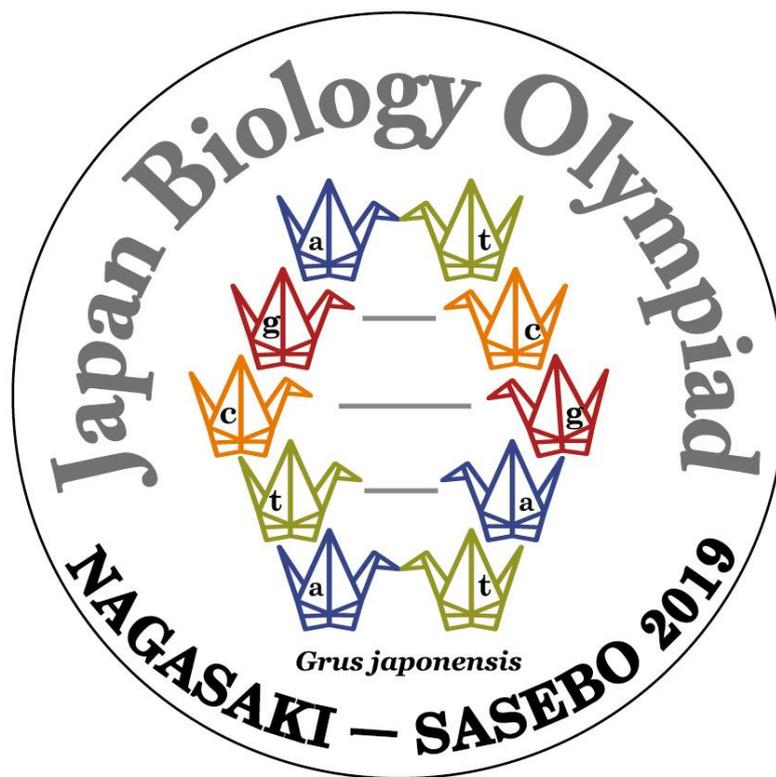


日本生物学オリンピック 2019 本選 長崎（佐世保）



実験試験 I 植物生理学

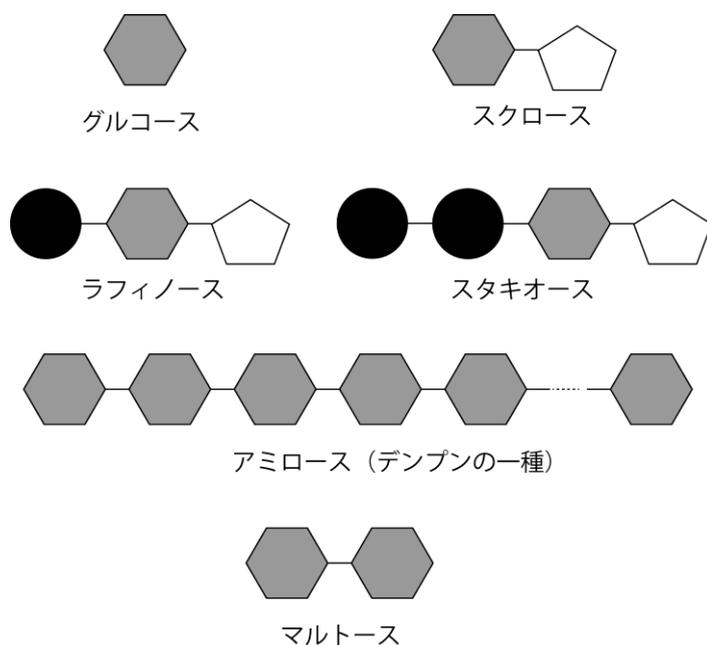
制限時間 100分

解答は全て、解答用紙に記入しなさい

はじめに

植物は、光合成により同化した炭素を糖に変換し、貯蔵する。本実験では、異なる温度で育てたカイワレ大根の芽生えで、ブドウ糖（グルコース）、ショ糖（スクロース）、ラフィノース、スタキオースの蓄積を調べる。スクロースはグルコースと果糖（フルクトース）が結合した糖である。ラフィノースとスタキオースはそれぞれ、さらに別の糖が1つまたは2つ結合したものである（下図）。また、アミロースはデンプンの一種で、グルコースが連続して結合した高分子の多糖類である。アミロースが分解されるとグルコースやマルトース（グルコースが2つ結合したもの）などが生じる。

5日間常温で育成した後に、光をあてて4℃で3日間育成したカイワレ大根の芽生え（条件Aのカイワレ大根）と、5日間常温で育成した後に、光をあてて22℃で3日間育成したカイワレ大根の芽生え（条件Bのカイワレ大根）について調べる。



サンプルと試薬、器具類

以下のサンプルと試薬、器具がそろっていることを確認しなさい。不足物がある場合や試薬等が空の場合は、開始前に申し出ること。

サンプル

- 条件 A のカイワレ大根 6 個体 (凍っていても問題ない)
- 条件 B のカイワレ大根 6 個体 (凍っていても問題ない)

- 3 mg/mL スタキオース (Sta と表記のマイクロチューブ) 1 本
- 3 mg/mL ラフィノース (Raf と表記のマイクロチューブ) 1 本
- 3 mg/mL スクロース (Suc と表記のマイクロチューブ) 1 本
- 3 mg/mL グルコース (Glc と表記のマイクロチューブ) 1 本

- 希釈用緩衝液 (各 2.25 mL 入り、A 10 倍希釈、B 10 倍希釈のラベル付き、プラスチックチューブ) 2 本
- 0.2 mg/mL グルコース (プラスチックチューブ) 1 本
- 0.2 mg/mL スクロース (プラスチックチューブ) 1 本
- 水 (プラスチックチューブ) 1 本

試薬

- 磨砕緩衝液 (プラスチックチューブ) 1 本
- スクラーゼ入り緩衝液 (プラスチックチューブ) 1 本
- スクラーゼなし緩衝液 (プラスチックチューブ) 1 本
- グルコース検出試薬 (プラスチックチューブ) 1 本

器具

- ハサミ (配布したもの) 1 本
- ピンセット 1 本
- 乳鉢と乳棒 2 組
- フィルター付き注射器とピストン 2 組
- 空の 2 mL マイクロチューブ (A、B のラベル付き) 2 本
- 駒込ピペット 3 本

- 駒込ピペット用のゴム帽 1つ
- スポイト 11本
- ガラス試験管（**ア～ク**のラベル付き） 8本
- 試験管立て（ガラス試験管用） 1つ
- 試験管立て（プラスチックチューブ用） 1つ
- 薄層プレート（**右上に受験番号、氏名を記入する**） 1枚
- 薄層クロマトグラフィー用キャピラリー 6本
- 鉛筆 1本
- 油性マーカー（配布したもの） 1本
- 計時用の時計（配布したもの） 1つ
- ウォーターバス（40℃） 二人で1台（隣の受験者と共同で使用する）

ハサミ、油性マーカー、計時用の時計は、受付時に配布したもの（トートバッグに入っているもの）を使用する。

実験卓上のキムワイプは自由に使ってもよい。試験管やマイクロチューブに、油性マーカーや鉛筆で印や試料名、メモを書いても構わない。また、必要に応じて、ものさしを使用しても良い。カゴは足元に置いて良い。

注意

- ・試験中、許可なく退室することはできない。
- ・配布したサンプル、試薬、器具で実験を行うこと。追加の配布は行わない。
- ・駒込ピペットのゴム帽は使いまわすこと。
- ・使用後のキャピラリーは専用の容器に捨てること。
- ・塗布が終了した薄層プレートは実験台左奥のキムタオルの上に置くこと。
- ・他の廃棄物は実験台のカゴに入れること。
- ・問題冊子の最初のページに作業の流れが示してあるので、必ず読むこと。
- ・問題や解答用紙の裏面は自由にメモに使ってもよい。
- ・評価対象とするので、実験に使用した薄層プレートは置いて退室すること。
- ・試験終了後、この問題冊子は持ち帰ること。

