

第18回 国際生物学オリンピック (IBO)

第二次国内選考試験

実習①「光学顕微鏡によるケイ藻プレパラートの観察」

課題1 8種のケイ藻細胞の大きさの測定と形態観察

課題2 *Gyrosigma balticum* の研究結果との比較

課題3 電子顕微鏡写真との比較

課題4 生体試料写真との比較

課題5 細胞の厚みの測定

光学顕微鏡によるケイ藻プレパラートの観察

実施予定

- 9:00 - 9:30 実験の概要、および、用いる光学顕微鏡・器具類の説明
- 9:30 - 11:30 課題1～5の実施。はじめに課題1を行うが、その後の順番は自由に実施してよい。
- 11:30 - 12:00 答案用紙の回収・実験の解答方法についての解説。

課題1 8種のケイ藻細胞の大きさの測定と形態観察

ケイ藻は、代表的な植物性プランクトンで、淡水から海水まで広い範囲で生息している。細胞壁には珪酸が多く含まれ、生きた細胞の細胞壁表面は粘液質の物質で覆われている。細胞壁には細かな紋様（縦溝や条線）が見られるが、そのパターンが種によって異なるために、種の決定を行う重要な目安ともなっている。

ここでは8種のケイ藻細胞の標本を観察する。それらの細胞は生きた細胞ではなく、細胞壁だけが残るような化学的な処理をほどこしたもので、特注なプラスチック樹脂に入れ、スライドガラスとカバーガラスの間にはさみ、永久プレパラートとしたものである。以下の問いに答えよ。

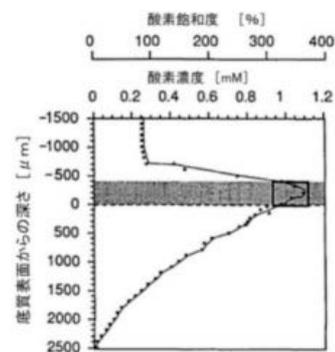
1-1. 細胞のもっとも長い軸を長軸と呼ぶことにする。長軸方向の細胞の大きさを「長さ」、それにほぼ直角な方向への大きさを「幅」とする。プレパラートの中の8つのケイ藻種を端から順に**a**、**b**、**c**・・・(左右どちらからでも良い)と仮に呼ぶことにする。それぞれの細胞の長さや幅とを、光学顕微鏡を使って計測し、**表 I**の空欄に数字で記入せよ。また、それぞれの測定を行った時の条件(使用した対物レンズの種類、計測の回数、長さなどを計算する上で用いた接眼マイクロメータの目盛りの値など)について、**表 I**右側の空欄に正確に記入せよ。必要ならば、**表 I**の裏面を使って記述しても良い。計算は別の計算用紙を使用する。

1-2. それぞれの種の細胞の形態で、特に気付いた特長について、**表 II**の空欄に記入せよ。

課題2 *Gyrosigma balticum* の研究結果との比較

Gyrosigma balticum は海水・汽水に多くみられるケイ藻である。このケイ藻の細胞は、泥質の海底面（底質）に横たわっているのではなく、細胞の長軸を底質に垂直に立てていると予測される。トルイジンブルーで生きた細胞を染色すると、下側となる細胞端に粘着性の高い管状の構造を突き出しているのが観察される。この粘着性の高い突起構造で底質に付着すると考えられている。また、*Gyrosigma balticum* が密集して存在する底質近辺は、酸素濃度が高く過飽和になっていることもわかった（図1）。以下の問いに答えよ。

図1. *Gyrosigma balticum* を飼育した海水槽の底質表面の酸素濃度を測定した結果。適度な光照射条件下で観察した。底質より800~1500 μm 上側(-800~-1500 μm)では、空気からの酸素が水流によって常に供給されるので、酸素濃度はほぼ飽和した状態になっている。底質表面に、このケイ藻が縦になって密集している場所があり、その層だけケイ藻の光合成によって酸素濃度が非常に高く、過飽和の状態になっていることがわかる。ジェンソン・Bらの研究（ヨーロッパ藻類学会誌、29巻11-15頁、1994年）から。



2-1. *Gyrosigma balticum* は、ここで観察している標本の中に含まれる種である。上の研究結果と対応付けた場合、*Gyrosigma balticum* は、**a~h**（表I）の中のどの種に相当すると考えられるか。表IIIの上右側空欄の中の記号の中から適切なものを選び、○で記せ。

2-2. 上の記述と観察結果をもとに、このケイ藻の細胞は、泥質の底質にどのような状態で密集していると想像されるか。表IIIの下側空欄にわかりやすく模式図で示せ。細胞の形態は簡略な表現で良い。

課題3 電子顕微鏡写真との比較

図2は、電子顕微鏡を使って観察した *Pleurosigma angulatum* 細胞表面の一部である。この種もここで観察している標本の中に含まれる。以下の問いに答えよ。

3-1. 標本の構造を詳細に観察し、**a~h** (表I) の中のどの種に相当すると考えられるか。表IVの上右側空欄の中の記号の中から適切なものを選び、○で記せ。

3-2. 上のように結論した理由は何か。その理由を、表IVの下側空欄にわかりやすく記せ。

ここに以下のアドレスにあるような写真が挿入されていた。

http://www.e-pics.ethz.ch/index/ETHBIB.Bildarchiv/ETHBIB.Bildarchiv_Dia_249-KRY-010_81032.html

図2. *Pleurosigma angulatum*の電子顕微鏡写真。黒い線は10 μ mの長さを示す。

課題4 生体試料写真との比較

ここに以下のアドレスにあるような写真が挿入されていた。

http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Heterokontophyta/Raphidineae/Amphipleura/sp_1.html

図3. 生きた状態の *Amphipleura pellucida* 細胞の光学顕微鏡写真

図3は、生きた *Amphipleura pellucida* 細胞を観察したときの光学顕微鏡写真である。この種もここで観察している標本の中に含まれる。以下の問いに答えよ。

4-1. 標本の構造を詳細に観察し、*Amphipleura pellucida* は、**a~h** (表I) の中のどの種に相当するが答えよ。表Vの上右側空欄の中の記号の中から適切なものを選び、○で記せ。

4-2. 生体のケイ藻細胞 (図3) と、ここで観察する標本を詳細に比較することによって、2つにはどのような違いがあることがわかるか。表Vの下側空欄に記せ。

課題5 細胞の厚みの測定

図4は、ここで用いる顕微鏡の側面、および、試料台を上下させる目盛り付きダイヤルの写真を示す。試料台を上下させる時に何目盛り移動させたかを読み取ることができる。この目盛りをうまく使うことで、観察試料の厚みを測定することができる。まず、標準試料として、正確な厚みのわかっているものを使用する。用意された試料や機器類を使い、以下の手順に従い、ケイ藻 **a~h** の細胞の厚みを測定せよ。

用意された試料・道具類

- ・ 厚み一定の金属板
- ・ カバーガラス
- ・ 直径 $20\mu\text{m}$ のプラスチック球 (マイクロビーズ)
- ・ 直径 $40\mu\text{m}$ のプラスチック球 (マイクロビーズ)
- ・ 厚み測定用のマイクロメーター (使用方法は最後の頁参照)



図4. 用いる光学顕微鏡の側面。側面の黒いツマミは、顕微鏡の試料台を上下させる時に用いる。ダイヤルには数字が刻印されており、試料台を何目盛り移動させたかが読み取れるようになっている。

