

第16回 国際生物学オリンピック

北京 2005年7月

[実験問題]

実験問題 パート I:

生化学と分子生物学

最重要事項：最初に課題 1 からとりかかり、課題 1 の電気泳動の間に課題 2 を
終えなさい。

課題 1：プラスミド DNA の制限酵素断片のアガロースゲルによる分離

器具：遠心分離機、アガロースゲル電気泳動装置、ゲル染色撮影システム

重要：

電気泳動用の電源を使用する際に手伝ってほしいときは、実験台の上の青いカードを
掲げなさい。

導入

プラスミドは環状の二重らせん分子であり、バクテリアの細胞内に存在し、独立に複製される。制限酵素はプラスミド DNA を断片化することができる。この実験ではプラスミドと三つの制限酵素 *Bam*HI, *Pst*I, *Hind*III が与えられている。プラスミド DNA を切るために三つの制限酵素を用い、アガロースゲルを用いて電気泳動する。そして、各制限酵素の切断部位の位置を決め、また切断断片の長さの常用対数と負の相関がある DNA 断片の移動距離をもとに切断断片の長さを計算する。

試薬

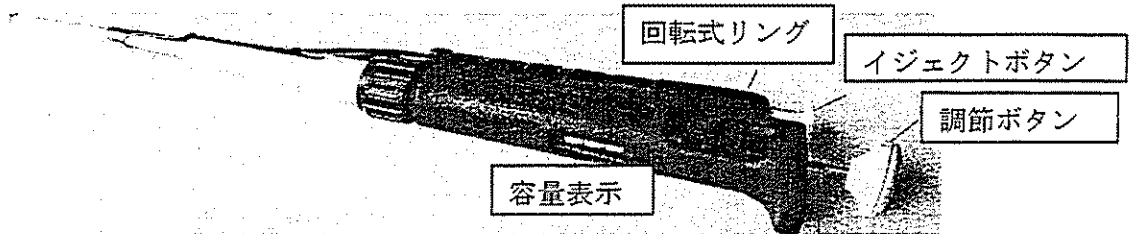
1. 1 X TAE 緩衝液 (1 X TAE バッファー) - トリス酢酸-EDTA
2. DNA 染色液—GeneFinder™ (アントシアンとスクロースを含む)
3. *Bam*HI
4. *Pst*I
5. *Hind*III
6. プラスミド DNA
7. DNA サイズマーカー
8. 蒸留水

装置

1. 実験用手袋
2. マーカーペン
3. 0.5ml 遠沈管 (マイクロチューブ)
4. 遠沈管のホルダー (マイクロチューブラック)
5. ピペット
6. 遠心分離機
7. 恒温器 (インキュベーター)
8. アガロース電気泳動

9. ゲル染色撮影システム

実験手順と実験器具の操作



1. 実験用のマイクロピペット (1~10 μ l) が用意されている。容量は回転式リングを回すことにより調整する。容量表示の数字は上から下に向けて読む。適切なチップを装着し、調節ボタンを最初のストップ位置まで押し下げた後、チップを液体の中に入れる。ゆっくりとボタンを元の位置に戻し、ボタンが完全に止まり、サンプルを吸いこんだことを確認する。そして、液体の入ったチップの先端を目的の場所に入れ、ボタンをゆっくりと最後まで押し出し、チップ内の液体が完全になくなったことを確認する。使用済みのチップはイジェクトボタンを押してゴミ箱に捨てる。

2. 遠心分離

遠心分離機のストップレバーを押し、ふたを開ける。ローターにマイクロチューブをセットする。バランスがとれていることを確認する。ふたをロックされるまでしっかりと閉める。ローターはふたがしっかりと閉められていると、回転し始める。20秒間遠心する。ストップレバーを押し、ふたを開け、ローターの回転が止まった後に、チューブを取り出す。

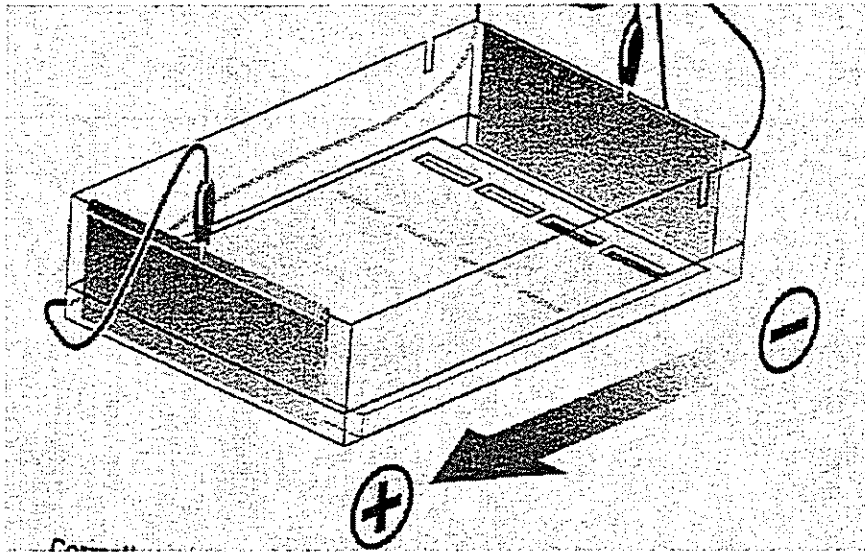
3. 制限酵素による切断

II 型の制限酵素は特定の DNA 配列を認識し、その認識部位で DNA を切断する。与えられた DNA は三種類の異なる制限酵素 (*Bam*HI, *Pst*I, *Hind*III) で切断される。

マイクロチューブのプラスミドに適切な量の制限酵素を加え、チューブのふたをしめる。チューブの底を静かにタッピングし、37°C で 15 分間インキュベーションする。

4. アガロースゲル電気泳動装置

ウェル（試料を入れる穴）のある 0.8% のアガロースゲルが用意されている。電気泳動槽に 1 XTAE バッファーをゲルが浸されるように満たす。1 XTAE バッファーの液面はゲルの表面 3~4 mm 上になるようにする。制限酵素で切断された 10 μ l のプラスミド DNA と染色液 (dye) をウェル(well)に入れる。その際ピペットのチップの先はウェルの底から 1~2mm 上になるようにし、ウェルの底に穴を開けずにすべてのサンプルを入れるようにする。サンプルを入れた後、電気泳動槽のふたを閉める。赤いコードをプラス極に、黒いコードをマイナス極につなぐように注意する。電源を ON にするために青いカードを掲げて、実験助手を呼ぶ。電気泳動は 100V で 40 分間行う。その後、青いカードを掲げて、電源をオフにするために実験助手を呼ぶ。電気泳動槽はすべての選手に割り当てられているが、電源は二人の選手で共用することになる。



5. ゲル染色撮影システム

このシステムは実験助手によって操作される。あなたのサンプルには DNA を視覚化するために DNA 断片と結合する無害な色素が含まれている。

実験手順

1. 8本のマイクロチューブにマーカーペンで1から8までの番号をつける。下記のように各チューブに液体を加える。

表1 制限酵素によるプラスミド DNA の切断

No.	Plasmid DNA (μ l)	<i>Bam</i> HI (μ l)	<i>Pst</i> I (μ l)	<i>Hind</i> III (μ l)	ddH ₂ O (μ l)
1	5	1			9
2	5		1		9
3	5			1	9
4	5	1	1		8
5	5	1		1	8
6	5	1	1	1	7
7	5				10

