (6.0 \times 10^{23}) = 5.0 \times 10^{11}$$

となる。最初に鋳型 DNA が 10 分子存在していたのだから、PCR サイクルを n と置くと、

$$10 \times 2^n = 5.0 \times 10^{11}$$

$$n = 35.5\text{.....}$$

つまり、35 回では足りず、36 回では超える。従って、最低 36 回は必要であるといえる。



以上

問1 系統解析には外群の選択が重要である。今回の陸上植物の系統推定において、外群はどれか、A~Iの記号で答えなさい。

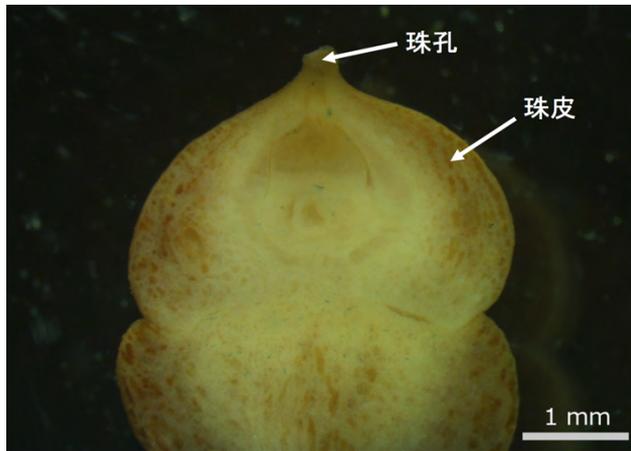
解答 A

シャジクモは、シャジク藻類に属し、陸上植物に最も近縁と考えられる藻類の1つである。

問2 配布されたサンプルDの雌の生殖器官の縦断面をスケッチし、以下の器官名を入れなさい。

珠皮、珠孔

解答



問3 サンプルDの雄・雌の生殖器官を観察した結果、この植物は以下のどの分類群に属するものであるか、番号で答えなさい。また、判断に至った理由を述べなさい。

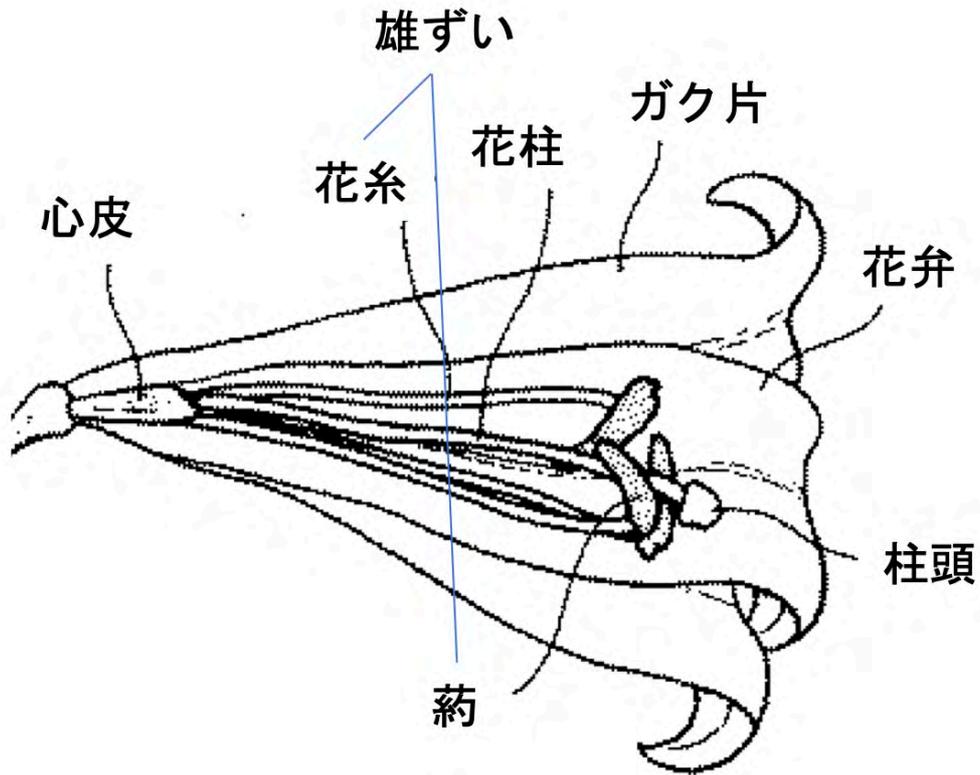
1. コケ植物 2. シダ植物 3. 裸子植物 4. 被子植物

解答 3. 裸子植物 雌の生殖器官は子房に包まれていない胚珠を持つ。

問4 配布されたサンプルFの花の縦断面をスケッチし、以下の器官名を入れなさい。ただし該当しないものは名前を入れないこと。

ガク片、花弁、雄ずい、心皮、柱頭、花柱、葯、花糸、胚珠

解答例

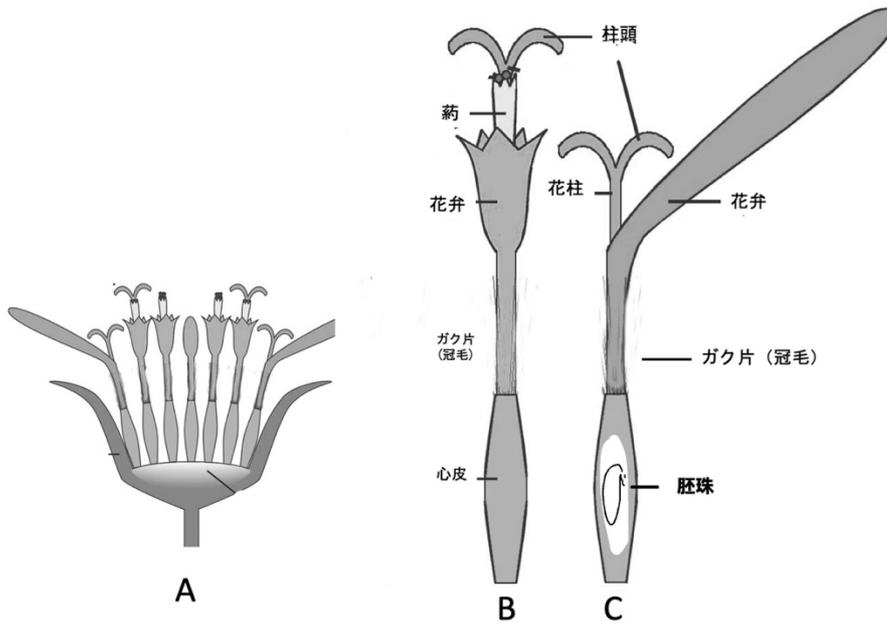


(胚珠は略)

問5 配布されたサンプル G の1つの花をスケッチし、各器官名を入れなさい。器官名は問2の選択肢の中から使用すること