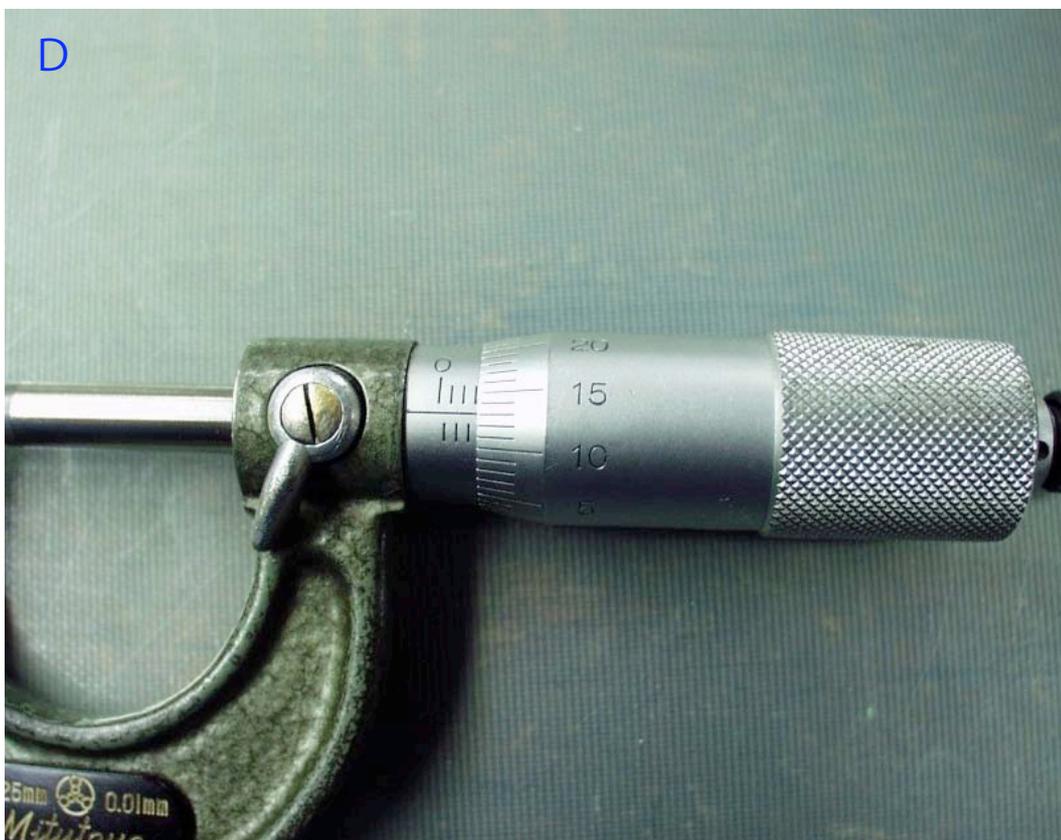
操作の手順

- 正確な厚み（Y）のわかっているものを用意する。
- それを試料として、光学顕微鏡で観察する。
- 厚みのわかっている試料の最上部、最下部、ともに光学顕微鏡で観察できるように工夫する。
- その2つの部分の間を移動する時に、**図4**で示した目盛りがどれだけ変わるかを調べる（X）。
- Y/X の計算から、**図4**の目盛り1つが何 μm に相当するかがわかる。
- この値を使って、ケイ藻 **a~h** の細胞の厚みを計測する。

5-1. 細胞の厚みを計測し、**表VI**の空欄に数字で記入せよ。また、それぞれの測定を行った時の条件（使用した対物レンズの種類、計測の回数、長さなどを計算する上で用いた接眼マイクロメータの目盛りの値など）について、**表VI**右側の空欄に正確に記入せよ。必要ならば、**表VI**の裏面を使って記述しても良い。計算は別の計算用紙を使用する。

マイクロメータの使い方

マイクロメータ (A) は、一般に外径を計るときに用いる道具である。U字型のフレームの片側に目盛りをつけた細かなネジ (一般に、これをマイクロメータヘッドと呼ぶ) が配置されており、これを使って正確な厚みを測ることができる。このネジは、一回転 0.5mm の精密なネジになっており、側面には 50 等分の目盛りがあるので、一目盛り 0.01mm に相当することになる。測定する試料を一定に力で押せるようにラチェット式のネジ頭 (C) が付いていて、これをまわして試料に当て、厚みを測る。写真Dにあるマイクロメータの読みは、3.13mm となる。目盛りの 1/10 まで読むこともできる。



課題 1 - 1

表 I

ケイ藻の種別記号		細胞の大きさ		計測したときの条件など
1	a	長さ (μm)		
		幅 (μm)		
2	b	長さ (μm)		
		幅 (μm)		
3	c	長さ (μm)		
		幅 (μm)		
4	d	長さ (μm)		
		幅 (μm)		
5	e	長さ (μm)		
		幅 (μm)		
6	f	長さ (μm)		
		幅 (μm)		
7	g	長さ (μm)		
		幅 (μm)		
8	h	長さ (μm)		
		幅 (μm)		
氏 名				
使用した顕微鏡の番号				
使用したプレパラートの番号				

課題 1 - 2

表 II

	ケイ藻の種別記号	形態上の特長など
1	a	
2	b	
3	c	
4	d	
5	e	
6	f	
7	g	
8	h	
	氏 名	

課題 2 - 1, 2

表 III

標本中のa~h (表 I) の中で <i>Gyrosigma balticum</i> と同じと考えられるものに○印をつける。	a · b · c · d · e · f · g · h
上のように判断した理由	
<input checked="" type="checkbox"/> A ケイ藻が底質にどのような状態にいるかを示す模式図	
氏 名	

課題 3 - 1, 2

表 IV

標本中のa~h (表 I) の中で <i>Pleurosigma angulatum</i> と考えられるものに○印をつける。	a · b · c · d · e · f · g · h
上のように判断した理由	
氏 名	

課題 4 - 1, 2

表 V

標本中のa~h (表 I) の中で <i>Amphipleura pellucida</i> と同じものに○印をつける。	a · b · c · d · e · f · g · h
上のように判断した理由	
生きた細胞と、ここで観察した標本細胞との違い	
氏 名	

課題 5

表 VI

操作手順の番号	記入欄	
1)	右側面のツマミを時計回りにまわしたときに、試料台の動く方向	
5)	目盛りの差 (目盛り数)	
6)	1目盛り当たりの試料台移動距離 (μm)	
7)	厚みを計測したケイ藻の種別記号に○を付ける	a · b · c · d · e · f · g · h
	上のケイ藻細胞の厚み (μm)	
	上の計測したときの条件など	
	氏 名	

第 18 回 国際生物学オリンピック (IBO)

第二次国内選考試験 (訓練実習)

実習 2 「植物の観察」

東京大学教養学部

生物学の中における植物の貢献

皆さんにとって植物はどのような存在だろうか。教科書では、植物特有の組織、細胞のこと、植物ホルモンの作用などが目立つかもしれない。しかし、植物は他の生物にも当てはまる、生物学のなかで非常に大きな発見をもたらす材料でもある。高校の生物教科書のなかの内容を改めて思い起こしてほしい。細胞の概念はコルクでの観察にはじまる。メンデルはエンドウをもちいて遺伝の法則を見出した。

今回は植物の体を観察することを実習として行う。やはり植物特有の現象を見ることになるが、実は動物にもあてはまる概念がそこに含まれることを、この実習を通じて見てほしいと思う。

シロイヌナズナとは

今回、シロイヌナズナという植物にふれることにする。学名は *Arabidopsis thaliana* という。最近の研究室における植物実験では、世界中で重宝がられている植物である。とはいっても葉、根、茎、実、花いずれも食用にはならない。それなのにどうして用いられるのか。

まず栽培が容易であること。温度は 23°C 近辺、つまり人間の居住空間の温度と同じくらいで育つ。強い日光を必要としたりせず、蛍光灯のような人工照明の下で十分に育つ。大きさも小型で 4-5 cm² ほどの場所があれば育つ。一般の植物、たとえばアサガオなどを思い起こしてほしい。植木鉢に一本がやっとである。それを何千本と扱うことがあったとすると、いかに大変であるかを想像してほしい。肥料も複雑なものではなく、市販の化学肥料で十分に育つ。

自家受粉も他家受粉も可能で、遺伝の研究で必要となる種々の掛け合わせが容易である。染色体の数は 10 本 ($2n = 10$)。2000 年には千葉県にある、かずさ DNA 研究所の貢献もあって、このシロイヌナズナについて植物のなかで初めて、すべてのゲノム配列が決定された。配列の長さは 1.3×10^8 塩基対。陸上植物の遺伝子の大きさとしても最小のものと想像されている。そこに約 25,500 個の遺伝子がのっているとされる。

このように体も遺伝子量も小さな植物だが、植物にとっての基本的な現象はシロイヌナズナでたいがい起こる。余計な遺伝子をもたないが、植物のことを理解する上で使えて、育てやすいとくれば、研究には最適である。種子から発芽し、成長する。その際に作用する植物ホルモンの働きも他の植物と共通であ

る。先に述べたように遺伝子配列がすべて明らかとされた植物となったので、なにか現象あるいは表現型があった際に、その原因となる遺伝子を解析することが非常に容易となったのである。一方、メンデルに見初められたエンドウについての研究は、残念ながら現在あまり多くない。

ただシロイヌナズナにも研究しづらい部分もある。シロイヌナズナは体が小さい分、切片作成などの観察などには慣れが必要となる。他の植物では容易な維管束の観察も、カミソリで切った切片をみるだけといった形では難しい。

課題 1 花の観察

皆さんの前にシロイヌナズナがおかれている。

1. まず花を観察して、以下の構造がそれぞれいくつあるかを答えよ。

おしべ, めしべ, 花びら, がく

2. この植物は何科に属すか。

3. この科に属す植物を以下のなかからすべて挙げよ。

カリフラワー、キャベツ、ハクサイ、レタス、ブロッコリー、ワサビ、ニンジン、ダイコン、カブ、ゴボウ、タンポポ、

4. 皆さんが身近に目にするいわゆるナズナと異なる点がいくつかある。気づいた点を述べよ（単なる大きさの違いなどは除こう）。

課題 2 葉の観察 (a)

次は葉に注目してみよう。

5. 植物によって、葉の着き方には多様性があるが、葉はその植物ごとにある規則性（葉序）をもって配置・形成される。シロイヌナズナの葉序（次の葉が、前の葉に対してどの位置に付くか）についてのべよ。角度を用いる場合は、おおよその数字で答えよ。