- チューブの中身をよく混合し、1 から 6 のチューブを 37°C で 15 分間インキュベーションする。7 のチューブはチューブホルダー（チューブラック）の中に残しておく。チューブの内側に水滴がある場合には、それらをチューブの底に落とすために遠心分離機を使ったほうがよい。遠心分離機は実験台の上に用意されている。
- アガロースゲル（あらかじめ各自に用意されたもの）を電気泳動槽の中に入れ、1 XTAE バッファーをそそぐ。1 XTAE バッファーの液面はゲルの表面 3~4 mm 上になるようにする。ゲルはサンプルを入れるために 10 個のウェルがある。
- 8 のチューブに 6 μ l の DNA サイズマーカーを加える。
- 3 μ l の 5 X dye（染色液）をすべてのチューブに加え、よく混ぜる。
- 5 μ l の DNA サイズマーカー（8 番のチューブ）を一番目のウェルに入れる。すべてのプラスミドサンプルを 2 番目のウェルから 8 番目のウェルまで表 1 の順番に従って入れる。サンプルの番号とゲルのウェルの番号は対応していないことに注意する。それぞれのサンプルについて新しいチップを使うこと。電気泳動層のふたをしめる。パワーサプライの電源を入れるときには青いカードを掲げて実験助手を呼ぶ。電気泳動は 100V で 40 分間行う。（電気泳動の間の待ち時間に課題 2 を終える。）

7. 40 分たったら、電源をオフにするために青いカードを掲げて実験助手を呼ぶ。その後、実験用手袋をして、ゲルを電気泳動層からホルダーごと取り出す。
8. ゲルはあなたの選手番号を示した箱の中に入れる。その後、実験助手がゲルの写真のプリントをコピーしてくれる。

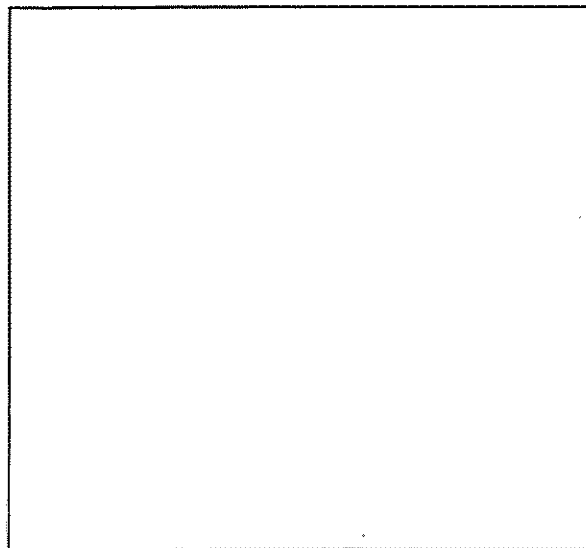
プラスミド DNA の制限酵素切断断片のアガロースゲルによる分離

電気泳動 (計 24 点 : 各レーンにつき 3 ポイント)

この課題はこの試験を担当する大学教授によって採点されます。

採点基準 (DNA がいない場合 : 0 点, バンドが出ているがスメアになっている場合 : -1 点, 不完全な切断の場合 : -1 点, バンドが薄い場合 : -1 点)

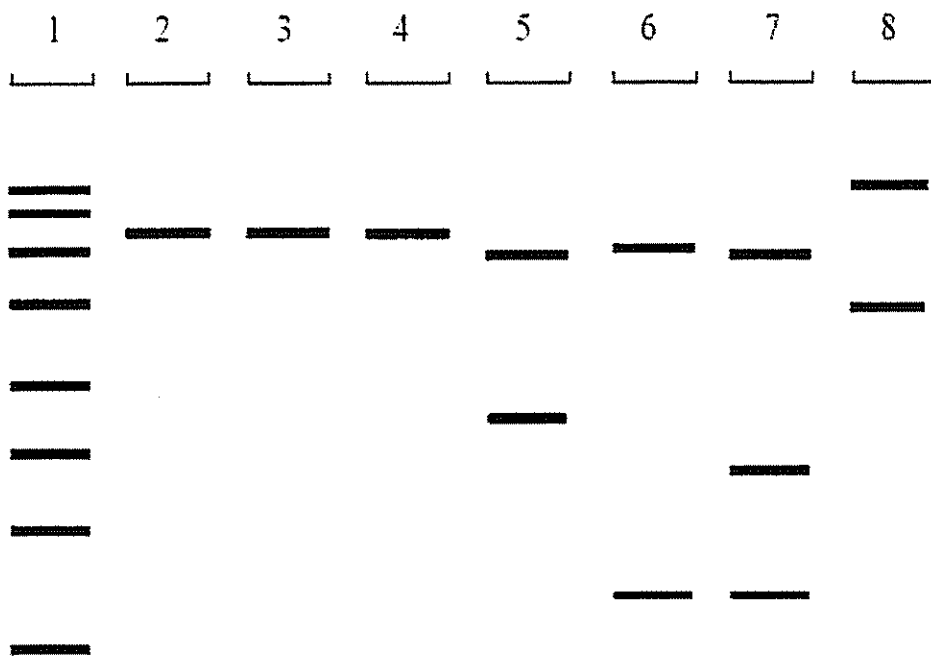
ゲルの写真は下の枠に貼り付ける。



課題 2: 制限酵素切断部位と制限酵素切断断片のサイズの決定 (16 点)

時間制限のため、サイズ分析用に自分自身のゲルを使うことはできない。したがって以下のような作業を行う。

下の図は DNA 断片のアガロースゲル電気泳動のパターンである。この図では課題 1 で用いたのと同じプラスミドが、課題 1 と同じ三つの制限酵素で切断されている。切断の手順とそれぞれのサンプルをゲルに入れる位置は課題 1 の指示とまったく同じである (8 ページの表 1 参照)。下のゲルの電気泳動のバンドパターンをもとに下の問題に答えよ。

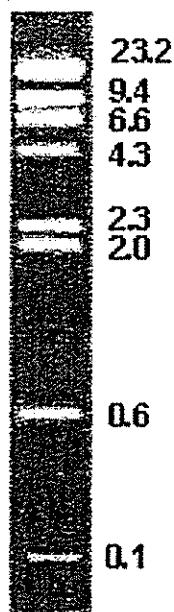


問題 1. このプラスミドには *Bam*HI, *Pst*I, *Hind*III で切断される部位はいくつあるか? (3点)

- A. *Pst*I:1, *Bam*HI:0, *Hind*III:2
- B. *Pst*I:2, *Bam*HI:0, *Hind*III:2
- C. *Pst*I:2, *Bam*HI:1, *Hind*III:0
- D. *Pst*I:1, *Bam*HI:1, *Hind*III:1

問題 2 直鎖状λ DNA (ラムダ DNA) はしばしば、制限酵素で切断され、電気泳動における分子量マーカーとして使われる。下の写真は *Hind*III で切断した電気泳動のパターンである。ゲルの右側に書かれた数字は切断片のサイズを kb (キロベース) で示したものである。

λ-DNA *Hind*III



下の三つの文章のうち正しいものはどれか? 選択肢 A から D より選べ。(3点)

- (1) λ DNA には *Hind*III で切断される部位は 8 箇所ある。
- (2) λ DNA は *Hind*III で切断されるので、λ DNA は二重鎖のはずである。
- (3) 上の図の電気泳動パターンはおそらく DNA 断片に結合する蛍光物質によるものである。