G はキク科植物であり、A は頭花（花序）なので1つの花ではない。1つの花は B あるいは C で、B は筒状花、C は舌状花である。

解答例



問6 配布された各サンプルの生殖器官などを観察して、解答用紙の表の形質(1)-(11)について空欄を埋めなさい。ただし対象器官などを持たないため、当てはまらない場合は－を記入すること。また、配布のサンプルでは観察できない形質については、あらかじめ表中に記入してある。

	(1) 花を持つ	(2) 花被 ^{注1} が明確に分化	(3) 花被 ^{注1} の数性	(4) 合併か離弁か	(5) 子房が離生か合生 ^{注2} か	(6) 花粉の発芽溝の数	(7) 胚珠	(8) 道管	(9) 維管束	(10) 孢子	(11) 生活の場
A シャジクモ	持たない	－	－	－	－	－	なし (－)	なし	なし	－	水中
B ヒメツリガネゴケ	持たない	－	－	－	－	－	なし (－)	なし	なし	あり	陸上
C ノキシノブ	持たない	－	－	－	－	－	なし (－)	なし	あり	あり	陸上
D イチョウ	持たない	－	－	－	－	1	あり	なし	あり	なし	陸上
E アンボレラ	持つ	未分化	3	離弁	離生	1	あり	なし	あり	なし	陸上
F ユリ属	持つ	分化	3	離弁	離生	1	あり	あり	あり	なし	陸上
G キク属	持つ	分化	5	合併	合生	3	あり	あり	あり	なし	陸上
H タガラシ	持つ	分化	5	離弁	合生	3	あり	あり	あり	なし	陸上
I アキギリ属	持つ	分化	5	合併	合生	3	あり	あり	あり	なし	陸上

問7 問6で作成した形質の表に基づき、最節約法による系統樹を作成せよ。また、それぞれの形質の変化がどこで起きたかを(1)-(11)の番号で系統樹上に示しなさい。