実体顕微鏡をもちいて少し細かい構造をしてみる。葉の表面にこまかい毛(英語では *trichome* という)があるのがわかるだろうか。野生型のシロイヌナズナの葉を順序だてて、この毛に注目しながら見てほしい。

6. 下のほうの葉から、中間の葉、上の葉それぞれに、毛の出方に特徴が見られる。例のような形式で記述せよ。

(例) 葉の上に毛がある場合



7. *g11* あるいは *ttg* という突然変異体が入ったシャーレがある。これらの突然変異体を、野生型シロイヌナズナと比べて違う点を、のべよ。
8. 7.の観察から *trichome* が出来るうえでの *GL1* あるいは *TTG* という遺伝子をもつ役割を推定し、述べよ。

課題3 葉の観察 (b)

地球上には多くの植物が存在し、多様な姿をしているが、基本としていずれにも体全体に、上のほうの頂部から下の基部への軸(主軸)がある。葉はそこから新たに出てくる軸(副軸)にそってあらわれる器官である。左右相称で扁平であることなどは多くの植物で共通している。

その副軸に沿って、基部・先端部軸(主軸に近い・遠い)、中央・側方軸という二つの方向性に沿って葉が生まれる。その際に向軸・背軸(葉の表・裏)の違いも生まれる。このように葉の形の形成を考えると新たな発見が得られることがある。

9. *hyl1* という突然変異体がある。その突然変異体の葉を観察し、葉の様子を野生型との違いを表すように記録せよ。
10. *hyl1* 突然変異体と野生型シロイヌナズナでは葉などの大きさに違いがある。設問9で気づいた違いが、細胞の大きさや形の違いによるのかを調べたい。以下の操作をして、細胞の形を観察し、記録せよ。野生型と *hyl1* 突然変異体とで細胞の様子に違いはあったか。

作業

(1)野生型と *hyl* の葉をそれぞれ別の微量遠心チューブにとり、簡便な固定(脱色)液 0.5 ml を加え、10-15 分置き、細胞を観察しやすいようにクロロフィルを溶出して脱色する。

固定液

エタノール 90 %

酢酸 10 %

(2)固定液を除き(多少残っても良い)、透明化液を 0.5 ml 加え、10-15 分置く。

透明化液

抱水クロラール 8 g

水 2 ml

グリセロール 1 ml

(3)透明化した葉をチューブからピンセットを用いてとりだし、スライドグラスにのせ、さらにその上にカバーグラスを載せてプレパラートをつくり、位相差顕微鏡で観察せよ。

11. この観察結果から、*hyl1* 突然変異体の葉の特徴が細胞の数や形の違いによるものかを述べよ。
12. 突然変異によってどのような異常をきたしているかを考え、述べよ。

課題 4 表皮細胞の観察

次は表皮細胞の観察である。

13. 野生型の植物をみて、表皮細胞の形態を観察し、記録せよ。根毛はどこにあるかを記せ。
14. 次に *ibo1* という突然変異体のはいったシャーレがある。この変異体の特徴を、表皮細胞の形態に着目して観察し記録せよ。

課題 5 ホルモン合成酵素の突然変異体の観察

植物は種々の植物ホルモンを合成しているが、それを自ら合成できなくなった突然変異体も取られている。

15. 植物ホルモンの一つブラシノステロイドを合成できない突然変異体 *det2* が入ったシャーレがある。野生型のシロイヌナズナと比較しながら観察し、記録せよ。

課題 6 バーチャルな実験による結果の予想

16. 植物にとって光は重要な環境因子である。光の有無によって芽生えの様子は大きく異なってくる。答案用紙には光がある状態での発芽 7 日後の苗の様子を描いてある。その隣に、暗黒下にずっとおかれた発芽 7 日後の苗の様子を予想して描け。
17. シロイヌナズナの種子を発芽させる際に、水分を与えることに加えて、発芽促進に効果のある操作は次のうちどれだろうか。該当するものを全て記号で記せ。
- 温度を 2, 3 日 4°C に上げてから 22°C にもどす。
 - 温度を 2, 3 日 30°C にあげてから 22°C にもどす。
 - ジベレリン処理
 - オーキシシン処理
 - アブシシン酸処理
 - サイトカイニン処理
 - エチレン処理

18. シロイヌナズナにもアブラムシのような害虫がつく。室内できれいに育っていたシロイヌナズナもいったん虫がつくと、虫の増殖が容易にとめられず、被害が大きくなる。研究者も気を付けないと、衣服などに虫をつけて育成室に持ち込んでしまう。以下の色の服のうちどれが一番、外から虫を持ち込む可能性が高いと考えられるか。
- a. 緑、 b. 赤、 c. 黄、 d. 青
19. あるストレスを与えられると紫色の色素の合成を始めて、ストレスに耐性になろうとする。次のストレスのいずれでそれが起こるだろうか。
- a. 低温、 b. 騒音、 c. 紫外線、 d. 虫害 e. 乾燥
20. メンデルがエンドウの遺伝形質として扱った矮性の突然変異体もシロイヌナズナでとれており、その原因遺伝子はある植物ホルモンの合成酵素を指示するものであった。そのホルモンとは次のうちどれか。
- a. オーキシシン、 b. サイトカイニン、 c. エチレン、
d. ジベレリン、 e. アブシシン酸

参考文献

変わる植物学 広がる植物学 モデル植物の誕生 塚谷裕一 著
東京大学出版会 ISBN4-13-063327-9

細胞工学別冊 植物細胞工学シリーズ6
植物の細胞を観る実験プロトコール
福田裕穂、西村幹夫、中村研三監修
秀潤社 ISBN4-87962-170-6

答案用紙

番号 _____

氏名 _____

課題 1 の設問

- | | | |
|----|-----|---|
| 1. | おしべ | 本 |
| | めしべ | 本 |
| | 花びら | 枚 |
| | がく | 枚 |

2. 科

3.

4.

課題 2 の設問

5.

6. 下の方の葉

中間の葉

上の方の葉

7.

8.

課題 3 の設問

9.

10.

11.

12.

課題 4 の設問

13.

14.

課題 5 の設問

15.

課題 6 の設問

16. (根毛など細かい部分は省いてよい)

17.

18.

19.

20.

アズキゾウムシは卵の数を数えられる？

—均等に産卵する行動の統計分析—

実験テーマの趣旨

動物は限られた時間やエネルギーのもとで餌を探して利用している。そのため少しでも効率よく餌を獲得できるように、自然選択により適応進化してきたと考えられる。

マメゾウムシ科昆虫のアズキゾウムシ（体長 2~3mm）は、幼虫がマメ科植物ササゲ属の種子に産卵し、孵った幼虫が種子内部に潜って中身を食べて育つ「種子食性昆虫」である。交尾を終えた雌成虫は、産卵の際に、種子表面に産卵規制物質（油脂成分、人が食べるマーガリンに近い）を分泌する。後から来る雌成虫は、種子表面についている卵殻と産卵規制物質を知覚して、すでに卵が産みつけられた種子を避ける行動を示す。やがて大部分の種子に1卵が産みつけられた状態になると、卵のついていない種子が他になかなか見つからない場合は、雌成虫は1卵ついている種子に2卵目を1個ずつ産み始める。その時でも、すでに2卵ついている種子はやはり避ける。このように、時間とともに種子当たりの卵数は、1卵、2卵、3卵…とそろって卵数が増えていくことになる。つまり、アズキゾウムシは卵を種子当たり均等に分布させることができるのである。

アズキゾウムシのような種子捕性昆虫にとって、卵を種子当たり均等に分布させる適応的な有利さはなんだろうか？—それを、この実験テーマから探りたい。

ここには以下のアドレスにある
写真が掲載されていた。

[http://www.aist.go.jp/aist_j/
press_release/pr2002/
pr20021029/fig1.jpg](http://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2002/pr20021029/fig1.jpg)

図1
アズキ（品種：ダイナゴン）と
アズキゾウムシ。アズキの表面
についている白い卵型をしたの
が卵。大粒品種のアズキに産ま
せているので、種子当たり複数
の卵が産みつけられている。

本実験テーマは、アズキゾウムシを材料として、次の2つの実験から構成されている。

- [実験1] アズキゾウムシ小集団が産む種子当たりの卵数分布はどのようになっているか？
- [実験2] アズキゾウムシの雌成虫はすでに産卵された種子を避けて産むかどうか？

実験で配布するもの

- (1) 直径 60mm のシャーレに処理ずみのリョクトウ（緑豆）5g を入れたもの 1 枚。
……ここから実験 1 のデータを取る。
- (2) 直径 35mm のシャーレに処理ずみのリョクトウを 20 粒入れたもの 2 枚。
……ここから実験 2 のデータを取る。
- (3) メモリ付関数電卓 1 台
……統計分析に使用。「易しい関数電卓の使い方」が 1 枚添えてある。
- (4) ピンセット 1 本
- (5) 実験 1 で使う作業用シャーレ（60mm）……6 枚
- (6) 解剖皿……シャーレごと種子を床にばら撒くことのないように。
- (7) 定規 1 本と A4 判グラフ用紙 1 枚……実験 1 の結果の頻度分布を図示する。