A, 1

B, 1,2,3

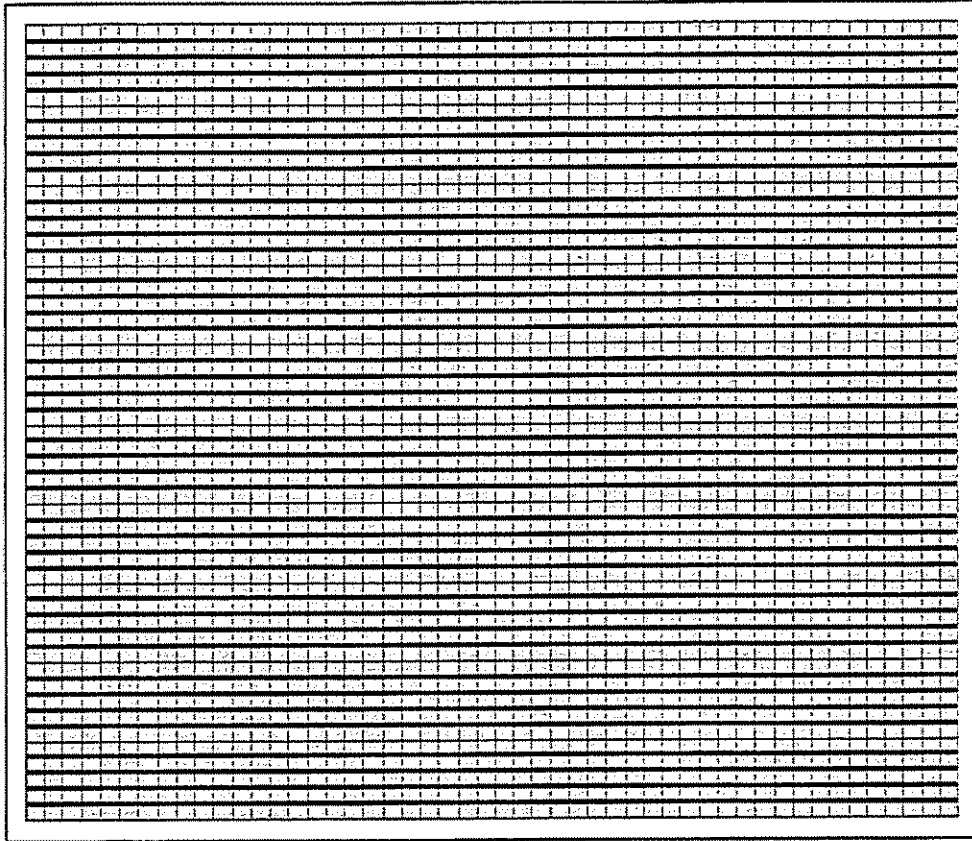
C, 2,3

D, 3

問題3-問題5 10ページの電気泳動パターンではレーン1に8本のDNAバンドが含まれているが、各バンドのサイズは下記のようにになっている。

200bp, 500 bp, 800 bp, 1200 bp, 2000 bp, 3000 bp, 4500 bp, 7000 bp,

DNA断片の移動距離はDNA断片のサイズの常用対数と負の相関を持つことが知られている。各DNA断片(kb)の常用対数とその移動距離(cm)を次のページのグラフ用紙にプロットし、下の問題に答えよ。



問題 3 *Pst*I と *Hind*III でこのプラスミドを切断した場合の小さい方の DNA 断片のサイズは何 kb か？

(3 点)

- A. 2.5
- B. 0.8
- C. 1.1
- D. 0.6

問題 4. *Hind*III と *Bam*HI でこのプラスミドを切断した場合の小さい方の DNA 断片のサイズは何 kb か？

(3 点)

- A. 0.8
- B. 0.4
- C. 0.5
- D. 0.6

問題 5. このプラスミドのサイズは何 kb か？ (4 点)

A. 5.2

B. 6.9

C. 4.8

D. 4.3

実験問題 パートⅡ

細胞生物学

このパートは3つの課題を含む：

課題1 顕微鏡と細胞の構造 (13.5点)

課題2 切片の観察像から植物のタイプを同定する (15点)。

課題3 染色体数の分析 (8点)

合計 36.5点

時間 90分

課題1：顕微鏡と細胞の構造 (13.5点)

・要求される事

この課題では、異なる顕微鏡を用いて得られた細胞の写真が配られる。

あなたが要求される事は以下の通りである。

- (1) それらの細胞の写真を見分けて、その画像を得た顕微鏡による観察法をえらぶ。
- (2) 特定の目的にあった顕微鏡による観察法をえらぶ。
- (3) 与えられた細胞の写真の中にある細胞小器官を見分けて、質問に答える。

・方法

2つの図表(Image Sheets)、*Image Sheet 1*と*Image Sheet 2* が配られる。

*Image sheet 1*には細胞や細胞小器官の7つの写真(image)、1-7がある。
それらの写真は以下のような異なる顕微鏡技術によって得られた。

- A. 光学顕微鏡を用いた観察
- B. 蛍光顕微鏡を用いた観察
- C. 走査型電子顕微鏡を用いた観察
- D. 透過型電子顕微鏡を用いた観察
- E. 免疫(抗体)電子顕微鏡を用いた観察
- F. ネガティブ染色による電子顕微鏡を用いた観察
- G. フリーズフラクチャー法(凍結切断法)による電子顕微鏡を用いた観察

次の記述に従って問題に答えよ。

記述：

1. Image 1はおそらく_____で得られたものである。(0.9点)
2. Image 2はおそらく_____で得られたものである。(0.9点)
3. Image 3はおそらく_____で得られたものである。(0.9点)

4. Image 4 はおそらく _____ で得られたものである。(0.9点)
5. Image 5 はおそらく _____ で得られたものである。(0.9点)
6. Image 6 はおそらく _____ で得られたものである。(0.9点)
7. Image 7 はおそらく _____ で得られたものである。(0.9点)

異なる顕微鏡技術に関する以下の問題に答えよ

8. _____ は、細胞や組織の中にある、特異的な分子の場所を見つけるのに適している。(0.9点)
9. _____ は、細胞や組織の表面を詳細に観察するのに適している。(0.9点)
10. _____ は、細胞膜の内部の構造を観察するのに適している。(0.9点)
11. _____ は、細胞の微細な構造を観察するのに適している。(0.9点)
12. _____ は、細胞の中の分子を非常に微細に標識して観察するのに適している(0.9点)。

Image Sheet 2 は細胞の微細な構造を示したものである。ローマ数字(I-IV)は異なる細胞小器官や細胞構造を示したものである。

細胞小器官および細胞構造を以下のA-Gに示した。

- A. リソソーム
- B. ゴルジ体
- C. ミトコンドリア
- D. 微小管
- E. 小胞体
- F. 色素体
- G. ●この選択肢は削除された

13. ローマ数字のⅠで示された構造は_____である。(0.9点)
14. ローマ数字のⅡで示された構造は_____である。(0.9点)
15. ローマ数字のⅢで示された構造は_____である。(0.9点)
16. ●この問題は削除された。解答しなくてよい。
17. ●この問題は削除された。解答しなくてよい。
- A. ●この選択肢は削除された
- B. ●この選択肢は削除された
- C. ●この選択肢は削除された
- D. ●この選択肢は削除された
- E. ●この選択肢は削除された

