

日本生物学オリンピック本選2023

静岡大会(静岡)

大問3



2023年8月19日(土)

制限時間 90分

## 諸注意

1. 机には問題冊子 1 部(10 ページ)と解答用紙 5 枚が配布されている。
2. 指示があるまでこのページの内容をよく読んでおくこと。試験開始の合図があるまで机の上の機材には触れないこと。
3. 解答開始の合図の後、すべての解答用紙に本選受験番号と氏名を記入すること。
4. 試験の途中で体調が悪くなった場合、トイレに行きたい場合、水分補給をしたい場合、その他やむを得ず途中退出を希望する場合は挙手をして試験監督に知らせること。
5. 試験中は白衣と手袋を着用すること。メスをはじめとした解剖用器具の取り扱いには十分注意すること。試料等が目、口、皮膚などに直接触れないように注意すること。実験終了後、白衣は席に置いて行くこと。
6. 問題冊子にメモを取っても構わない。試験終了後、問題冊子は持ち帰ること。
7. 実験机の上の実験器具は自由に使って構わない。実験中は位置も自由に動かして構わない。ただし解答終了後はなるべく元の位置に戻しておくこと。
8. 最初に問題冊子の全てのページに目を通した後、「実験器具・試薬についての確認」に書かれた確認事項、続く「解答を進める上での注意事項」に書かれた確認事項について順番に□に✓を入れながら確認し、全ての□に✓を確実に入れた上で実験操作並びに解答を始めること。その際にもし足りない器具や試薬がある場合、及び問題冊子に不備がある場合は手をあげて試験監督に知らせること。
9. 実験机の上は既に準備されているものの他に、ペンケース、筆記用具、時計、ハンカチ、ティッシュ以外のものはおかないこと。
10. 試料に対して重度のアレルギーを持っていることがわかっている場合、実験を始める前に試験監督に申し出ること。

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

「解答始め」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下さい

**【重要】このページに書かれた作業を完了してから、次のページに進むこと**

**実験器具・試薬についての確認（5分以内に完了させること）**

最初に、以下の実験器具や試薬が全て揃っているかを確認すること(確認できた項目の□に印を付けること)。揃っていない場合は、挙手にて試験監督に知らせること。なお、試験開始から5分後以降の申し出については対応できないので注意すること。確認し次第、次のページに進んでよい。

**試料**

- 固定したアフリカツメガエル胚が入った 1.5 mL 容チューブ 2 本(それぞれ N, A とラベルされている)
- 固定したアフリカツメガエル胚が入った 6 ウェルプレート 1 枚(B, C, N と書かれた 3 か所のウェルが分かる)
- 固定したフタホシオオロギの頭部が入った 1.5 mL 容チューブ 1 本

**試薬**

- 発色液(in 1.5 mL 容チューブ) 1.5 mL×1
- 水(in 100 mL 容広口瓶) 1 個

**実験器具（取り扱いには十分気を付けること）**

- バイアル 2 本
- 実体顕微鏡 1 台
- シャーレ 6 枚
- 解剖用メス 1 本
- ピンセット 2 本
- スポイト 2 本
- 廃液入れ 1 個
- ニトリル手袋(S, M, L) 各 1 組（各自合うものを選んで使用する）
- 鉛筆 2 本

**補助的な器具**

- ペーパータオル 1 組
- 油性マーカー 1 本
- ゴミ袋 1 個（テーブルに固定されている）

シャーレには、必要に応じて、試料名などを油性マーカーで記入してもよい。

### 解答を進める上での注意事項

- 最初に、本問題冊子全体を通して読み、全体の計画を練ってから作業に移ること
- 試験中、許可なく退室することはできない
- 試料、試薬、実験器具の追加の配布は行わない
- 実体顕微鏡は適切に使用しないと故障し、試料を観察できなくなる恐れがあるので注意すること
- 誤った使用法により故障、破損した場合は、実体顕微鏡などの実験器具を交換しない