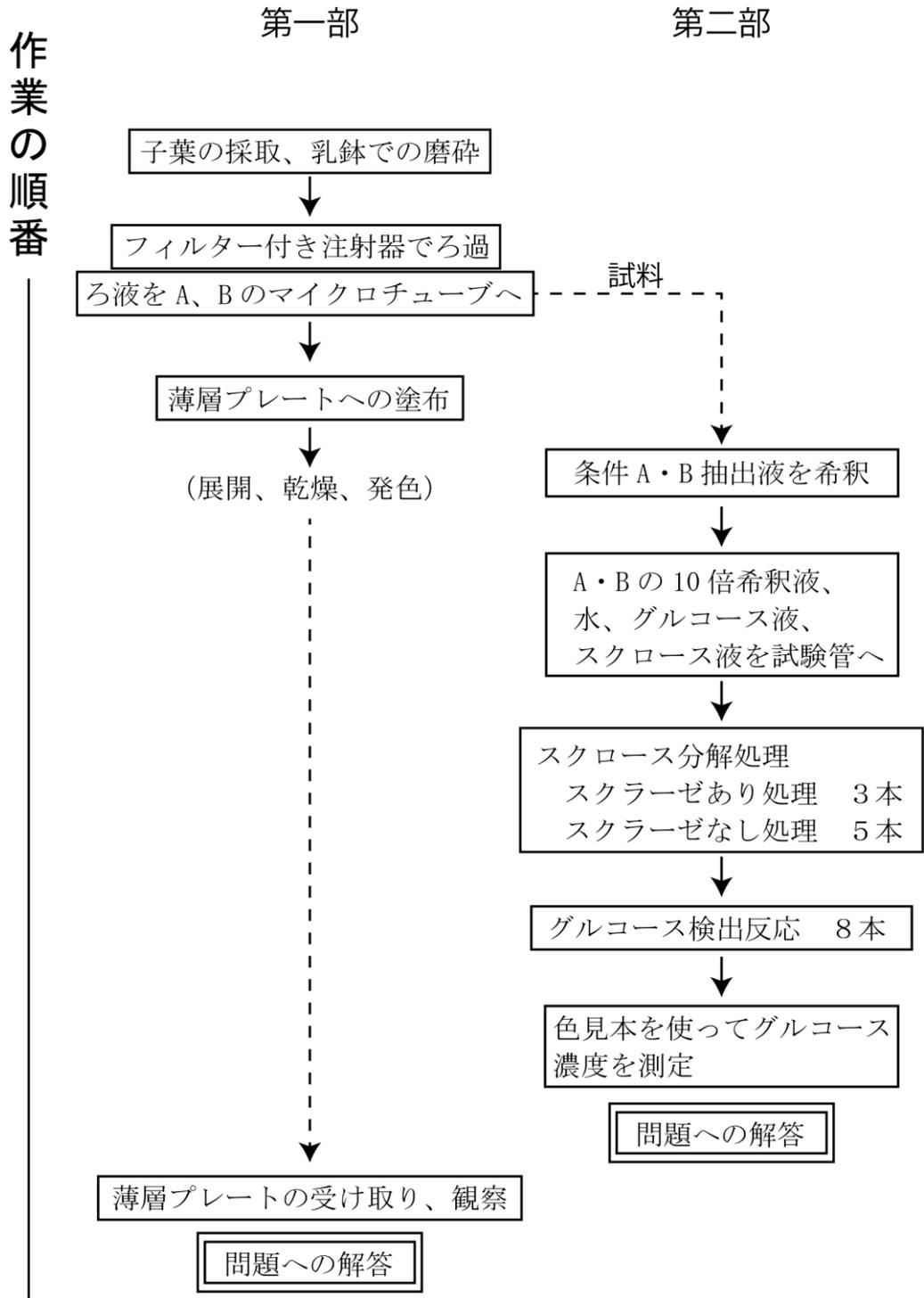
評価項目

実験操作の正確性、関連分野の知識の応用力、データを解釈する能力、論理的思考を評価する。

ここから先は試験開始の合図があるまで
めくってはいけません

始めの合図の後、すべての解答用紙に
受験番号と名前を記入してください。

この問題は、**第一部**と**第二部**で構成されている。実験を進めるにあたっては、下記のフローチャートで作業の流れを確認しなさい。



() 内の操作はアシスタントが行います。
塗布が終了した薄層プレートは実験台の左奥に置いてください。

<第一部>

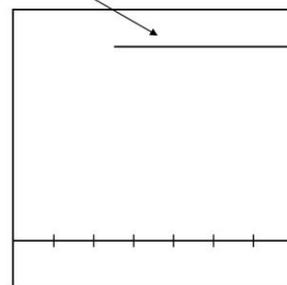
薄層クロマトグラフィーは、物質を分離する手法の一つである。既知の物質との移動度の比較から、糖の種類を推定することができる。また、検出された糖の色の濃さから、量をだまかに知ることができる。カイワレ大根の子葉に含まれる低分子の糖を同定するための下記の操作を行い、次の問1～問6の問題に答えなさい。

実験操作

- ① 条件 A のカイワレ大根から、ハサミとピンセットで子葉を 8 枚 (約 0.3 g) とり、乳鉢に入れる。そこに駒込ピペットで 3 mL の磨砕緩衝液を加え、3 mm 以上の組織片がなくなるまで、乳棒でよくすりつぶす。
- ② すりつぶした磨砕液を駒込ピペットで、フィルター付き注射器に移す。
- ③ フィルターの先を「A」と書いたマイクロチューブで受けながら、注射器のピストンをはめて、磨砕液を押し出す。最後まで押せなくても、マイクロチューブの 1/6 量くらいまで抽出液が得られれば良い。これらの操作で 0.3～1.0 mL 程度の抽出液が得られる。これを「条件 A 抽出液」とする。
- ④ 同様の作業を条件 B のカイワレ大根の子葉についても行い、「条件 B 抽出液」とする。

- ⑤ 薄層プレートをキムタオルの上に置く。プレートの右上の受験番号、氏名の記入を確認する。薄層プレートの+印に、キャピラリーで 2 μ L (キャピラリーの長さで 7 mm 程度) の試料を塗布する (右図参照)。薄層プレートの左から、標準の糖のスタキオース、ラフィノース、スクロース、グルコース、条件 A 抽出液、条件 B 抽出液、を塗布する。

鉛筆で受験番号・氏名を記入



左から、
スタキオース、
ラフィノース、
スクロース、
グルコース、
条件A抽出液、
条件B抽出液
を塗布する

7 mm の目安 → —

- ⑥ 塗布が終わったら、自分の実験スペースの左奥に置く (アシスタントが回収する)。糖の展開と分離、検出はアシスタントが行う。糖の検出まで行った薄層プレートを後で返却するが、この作業には時間がかかるため、先に第二部を進めること。薄層プレートの返却後 (概ね 40 分後) に下記の問題に答える。

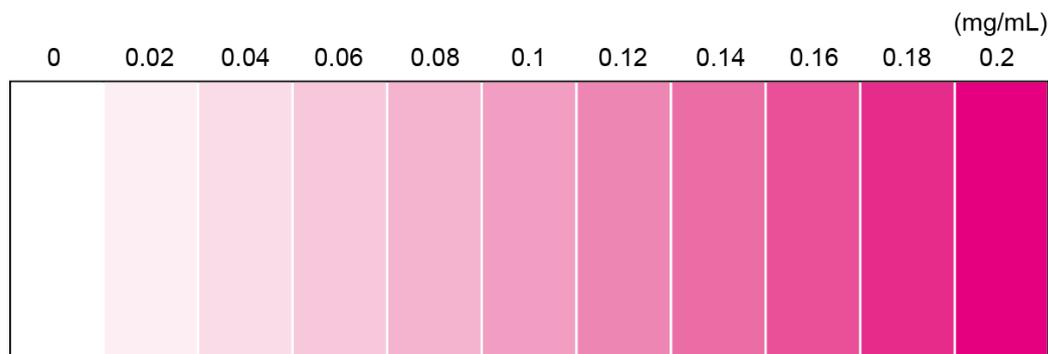
<第二部>

「グルコース検出液」は、グルコースと反応すると、ピンクの色がつく。これは、グルコースオキシダーゼという酵素の働きによるものである。色の濃さは試料に含まれるグルコース濃度が高いほど濃くなる。一方で、この試薬はグルコース以外には反応しない。スクロースは「グルコース検出液」と反応しないが、スクラーゼという酵素でグルコースとフルクトースに分解すると、「グルコース検出液」に反応するようになる。下記の操作を行って各試料の糖の濃度を測定し、次の問1～問9の問題に答えなさい。