課題2：薄く切った葉の切片から植物のタイプを同定する。(15点)

材料、道具、器具

- (1) 5つ (No.1 - No.5) のシャーレ (ペトリ皿とも言う) にいくつかの葉の試料が入ったもの。
- (2) 顕微鏡 (対物レンズは 10×, 20×, 40×)
- (3) ピンセット、カミソリの刃、試験管立て、スライドガラス、カバーガラス、ろ紙

理論的な背景

光合成の代謝には大きく分けて3つのタイプがあり、C3 代謝、C4 代謝、CAM 代謝と呼ばれている。あなたは試料の中で、どの植物が C3 代謝をする植物 (C3 植物) で、どの植物が C4 植物かを決定する必要がある。C3 代謝と C4 代謝の違いは、CO₂ の固定と糖の合成が異なる細胞で行われるかどうかである。C3 植物と C4 植物の葉の細胞の構造の違いから、2つの代謝の違いを推定することができる。

実験

机の上に 5 つのシャーレがあり、各々のシャーレには葉の一部が入っている。あなたはそれが C3 植物のものか C4 植物のものを答える必要がある。

方法

下の方法に従って実験を進めよ

- (1) 各シャーレからサンプルを取り、薄い切片を作製せよ。
- (2) 数滴の水を使って、カミソリの刃からスライドガラスへ切片を移せ。
- (3) 余分な水をろ紙を使って取り除くが、切片の周りには多少の水が必要である。
- (4) カバーガラスを切片の上へのせ、さらに過剰な水分をろ紙を使って取り除き、顕微鏡を使って観察せよ。

以下の問いに答えよ

18. シャーレ 1 の葉は以下のどれか (3 点)

A. C3 型

B. C4 型

19. シャーレ 2 の葉は以下のどれか (3 点)

A. C3 型

B. C4 型

20. シャーレ 3 の葉は以下のどれか (3 点)

A. C3 型

B. C4 型

21. シャーレ 4 の葉は以下のどれか (3 点)

A. C3 型

B. C4 型

22. シャーレ 5 の葉は以下のどれか (3 点)

A. C3 型

B. C4 型

課題3 染色体数の分析 (8点)

要求される事

この実験では、あなたは染色体数を分析する必要がある。材料は植物の根の先端部である。あなたは顕微鏡を用いて根の分裂組織を観察し、体細胞分裂をしている細胞を見つける必要がある。

材料、器具、道具

- (1) 根の先端部 (5-10 mm の長さ) が 1.5 ml の遠心管に入ったもの。
- (2) 顕微鏡 (対物レンズは 10×, 20×, 40×)
- (3) 染色液として Carbol Fuchsin (石炭酸フクシン) 溶液 (1.5ml のマイクロチューブ(遠沈管)に入っている。マイクロチューブには CF と書いてある)
- (4) ピンセット、カミソリの刃、試験管立て、スライドガラス、カバーガラス、ろ紙
- (5) 1.5 ml 遠心管に約 1 ml の 1N (規定) HCl (塩酸) が入ったもの。

重要な注意

あなたは根の先端を 1N HCl (塩酸) で処理する。塩酸溶液は目や皮膚にかかると危険である。塩酸を扱うときは手袋をし、保護ゴーグルをつけること。もしも塩酸が皮膚についたり目に入ったりしたときは、直ちに近くにいるスタッフに申し出ること。

方法

3つの根の先端があなたに配られる。つぎの方法に従えば、植物の体細胞分裂時の染色体を観察する事ができる。

- (1) ピンセットを使い、1-2 個の根を 1N HCl の入った小さなビンへ入れる
- (2) ビンを、60°C にセットしてあるウオーターバス（恒温水槽）に 8 分間入れる。
実験室には 60°C にセットしてある数台のウオーターバスがある。
- (3) ピンセットを用い、根を塩酸溶液から注意深く取り出し、蒸留水が入ったビーカーの中に入れ、おだやかに 1 分間ゆらす。
- (4) 根を蒸留水から取り出す。重要な注意：塩酸処理した根はとてももろく、くずれやすい。ピンセットで取り出す時、根の先端部分にできるだけさわらない事。
- (5) 1 つの根をスライドガラスにのせる。根の先端の分裂組織を含む部分を切り取って観察するが、この部分は根の先端から 1 mm 以内の位置にある。それ以外の不要な組織は捨てる。
- (6) 石炭酸フクシン（CF と書いてある）を 1 滴、切り取った組織に滴下し、7 分間そのまま染色する。ピンセットを用いておだやかに組織を押しつぶし、組織を分散させる。
- (7) 分散させた組織にカバーガラスをのせ、鉛筆やピンセットを使って押しつぶし、さらに十分に組織を分散させる。
- (8) スライドガラスを 2 枚のろ紙の間にはさみ、水平な所に置く。穏やかに上のろ紙を押して、さらに完全に組織を広げる。そうする事により、余分な染色液もろ紙に吸収され除かれる。
- (9) あなたが作ったサンプルを顕微鏡で観察する。注意：用意されたすべての対物レンズを使用する必要はないかもしれない。

注意：あなたは 3 つの根端が与えられる。一つの根端で良いサンプルが作れなかった時は、良いサンプルが作れるまで、次の根端を使って実験を繰り返すことができる。しかし、実験に使える時間は延長されない。

以下の問いに答えよ

23. この植物の分裂中期にある細胞中の染色体の数は何対か。(6点)

- A. 3
- B. 4
- C. 5
- D. 6
- E. 7
- F. 8
- G. 9

24. もしもあなたが、異なる分裂細胞で、染色体数が違って観察された場合、どのようにして正確な染色体の数を決定できるか。(2点)

- A. 多くの分裂細胞を観察して染色体を数え、その平均をとる。
- B. 多くの分裂細胞を観察して染色体を数え、その最大数が植物の染色体数である
- C. 多くの分裂細胞を観察して染色体を数え、最も高い頻度で観察された数が植物の染色体数である。

25. ●この問題は削除された。解答しなくてよい。
- A. ●この選択肢は削除された。
 - B. ●この選択肢は削除された。
 - C. ●この選択肢は削除された。
 - D. ●この選択肢は削除された。
 - E. ●この選択肢は削除された。

実験問題パート III

生態学と動物解剖学

パート III は三つの課題からなる。

課題 1、生物の分布の評価と個体群サイズの推定 (16 点)

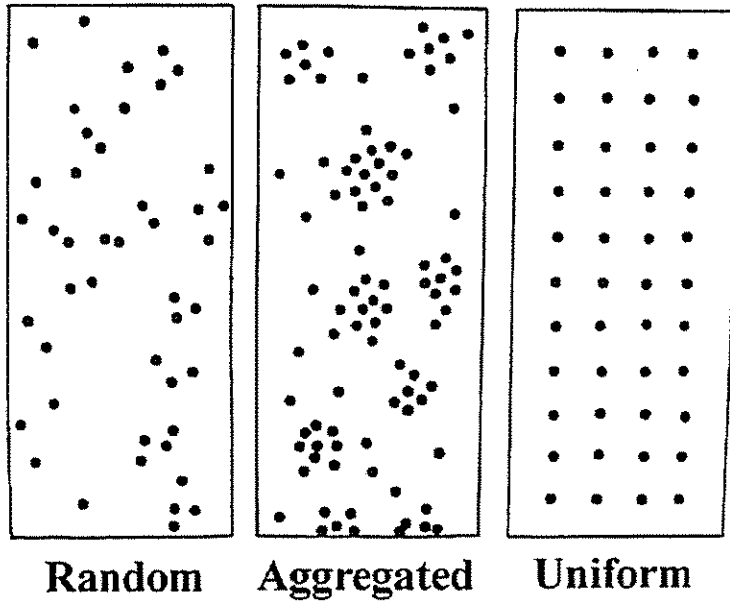
課題 2、昆虫の分類 (9.8 点)