## 実験 1 『免疫染色法による標的タンパク質の局在解析』

### はじめに

免疫染色法は対象となるタンパク質を特異的に認識する抗体(一次抗体)を用いて、そのタンパク質の局在を明らかにする方法である。配布した A と記された 1.5 ml 容チューブには、受精後 2 日程度経過したアフリカツメガエル胚が入っている(以下、「胚 A」とする)。この「胚 A」は、タンパク質 A を特異的に認識する一次抗体である抗体 A を用いて免疫染色を行っている途中である。N と記された 1.5ml 容チューブに入っている「胚 N」は、一次抗体を加えていない以外は胚 A と全く同じ手順を施している。

これら「胚 A」および「胚 N」について、以下の手順1に従って免疫染色の仕上げを行い、アフリカツメガエル胚におけるタンパク質 A の局在を明らかにしなさい。このとき、用いるスポイトは同じものを使いまわして構わない。また、各受験者に配られる試薬および器具の追加配布は行わないため、手順及び必要量をよく考えながら使用すること。

### 手順 1

- ① 2本のバイアルのシール部分に受験番号と「A」または「N」を記入する。次に、発色液のおよそ三分の一ずつを、スポイトを用いて両方のバイアルに加える。
- ② 胚 A の入った 1.5 mL 容チューブから胚を 1 つスポイトを用いて吸い上げ、①で受験番号と「A」を記入したバイアルに移す。胚は壊れやすいので十分に注意して取り扱うこと。胚 N についても同様に受験番号と「N」を記入したバイアルに胚を 1 つ移す。各胚がバイアル中で染色液に十分浸っていることを確認する。
- ③ 1 分間静置した後、染色具合を目視または実体顕微鏡下で確認する。「A」と「N」とを比較し、染色結果に明らかな違いが確認できた場合は、両者のバイアルから発色液をスポイトで取り除いて廃液入れに移したのち、広口瓶に入っている水を胚が十分浸るまで加える。もし「A」と「N」の染色具合に明らかな違いが生じていない場合、染色を継続し、30 秒間隔を目安に染色の進行を確かめる。追加の染色により胚 A と胚 N の染色に明らかな違いが観察されたら、両者のバイアルから発色液をスポイトで取り除き、上述の水を胚が十分浸るまで加える。  
\*5 分間経過しても両者に明確な差が観察されない場合は、挙手して試験監督の指示を仰ぐこと
- ④ 配布されたシャーレに水を十分に注いでから胚を移し、実体顕微鏡で詳しく観察する。適宜、油性ペンでシャーレにラベルしてよい。また、胚 A と胚 N はそれぞれ 2 個ずつ 1.5 mL 容チューブ内にあるので、適宜染色をやり直してもよい。もし、発色液が足りなくなった場合は挙手して試験監督に知らせること。

### 問 1 - 1

染色された胚を観察し、タンパク質 A の局在をスケッチにより図示しなさい。その際、胚の側方から見た視点で描くこと。局在を示すシグナルは斜線を用いても点で表現しても構わない。各組織、器官につい

て分かる範囲で明らかにするなど、適宜文章によってスケッチに対する説明を補足してよい。なお、スケッチは配布した鉛筆を用いて、解答用紙の枠内に可能な限り大きく描くこと。

#### 問 1 - 2

以下の手順 2 に従い、染色した胚 A と胚 N を輪切りにして横断面を比較し、外見上だけでなく内部のタンパク質 A の局在を明らかにしてスケッチしなさい。問 1 - 1 と同様に、胚の側方から見た視点で描くこと。局在を示すシグナルは斜線を用いても点で表現しても構わない。各組織、器官について分かる範囲で明らかにするなど、適宜文章によってスケッチに対する説明を補足してよい。なお、スケッチは配布した鉛筆を用いて、解答用紙の枠内に可能な限り大きく描くこと。また、スケッチに用いた胚は全てバイアルに戻すこと。

#### 手順 2

- ① ピンセットで胚を軽く抑える。胚は崩れやすいので優しく扱う事。
- ② 配布したメスで切断する。のこぎりの様に刃を往復させずに、一回で切るとよい。
- ③ 同様にもう一度切断して厚めのスライスを作成する。
- ④ 断面を上にして、実体顕微鏡で観察する。

#### 問 1 - 3

タンパク質 A が局在しているのはどのような組織あるいは構造と考えられるか？この組織あるいは構造を表す、もっとも適切な語句を記し、それについて 50 字程度で説明しなさい。

