

令和 7 年度鹿児島大学医学部医学科

第 2 年次学士編入学試験

学力試験

令和 6 年 6 月 1 日 午前 9 時 00 分～午前 11 時 30 分

注 意 事 項

1. 試験開始の合図があるまで、この問題を開いてはいけません。
2. この問題冊子は全部で 12 ページあります。
落丁、乱丁または印刷不鮮明の箇所があれば、手をあげて監督者に知らせなさい。
3. 受験番号は、必ずすべての解答用紙に記入しなさい。
4. 8 枚の解答用紙が渡されます。それぞれに、指定された問題についての解答を指定された解答欄内に記入しなさい。記入場所を誤った解答については、その解答に限り無効とします。
5. 解答用紙は、持ち帰ってはいけません。
6. 英数字は解答欄の 1 マスに複数文字記入しても良い。

例)

RNA	ポ	リ	メ	,	100	名	が	参
-----	---	---	---	---	-----	---	---	---

第1問 次の文章を読み、下記の問題に答えなさい。

免疫系は自己と非自己を認識し、病原体などの有害な非自己を排除する生体防御システムである。ヒトは進化の過程で、非常に高度な免疫システムを発達させてきた。

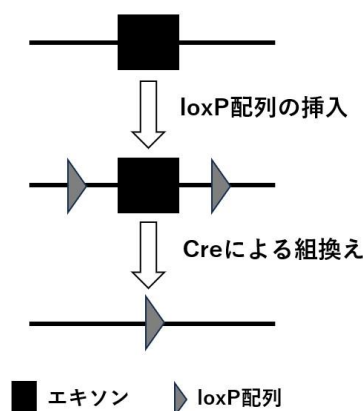
地球上の生物は核の有無によって大きく (A) と (B) に分類される。米国の微生物学者カール・ウーズはリボソームRNAの塩基配列を用いて、(B) をさらに (C) と (D) へ分類した。(C) には (D) と比較して、感染症を引き起こす多くの病原性微生物が含まれる。(D) には厳しい生育環境(高温・高塩濃度)でも検出される微生物が多く含まれる。このような分類体系は (E) 説と呼ばれ、現在広く受け入れられている。多細胞動物は (A) に分類され、一般的に、食食細胞を主体とする (F) 免疫系をもつ。顎を持つ有顎脊椎動物はT細胞やB細胞によって自己と非自己を厳密に認識する (G) 免疫系を持つ。

あなたは哺乳類に致死的な感染症を引き起こす α ウイルスに対する免疫応答を研究している免疫学者である。最近、あなたはマウス樹状細胞(代表的な抗原提示細胞)から樹立された JAWSII 細胞に発現している X 遺伝子が α ウイルス由来タンパク質の分解(抗原プロセッシング)に重要な役割を担うことを見出したとする。すなわち、JAWSII 細胞の X タンパク質は α ウイルスの抗原タンパク質を分解し、その分解産物である抗原ペプチドが主要組織適合遺伝子複合体(MHC)を介してT細胞へ提示される。JAWSII 細胞の抗原提示によって、 α ウイルス特異的T細胞が活性化され、 α ウイルスに感染した細胞を排除する。

しかし、これは細胞株を用いた実験結果であるため、生体内における X 遺伝子の重要性は不明である。そこで、あなたは X 遺伝子機能欠損マウス(X-KO マウス)を作製し、 α ウイルスの感染実験をおこなうことで、 α ウイルス感染症に対する宿主の免疫応答における X 遺伝子の重要性を検証することにした。

【実験1】

Cre リコンビナーゼ (Cre) はバクテリオファージ由来のトポイソメラーゼであり、ゲノム上の loxP 配列に結合して、部位特異的組換えを引き起こす。例えば、欠損させたいエクソンを loxP 配列で挟んだ場合、同一の細胞に Cre 遺伝子を発現させることで、ゲノム上からそのエクソンを欠損させることができる(図1)。この性質を応用して、特定のゲノム領域の編集が可能となるため、Cre-loxP システムは遺伝子改変動物を作製するために欠かすことのできないツールとなっている。