課題 3、エビの解剖 (14.2 点)

課題 1：生物の分布の評価と個体群サイズの推定

Tenebrio molitor は甲虫目に属する昆虫で、納屋のような穀物を貯蔵するような場所に生育している。*Tenebrio molitor* の一生の大部分は幼虫段階で占められ、成熟（親）段階はとても短い。この実験では *Tenebrio molitor* の二つの生態学的側面：個体群の分布と個体群サイズについて検討せよ。

ある個体群の分布は、個体の空間における関係性を示している。また対象とする種の個体群について信頼できるサンプリング手法を考案することも意義がある。一般的に、個体群の空間分布には 3 つのパターンがある：ランダム (Random) 分布、均一 (Uniform) 分布、集中 (Aggregated) 分布 (以下の図を参照)。



もしあなたが、上の図で示されたような空間を碁盤の目のように同じ大きさの小区画で区切り、各小区画における個体数を数えた場合、図で示されたような空間分布を区別することができる。個体の空間分布が均一ならば、小区画間の個体数の分散 (S^2) はゼロになる。空間分布がランダムならば、小区画における個体数は、典型的なポアソン分布にしたがう。また、集中分布の場合には、小区画における個体数はポアソン分布にはしたがわない。つまり、小区画間の個体数の分散 (S^2)、および小区画の平均個体数 (m) により三つの空間パターンを区別することができる。

もし $S^2/m=0$ ならば、均一分布；

もし $S^2/m=1$ ならば、ランダム分布；

もし $S^2/m > 1$ ならば、集中分布；

なお、 $m = (X_1 + X_2 + \dots + X_n) / n$ 、

$$S^2 = [(X_1 - m)^2 + (X_2 - m)^2 + \dots + (X_n - m)^2] / (n - 1)、$$

ここで、 X_1, X_2, \dots, X_n は各小区画1, 2, ..., nにおけるそれぞれの個体数を表している
(nはあなたが分割した小区画の数)。

材料：

トレイ上における *Tenebrio molitor* の写真が与えられる。そのトレイは7 x 7の小区画に
分割されている。

課題：*Tenebrio molitor*の空間分布のパターンを推定せよ。

手順

小区画 A1、A4、B7、C5、D2、D7、E3、F1、F6、G3 (合計 10 個)、それぞれにおける
個体数を数え、上述の与えられた式にしたがって空間分布を推定せよ。

以下の設問に答えよ：

問題1. S^2/m の値は以下の選択肢のどれか

A. 0. 1

B. 0

C. 1

D. 3. 4

問題 2. 空間分布は以下の選択肢のどれか

- A. 均一分布
- B. ランダム分布
- C. 集中分布

問題 3. 以下の操作を行なった場合、問題 2 と異なる結果が得られる可能性のあるものはどれか（複数を選択してもよい）。

- A. 同じ 10 個の小区画を選び、各小区画における個体数を逆の順番で数えていった場合。
- B. 空間の四隅の小区画 (A1、B7、G1、G7) を選び、 S^2 と m を計算し空間分布を推定しなおした場合。
- D. 空間中央の 5 区画 (D3、D4、D5、C4、E4) を選び、 S^2 と m を計算し空間分布を推定しなおした場合。
- E. 10 個の小区画をランダムに選ぶ作業を最初からやりなおし、そのデータに基づき S^2 と m を計算し空間分布を推定しなおした場合。

問題 4. 以下は、個体群における個体間の関係性についての記述である。どれが正しい記述か選択せよ。

- A. ある個体群における個体がお互いに排他的であれば、均一分布になる。
- B. ある個体群における個体がお互いに排他的であれば、ランダム分布になる。
- C. ある個体群における個体がお互いに親和的であれば、均一分布になる。
- D. 各個体の位置が他個体の位置と独立に決まれば、集中分布になる。

E. 各個体の位置が他個体の位置と独立に決まれば、均一分布になる。

以下は個体群サイズの推定に関する記述である。

個体群サイズの推定は、個体群生態学において最も基本的で重要な要素である。個体群サイズを推定する典型的な手法は標識再捕獲法である。トラップ（ワナや捕獲用網等）で捕獲された動物はタグや首輪などで標識され、速やかに放逐される。ある期間を経過した後、再びトラップが設置され、同じ個体群から個体が捕獲される。二回目に捕獲された個体における標識された個体の割合は、個体群全ての個体を捕獲・標識した場合の割合と同じと仮定される。個体群サイズ（ N ）は以下の式で推定できる：

$$N=M \times R/P.$$

なお、 M は一回目の捕獲で標識された個体数、 R は二回目に捕獲された総個体数、 P は二回目に捕獲された個体の中で、すでに標識されていた個体数である。

Tenebrio molitor のある個体群において、100個体について尾部の付け根を赤い点で標識し放逐した。二回目の捕獲が行なわれ、その結果の写真が示される。

問題5. *Tenebrio molitor*の個体群サイズは以下のどれか選択せよ。

- A. 550
- B. 600
- C. 610
- D. 627

問題6. 標識再捕獲法では、 M/N と P/R が等しくなることが仮定される。個体群サイズを正確に推定するために留意する点、あるいは正確に推定するための条件を以下から選択せよ（複数を選択してもよい）。

- A. 標識の方法は、動物の潜在的な行動様式を変化させてはならない。
- B. 個体群への個体の移入は規則的に生じること。
- C. 実験期間中に個体の出生と死亡があってはならない。
- D. 個体群における個体は均一分布であるべき。
- E. 個体につけた標識の耐久期間は、実験期間より短くなってはいけない。

問題7. この実験の後で、新たな情報が得られた。もし一回目の捕獲と2回目の捕獲の間に、40個体が死亡し、新たに30個体加わったならば、個体群サイズの推定値はどのようなになるか、以下の中から正しいものを選択せよ。

- A. 問題5で得られた推定値と等しい。
- B. 問題5で得られた推定値と等しいか、より小さい。
- C. 問題5で得られた推定値と等しいか、より大きい。

課題2 昆虫の分類 (9.8点)

注意

机上の皿に7種の甲虫が入れてある。次ページの検索表にしたがってそれぞれに名前をつけよ。実体顕微鏡、ピンセット、有柄針を使う。標本を痛めると、合計点から減点になるので注意すること。

- A. *Opatrum subaratum* Faldermann
- B. *Blaps femoralis femoralis* Fischer-Waldheim
- C. *Coccinella septempunctata* Linnaeus
- D. *Potosia brevitarsis* (Lewis)
- E. *Popillia quadriguttata* (Fairmaire)
- F. *Polyzonus fasciatus* (Fairmaire)
- G. *Chrysochus chinensis* Baly

問題 8. 分類結果にしたがって, 下記の表を埋め, 解答用紙に印を付けよ.