実験操作 （注意：この実験では試験管立てを使うとよい）

- ① まず抽出液の希釈を行う。希釈用の緩衝液が 2.25 mL 入っているチューブ「A 10 倍希釈」に、「条件 A 抽出液」0.25 mL をスポイトを用いて入れ、チューブを軽く振って混ぜる。これを「条件 A 抽出液・10 倍希釈液」とする。「条件 B 抽出液」についても同様の希釈を行い、「条件 B 抽出液・10 倍希釈液」を作る。
- ② 「条件 A 抽出液・10 倍希釈液」0.25 mL をスポイトを用いて、試験管**ア**と**イ**それぞれに入れる。同様に、「条件 B 抽出液・10 倍希釈液」0.25 mL を試験管**ウ**と**エ**それぞれに入れる。また、水 0.25 mL を試験管**オ**に入れる。0.2 mg/mL のグルコース液 0.25 mL を試験管**カ**に入れる。さらに、0.2 mg/mL のスクロース液 0.25 mL を試験管**キ**と**ク**それぞれに入れる。
- ③ 試料に含まれるスクロースをグルコースとフルクトースに分解するために、試験管**ア**と**ウ**と**キ**それぞれに、「スクラーゼ入り緩衝液」0.25 mL をスポイトを用いて加える。試験管を軽く振って混ぜる。
- ④ スクロースを分解しない試料も準備する。試験管**イ**、**エ**、**オ**、**カ**、**ク**それぞれに「スクラーゼなし緩衝液」0.25 mL を加える。試験管を軽く振って混ぜる。
- ⑤ 試験管**ア**～**ク**を 40°C のウォーターバスに 5 分間入れる。
- ⑥ 5 分経ったら、一度ウォーターバスから取り出して試験管立てに並べ、試験管**ア**～**ク**それぞれに、スポイトを用いて「グルコース検出試薬」0.5 mL を加える。それぞれ、試験管を軽く振って混ぜる。
- ⑦ 試験管**ア**～**ク**を 40°C のウォーターバスに 5 分間入れる。
- ⑧ 5 分間経ったらウォーターバスから取り出し、試験管**ア**～**ク**の色の付き方を次ページの色見本と比較して、グルコース濃度を調べる。

色見本



<第二部>問題

- 問1 試験管**ア**、**イ**、**ウ**、**エ**の色を色見本と比較し、該当する色のグルコース濃度を答えなさい。
- 問2 この実験では、子葉を磨砕する際に約 10 倍に希釈されている。また、グルコース検出試薬と反応させる前に、10 倍に希釈している。子葉中での実際のグルコース濃度は、問1で答えた濃度の何倍になるか、答えなさい。
- 問3 第一部の結果と第二部の結果から、「条件 A」と「条件 B」のどちらで、より多くのグルコースが蓄積していると判断されるか、答えなさい。
- 問4 「条件 A 抽出液」には、スクロースとグルコースどちらが多く含まれているか、答えなさい。
- 問5 試験管**オ**と**カ**の結果から何がわかるか、20 文字以内で答えなさい。
- 問6 試験管**キ**と**ク**の結果から何がわかるか、20 文字以内で答えなさい。
- 問7 試験管**カ**と**キ**で色の濃さを比較し、このような結果になった理由を 40 文字以内で説明しなさい。
- 問8 本実験では、0.25 mL の試料と 0.25 mL のスクラーゼ入り緩衝液、0.5 mL のグルコース検出試薬で合計 1 mL の反応を行ったが、すべての量を倍にし、2 mL (0.5 mL + 0.5 mL + 1.0 mL) で反応を行うと、色のつき方がどうなるか考えなさい。「濃くなる」、「変わらない」、「薄くなる」、の 3 つから答えを選び、その理由を 20 文字以内で答えなさい。
- 問9 自然界の植物は、冬場に氷点下にさらされる時に、カイワレ大根と同様に低分子の糖の蓄積を大きく変化させることがある。このような糖の蓄積変化は、氷点下で生育する植物においてどのような役割があるだろうか。40 字以内で答えなさい。

問題は以上です。退室の指示があるまで静かに待っていてください。

実験試験 植物生理学 解答用紙 <第一部>

受験番号	氏名

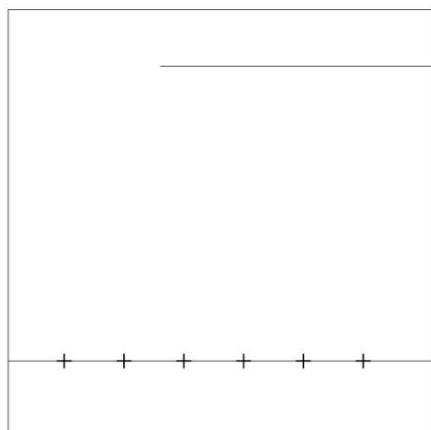
問 1

問 2

問 3

問 4

問 5



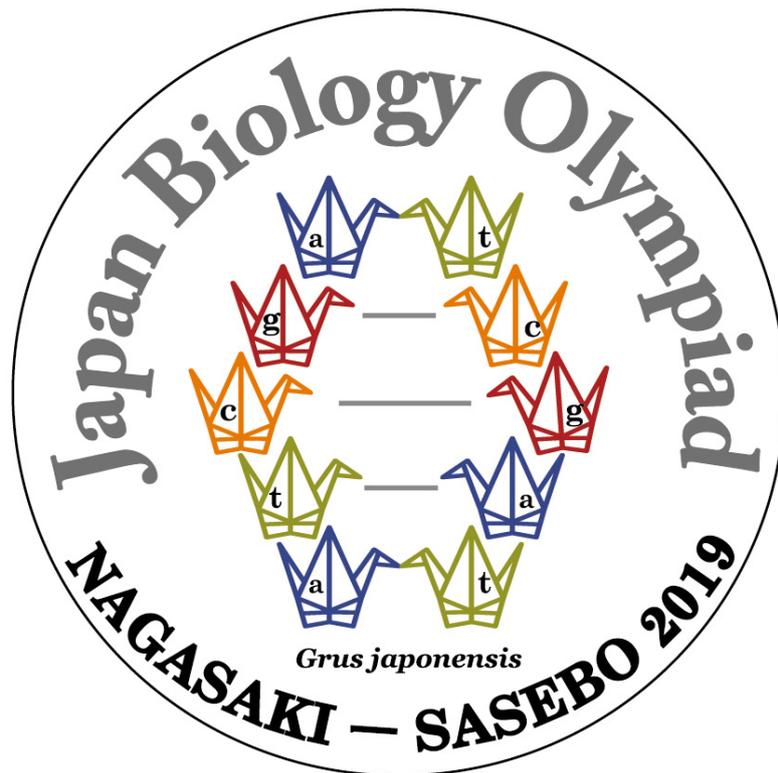
左からスタキオース、ラフィノース、スクロース、グルコース、条件 A の試料、条件 B の試料とする。

問 6 (ア)

問 6 (イ)

問 6 (ウ)

日本生物学オリンピック 2019 本選 長崎（佐世保）



実験試験Ⅱ 生物情報学

制限時間 100分

解答は全て、解答用紙に記入しなさい

はじめに

生命は実に多様な振る舞いを見せる。それらの生命現象を様々な切り口で計測・記録したのがデータである。近年では、計測技術の発達により、多くのデータが得られるようになった。大規模なデータに対し、コンピューターを用いて解析することで、新たな生命現象を発見したり、仮説を検証したり、振る舞いの予測を行う研究分野がバイオインフォマティクスである。

遺伝子の発現量のデータをもとに、その遺伝子機能を推測する方法を考えてみよう。遺伝子は mRNA に転写され、タンパク質に翻訳されることで機能を発現する。このため、ある遺伝子の mRNA の量が多いことは、その遺伝子が機能を発現していることを示唆する。現在では、DNA マイクロアレイや RNA シーケンス法といった技術を用いることで、数万種類の遺伝子の発現量 (mRNA の量) を計測できるようになった。これらの技術を用いることで、ある遺伝子の発現量が臓器や細胞型の違いでどのように変わるかを調べれば、特定の機能に関連した遺伝子の候補を絞り込むことができる。あるいは、ある集団における個体間での遺伝子発現量の違いは、個体間での表現型の違いに関連することがある。このように、個体ごとの違いを、遺伝子の発現データから捉えることができる場合がある。

ゲノムは個体の持つ全遺伝情報であり、DNA の塩基配列として記録されている。ゲノム DNA の塩基配列の違いが、個体間の表現型の違いや疾患の原因となることがある。そのような場合、表現型の異なる個体群のゲノム配列を決定し、個体群の間で塩基配列が異なる箇所を発見することで原因となる変異を探ることができる。このようなアプローチは、動植物を対象とした進化多様性研究やヒトの疾患の原因変異の特定を目指した研究で頻繁に用いられる。

