

日本生物学オリンピック 2016 本選 筑波大会 出題問題の解説

実験試験 1 : 分子生物学

問題 1

外来 DNA の挿入位置を、オワンクラゲ由来緑色蛍光タンパク質 (GFP) 遺伝子内部に設定する。この場合、外来 DNA が挿入されると正常な GFP タンパク質が合成されず、紫外線を当てても緑色蛍光を発することができない。従って、形質転換後アンピシリンをふくむ寒天培地に現れた大腸菌のコロニーのうち、紫外線を照射しても緑色蛍光を発しないコロニーは外来 DNA が挿入されたプラスミドをもつ大腸菌であると考えられる。

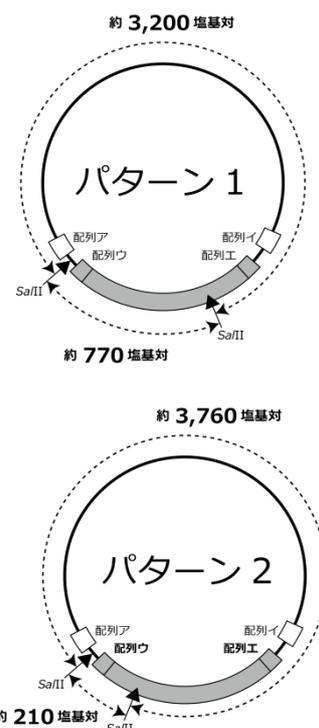
問題 2

図 2 の外来 DNA 配列中の 752-757 番目の塩基が *Sac*II 認識配列である。従って、外来 DNA 部分は *Sac*II の切断により、配列ウをふくむ約 760 塩基対と、配列エをふくむ約 200 塩基対の 2 つの DNA 断片が生じる。またプラスミド DNA は配列アと外来 DNA の挿入される *Eco*RI 認識配列の間に *Sac*II 認識配列がある。ただし、この 2 つの制限酵素認識配列は 12 塩基対しか離れていない。

図 3 のパターン 1 の環状 DNA を *Sac*II で切断すると、*Sac*II 認識配列と *Eco*RI 認識配列の間の極めて短いプラスミド DNA の一部と配列ウをふくむ約 760 塩基対の外来 DNA の一部がつながった約 770 塩基対の DNA 断片と、配列エをふくむ約 200 塩基対の外来 DNA の一部とプラスミド DNA の大部分 (約 3,000 塩基対) がつながった約 3,200 塩基対の DNA 断片が生じるはずである。

一方、図 3 のパターン 2 の環状 DNA を *Sac*II で切断すると、*Sac*II 認識配列と *Eco*RI 認識配列の間の極めて短いプラスミド DNA の一部と配列エをふくむ約 200 塩基対の外来 DNA の一部がつながった約 210 塩基対の DNA 断片と、配列ウをふくむ約 760 塩基対の外来 DNA の一部とプラスミド DNA の大部分 (約 3,000 塩基対) がつながった約 3,760 塩基対の DNA 断片が生じるはずである。

実際に *Sac*II で切断したプラスミド DNA のアガロースゲル電気泳動結果を見ると長さの異なる 2 本の DNA 断片が観察された。DNA のサイズマーカーと比較したところ、短い DNA 断片の長さは約



800 塩基対、長い DNA 断片の長さは約 3,000 塩基対と予想できた。従って、*SacII* で切断したプラスミド DNA はパターン 1 だと推測できる。

問題 3

以下の 2 種類の PCR を行う。

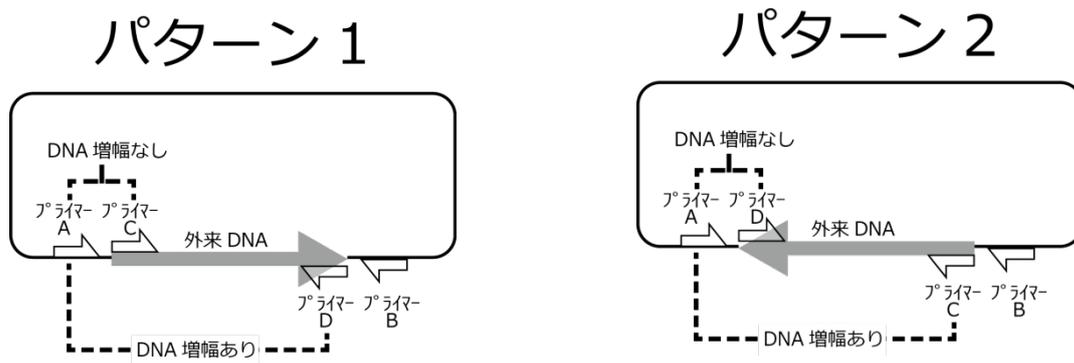
反応 1: 配列アに設定したプライマー A と配列ウに設定したプライマー C をもちいた PCR