(1.4 x 7 = 9.8 点)

甲虫	解答 A・G
①	
②	
③	
④	
⑤	
⑥	
⑦	

38 ページ： 7種の甲虫の検索表

1. ふ節の部分は、前足、中足、後足がそれぞれ5-5-4節からなる・・・ →2へ
ふ節の節数が5-5-5あるいは4-4-4である・・・ →3へ
2. 体サイズは小型で扁平、上唇の前方に三角のくぼみがあり、翅（はね）の末端は鞘翅に隠れて見えない・・・ A *Opatrum subaratum* Faldermann
体サイズは大型で凸型、上唇の前方はまっすぐ、翅（はね）の末端は（オスで）鞘翅から出て見える・・・ B *Blaps femoralis femoralis* Fischer-Waldheim
3. ふ節が4-4-4節をもち、体型は半円、鞘翅に7つの丸い黒点がある。
C *Coccinella septempunctata* Linnaeum
ふ節が5-5-5節をもち、体型は半円状ではない・・・ →4へ
4. 触覚の第3節から第8節が枝分れしている・・・ →5へ
触覚の節は糸（ひも）状である・・・ →6へ
5. それぞれの鞘翅の基部にくぼみがあり、前胸背板と鞘翅に多くの白い綿毛状の点がある。
これらはしま状、波状、雲状の形をしている・・・ D *Potosia brevitarsis* (Lewis)
鞘翅の基部にくぼみがなく、前胸背板と鞘翅に白いうぶ毛状の点はない。
・・・ E *Popillia quadriguttata* (Fairmaire)
6. 体型は細長く円筒形、複眼は腎臓形、触覚は前部突起につき、それぞれの鞘翅には2

本の黄色の横紋がある.

..... F *Polyzonus fasciatus*

(Fairmaire)

体型はずんぐりして楕円形, 丸い複眼, 体色は深い緑, 青, 紫など, 鞘翅に横紋はない.

..... G *Chrysochus chinensis* Baly

課題3 エビ類の解剖 (14.2点)

はじめに

エビは節足動物門，甲殻類に属し，種類の異なる節からなっている．今回の試験に用いるのは21体節の外骨格構造で，付属肢（足）は接合（合体）している．

材料と実験器具

1. エビ， 1個体（1個体しか与えられない）
2. 実体顕微鏡
3. ハサミ，有柄針，ピンセット，昆虫針，解剖ナイフ
4. ワックス皿

実験

実験は2部からなる：エビの外部形態（解剖）および神経系の解剖学

(1) 外部形態（解剖）

エビを注意深く観察し，次の問題に答えよ．

問題9. エビの頭部，胸部，腹部にはそれぞれ何対の付属肢があるか．（2点）

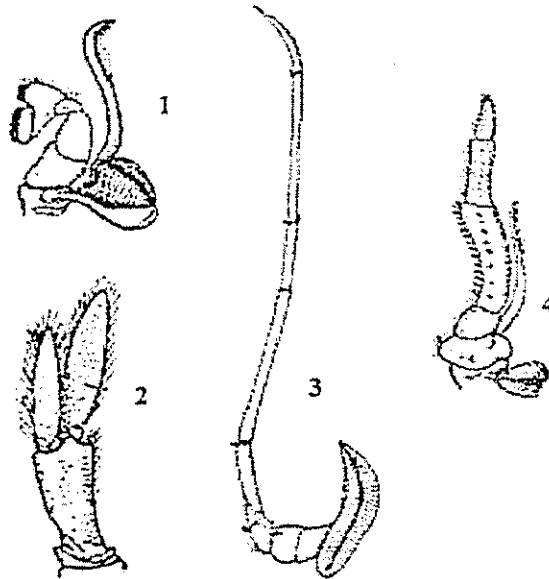
- A. 2, 4, 10
- B. 5, 8, 6
- C. 4, 5, 8
- D. 3, 6, 7

問題 10. エビの口器を見て，口器を作っている付属肢を分離せよ。

口器を形成している付属肢はいくつか。

- A. 1
- B. 2
- C. 3
- D. 4
- E. 5

問題 11-12. 色々な付属肢について模式的に示された下図をよく観察せよ。



問題 11. 与えられたエビにはここに示されている付属肢の全てが備わっているか？

(2点)

- A. はい
- B. いいえ

問題 1 2. 図に示された付属肢 1 - 4 がもつ主な機能について, 正しい順にあげてあるのはどれか.

- A. 1 : 歩行, 2 : 遊泳, 3 : 感覚と把握, 4 : 感覚と把握
- B. 1 : 泳ぐ, 2 : 感覚と把握, 3 : 遊泳, 4 : 感覚と把握
- C. 1 : 感覚と把握, 2 : 遊泳, 3 : 歩行, 4 : 感覚と把握
- D. 1 : 感覚と把握, 2 : 感覚と把握, 3 : 遊泳, 4 : 歩行

エビの神経系の解剖学

エビを解剖し, 神経索の位置を確認せよ. 次の問題に答えよ.

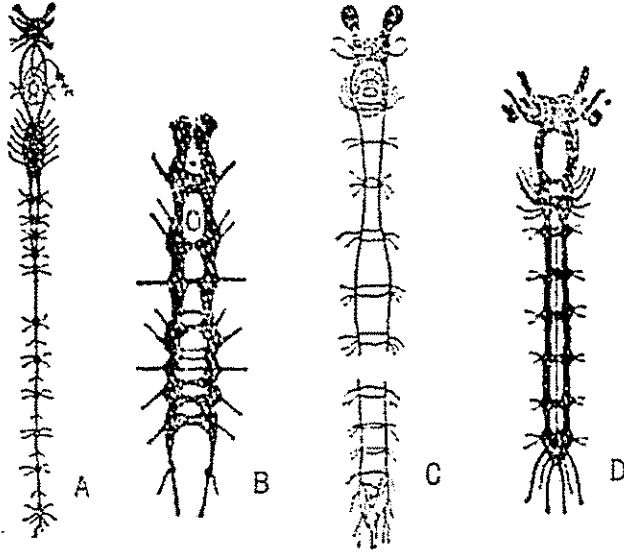
問題 1 3. エビの神経索は次のどこにあるか. (2点)

- A. 体前半の背側
- B. 体後半の腹側
- C. エビ全体の腹側
- D. エビ全体の背側

(問題14の文章を次ページに送った)

問題 1 4. 神経系を模式図に示すとき, 4つのタイプがある. 自分で観察したエビの神経

系はどの神経系と同一か. (4.2点)



A. 神経系A

B. 神経系B

C. 神経系C

D. 神経系D

実験問題パート IV

植物学

課題 1 : 植物解剖学と生理学

材料と実験機器

1 セットの実験機器 (実体顕微鏡・ピンセット・スライドガラス・カバーガラス・ろ紙) と材料 (ペトリ皿上の水生植物) が与えられます。

以下の課題を完了せよ。

- (1) 実体顕微鏡で植物を観察し、1 から 3 までの設問に答えよ。
- (2) 1 個体の植物を取り出しスライドガラス上に設置した後、根を適量切断し、それらを別のスライドガラスに設置し、カバーガラスで被覆せよ。カバーガラスを少し押し、実体顕微鏡で観察して、4 と 5 の設問に答えよ。
- (3) 1 個体の植物を取り出しスライドガラス上に設置した後、葉を一枚切りとり、それを別のスライドガラスに設置し、カバーガラスで被覆せよ。カバーガラスを少し押し、実体顕微鏡で観察して、6 から 8 の設問に答えよ。