数理モデルによるシミュレーションも、複雑な生命現象を理解する上で有効である。データ間の関係を数式で表現したものが数理モデルである。特に非線形な関係の場合、数理モデルとシミュレーションの力を借りることで、人間の頭ではすぐには理解しづらい振る舞いを明らかにすることができる。数理モデルによるシミュレーションは、生物種の個体数変動といった生態学のレベルから細胞内の遺伝子制御ネットワークや分子の振る舞いといった分子生物学・生物物理学のレベルまで、様々な生命現象を対象としている。

今回の実技試験では、上記の三つの例に対応する場合について、コンピューターを用いたデータ解析やシミュレーションを通してそれぞれ考えてもらう。

パソコンとソフトウェア

以下の設備がそろっていることを確認しなさい。

パソコン

- ・ パソコン、モニター、キーボード、マウスがそろっていることを確認しなさい。
- ・ パソコンの電源が入っていることを確認しなさい。
- ・ 何もウィンドウが開いていない状態であることを確認しなさい。

ソフトウェア

- ・ パソコンのモニター上に以下のソフトウェアのアイコンが表示されていることを確認しなさい。
 - 「ファイル名を指定して実行」

注意

- ・ 問題は問題 1 から 3 まであります。全体に目を通してから解答を始めてください。
- ・ 解答用紙はバラバラにしないでください。
- ・ 試験終了後、問題用紙は持ち帰ってください。

評価項目

- ・ ソフトウェアを適切に操作することができたか。
- ・ 作業の意味を理解することができたか。
- ・ データ解析やシミュレーションの結果から、解答に必要となる情報を抜き出すことができたか。
- ・ 自分の考えを論理的に説明することができたか。

ここから先は試験開始の合図があるまで

めくってはいけません

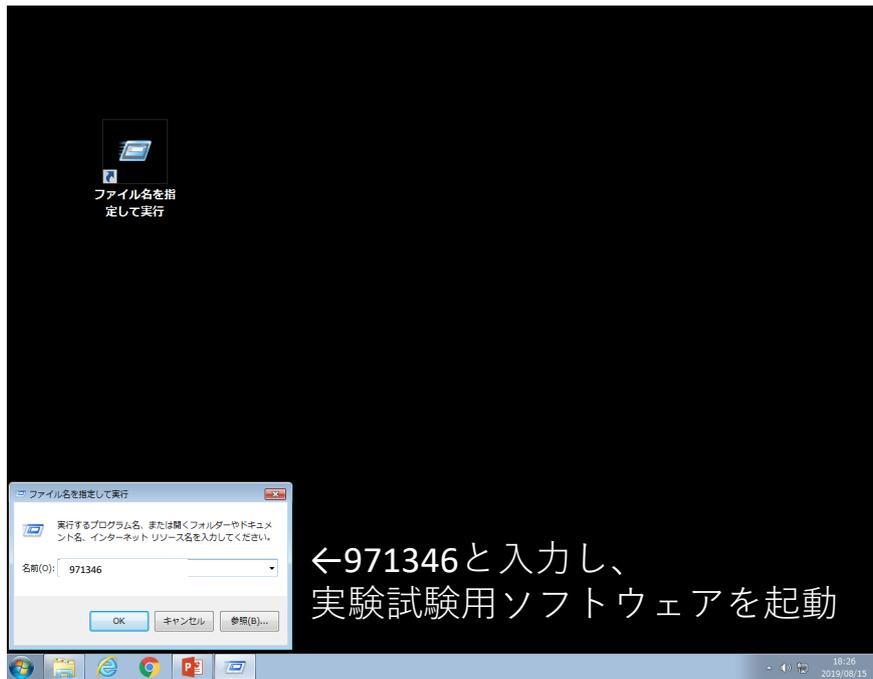
始めの合図の後、すべての解答用紙に

受験番号と名前を記入してください。

ソフトウェアの起動について

問題を解き始める前に、以下の手順の通りにソフトウェアを起動しなさい。

1. 「ファイル名を指定して実行」のアイコンをダブルクリックする。
2. キーボードのテンキーで名前という欄に「971346」を入力し、OK をクリックする（下図参照）。



3. ソフトウェアが起動したことを確認する（下図参照）。

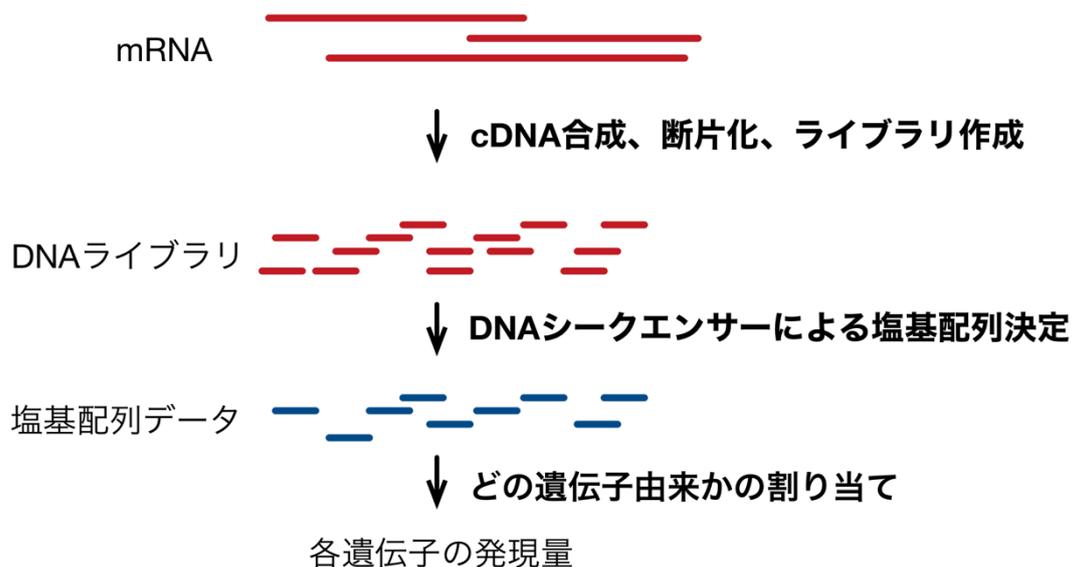


問 1

多細胞生物は多くの種類の細胞から成り立っている。1つの個体に含まれるほぼすべての細胞は（一部の細胞を除いて）同一のゲノム DNA を持ちながら、異なる形や性質、機能を示す。例えば、筋肉細胞も神経細胞も、その核内には同一のゲノム DNA を保持している。にもかかわらず、異なる形態や機能を示すのは、個々の細胞が発現する遺伝子の組み合わせが異なるためである。

見方を変えて、1つの遺伝子に着目すると、身体の臓器・組織・細胞型によって異なる発現量を示す。

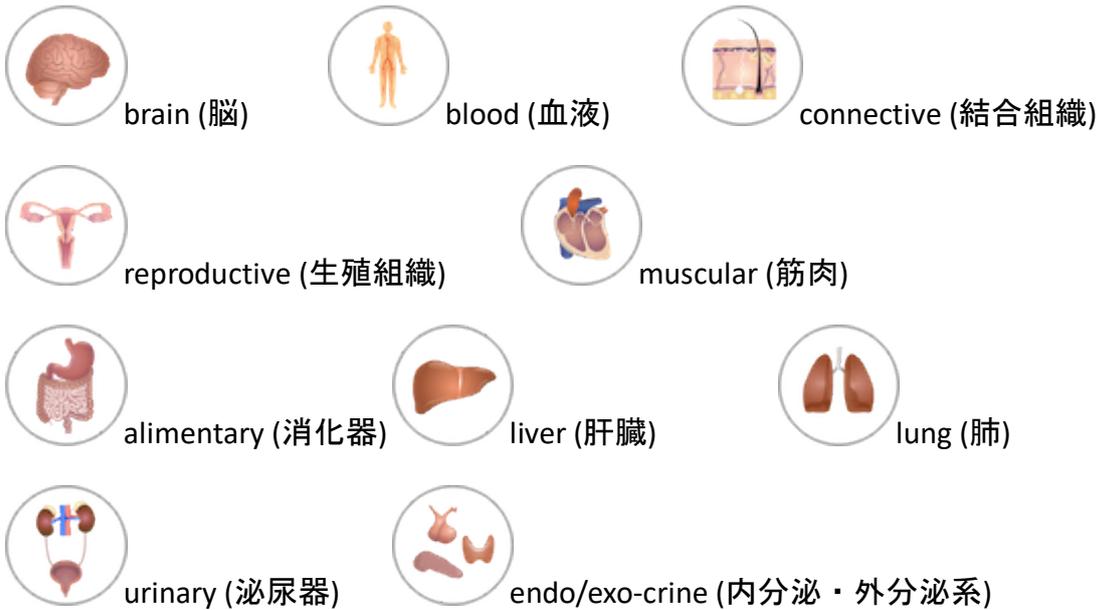
これから RNA シーケンス法（RNA-seq）を用いてヒトの様々な臓器・組織における遺伝子発現量（mRNA 量）を計測したデータを詳しく調べる。RNA-seq は、mRNA を逆転写して作られた cDNA を短く断片化し、数千万個の DNA 断片の塩基配列を決定する技術のことである（下図参照）。これを用いることで、ほぼすべての遺伝子の発現量を同時に計測できる。