実験 1 ……種子当たりの卵数は均等分布になっているか？

実験 1 の趣旨

アズキゾウムシ雌 4 匹に産卵させたリョクトウの 1 粒当たりの卵数を数えることによって、その頻度分布を作成する。これが「ランダムな（でたらめな）分布」であるポアソン分布に従うか否かを、 χ^2 検定を使って統計分析する。 χ^2 検定の結果、観測データに基づく頻度分布がポアソン分布に従わないときには、均等産卵になっていると結論できる。

（注）厳密には、散布係数（標本分散／平均の 2 乗）の値が 1 より小さいことを確認する必要があるが、アズキゾウムシは均等に産むことがすでに分かっているので、これは省略する。

実験 1 のシャーレ 1 枚には、以下のような処理ずみのリョクトウ 5g が入っている。

60mm のシャーレにリョクトウ 5g を入れ、交尾ずみのアズキゾウムシ雌成虫 4 匹を導入し、恒温室（30℃、70%の相対湿度、明暗周期 16L：8D）に置いた。虫の導入後、30 時間後に虫を全て除去した。その時点で、リョクトウには 1 卵～3 卵程度、産みつけられていた。それ以降、同じ恒温器に静置して、試験当日午前 8 時に恒温器から出した。

実験 1 の手順

[1] 観測データにもとづく頻度分布の作成

- (1) 粒ごとに卵数を数える準備として、作業用シャーレ 6 枚に、卵数／粒（1 粒当たりの卵数）の値（階級値という）に応じて、あらかじめ 0、1、2、3、4、5 と記入しておく。
- (2) 実験 1 のシャーレからリョクトウを 1 粒ずつ取り出し、種子表面の卵数を算定して、作業用シャーレの適切な階級に入れていく。卵か、あるいは付属腺から出た物質が固まったものか肉眼で迷うような場合は、実体顕微鏡の下で逐一確認する（静かに手を上げて教員の補助を仰いでもよい）。作業は、好みでピンセットを使用するか、素手を使うかはどちらでもよい。
- (3) 答案の該当する箇所に各階級の粒数を記録する表があるので、そこに「正」の字で粒数を足していくと効率が良い。全部のリョクトウを数え終わったら、各階級の作業用シャーレの粒

数を記録し、答案の解答欄に数値を記入する。

- (4) 頻度分布の準備として、グラフ用紙にまず座標軸を作成する。縦軸は0~70以内で10卵刻みで目盛りを設定し、縦軸名称は「観察度数」とする。次に横軸を設け、卵数/粒の階級は「0、1、2、3、4、5、6」の7つを設ける。横軸名称は「階級値 (卵数/粒)」とする。
- (5) 棒グラフで「頻度分布」を作成する (当研究室のデータで作った見本 p.4【参考図】を参照)。

[II] ランダムな分布 (ポアソン分布) の計算

- (6) ポアソン分布の折れ線グラフを作成するための計算を行なう。卵数/粒の階級値を x とし、卵数/粒の平均値を m とすると、ポアソン分布の確率は以下のような数式で与えられる (ここで、 e は「自然対数の底」と呼び、2.71828...の値を持つ)。 e^{-m} や m^x や $x!$ (階乗、3!ならば $3 \times 2 \times 1 = 6$) は、配布した関数電卓では簡単に計算できる。配布資料「易しい関数電卓の使い方」を使って例と共に説明し、機械に慣れる練習時間も設けてあるので、関数電卓に不慣れであっても安心してよい。

$$P(x) = \frac{m^x e^{-m}}{x!} \quad (x=0, 1, 2, 3, \dots, x \text{ は } 0 \text{ 以上の整数})$$

$P(x)$ は確率の値 ($0 \leq P(x) < 1$) になっているので、これに種子粒の総数 (例えば、下の図のように総数 74 粒だとすると) 74 をかけると、 $x=0, 1, 2, 3, 4, 5$ に対応したポアソン分布に従った折れ線グラフの各点 (「期待度数」、理論分布とも言う) が作成できる。

- (7) 1 粒当りの卵数の平均値 (m) を、配布された電卓を使って求め、答案の解答欄に記入せよ。
- (8) 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 の各階級のポアソン分布に従った期待度数を求め、答案の該当する欄に順番に数値を記入せよ。
- (9) 期待度数 < 5 の階級があれば (卵数/粒が 4, 5, 6 の階級がこれに該当する可能性が高い)、隣の階級 3 または階級 4 と合算する (これを「まとめる」と呼ぶ)。
- (10) 階級をまとめた後、修正された頻度分布の折れ線グラフを点線で書き、必要なら棒グラフも修正を加え、最終的な頻度分布を完成させよ。⇒ この時点で実験 1 の結果の図示が完成

[III] χ^2 検定の計算

- (10) χ^2 検定は以下の計算で行なう。観測データはせいぜいで 4 卵の階級までが普通である。期待度数は 6 卵の階級くらいになるとほぼゼロに近づく。

$$\text{各階級の } \chi^2 = (\text{観測度数} - \text{期待度数})^2 / \text{期待度数}$$

$$\begin{aligned} \text{合計 } \chi^2 = & 0 \text{ 卵の階級の } \chi^2 + 1 \text{ 卵の階級の } \chi^2 + 2 \text{ 卵の階級の } \chi^2 + \\ & 3 \text{ 卵の階級の } \chi^2 + 4 \text{ 卵の階級の } \chi^2 + 5 \text{ 卵の階級の } \chi^2 + 6 \text{ 卵の階級の } \chi^2 \end{aligned}$$

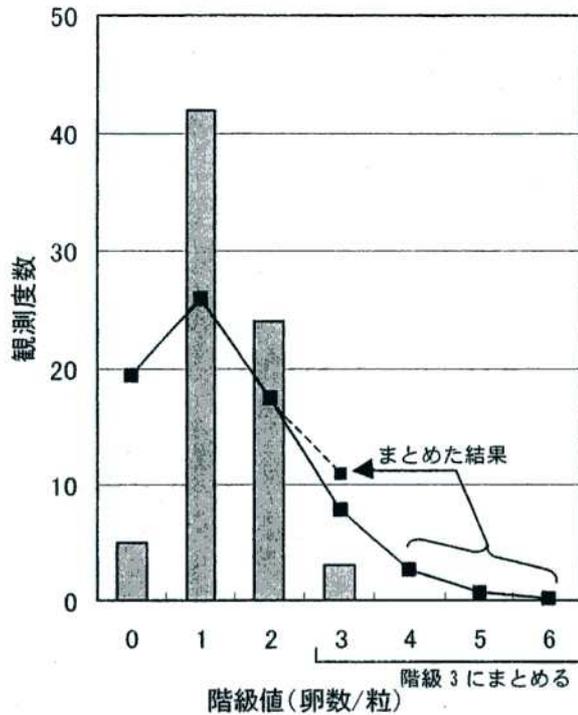
※「まとめる」仕方に応じて 3 卵の階級に合算するか、4 卵の階級に合算するかが決まる。

- (11) 合計 χ^2 の値を「 χ^2 の棄却値の表」の値 (自由度 2、つまり 0~3 の階級数 $4-2$ 、棄却値(1%) = 9.21、棄却値(0.1%) = 13.82) と比べて、表 1 の合計 χ^2 値 = 29.08 の方が大きければ、「観測

された頻度分布はランダムな分布から有意に均等分布の方へ外れている」と結論する。

【参考図】

種子当りの卵数の分布
(「まとめる」直前の段階を示す)



平均値の付近 (1 辺り) で観測度数の方が大きく、端の方 (0 とか 3 辺り) では期待分布の方が大きい。
⇒ 均等性が強い!

χ^2 検定 (表1)

卵数/粒	観測度数	期待度数	χ^2 値
0	5	19.42	10.7
1	42	25.98	9.87
2	24	17.38	2.52
3	3	11.19	5.99

χ^2 の合計 29.08

★ランダム分布から均等分布へと極めて大きく外れている!

実験2・・・すでに産卵された種子を避けて産むか?