反応 2: 配列アに設定したプライマー A と配列エに設定したプライマー D をもちいた PCR

パターン 1 で外来 DNA が挿入されている場合（下図左）、反応 1 では DNA の増幅が起これないが、反応 2 では外来 DNA 全長を含む約 1,000 塩基対の長さの DNA 断片が増幅するはずである。

反対に、パターン 2 で外来 DNA が挿入されている場合（下図右）、反応 1 では外来 DNA 全長を含む約 1,000 塩基対の長さの DNA 断片が増幅するが、反応 2 では DNA の増幅しないはずである。

従って、2 つの反応のどちらで DNA 増幅が起こるかで、外来 DNA の挿入パターンが判別できる。



実験試験 2 : 発生生物学 問題解説

問題 1

肉眼であれ顕微鏡下であれ、実際に目にした生物の構造や特徴を正確に他人に伝わるように表現することは生物学の基本である。よって、ここではスケッチを正確に行う技術に加え、受験生がとらえた生物学的特徴を文字によって表現できるかどうかを問いた。さらに、動物卵が受精・卵割・原腸陥入を経て体を形づくる発生過程を理解しているかを確かめた。

観察時におけるプレパラートの作り方として、厚みのある試料を対象にする際にセロハンテープやビニールテープをスペーサーとして利用することが必要になる。

チューブ番号 A には未受精卵と受精卵が入っている。受精卵では未受精卵に見られない受精膜が特徴としてみられる。さらに細胞膜の表面に透明層を認識しているかを評価した。

チューブ番号 B には胞胚とプリズム幼生が入っている。胞胚では一層の細胞層からなる胚の特徴が正確に描かれているかどうか、また、プリズム幼生では原腸が原口から口までつながっている様子や、間充織細胞が骨片を作るために胞胚腔内で列を作っている様を描かれているかを評価した。

チューブ番号 C には卵割期と原腸胚が入っている。卵割期では受精卵と同様に受精膜および透明層が明確に示されているかを評価した。また、原腸胚では原口の位置や原腸の構造、さらには間充織細胞が明確に描かれているかを評価した。

発生の順番としては①未受精卵 (チューブ A)、②受精卵 (チューブ A)、③卵割期 (チューブ C)、④胞胚 (チューブ B)、⑤原腸胚 (チューブ C)、⑥プリズム幼生 (チューブ B) となる。

バフンウニの受精卵がチューブ A に入っている。ハリサンショウウニの未受精卵や他の発生段階の胚と比較して、明確に色素が濃いのが特徴である。また、ハリサンショウウニの受精卵と比較して、受精膜が細胞表面からより離れているのも特徴である。

問題 2

多精の場合は核相が $3n$ や $4n$ となるうえ、精子由来の中心体が複数の分裂装置を作り出され、卵割および細胞分裂が正常に進行しないため。

チューブ番号 A

構造名 受精膜

問題 3

ウニ胚の 16 細胞期に見られる小割球は、主に 1) それ自身が幼生期に骨片を形成する細胞になる、2) 周囲の細胞群を内胚葉（原腸）へと誘導するという 2 つの機能を持っていることが報告されている。ここではその機能を調べる実験系を組み立てることができるかを問いた。必要条件として、小割球を取り除く実験等を、また、十分条件としては小割球を同個体または多個体の異所的な場所へと移植する実験等を解答したものを正解とした。

問題 4

初期のウニ胚は体を動かすための筋肉を持っていないため、海水中を移動する際、体表に生えた繊毛を利用する。また、エサとなる植物プランクトンを口の方へ運ぶためにも繊毛を利用し、水流を作り出す。

実験試験 3 : 動物生理学 問題解説

問題 1

この問題では、高等学校の教科書においても取り上げられる「走性」についての基本的知識を問うた。走化性以外には、光に対する走性（走光性、多くの昆虫など）、水流に対する走性（走流性、魚類など）、温度に対する走性（温度走性、シーエレガンスやカなど）などがあり、そのいずれかが具体例と共に適切に記載されていれば正答とした。

参照：コトバンク (<https://kotobank.jp/word/走性-89487>)

問題 2

この問題では、指示された実験手順に沿って実験操作が行えたかどうかを確認すると共に、得られたデータを表現するために適切に作図し、その結果から得られる解釈を文章で表現できるかを評価した。作図においては、軸の値や軸ラベルなど、図にとって必要となる情報が不足なく盛り込まれているかも評価した。今回の実験で用いた化合物はシーエレガンスにとって基本的に「好き」な化合物であり、この化合物に対して近寄る、すなわち「正の走化性」を示すとする解答が典型的である。同時に、寒天プレートに置いた化合物の濃度によって誘引の様子が異なるかどうかを観察できているかも、採点時に留意した。