なお、ヒトの遺伝子約 2 万個を取り扱うために、米国の国立生物工学情報センター（NCBI）の発行する遺伝子番号である“NCBI Gene ID”を使うことにする。

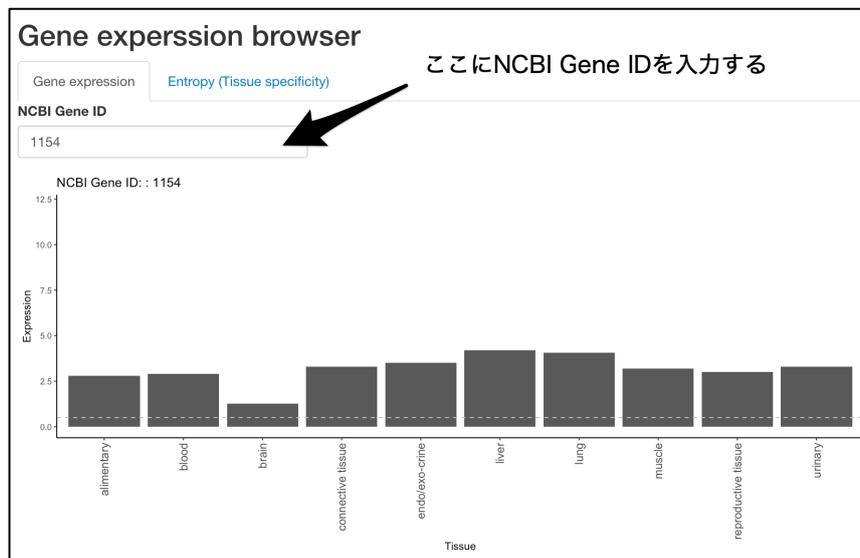
Gene expression browser について

NCBI Gene ID の欄に遺伝子の NCBI Gene ID（半角数字）を入れると、ヒトの 10 種類の組織（brain (脳)、blood (血液)、connective tissue (結合組織)、reproductive tissue (生殖組織)、muscle (筋肉)、alimentary (消化器)、liver (肝臓)、lung (肺)、urinary (泌尿器)、endo/exo-crine (内分泌・外分泌系)）におけるその遺伝子の発現量が表示される。



© 2016 DBCLS TogoTV / CC-BY-4.0

下の図の矢印で示された部分に半角数字で表記された NCBI Gene ID（遺伝子の ID）を入れることで、特定の遺伝子のそれぞれの組織での発現量が表示される。



「ソフトウェアの起動について」を参考に起動した試験用ソフトウェア「Gene expression browser」を利用して以下の問題に答えよ。

問 1-1

NCBI Gene ID 336 は APOA2 と呼ばれる遺伝子である。ヒトの組織における APOA2 遺伝子の mRNA 発現量がヒトの組織ごとの比較からどのような特徴を持つか、Gene expression browser を用いて調べよ。また、その結果から APOA2 遺伝子がコードするタンパク質がどのような機能を持つか予想し、理由とともに述べよ。ただし、Gene expression browser において mRNA 発現量が点線より高い値である場合にのみ、その組織で発現しているとみなすこととせよ。

問 1-2

ID 2597 は GAPDH と呼ばれる遺伝子である。GAPDH 遺伝子の各組織での発現のようすがどのような特徴をもつか述べよ。また、APOA2 遺伝子に比した場合の違いを述べよ。ただし、Gene expression browser において mRNA 発現量が点線より高い値である場合にのみ、その組織で発現しているとみなすこととせよ。

問 1-3

特定の組織でのみ発現が高い遺伝子を組織特異的遺伝子と呼ぶ。ここで、組織ごとに遺伝子の発現データが得られた場合に、それが組織特異的な発現とみなせるかどうか、定量的に判断する方法を考えよう。ここではシャノンのエントロピー（とよばれるものを指標として）を利用する。シャノンのエントロピーとは平均情報量とも呼ばれ、米国のクロード・シャノンが 1948 年に提唱した概念である。その式は次のように定義される。

$$H(X) = - \sum_x P(x) \log(P(x))$$

ただし、離散確率変数 X が値 x をとる確率を $P(x)$ とする。熱力学におけるエントロピーが分子の無秩序さの尺度であるように、情報科学におけるシャノンのエントロピーでは、ある情報の不規則さが大きいほどその値が大きくなるように定義されている。

「Entropy (Tissue specificity)」のタブをクリックすることで、各遺伝子の発現パターンのエントロピーが表示される。また、「entropy」の右側にある2つの三角形（下図の矢印で閉めた部分）をクリックすることで、エントロピーの高い順または低い順に並べ替えることができる。

Gene experssion browser

Gene expression Entropy (Tissue specificity) Histogram of entropy (Tissue specificity) by function

Show 10 entries Search: 

NCBI_GeneID		entropy
1	2	3.30821956849195
2	9	3.24309061255448
3	10	1.70440950499629
4	12	3.24601068442146
5	13	2.5394098649103
6	14	3.32099185340656
7	15	0.665638003556351
8	16	3.31608536889012
9	18	3.14018485245522
10	19	3.31036698147695

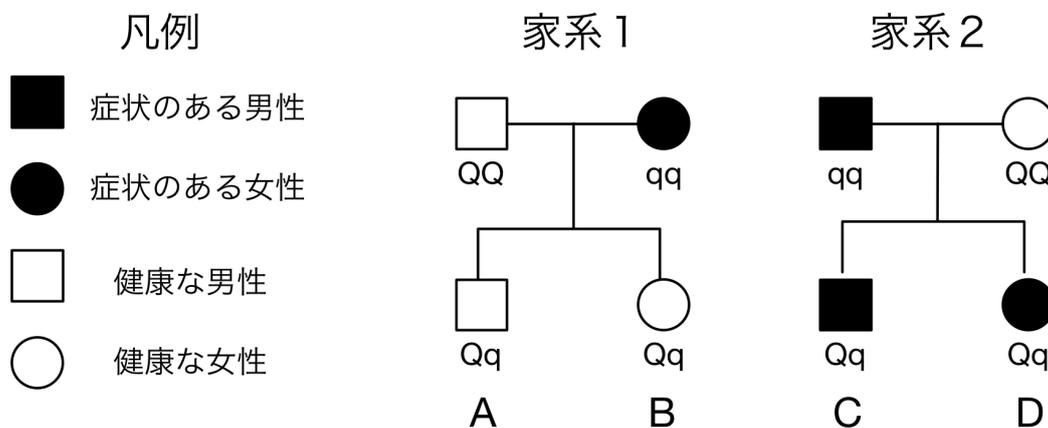
Showing 1 to 10 of 17,216 entries Previous 1 2 3 4 5 ... 1722 Next

エントロピーが最も高い遺伝子と最も低い遺伝子について、その遺伝子の各組織での発現量を観察せよ。その観察結果に基づき、エントロピーが高いことは組織特異的発現が高いことを意味するかそれとも低いことを意味するかを予想し、理由とともに述べよ。ただし、Gene expression browserにおいて mRNA 発現量が点線より高い値である場合にのみ、その組織で発現しているとみなすこととせよ。

問 2

疾患 X はメンデル遺伝の法則に一見従わないようなパターンを示す（下図）。この疾患の原因遺伝子として、*IGF2* と名付けられたヒトの遺伝子（以下、*IGF2* 遺伝子と呼ぶ）がある。*IGF2* の 2 つの対立遺伝子 Q と q について、以下の設問に答えなさい。この疾患に関する医学的な知見を得るため、A, B, C, D の 4 名について RNA シーケンス法（RNA-seq）を行った。RNA シーケンス法とは、問 1 の時と同様、RNA を短く断片化した塩基配列数千万個を一度に配列決定する技術のことである。