実験2の趣旨

アズキゾウムシの雌成虫にすでに産卵させたりョクトウ 10 粒と、未処理のきれいなリョクトウ 10 粒とを、新たな雌成虫 1 匹に与えたときに、果たして、すでに産卵させたりョクトウを避けて未処理のきれいなリョクトウに産卵するか?それを「ペアごとの t 検定」で統計分析する。

実験2のシャーレ2枚には、以下のような処理ずみのリョクトウが合計 20 粒入っている。

同じ恒温室で、前もってアズキゾウムシ雌成虫にリョクトウを与えて産卵させた（リョクトウ 1 粒には 1 卵～2 卵程度産みつけられた）。35mm のシャーレ 1 枚に、すでに産卵された種子（「既産卵種子」とする）には 1 卵を残して種子の「へそ」に赤鉛筆で標識し、これを 10 粒集めた。未処理できれいな種子（「きれいな種子」とする）は何も処理をしておらず、これも 10 粒入れた。1 枚のシャーレは合計 20 粒となった。ここに交尾ずみのアズキゾウムシ雌 1 匹を導入し、12 時間産卵させた。

実験 2 の手順

- (1) 35mm の実験シャーレ 2 枚にはシャーレのふたに個人番号と A・B の区別が記入されている。
- (2) シャーレ A から開始。「既産卵種子」には前もって 1 卵を残してあるので、注意のこと。粒ごとに 2 卵目からを新たに産まれた卵の数として算定する (N_c とする)。
- (3) 同じく「きれいな種子」に産まれた卵の数を算定する (N_e とする)。
- (4) シャーレ A での卵数の差、すなわち [きれいな種子の卵数 (N_c)] - [既産卵種子の卵数 (N_e)] の数値を、答案用紙の該当する空欄に記録しておく。
- (5) シャーレ B も同様に差のデータを取る。答案の該当する空欄に数値を記入せよ。
- (6) この 2 つのシャーレのデータに加えて、こちらで準備した 8 つのシャーレのデータを提供するので、合計 10 のデータを使って「ペアごとの t 検定」にかける。
- (7) 「ペアごとの t 検定」は以下の事例で計算の見本を示す。

表 2 ペアごとの t 検定の計算

	繰り返し	きれいな種子(N_c)	既産卵種子(N_e)	差 (D)
	1(A)	12	2	10
	2(B)	10	1	9
共通データ 8 個	3	8	2	6
	4	11	3	8
	5	10	2	8
	6	7	1	6
	7	14	4	10
	8	10	2	8
	9	13	4	9
	10	11	3	8
	D の合計			82
	D の平均			8.2
	D の平方和			17.6
	D の 2 乗総和			690

繰り返し $n=10$ とする。

$$D \text{ の平方和} = [D \text{ の 2 乗総和}] - [D \text{ の合計}]^2 / \text{繰り返し数} = 690 - 672.4 = 17.6$$

$$D \text{ の標本分散 } s^2 = D \text{ の平方和} / (n-1) = 17.6 / 9 = 1.96$$

$$D \text{ の標準偏差 } s = \sqrt{1.96} = 1.40$$

$$D \text{ の標準誤差 } s_D = s / \sqrt{n} = 1.40 / 3.16 = 0.443$$

$$t \text{ スコア} = [D \text{ の平均}] / 0.443 = 18.51$$

(8)ここで求めた t スコア (=18.51) を「 t の棄却値の表」の値と比較して有意かどうかを決める。
自由度 9 (10-1 の意味) の t の棄却値 (0.5%^(注)) は 3.25 なので、観測された t スコアは極めて有意に「きれいな豆」に産みつけていると言える。

(注) 片側検定の 0.5% で有意な棄却値

統計分析の重要性

観測データにもとづく傾向がどのくらい強いのかは、目で見ても恣意的となる。その時に客観的な判断を下すのが統計分析である。動物の生態や行動、自然環境や人間社会の現象などは、意味のある傾向をもたらす真の要因の効果と、その傾向を揺らがせばらつかせる攪乱要因の効果とが必ず混在している。この両者の効果の相対的重要性、すなわち「どちらがどのくらい重要か？」を判断するのが統計分析であり、このような分野では統計分析は必須となっている。

今回の実験結果に関連した考察問題

今回の実験結果に関連して、以下の問題に答えよ。

アズキゾウムシの卵を均等に散布する産み方には、どのような利点があると考えられるか？以下の参考データ (アズキゾウムシの野外での生活、表 3) も考慮して、答案の解答欄に 5 行程度で説明せよ。その時に、以下のキーワード 3 つをすべて使用すること。

・自然選択 ・競争 ・卵の集中分布 (均等分布の反対)

<参考データ>

アズキゾウムシの野外での生活

アズキゾウムシは野外では野生のマメ科植物の種子を利用しており、これらは一般に栽培植物の種子より小さい。アズキゾウムシの幼虫は 1 粒の種子に潜り込んだら、そこが限られた世界であり、他の種子には移動できない。昆虫は一般に、成虫となって羽化した後は、体サイズが成長することはない。

表 3 リョクトウ 1 粒当りのふ化卵数 (種子に潜り込んだ幼虫数) と次世代で羽化した雌成虫 1 個体当りの体重と生涯平均産卵数

卵数/粒	羽化する 1 雌の 平均体重 (mg)	羽化した 1 雌当たりの 生涯平均産卵数 (無給餌条件)
1	6.73	約 80
2	6.15	約 70
3	5.33	約 45
4	4.62	約 25
5	4.05	約 10

国内 2 次試験「生態」 答案用紙

番号 _____ 氏名 _____

■実験 1 の手順に沿って解答せよ。

[1] 手順 (4) の指示に従って、手順 (5) グラフ用紙に「観察データによる頻度分布」を棒グラフで作成せよ。階級値は 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 を設けよ。(グラフ用紙に記入せよ)

[2] 手順 (7) で、種子総数と 1 粒当りの卵数、及びその平均値 (m) を求め、解答欄に記入せよ。

種子総数 …… 1 粒当りの卵数の平均値 (m) ……

[3] 手順 (8) で 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 の各階級のポアソン分布に従った期待度数を求め、解答欄に記入せよ。

卵数/粒	ポアソン分布の確率	期待度数
0 卵 ……		
1 卵 ……		
2 卵 ……		
3 卵 ……		
4 卵 ……		
5 卵 ……		
6 卵 ……		

[4] 期待度数 < 5 の階級をまとめた後、p. 4 の【参考図】を見本に、修正された頻度分布の折れ線グラフを点線で描き、最終的な頻度分布の図を完成させよ。

[5] 手順 (11) で χ^2 検定の表を作成せよ。階級のまとめ方によっては、不要な空欄は斜線を引け。

卵数/粒	観測度数	期待度数	各階級の χ^2 値
0			
1			
2			
3			
4			

■実験2の手順に沿って解答せよ。

[6] 手順(7)の「ペアごとの t 検定」の前段階の表の空欄を数値で埋めよ。

(i) 「きれいな種子の卵数 (N_c)」と「既産卵種子の卵数 (N_e)」の数値を解答欄に記入せよ。

	きれいな種子の卵数		既産卵種子の卵数		差 (D)
繰り返し1 (シャーレA) …	<input type="text"/>	-	<input type="text"/>	=	<input type="text"/>
繰り返し2 (シャーレB) …	<input type="text"/>	-	<input type="text"/>	=	<input type="text"/>

(ii) 2つの卵数の差 D の統計量について以下の空欄に数値を記入せよ。

D の合計 ……	<input type="text"/>
D の平均 ……	<input type="text"/>
D の平方和 ……	<input type="text"/>
D の2乗総和 ……	<input type="text"/>

D の標本分散 ……	<input type="text"/>
D の標準偏差 ……	<input type="text"/>
D の標準誤差 ……	<input type="text"/>
t スコア ……	<input type="text"/>

(iii) 求めた t スコアと「 t の棄却値の表」との比較により、どのような結論を得たか?

■考察問題

[7] 考察問題の問うている利点を、5行程度で説明せよ。

問題の末尾には、「カイ2乗の棄却値」と「 t の棄却値」の数表が添付されていた。

「カイ2乗の棄却値」の表は、自由度 (df)とアルファ水準に対応する数がしめされ、データから計算したカイ2乗値より大きければ棄却すると説明されていた。

「 t の棄却値」の表は、自由度 (df)と片側検定の場合のアルファ水準に対応する数がしめされていた。

動物の発生

課題1. 胚の発生段階の観察と同定

課題2. 組織切片標本の観察と同定

各課題について実習して、それぞれの設問に答えよ。受験番号、名前、解答は全て解答用紙に記入すること。解答用紙は何枚使っても良い。提出時に通し番号を自分でふること。(例えば3枚の場合は、順番に1/3, 2/3, 3/3と名前の横に記入する) 制限時間は2つの課題(課題に関する説明時間等も含む)をあわせて2時間30分とする。

導入：動物の発生

発生とは多細胞生物が受精卵(単為発生の場合もある)から成体になり、次世代のために配偶子形成を行うまでの1連のサイクルである。また広義には老化や再生などを含む場合もある。精子と卵の結合により生まれた受精卵はその後、各々の種に特徴的な卵割様式や形態形成運動を通じ、やがて種に固有の形を作っていく。受精後の個体がどの様に発生して、外形を変化させていくのか。またその時、胚体内ではどのような組織、器官が調和性を保ちながら形作られ、個々の生物となっていくのかを理解する。

この実習は前述の2つの課題からなり、アフリカツメガエル初期胚の発生過程観察を通じて関連分野の総合的な知識・技量を試験する。実習を始める前に、実技指導者から内容説明や諸注意がある。指示に従い、時間内に前述の2つの課題を効率よく遂行すること。実習に用いる器具や装置等は各自に選んで課題を行うこと。助言が必要であれば、問題の解答に関する事以外は自由に聞いて良い。