#### 問 1 - 4

免疫染色法の他に、個体の中のどの組織や器官に遺伝子産物が存在するかを明らかにする方法として *in situ* ハイブリダイゼーション法が挙げられる。これら 2 つの実験方法の違いについて、具体的に 100 字程度で説明しなさい。また、1 つの遺伝子産物について両方の実験を行う利点について 100 字程度で記述しなさい。

## 実験 2 『標的タンパク質が局在する器官の類推』

### はじめに

6 ウェルプレートに入っている「胚 B」および「胚 C」は、それぞれタンパク質 B および C の局在を免疫染色法によって明らかにした結果であり、胚 N は一次抗体を用いてない以外は胚 B および C と全く同じ手順で免疫染色を行った結果である。胚が浸る程度の水を加えた新しいシャーレにこれらの胚を移して実体顕微鏡下で観察し、以下の問いに答えなさい。必要に応じて胚を切断して実体顕微鏡下で観察しても構わない。

### 問 2 - 1

タンパク質 B および C はともに脊椎動物に存在する器官 X に局在している。その器官名を答えなさい。さらに、タンパク質 B と C がそれぞれ局在する、器官 X を形成する管状構造を答えなさい。

### 問 2 - 2

器官 X は今回観察したアフリカツメガエル胚とヒトなどの哺乳類の成体では構造的に異なっていることが知られている。その違いを 100 字程度で説明しなさい。



## 実験3 『昆虫の頭部付属肢の解剖』

### はじめに

節足動物は基本的に複数の節が連なったボディプランを持ち、それぞれの節は一对の突起構造(付属肢)を有することが多い。この節の数や形状、およびそれぞれの節がどのような形態の付属肢をもつか、節足動物の形態の多様性を生み出す基本原理の1つである。

昆虫の頭部は複数の節が融合した構造である。そのため、昆虫の頭部には複数の付属肢が存在する。昆虫の頭部の付属肢として最も名称が良く知られているものとして( A )が挙げられる。頭部の前方に一对存在する( A )は感覚を司る器官として知られ、一般的に機械刺激や化学刺激の受容器が多く存在する。( B )、小顎、( C )は多くの昆虫で摂食に関わる付属肢である。( B )は1つの節から成る付属肢で、主に餌をかみ砕くために用いられる。小顎は( B )より尾部側に存在する付属肢で、複数の節から成る。一般的に小顎は比較的良く硬化した基部(軸節 cardo と蝶咬節 stipes の2つの節から成る)に、髭 palp と呼ばれる複数の節が連なった構造と、外葉 galea と内葉 lacinia が付加された構造をとる。( C )は小顎よりもさらに尾部側に存在する付属肢である。一般的に( B )と小顎は左右にひとつずつ存在する対を成した構造であるが、( C )は左右の構造が融合している。

### 問3-1

上の文章中の( )内に入れる単語として、最も適切な付属肢の名称を次の単語の中から選んで書きなさい。

触角 大顎 顎脚 歩脚 内肢 外肢 上唇 下唇

次の問題では以下の手順に従って解剖を行う。

### 手順3

- ① チューブの中に入っているコオロギの頭部を取り出す
- ② 体節構造に注意して外部形態を観察する
- ③ 新しいシャーレを用意し、コオロギの頭部が浸るのに十分な量の水を加える。そこにコオロギの頭部を移したのちに、2本のピンセットを用いて頭部の解剖を行う(実験1で用いたメスは使用しないこと)

\*チューブの中には3匹分の頭部が入っている。解剖に失敗しても新しい頭部は追加されない。

### 問3-2

小顎について、最も基部の節から、最も先端の節までが全て連結した状態で単離し、解答用紙の解答欄に配布した鉛筆でスケッチしなさい。小顎は左右にひとつずつ存在する対になった器官であるが、背側から見て左側のものについてのみ描くこと。その際、背側から見た視点で描き、遠近軸に沿って、基

部側が下、遠位部側が上になるように描くこと。色の濃淡は描き加えなくても良い(描き加えても良い。描き加える場合は点描法を用いる)。また、毛は描かなくても良い。

これで問題は終了です