図：家系図と遺伝子型（ただし、QQ、Qq、qq は遺伝型である）



「ソフトウェアの起動について」を参考に起動した試験用ソフトウェア「Sequence」を利用して以下の問題に答えよ。

問 2-1

対立遺伝子 Q の塩基配列と、対立遺伝子 q の塩基配列は、手元の計算機にインストール済の試験用プログラム上部「対立遺伝子の配列」タブに記載されている。

また、プログラム内の「ペアワイズアラインメント」のタブを用いることで、2種類の塩基配列（文字列）の比較を行うことができる（下図参照）。

Sequence 対立遺伝子の配列 ペアワイズアラインメント 翻訳

配列 1 (S1)
ACGT

配列 2 (S2)
ACTT

← 比較したい2種類の配列 (文字列) を2つの入力欄にそれぞれ入力する

ミスマッチのあった位置

配列 1 (S1) での位置	配列 2 (S2) での位置
3	3

ペアワイズアラインメント

S1	1	ACGT	4
S2	1	ACTT	4

対立遺伝子 Q と対立遺伝子 q の塩基配列を比較し、何塩基目が異なり、また、対立遺伝子 Q と対立遺伝子 q でそれぞれどの塩基になっているかを示せ。

問 2-2

対立遺伝子 Q が対立遺伝子 q に変わった場合、コードされるアミノ酸配列はどのように変わるか。理由とともに説明せよ。

このための解析作業は次の手順で行うと良い。まず、対立遺伝子 Q と対立遺伝子 q の塩基配列をそれぞれアミノ酸配列へ翻訳する。次に、得られた二つのアミノ酸配列をペアワイズアラインメントによって比較する。塩基配列をアミノ酸配列に翻訳する際は、手元の計算機にインストール済の「翻訳」プログラムを用いよ。

なお、「対立遺伝子の配列」タブには、開始コドンから始まる塩基配列が記載されている。

また、アミノ酸の一文字表記については以下の表を参照せよ。

Ala	A	アラニン	GCU、GCC、GCA、GCG
Arg	R	アルギニン	CGU、CGC、CGA、CGG、AGA、AGG
Asn	N	アスパラギン	AAU、AAC
Asp	D	アスパラギン酸	GAU、GAC
Cys	C	システイン	UGU、UGC
Gln	Q	グルタミン	CAA、CAG
Glu	E	グルタミン酸	GAA、GAG
Gly	G	グリシン	GGU、GGC、GGA、GGG
His	H	ヒスチジン	CAU、CAC
Ile	I	イソロイシン	AUU、AUC、AUA
Leu	L	ロイシン	UUA、UUG、CUU、CUC、CUA、CUG
Lys	K	リシン	AAA、AAG
Met	M	メチオニン	AUG
Phe	F	フェニルアラニン	UUU、UUC
Pro	P	プロリン	CCU、CCC、CCA、CCG
Ser	S	セリン	UCU、UCC、UCA、UCG、AGU、AGC
Thr	T	トレオニン	ACU、ACC、ACA、ACG
Trp	W	トリプトファン	UGG
Tyr	Y	チロシン	UAU、UAC
Val	V	バリン	GUU、GUC、GUA、GUG
—		開始コドン	AUG、(AUA)、(GUG)
Ter	*	終止コドン	UAG、UGA、UAA

問 2-3

A、B、C、Dの4名から疾患に関連する組織サンプルを採取し、RNAシーケンス法によって mRNA の配列を決定した。以下の図は、RNA シーケンス法で決定された mRNA の配列をゲノムに対して並べたものである。A, B, C, D それぞれにおいて対立遺伝子 Q と q どちら由来の遺伝子発現が多そうだと言えるか。

問 2-4

問 2-3 の結果から、*IGF2* 遺伝子における、対立遺伝子の由来（父親もしくは母親）と対立遺伝子の発現量の大小の関係について考察せよ。

問 2-5

問 2-1 から 2-4 までの解答に基づき、疾患 X が通常のメンデル遺伝を示さない原因を述べよ。

問3

生態系において生物種は互いに相互作用することでその個体数を変動させる。例えば、被食者と捕食者の2種類の生物種から成る生態系では、ある世代における2種の個体数が次の世代の2種の個体数に影響される。

そのような個体数変動を表現する数理モデルの一つが、下記の数式であらわされるロトカ・ヴォルテラ方程式 (Lotka-Volterra equations) である。ただし、 x を被食者の個体数を表す指標、 y を捕食者の個体数を表す指標とし、それぞれ個体数の絶対数ではない。以下では特に断りがなければ、被食者および捕食者の「個体数」は「個体数の相対値」のことを意味する。

$$\frac{dx}{dt} = a \left(1 - \frac{x}{K} - by \right) x$$

$$\frac{dy}{dt} = (-r + cx) y$$

※ dx/dt は x の増加速度（被食者の個体数増殖速度）を、 dy/dt は y の増加速度（捕食者の個体数増殖速度）を表している。

数理モデルによるシミュレーションを用いることで、実際の生態系を理解したりその振る舞いを予測するのに有効な場合がある。ここでは、被食者と捕食者の相互作用による個体数変動について理解を深めるため、ロトカ・ヴォルテラ方程式に基づいて、 x と y の時間変化をシミュレーションする。

「ソフトウェアの起動について」を参考に起動した試験用ソフトウェア「2生物種の個体数変動シミュレーター」を利用して以下の問題に答えよ。

問3-1

$a = 1, K = 3, b = 0.2, r = 0.1, c = 0.05$ とした時、被食者と捕食者の個体数はどのように変動するか、以下の選択肢から最も適切なものを選び。ただし、全世代時間はおおよそ 300 (270~330 のいずれかの値)、1 世代あたりの時間は 0.5、また、 x の初期値を 3、 y の初期値を 1 とする。

- (ア) 被食者は初期値から減って一定のところで変動しなくなる。捕食者は初期値から減って、一定のところで変動しなくなる。
- (イ) 被食者は初期値から増えて一定のところで変動しなくなる。捕食者は初期値から減って、一定のところで変動しなくなる。
- (ウ) 被食者は初期値からしばらく一定だが徐々に増加する。捕食者は初期値から減って、一定のところで変動しなくなる。
- (エ) 被食者は初期値から減って一定のところで変動しなくなる。捕食者は初期値から増えて、一定のところで変動しなくなる。
- (オ) 被食者は初期値から増えて一定のところで変動しなくなる。捕食者は初期値から増えて、一定のところで変動しなくなる。
- (カ) 被食者は初期値からしばらく一定だが徐々に増加する。捕食者は初期値から増えて、一定のところで変動しなくなる。

問3-2

x の初期値を 1、 y の初期値を 1、 $a=0.1, K=1, b=0.2, r=0.1, c=0$ 、全世代時間を 1000、1 世代あたりの時間を 0.5 としたとき、 x, y はどうなるか。

また、 c を大きくしていくと、 x と y はどうなるか。以下の選択肢から選べ。

c を 0 にすると、 x は最初一時的に (1) その後 (2) 個体数を維持するが、 y は最初急激に (3) その後観測期間中では (4)。

- (ア) (1) 上がり、(2) 下がって、(3) 上がって、(4) ある個体数で維持される
- (イ) (1) 上がり、(2) 下がって、(3) 下がって、(4) ある個体数で維持される
- (ウ) (1) 上がり、(2) 下がって、(3) 上がって、(4) 個体数が単調増加する
- (エ) (1) 上がり、(2) 下がって、(3) 下がって、(4) 個体数が単調増加する
- (オ) (1) 下がり、(2) 上がって、(3) 上がって、(4) 個体数が単調減少する

- (カ) (1) 下がり、(2) 上がって、(3) 下がって、(4) 個体数が単調減少する
- (キ) (1) 下がり、(2) 上がって、(3) 上がって、(4) 個体数が0になる
- (ク) (1) 下がり、(2) 上がって、(3) 下がって、(4) 個体数が0になる

c を大きくしていくと、(5)。

- (ア) (5) x も y も単調増加する
- (イ) (5) x は単調増加し、 y は単調減少する
- (ウ) (5) x は単調増加し、 y は振動する
- (エ) (5) x は単調減少し、 y は単調増加する
- (オ) (5) x も y も単調減少する
- (カ) (5) x は単調減少し、 y は振動する
- (キ) (5) x は振動し、 y は単調増加する
- (ク) (5) x は振動し、 y は単調減少する
- (ケ) (5) x も y も振動する