課題1. 胚の発生段階の観察と同定

1. はじめに

この実習ではアフリカツメガエルの人工授精を行い、受精卵及びその後の発生段階を観察する。

2. 準備されている道具や試薬類

実験動物 アフリカツメガエル（雌成体、固定した各発生段階の胚）

器具・装置 実体顕微鏡、光源、ピペット（生体用、固定胚用—各1本ずつ）、胚操作チップ、シャーレ、ガラス棒、12穴プレート

試薬類 アフリカツメガエル精子懸濁液、くみ置き水

3. 実験手順

1) 実習前日にヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)を注射しておいたアフリカツメガエルの雌の腹を優しく絞り、空のシャーレ内に未受精卵を採取する。

-----以下の作業から選考参加者が行う-----

2) ピペットを用いて精子を生理食塩水で懸濁した液をシャーレ内の未受精卵にかける。

3) ガラス棒を用いて、精子懸濁液と未受精卵を優しく混ぜる。

4) くみ置き水をシャーレ内に注ぐ。

5) 卵の変化を肉眼、顕微鏡を用いて観察する。この観察は「動物の発生」の試験の間続けること。

6) 1)~5)とは別に事前に準備されていた、アフリカツメガエル各発生段階の胚をそれぞれ肉眼、顕微鏡を用いて観察する。

4. 問題

A) ヒト絨毛性ゴナドトロピンのヒトにおける機能を記述せよ。

B) 精子懸濁液を未受精卵に混ぜた後、くみ置き水をシャーレに注ぐ理由を考察せよ。

C) 受精後20分以内の卵塊に観察された、卵の方向性における変化を記載せよ。

D) C)の変化がどういったメカニズムで起きたのかを記述せよ。

E) C)の変化がこのあとの正常発生にとって何故必要なのかを考察せよ。

F) 第一卵割をしている最中の卵をスケッチせよ。またそのスケッチから卵割がどの様なメカニズムで起きているかを考察せよ。

G) アフリカツメガエル各発生段階の胚のサンプルを発生段階の若い順から 12 穴プレート内の 1 ~ 10 の穴の一つずつ入れよ。その上で、その判断理由を記述せよ。

H) 発生段階順に並べた胚の中から初期原腸胚を選び、その穴の番号を書け。その上で選んだ理由を説明できるような方向からスケッチせよ。スケッチには原口背唇部を斜線で記入し、その機能を記述せよ。

課題 2. 組織切片標本の観察と同定

1. はじめに

この実習ではアフリカツメガエル各発生段階の胚の組織切片標本を用い、両生類初期胚の内部構造を観察する。

2. 準備されている道具や試薬類

実験材料 アフリカツメガエル初期胚観察用プレパラート

器具・装置 透過型顕微鏡

3. 実験手順

1) プレパラートを顕微鏡の低倍率及び高倍率で観察し、胚内の構造を観察する。

4. 問題

A) プレパラートの中から、尾芽胚期の腎節を含む組織切片を選び、スケッチせよ。その上で各器官の「名称」、「3 胚葉のうちどの胚葉由来か」「将来どういった器官に分化するか」を記述せよ。

B) 課題 1. の G) で作製した 12 穴プレートの中で、A) の切片の時期の胚を選び、その穴の番号を記述せよ。また胚をどの向きで切片にしたのかを記述せよ。

C) プレパラートの中から、初期幼生胚期の眼球を含む組織切片を選びスケッチをせよ。その横に任意の無脊椎動物の視覚器官を図示し、その共通点、相違点を記述せよ。

受験番号

名前

/

第18回 国際生物学オリンピック(IBO)

第二次国内選考試験

実習5 「酵素」

課題1 DNA加水分解酵素の特異性実験

課題2 リン酸エステル加水分解酵素の反応速度の測定

課題3 生体物質の吸収スペクトルによる判別

安全のために

今回の課題では、水酸化ナトリウムや臭化エチジウムなどの劇薬、発ガン性試薬を用いる。そのため、眼を保護するゴーグルと手を保護するプラスチック手袋を使用する。ただし、部屋を出る際には、手袋は外してください。

課題 1 : DNA 加水分解酵素の特異性実験

酵素の特徴

酵素は化学反応を促進する触媒であるが、タンパク質でできているため、高度な特異性や親和性に通常の化学触媒とはちがった特徴がある。その特徴は酵素が基質と結合するとき特殊な酵素基質複合体をつくることによる。具体例はスライドで示す。

この課題では、DNA 分解酵素の性質をみてみよう。ある DNA を次の 4 種類の DNA 分解酵素による消化反応をした。これらをアガロース電気泳動によって、分析し、以下の質問に答えなさい。

作業：提供された線状の DNA 溶液（すでに特定の酵素 A～C で切断されている）を色素液と混合する。

1. 黄色のピペット（最大容量 20 μL ）の使い方を練習する。
2. 目盛を **2.8 μL** に合わせ、色素液 **2.8 μL** を分取し、各チューブの DNA 溶液に加える。チップの先で混合する。
3. TA の作業（DNA サイズマーカーを右端のレーンに入れる）を参考にして、練習用色素液 **10 μL** を左端のレーンにゆっくりと入れる。
4. すべてのレーンに色素を加えた DNA 液 **12 μL** を入れた後、蓋をして、泳動する。固定電圧 **100V**。
(30 分間、泳動)

ここには DNAの二重らせんの図と、そこでの相補的な核酸塩基対の相互作用の図が掲載されていた

課題 1 問題

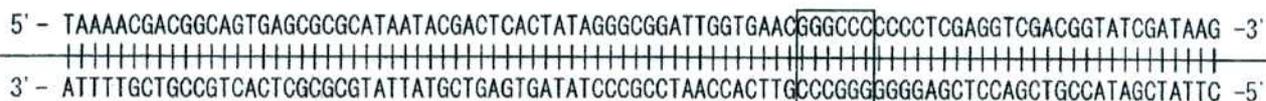
問題 1. 酵素 B はどのような基質特異性をもつか？

問題 2. 酵素 B と酵素 C で同時に消化した実験結果から、両者の特異的な認識部位を明示せよ。

問題 3. 酵素 A はどのような基質特異性をもつか？

問題 4. サンプル 1 とサンプル 2 は同じ酵素 A で処理しているが、酵素量が異なるため結果も異なっている。その理由を推測して述べなさい。

問題 5. DNA はデオキシリボースという糖とリン酸がエステル結合によって交互につながった長い鎖であり、デオキシリボースに結合している塩基（アデニン(A)、チミン(T)、シトシン(C)、グアニン(G)）の相補的な水素結合をつくり、DNA の 2 つの鎖をしっかりとつなぎ合わせて、二重らせん構造を形成する。DNA の特定の配列をタンパク質が認識するしくみは、DNA の表面に露出している塩基に特異的に結合できることである。タンパク質と DNA の二重らせんの大きさを比較すると、ひとつのタンパク質が認識できるのは 3 - 4 塩基くらいである。このような塩基数では十分な特異性がないため、タンパク質は二量体として DNA に結合するものが多い。このとき、タンパク質の二量体が点対称構造をもつと、パリンδροーム配列に結合することになる。ここでは、そのようなタンパク質による認識の対象となりそうなパリンδροーム配列を探してみよう。解答用紙に DNA は二重らせん構造になっており、それぞれの鎖は逆方向になっている。