問題 3

この問題は、問題 2 とは別のやり方で走化性を検討することができるかを評価した。先述した通り、今回の実験で用いた化合物に対して、シーエレガンスは基本的に正の走化性を示す。一方、シーエレガンスは、至適な濃度の化合物に対して最も強い走化性を示し、濃すぎる化合物には必ずしも近づかない。化合物が置かれた位置を起点としてシーエレガンスの走化性を評価することで、この性質を捉えることができたかどうかを評価した。問題 2 と同様に、作図においては、軸の値や軸ラベルなど、図にとって必要となる情報が不足なく盛り込まれているかも評価した。

問題 4

例えば、適量の香水が多くの人に好まれる一方で、過度の香水は悪臭として認識され人々を遠ざけることがあるのは直感的に理解できるだろう。問題 4 では、こうした化合物の濃度による走化性の違いが生物にどのようなメリットをもたらすのか、実験結果も踏まえた上で、生徒の持つ知識を援用した解答の論理性と創造性を評価した。論理的に

妥当であり、説明に矛盾や飛躍がない解答に対しては、実際の生命現象と必ずしも一致しない内容でも高い評価を与えた。

問題 5

今回の実験と上述の設問への解答を通じて、「人の尿への走化性を見ることでがんを診断する」という九州大学のグループによる手法の適切な実施のためには、シーエレガンスに単純に尿を嗅がせれば良い訳ではない、ということが予想できる。同一人物から採取した尿であっても希釈率によってシーエレガンスの走化性が変化することはありえる。また、尿を採集する時間帯や条件によって尿の濃さが変わってしまう場合、採取条件の安定性も問題になるかもしれない。さらに、人による尿の性質の個人差に対する対処法も見出す必要がありそうである。問題 4 での採点基準と同様に、論理的に妥当であり、説明に矛盾や飛躍がなく、独創性の高い内容の解答に高い評価を与えた。

実験試験 4 : 植物生理学 問題解説

問題 1

観察する形質を指定せず、回答者が自由に測定、作図、作表を行い、根粒共生によってもたらされる植物の成長促進効果を問う問題である。植物の成長を評価するのに適した形質（草丈の高さ、葉の枚数など）の観測に基づいて論理的に説明することができるかを評価した。また、着眼した形質が植物の成長を適切に反映したもので、かつ独創的な場合は加点した。

問題 2

(1) は、手順に従って、正しく根粒の切片を作成し、根粒断面構造のスケッチをすることができるかを問う問題である。共生・非共生細胞や維管束の配置が適切に描かれているかを評価した。(2) は、手順に従って、根粒から正しく根粒菌を単離し、固定、染色の後、スケッチをすることができるかを問う問題である。根粒菌の形（楕円形）が正しく描かれているかを評価した。(3) は、根粒内に無数に存在している根粒菌の数を効率的に推定する方法を問う問題である。段階的に希釈した根粒懸濁液中の根粒菌の数を計測して、希釈前の懸濁液中の根粒菌数を遡って算出するのが一般的な回答であるが、これとは異なる回答であっても、実験方法が妥当と判断される場合は、正解とし、さらに加点する場合もあった。

問題 3

様々な観察結果に基づいて、2つの突然変異体の特徴を問う問題である。目視で確認することのできる表現型だけでなく、問題 2 で習得した手法（根粒切片作成、根粒菌の観察）を効果的に利用して、いくつかの観察結果に基づいて突然変異体の特徴を論理的に説明することができるかを評価した。問題 1 と同様、着眼した形質など、独創的な視点の回答は加点した。

問題 4

突然変異体 C の表現型と、用いる言葉をヒントにして、根粒共生の仕組みの 1 つを説明することができるかを問う問題である。図から、根粒が過剰に着生する（過剰に共生を行う）突然変異体 C の成長は、野生型よりも阻害されていることがわかる。これは、突然変異体 C では、根粒共生に必要な以上の有機物が消費されてしまうことにより、自身の成長が妨げられていると解釈することができる。突然変異体 C の表現型の説明が

適切であり、かつ、その表現型に基づいて、下記のような文章が導きだされているかを評価した。「植物は、根に着生する根粒の数を調節することにより、窒素と有機物の栄養授受のバランスを適切に保つ遺伝的な仕組みを有している」

また、突然変異体 C の表現型やそれにより導きだされる解釈が上記と異なるものであっても、回答が論理的かつ妥当なものであれば、正解とし、必要に応じて加点した。