以上の結果から、 c は何を表す係数か、以下の選択肢から選べ。

- (ア) x の個体数が y の個体数変化に及ぼす影響の大きさ
- (イ) y の個体数が x の個体数変化に及ぼす影響の大きさ
- (ウ) x の環境収容力 (ある環境において継続的に存在できる x の最大量)
- (エ) y の環境収容力 (ある環境において継続的に存在できる y の最大量)
- (オ) x の死亡率
- (カ) y の死亡率

問3-3

x の初期値を 3、 y の初期値を 1、 $a=1, K=3, r=0.1, c=0.05$ 、全世代時間およそ 300 (270~330 のいずれかの値)、1 世代あたりの時間を 0.5 としたとき、 b を 0.1 から増やしていくと x と y はどうなるか。以下の選択肢から最も適切なものを選べ。

b を増やしていくと、 x の最初の (1) になり、その後観測期間中での値は最終的には x は (2) となり y は (3) となる。

- (ア) (1) 上がり方が急に (2) 単調増加 (3) 振動
 (イ) (1) 上がり方が急に (2) 単調増加 (3) 単調増加
 (ウ) (1) 下がり方が急に (2) 一定 (3) 単調減少
 (エ) (1) 下がり方が急に (2) 一定 (3) 一定
 (オ) (1) 上がり方が緩やかに (2) 単調減少 (3) 振動
 (カ) (1) 上がり方が緩やかに (2) 単調減少 (3) 単調増加
 (キ) (1) 下がり方が緩やかに (2) 振動 (3) 単調減少
 (ク) (1) 下がり方が緩やかに (2) 振動 (3) 一定

以上の結果から、 b は何を表す係数か、以下の選択肢から選べ。

- (ア) x の個体数が y の個体数変化に及ぼす影響の大きさ
 (イ) y の個体数が x の個体数変化に及ぼす影響の大きさ
 (ウ) x の環境収容力(ある環境において継続的に存在できる x の最大量)
 (エ) y の環境収容力(ある環境において継続的に存在できる y の最大量)
 (オ) x の死亡率
 (カ) y の死亡率

問3-4

x の初期値を3、 y の初期値を1、 $a = 0.1$, $K=100$, $b=0.2$, $r = 0.1$, $c = 0.05$ 、全世代時間500、1世代あたりの時間を0.5としたとき、 x と y の変動はどうなるか。以下の選択肢から選べ。

- (ア) x も y も増え続ける
 (イ) x は単調増加し、 y は単調減少する
 (ウ) x は単調増加し、 y は振動する
 (エ) x は単調減少し、 y は単調増加する
 (オ) x も y も単調減少する
 (カ) x は単調減少し、 y は振動する
 (キ) x は振動し、 y は単調増加する
 (ク) x は振動し、 y は単調減少する
 (ケ) x も y も振動する

問3-5

x がカンジキウサギ、y がカナダオオヤマネコの場合に、c の係数が意味するところを具体的に述べよ。さらに、 $c=0$ の場合、どんなことが起こっていると予想されるか自由に述べよ。

実験試験Ⅱ 生物情報学 解答用紙 1

受験番号	氏名

問題 1-1

--

問題 1-2

--

問題 1-3

--

実験試験Ⅱ 生物情報学 解答用紙 2

受験番号	氏名

問題 2-1

_____塩基目が対立遺伝子 Q では____、対立遺伝子 q では____になっている。

問題 2-2

問題 2-3

A : Q · q B : Q · q C : Q · q D : Q · q

問題 2-4

実験試験Ⅱ 生物情報学 解答用紙 3

受験番号	氏名

問題 2-5

--

実験試験Ⅱ 生物情報学 解答用紙 4

受験番号	氏名

問題 3-1

--

問題 3-2

(1～4) :	(5) :	cは何を表す係数か :
---------	-------	-------------

問題 3-3

(1～3) :	bは何を表す係数か :
---------	-------------

実験試験Ⅱ 生物情報学 解答用紙 5

受験番号	氏名

問題 3-4

--

問題 3-5

--

日本生物学オリンピック 2019 本選 長崎（佐世保）



試験Ⅲ 動物行動学と遺伝学

説明：5分

試験時間120分

10:00~12:00

<注意事項>

- ・ 実験台に問題冊子、解答冊子、メモ冊子があることを確認しなさい。合図があるまで開けてはいけない。
- ・ **解答冊子とメモ冊子の所定の箇所に受験番号と氏名を書き入れなさい。**
- ・ **解答は全て、解答冊子に記入しなさい。解答用紙はバラバラにしないこと。**
- ・ メモ冊子は解答のため自由に使用してよい。**実験のメモはすべてメモ冊子に行うこと。メモ冊子は試験後回収し、採点の参考とすることもある。**
- ・ 試験終了後、解答冊子とメモ冊子は残し、問題冊子は持ち帰ること。
- ・ 試験中のトイレ退室は、挙手して教員に知らせ SCIBO とともに一時退室すること。ただし退室中に他の選手と会話しないこと。
- ・ 試験時間が長いいため、途中退室し休憩してよい。隣の休憩室には、飲み物と菓子が用意されているので、各自、適宜休憩と水分補給、栄養補給を行いなさい。休憩のために退室する場合も、挙手して教員に知らせ、SCIBO とともに一時退室すること。休憩室内では SCIBO の指示に従い、他の選手と会話しないこと。

はじめに

生殖は生物が次世代を残すために必須である。これは多段階の複雑なプロセスからなり、成功するためには全てのプロセスが正しく行われなければならない。

ショウジョウバエの生殖のプロセスはオスおよびメスが分泌する性フェロモンに互いに刺激される求愛行動に始まり、交尾、受精、産卵、発生など、実に広い生命現象により構成されている。これらは多くの生物学研究者の興味の対象となってきたが、中でも1960年代に始まったショウジョウバエの遺伝学を利用した求愛行動の研究は、生物の行動を遺伝子の働きで理解しようとする新しいアイデアに基づいた画期的なものである。

このようなショウジョウバエの求愛行動の遺伝学的研究は、放射線や化学物質などの変異原、あるいはトランスポゾンにより染色体上の様々な遺伝子に変異がランダムに引き起こされた多数の突然変異体を作製することから始まる。その中から次世代の子を得られず、かつ精子形成や卵形成は正常なものを選別する。さらにオスとメスのどちらか一方、あるいは両方が求愛行動に異常を示す突然変異系統をスクリーニングする。そして、その異常な求愛行動の原因遺伝子を突き止めてクローニングし、この遺伝子の機能を遺伝子工学の技術を応用して解析する。

本実験試験では、まず野生型ショウジョウバエのオスとメスが示す求愛行動を観察してこのプロセスを理解することから始める。次に求愛行動に異常を示す一つの突然変異体の観察を通して、その表現型を記載し、求愛行動のメカニズムとそれに関わる遺伝子の働きについて考察する。

各自実験台の上に下記のもものが全てそろっていることを確認しなさい。

- 問題冊子
- 解答冊子
- メモ冊子

材料と器具

1. 紙製のラックに入っているもの

- バイアル①: 野生型♂ 20匹
 - バイアル②: 野生型♀ 20匹
 - バイアル③: *yellow* ♂ (体色の突然変異体) 10匹
 - バイアル④: 変異型♂ (突然変異 *h* のホモ接合体) 20匹
 - ショウジョウバエ廃棄用 25ml チューブ (10ml エタノール入り)
- 紙製ラックに立てられているショウジョウバエの各バイアルのラベルをチェックして上記が全てそろっていることを確認すること。

2. トレーに入っているもの

- ルーペ 1個
- LED ペンライト 1本
- 行動観察用チャンバー 3個
- チャンバーのふた用透明アクリル板 (50mm x 50mm) 3枚
- 予備体験で作製した吸虫管
- ピンセット 1本

3. 自分の持ち物から、以下のものを実験台の上に用意しなさい。

- 筆記用具
- 定規
- 工作ハサミ 1本
- ストップウォッチ 1個
- 油性マーカー 1本

評価項目

- ・ 生きた個体の行動を的確、かつ詳細に観察し記述できていること。
- ・ 目的を達成するために必要な実験計画が組み立てられているか。
- ・ 観察やデータを明快にまとめられているか。
- ・ 観察やデータに基づいて論理的に考察ができているか。

<課題の行動観察を行う際の諸注意とルール>

- オスとメスおよび野生型と変異型を取り違えないように注意すること。観察が終わった個体は廃棄用のチューブに入れ、使い回しはしない。
- 常に1対1の行動を観察すること。死んだ個体、移動中に翅や脚を損傷した個体は観察に用いず、直ちに新しい個体に交換してやり直すこと。
- 3つのチャンバーを自由に使用して課題に取り組むこと。複数のチャンバーを同時に使用しても構わない。また観察の目的に合わせて、チャンバーの表面への書き込みを行うなど、使用方法を工夫すること。
- 他の選手の観察にも配慮し、実験台に大きな振動を与えないように注意すること。
- 配布されたショウジョウバエの匹数を考慮して実験を考案すること。ハエが不足した場合は速やかに教員に申し出ること。