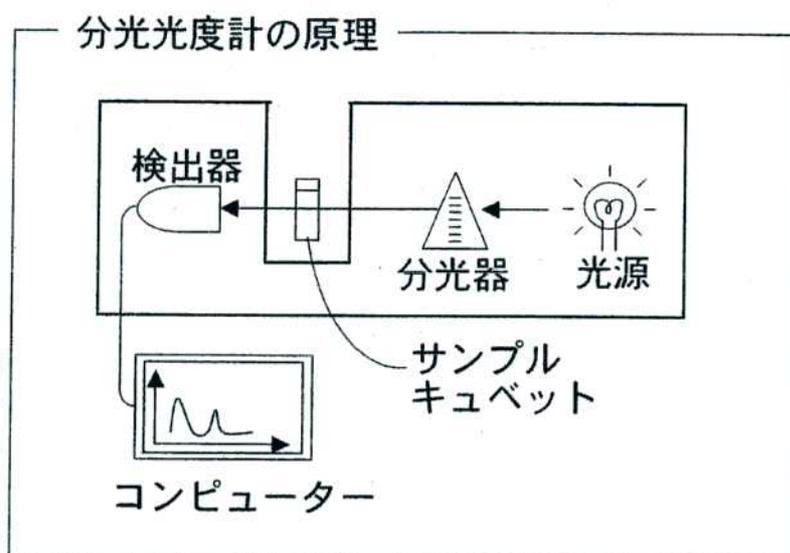


問題 6. 特定の 6 塩基のパリンδροーム配列がランダムな塩基配列の DNA の中で出現する割合を計算しなさい。

課題2 リン酸エステル加水分解酵素の反応の分光測定

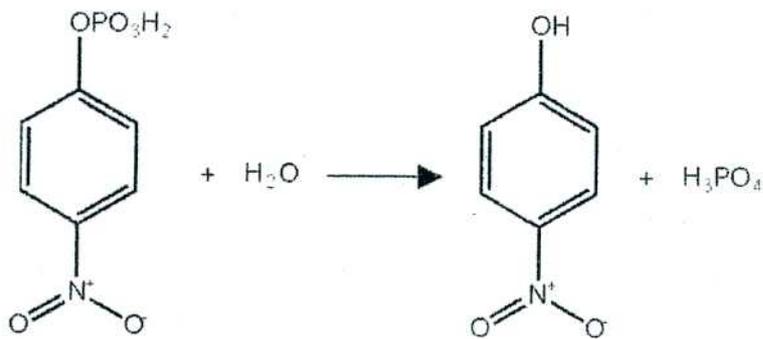
・分光測定の意義と原理

分光測定は物質（分子）の同定や定量に適しており、さまざまな分野で広く使われている。その理由は、特定の物質（分子）が特定の波長の光を吸収するという性質があるためである。この特性を利用して、ある物質の混合液や生体抽出物（さらには生体組織そのもの）の吸収スペクトル（光の吸収の波長依存性をグラフに示したもの）を測定することで、特定の物質の存在を確認することができる。また、特定の波長の光に対する吸光度から、その物質の濃度を求めることもできる。



はじめに

本実験で測定するリン酸エステル加水分解酵素は、「アルカリホスファターゼ」といわれる酵素で、細胞外に存在するリン酸エステル化合物を加水分解する。さまざまな生物が細胞外へ分泌することが知られている。この酵素はアルカリ性の広いpH範囲で高い活性をもつ酵素である。この酵素の基質特性はやや低く、本実験では本来の生物体内には存在しないp-ニトロフェニルリン酸という合成基質を用いている。この物質をわざわざ選んだ理由はこの物質はほとんど光を吸収しないが、加水分解されて生じるp-ニトロフェノールは青色光を強く吸収し、見かけは黄色を呈する。



p-ニトロフェニルリン酸の加水分解反応

このような合成基質を用いて加水分解反応を行わせると、反応の進行を分光解析によって容易に定量的に解析することができる。

反応測定の作業

p-ニトロフェニルリン酸を含み緩衝液に一定量の酵素液を加え、0, 5, 10, 15, 20分間、保温して反応を行わせる。この保温の後、水酸化ナトリウム水溶液を加え、反応を停止させる。なお、保温時間ゼロとは、酵素液と水酸化ナトリウム水溶液を同時に加える。(ここまでの作業はすでに済ませており、各実験台にはその停止した反応液が配布されている)

作業. 用意されている5本の試験管に入っている酵素反応液中の p-ニトロフェノールを順番に、分光光度計で測定しなさい。

(以下、各自が行う。全員が作業を見守り、分光光度計の使い方を理解する)

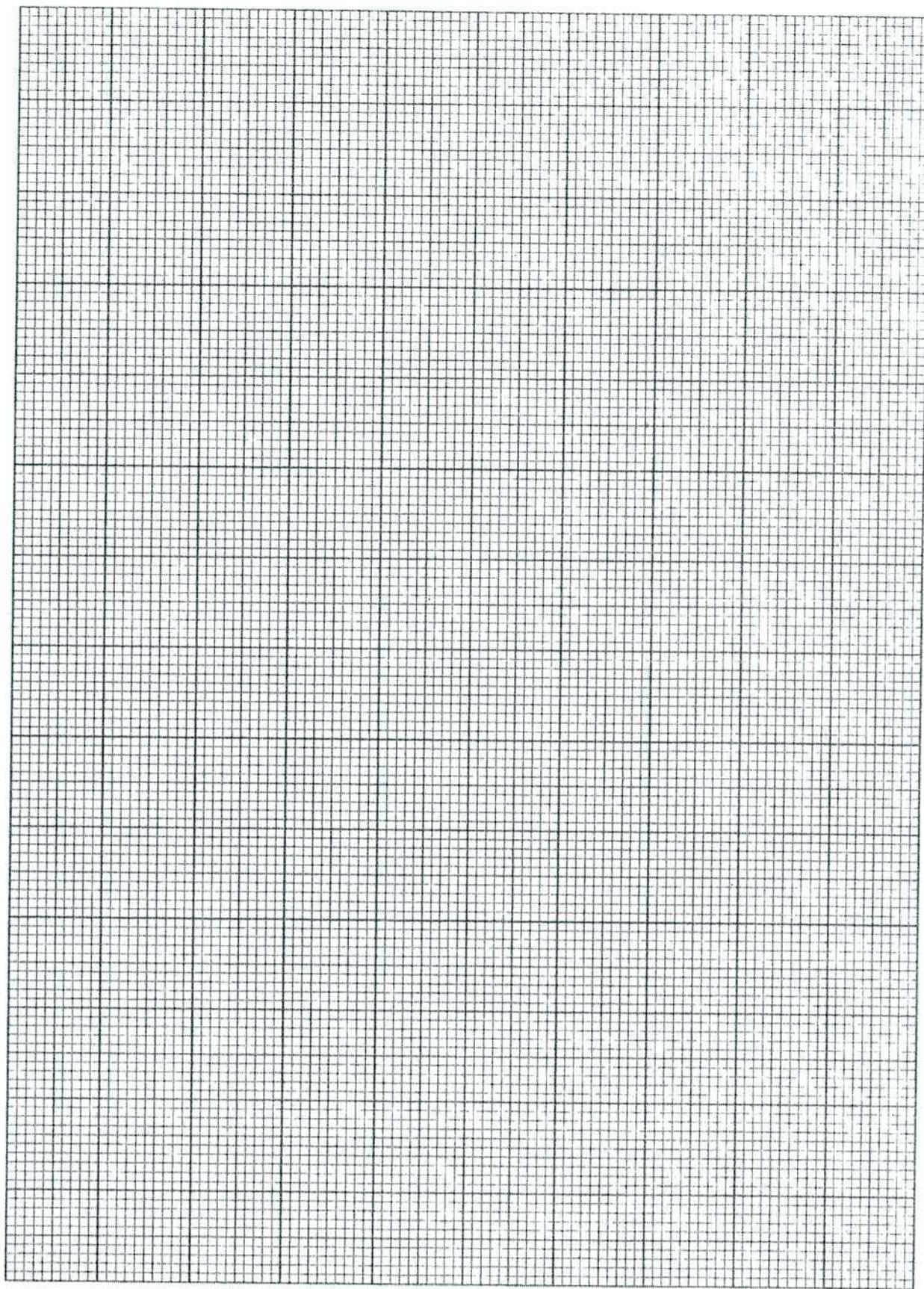
作業1. 分光光度計の波長を 550 nm に設定しなさい。サンプルホルダーの前に白い紙片をおき、その波長の光の色を記録しなさい。

作業2. 波長を 405 nm に設定しなさい。自分の酵素反応液の試験管5本のうち、4本をキュベットに入れ、その吸光度を、反応時間と対応させて記録しなさい。

問題1: グラフ紙に反応時間とそのときに測定値(吸光度)をプロットしなさい。

残りの問題は、全員がそろったときにわたします。

番号	名前
反応時間(分)	405nm吸光度
0	
5	
10	
15	
20	



課題 2

このグラフから、吸光度の増加速度を20分あたり1として、次の計算をなさい。もし、この値とグラフの傾きが大きくちがっている場合は、指導員に相談しなさい。制限時間があります。

問題 2. 1秒あたりの p-ニトロフェノールの吸光度の増加度（増加速度）を求めなさい。値は 1.5×10^6 (毎秒) などと表しなさい。

問題 3. p-ニトロフェノールの吸収効率は1モル濃度あたり20000（吸光度単位）である。この酵素反応の速度を毎秒あたりのモル濃度の変化量で表しなさい。

問題 4 : この反応液には、リン酸エステル加水分解酵素が $1 \text{ ng/mL} (=1 \times 10^{-9} \text{ g/mL})$ の濃度で入っている。この酵素の分子量を考慮すると、この反応液中の酵素濃度は 2.5×10^{-11} モル濃度である。この酵素1分子が1分間に反応を触媒する回数を計算せよ。

課題3 生体物質の吸収スペクトルによる判別

作業：提供された DNA の水溶液とタンパク質の水溶液の吸収スペクトルを参考にして、与えられた2つの溶液の吸光度を測定し、どちらの溶液であるかを判別しなさい。なお、DNA の水溶液とタンパク質の水溶液のスペクトルデータを配布する。ちなみに、DNA はサケ精子由来、タンパク質は卵白リゾチームという酵素である。