問題 1 - 3 は植物の外部形態に関する設問である。

1. この植物の茎は以下のような形態を示す。

- A. 垂直状
- B. 水平状
- C. 短茎状
- D. 無茎

2. この植物の根の外部形態に関して正しい記述を以下から選択せよ。

- A. クロロフィルを含んでいる。
- B. 不定根である。
- C. 根茎（仮根）である。
- D. 紡錘状の根である。

3. この植物の葉に関して、正しい記述の組み合わせを A から E の中から選択せよ。

- (1) この植物の葉は、葉柄を持たない。
- (2) この植物の葉は、二回羽状である。
- (3) 何枚かの葉は、クロロフィルを持っていない。
- (4) この植物の葉は、針葉型である。

- A. 1、2、3、4
- B. 1、2
- C. 1、3
- D. 2、4
- E. 1、2、3

問題4. 観察結果に基づき、以下から正しい記述を選択せよ。

- A. この植物は維管束植物である。
- B. この植物は道管を持つ。
- C. この植物は、根の形態からみてコケ植物である。
- D. 以上のいずれも正しくない。

問題5. ある研究者が、この植物を何世代にも渡り生育させたところ、全く種子を生産し

ないことがわかった。あなたの観察に基づいた上で、正しい記述の組み合わせを選択せよ。

- (1) その研究者は、生産された種子を見落とした。
- (2) この植物は、種子生産をしない植物である。
- (3) この植物は、有性生殖を行なわない。

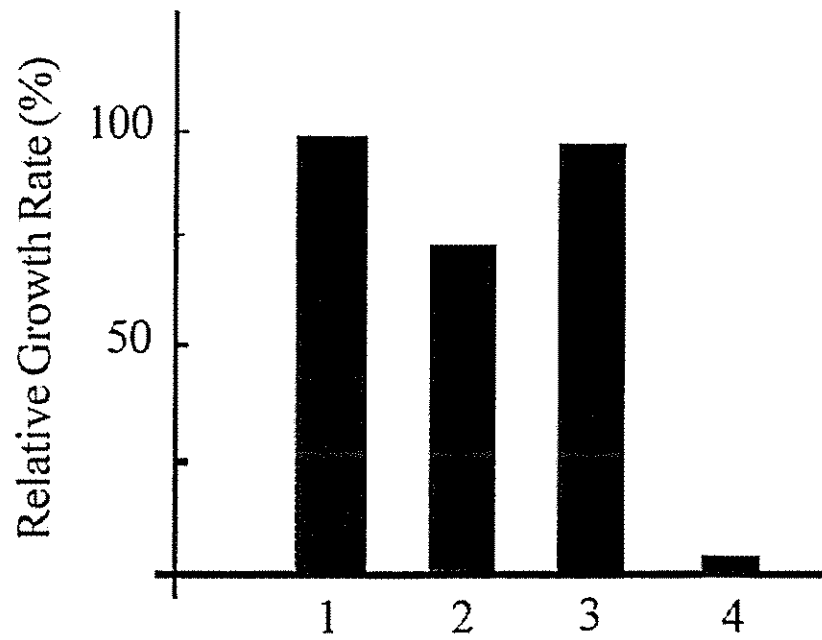
- A. 1、2、3
- B. 1、3
- C. 1、2
- D. 2
- E. 3

問題6. この植物の組織における細胞の近くに、動かない細胞を観察できるかもしれない。以下から正しい記述の組み合わせを選択せよ。

- (1) それらは単細胞性の原生生物である。
- (2) それらのほとんどは、短い無分枝の花糸である。
- (3) それらの幾つかは分枝している。
- (4) それらの核は、容易に観察される。

- A. 1
- B. 1、2、3、4
- C. 2、3
- D. 2、3、4
- E. 2

問題7. ある研究者が、この植物を異なる条件下で生育し以下の図に示された結果を得た。



図説明：横軸は実験条件、縦軸は植物の相対成長率（％）である。

条件 1、硝酸態の窒素を含む培地 A で生育させた場合。

条件 2、窒素を全く含まない培地 A で生育させた場合。

条件3、5 μ Mのアンピシリンを含む硝酸態窒素を含む培地Aで生育させた場合。

条件4、窒素を全く含まず、5 μ Mのアンピシリンのみを含む培地Aで生育させた場合。

注意) 培地Aとはこの植物の標準培地である。

実験の結果に基づき、以下から正しい記述の組み合わせを選択せよ。

- (1) アンピシリンは窒素養分が制限された条件下のみで、この植物の成長を阻害する。
- (2) この植物は窒素養分が無くても成長できる。
- (3) この植物の根系は窒素固定ができる。
- (4) この植物には、少なくとも幾種類かの微生物が共生しており、それらが窒素を固定している。
- (5) 窒素固定能は、アンピシリンによって直接的に阻害される。

- A. 1、3、5
- B. 1、5
- C. 2
- D. 1、2、4
- E. 4、5

問題8. もし、あなたが微生物の全く共生していないこの植物の培養体を得たいならば、どの条件で生育させるのが適当だろうか。以下から正しいと思われるものを選択せよ。

- A. 窒素養分と、いくらかのアンピシリンを添加した培地で生育させる。
- B. 窒素養分を添加した培地で生育させる。
- C. 窒素養分の全く無い培地で生育させる。
- D. 窒素養分が全く無く、アンピシリンを添加した培地で生育させる。

課題2 植物色素の同定 (20点)