課題1～3は連動している。はじめに全ての問題文をよく読んでから、実験を行いなさい。解答は解答用紙に記入しなさい。メモ冊子は自由に使ってよい。

課題1 野生型の求愛行動

オスがメスと出会ったときに見せる求愛行動はある一定のパターンが認められ、オスマたはメスが単独でいる時や、オスどうしのペアが見せる行動とは明らかに異なっている。最初に、バイアル①と②の野生型のオスとメスを用いて、どのようなパターン行動がどのような順序で起こるか正確に把握したい。行動観察用チャンバー内での求愛行動を観察して、以下の設問1～3に答えなさい。

<観察のルール>

- ・ 詳細な観察にはルーペを使用する。
- ・ 10分間を一区切りとして、必ず1対1のペアで観察する。
- ・ 10分間以内に交尾した場合は、そこで観察を終了し、次の新しいペアの観察に移る。
- ・ 10分間で交尾に至らなかった場合も、観察を終了し、新しいペアと交換する。

<野生型の求愛行動観察のアドバイス>

- ・ オスとメスのペアをチャンバー内に入れたとき、早い場合2分程度で交尾に至る。
- ・ オスが求愛行動を起こしても、メス側の判断によって、必ずしも交尾が成立するとは限らない。こういった場合もオスがメスの背中に乗り、腹部を折り曲げ交尾を試みたことが確認された場合、その時点で、一通りの求愛行動が起きたと判断してよい。また、そのまま観察すれば、オスは求愛行動を再開するため、ペアを替える必要はない。
- ・ 元気な個体は動きが素早く行動要素を見逃しやすい。注意深く観察すること。

設問1 図1にショウジョウバエの求愛行動の要素を示す。(ア)~(ウ)の他に求愛行動の際にだけ見られるもう一つの要素(エ)がある。実際の求愛行動を観察し、それがどのような行動か図示して詳細を記載しなさい。ただし、(エ)は野生型のオス単独では観察されない。

設問2 野生型のオスとメスのペアを、交尾に至るまで、あるいは10分間観察して、実際に観察されたオスの行動要素の順序を(ア)~(エ)の記号の配列(例:アエアウイエアウイアイアウ…など)として記録し、詳細な継時的行動記録を完成しなさい。解答欄には2組の記録を記すこと。

<記録作成の留意点>

- ・ 1回の観察の中で、一つの行動要素が繰り返して複数回観られることもある。
- ・ オスとメスが離れてしまい、求愛行動をしていない時間帯は記号の間を実線(—)でつないで示すこと。
- ・ 交尾に至った時点は「交尾」と記し観察開始からの時間も記録しなさい。
- ・ 特定できたメス側の行動要素や行動の変化など、行動記録を作る上で追加すべき観察があれば、解答用紙の点線で仕切られた記述欄に書き入れること。自分で決めた記号などを使って情報を行動記録に補足してよい。

設問3 求愛行動は、各行動要素が特定の順序に並んで構成される。設問2のデータに基づいて、図1の行動的要素(ア)~(エ)を交尾行動に至るまでに起こる順序に並べなさい。また、その根拠を説明しなさい。ただし解答では、交尾までの一連の過程において各行動要素は1回だけ現れるとする。

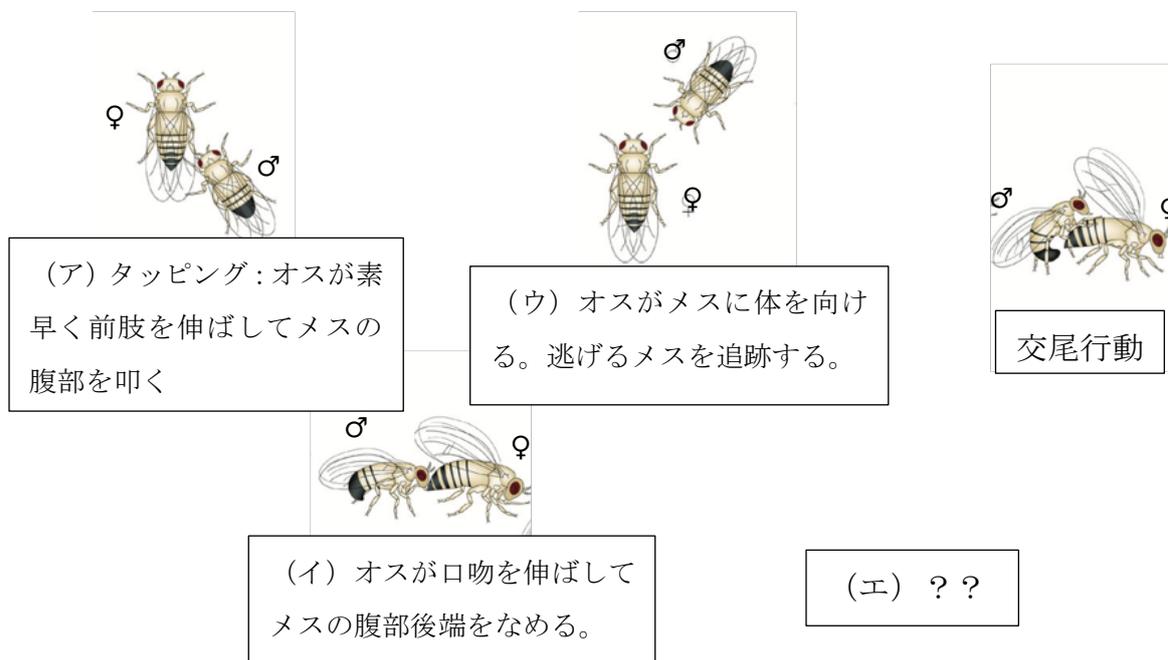


図1 ショウジョウバエの交尾行動に至るまでの求愛行動の要素

課題2 突然変異 *h* の表現型解析

バイアル④には *H* 遺伝子を欠損している突然変異 *h* のホモ接合体（以後は変異型と呼ぶ）のオスが入っている。この突然変異が求愛行動に及ぼす影響を検討したい。課題1で野生型を用いて行なった観察を参考にしながら、変異型オスが示す求愛行動をよく観察して、設問1～3に答えなさい。ただし、以下のことに留意して実験を考案しなさい。

＜変異型の求愛行動観察の留意点＞

- 変異体は、野生型よりも動きが鈍く、また求愛行動の各要素が野生型オスと比べてはっきり観察されるとは限らないことから、注意深く行動を観察する必要がある。
- 個体の表現型にはある程度の幅で個体差がある。したがって、表現型を確定するためには複数の個体を観察する必要がある。
- 野生型のオスと変異型のオスのペアを試す必要がある場合のみ、これら2種類のオスを識別するため、例外的に野生型のかわりに *yellow* (体色の突然変異体バイアル③) を使用すること。

設問1 バイアル①とバイアル④の中にある個体をバイアルの外から観察し、野生型と変異型の明らかな行動の違いを簡潔に記述しなさい。

設問2 変異型のオスの求愛行動を観察して、次の1) 2) について検証し突然変異 *h* の表現型を記述したい。

1) 同性と異性への反応に変化はないか。

2) 求愛行動の要素(ア)～(エ)は観察できるか。

a) バイアル①②③④のどの種類のハエをどのように組み合わせて比較・観察する必要があるか。解答欄に必要な組み合わせを全て答えよ。

b) 与えられた実験器具と実験試料を使い、野生型と変異型の求愛行動を定量的に比較するためのデータの取り方を1つ以上考案して具体的に記述しなさい。データ取得のアイデアごとに仕切り線を入れなさい。

設問3 設問2で考案したデータ取得のアイデアの中から、野生型と変異型の比較に最も適切と思われるものを1つ選んで観察を行い、結果を定量的データとともに分かりやすく示せ。その上で、突然変異 *h* の個体レベルの行動の表現型を簡潔に記述しなさい。

課題3 正常な H 遺伝子の機能

正常な H 遺伝子は、ある転写調節因子をコードしている。このショウジョウバエの転写調節因子がどのような働きを持つか、課題2の結果と関連づけて論理的に考察しなさい。なお突然変異 h による行動異常はオスだけで見られ、メスの行動は正常である。