問題

1：それぞれのキュベットに入っている物質を同定するためにもっとも適した波長を考えて、吸光度を測定しなさい。

作業1. 分光光度計の波長を 580 nm に設定し、サンプルホルダーの前に白い紙片をおき、その波長の光の色を記録しなさい。

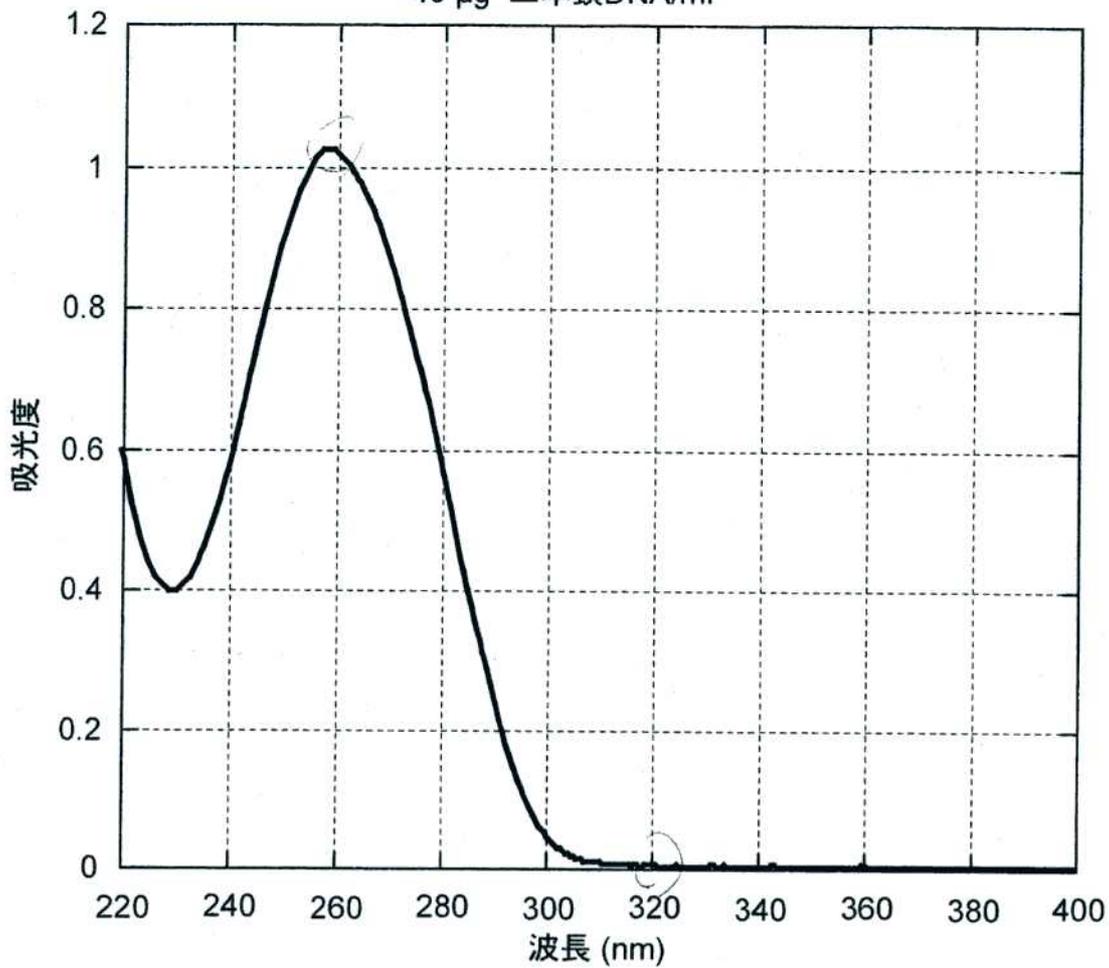
作業2. そのままサンプル室の蓋を閉じ、吸光度を測定しなさい。

作業3. 2つのキュベットに入っている溶液を DNA かタンパク質かを判別するのにもっとも適した波長を選び、吸光度を測定し、記録しなさい。測定点は何カ所でもよいが、制限時間3分とする。

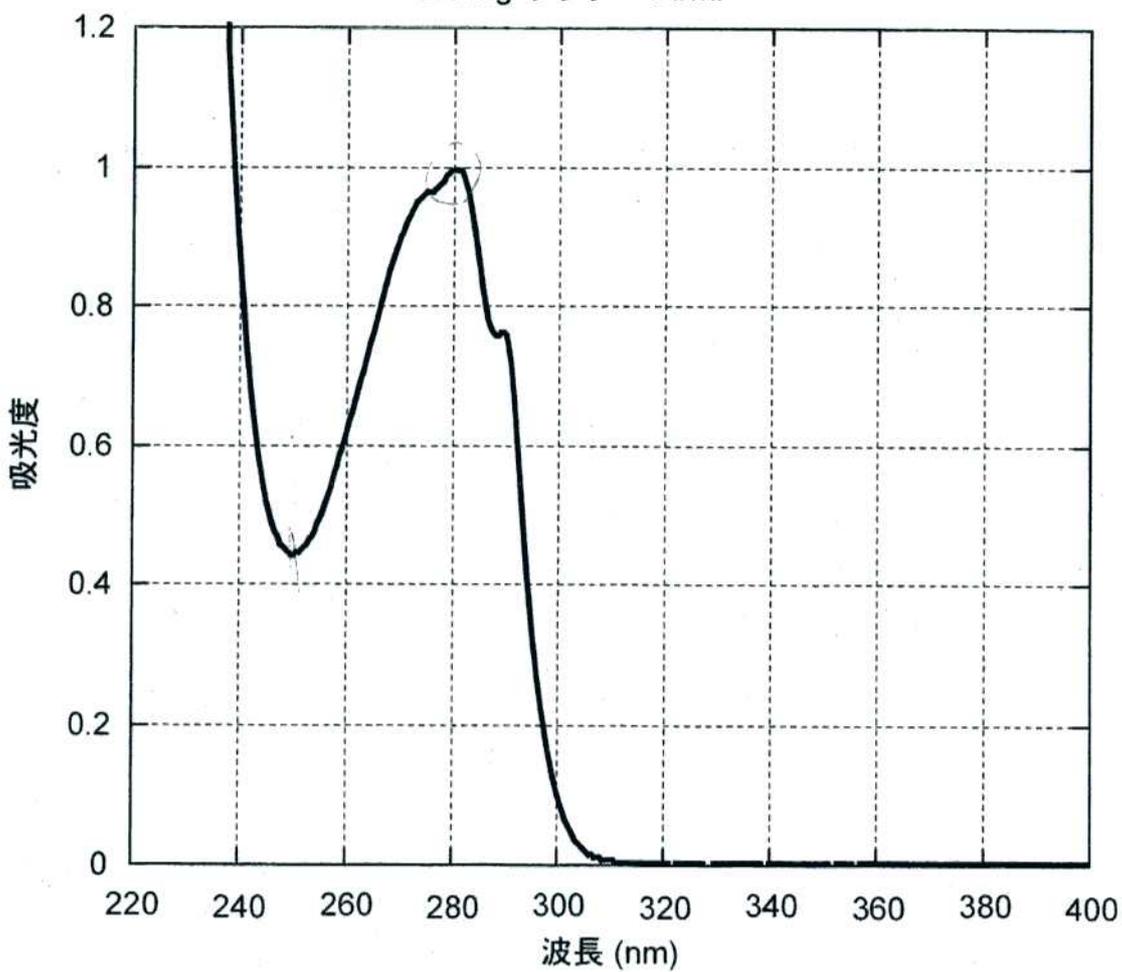
作業4. 2つのキュベットに入っている溶液を判別しなさい。

問題2：作業で測定した波長と吸光度のデータから、それぞれの溶液が DNA かタンパク質のどちらであるかを根拠を示して答えなさい。(制限時間5分)

40 μ g 二本鎖DNA/ml



0.4 mg リゾチーム/ml



課題3 生体物質の吸収スペクトルによる判別

作業：提供された DNA の水溶液とタンパク質の水溶液の吸収スペクトルを参考にして、与えられた2つの溶液の吸光度を測定し、どちらの溶液であるかを判別しなさい。なお、DNA の水溶液とタンパク質の水溶液のスペクトルデータを配布する。ちなみに、DNA はサケ精子由来、タンパク質は卵白リゾチームという酵素である。

問題

1：それぞれのキュベットに入っている物質を同定するためにもっとも適した波長を考えて、吸光度を測定しなさい。

作業1. 分光光度計の波長を 580 nm に設定し、サンプルホルダーの前に白い紙片をおき、その波長の光の色を記録しなさい。

作業2. そのままサンプル室の蓋を閉じ、吸光度を測定しなさい。

作業3. 2つのキュベットに入っている溶液を DNA かタンパク質かを判別するのに最も適した波長を選び、吸光度を測定し、記録しなさい。測定点は何カ所でもよいが、制限時間3分とする。

作業4. 2つのキュベットに入っている溶液を判別しなさい。

問題2：作業で測定した波長と吸光度のデータから、それぞれの溶液が DNA かタンパク質のどちらであるかを根拠を示して答えなさい。(制限時間5分)