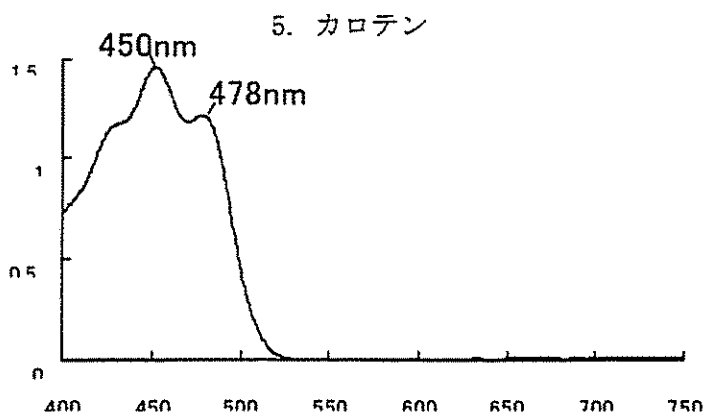
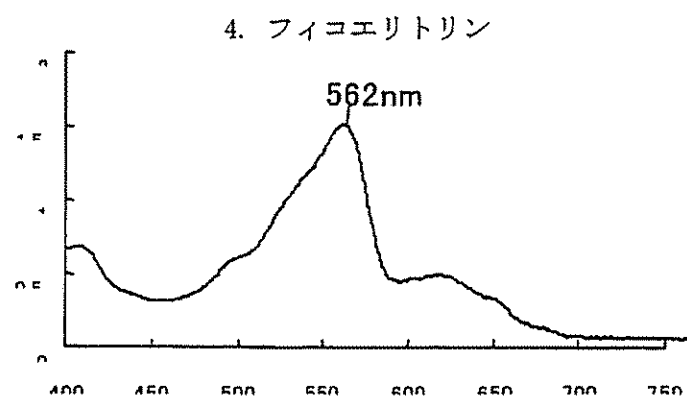
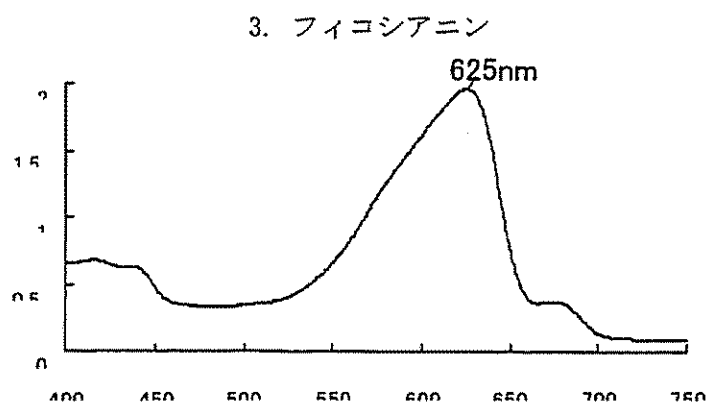
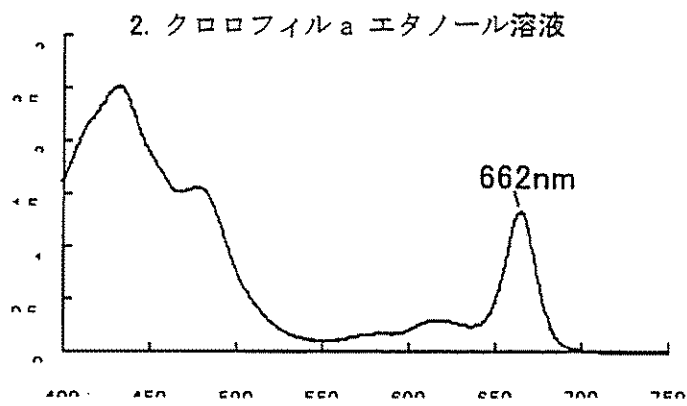
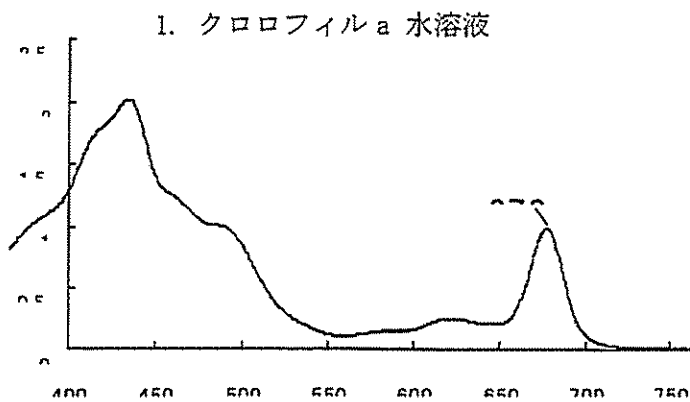
サンプルと器具

色素が入った試験管が6つ配布される。それらの試験管には、pigment(色素)Iから pigment(色素) VIまでラベルが付けられている。それらに加えて、control(対照試料)とラベルされた無色の溶液が別の試験管で配布される。以下の器具を用いる必要がある。

波長可変分光光度計、キュベットセル、可変式マイクロピペット、ろ紙

以下に示す課題を実施せよ。

- a. 下の図に示された吸収スペクトルを見よ。これら5つのスペクトルは異なる生物から得られたものであり、色素の名前が図に示されている。これらのスペクトルの主要な吸収が図に書き加えられている。図に示された5つの色素のうち、フィコシアニンとフィコエリトリンは水溶性であり、クロロフィルとカロテンは有機溶媒に可溶である。洗剤(界面活性剤)で処理したクロロフィル-タンパク質複合体は水溶液に可溶である。
- b. 可変式マイクロピペットを用いて、それぞれの色素の溶液を1 mL ずつキュベットセルに移せ。下の表に示された波長で吸収を測定せよ。測定した結果を表に記録せよ。



溶液	450nm	562nm	595nm	625nm	662nm	678nm
I						
II						
III						
IV						
V						
VI						

以下の問いに答えよ。

問題 9. 赤色の光を最も効率的に吸収する色素は次のうちどれであると予想されるか。(2点)

- A. フィコシアニン
- B. フィコエリトリン
- C. カロテン
- D. クロロフィル

問題 10. 以下のうちフィコシアニンの溶液はどれであることを答えよ (2点)

- A. 溶液 I
- B. 溶液 II
- C. 溶液 III

- D. 溶液Ⅳ
- E. 溶液Ⅴ
- F. 溶液Ⅵ
- G. いずれも該当しない

問題 11. 以下のうちフィコエリトリンの溶液はどれであることを答えよ (2点)

- A. 溶液Ⅰ
- B. 溶液Ⅱ
- C. 溶液Ⅲ
- D. 溶液Ⅳ
- E. 溶液Ⅴ
- F. 溶液Ⅵ
- G. いずれも該当しない

問題 12. 以下のうちクロロフィルの (エタノール) 溶液はどれであることを答えよ (2点)

- A. 溶液Ⅰ
- B. 溶液Ⅱ
- C. 溶液Ⅲ
- D. 溶液Ⅳ
- E. 溶液Ⅴ
- F. 溶液Ⅵ
- G. いずれも該当しない

問題 13. 以下のうちカロテンの溶液はどれであることを答えよ (2点)

- A. 溶液Ⅰ
- B. 溶液Ⅱ
- C. 溶液Ⅲ
- D. 溶液Ⅳ
- E. 溶液Ⅴ
- F. 溶液Ⅵ
- G. いずれも該当しない

問題 14. 以下のうち洗剤（界面活性剤）で処理したタンパク質・クロロフィル複合体の溶液はどれであるかを答えよ（2点）

- A. 溶液 I
- B. 溶液 II
- C. 溶液 III
- D. 溶液 IV
- E. 溶液 V
- F. 溶液 VI
- G. いずれも該当しない

問題 15. 藻類とそれ以上の高等植物全てに存在するのは以下のうちどれであるかを答えよ（2点）

- (1) クロロフィル
- (2) カロテン
- (3) フィコエリトリン
- (4) フィコシアニン

- A. 1, 2, 3, 4
- B. 1, 3, 4
- C. 1,
- D. 1, 4
- E. 1, 2

問題 16. あるラン藻には、クロロフィル、カロテノイド、フィコシアニンが主要な色素として含まれる。培養したこのラン藻を 80%アセトンで抽出した後に遠心分離をすると、沈殿はどのような色に見えると予想されるか。(3点)

- A. オレンジ色
- B. 青色
- C. 緑色
- D. 紫色
- E. 無色

問題 17. 等電点ゲル電気泳動 (IEF) でタンパク質の分析をする際に、等電点が既に知られている色のついたタンパク質を等電点の参照基準として用いることが多い。そのようなタンパク質としては、フィコシアニンとフィコエリトリンが挙げられる。クロロフィル-タンパク質複合体には、IEF 法の等電点基準として用いられるものはない。クロロフィル-タンパク質複合体が IEF 法の等電点基準として用いられない理由として、正しいものを次から選択せよ。

- A. IEF 法のゲル中では緑色が見えないため (3点)
- B. クロロフィル分子が小さすぎて検出できないため
- C. クロロフィル-タンパク質複合体のサンプルを植物から十分に得られないことが多いため
- D. クロロフィル分子がタンパク質に共有結合で結合していないため