一般的に、タンパク質はその機能を担う特定のアミノ酸配列(本問ではドメインと呼ぶ)をもつ。X-

図1 Cre-loxPシステムによるゲノム編集

KO マウスを作製するために、あなたは X 遺伝子の機能を担うドメインをコードするエクソンを推定し、その領域を Cre-loxP システムで欠損させる戦略を考えた。野生型 (WT) マウス (遺伝子改変をおこなっていない通常のマウス) の X 遺伝子は 3 つのエクソンから構成されている (図 2A)。ドメインをコードするエクソンを推定するために、各エクソンを欠損した変異体 X 遺伝子を作製し、JAWSII 細胞に WT または変異体 X 遺伝子を強制発現させた。なお、変異体を作成する際には、それぞれのエクソンがコードするアミノ酸配列がフレームシフトで変化しないように工夫した。その後、抗原プロセッシングを受けると蛍光する抗原タンパク質 (DQ-OVA) を取り込ませることで、WT または変異体 X タンパク質の抗原プロセッシング能を評価した (図 2B)。平均蛍光強度が高いほど、抗原プロセッシング能が高いことを示す。なお、強制発現させた WT または変異体 X 遺伝子の発現量は著しく高く、JAWSII 細胞の内在性 X 遺伝子の働きは無視できる。また、強制発現させた WT または変異体 X 遺伝子の発現量はほぼ等しいものとする。

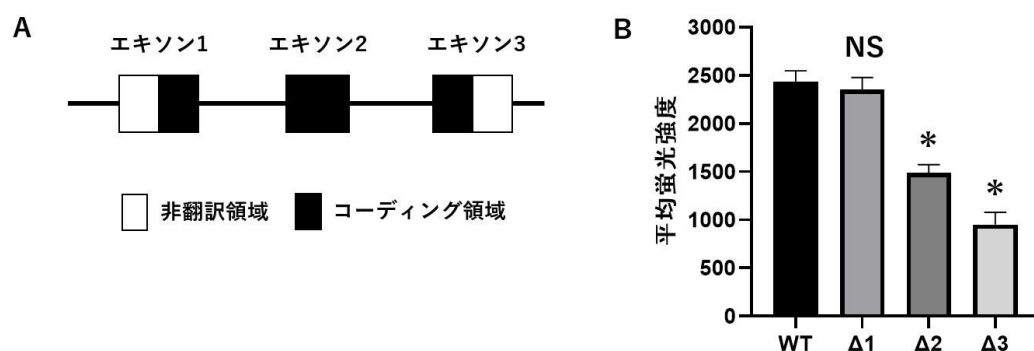


図2 変異体X遺伝子を発現させたJAWSII細胞の抗原提示能

A. 遺伝子Xのゲノム構造

B. 各エクソンを欠損した変異体の抗原プロセッシング能

WTはエクソンを欠損していない野生型X遺伝子を示す。Δ1、Δ2およびΔ3は、それぞれエクソン1、2および3をそれぞれ欠損させた変異体X遺伝子を示す。WTと比較して、NSは統計上有意味な差が無く、*は差があることを示す。

【実験 2】

実験 1 の結果をもとに欠損させるエクソンを決定し、その両側に loxP 配列を挿入したマウス (X-loxP マウス) を作製した。

一般的に、プロモーター領域の下流に任意の遺伝子を挿入した場合、そのプロモーター領域依存的に挿入した遺伝子が発現される。全ての細胞における X 遺伝子のエクソンを欠損させる目的で、①Y 遺伝子のプロモーター領域の下流に Cre 遺伝子を挿入したマウス (Y-Cre マウス) と X-loxP マウスを掛け合わせて、X-KO マウスの作製をおこなった。

Y-Cre マウスでは、Y 遺伝子の開始コドンと Cre 遺伝子の開始コドンが共有されているため、Cre 遺伝子を挿入した染色体では、正常な Y 遺伝子の mRNA を転写することが出来ない。そのため、Y-Cre マウスは片方の染色体に Cre 遺伝子が挿入されていない Y 遺伝子をもつ (イ) 接合体で維持する必要がある。

両方の染色体の X 遺伝子に loxP 配列が挿入された (ロ) 接合体の X-loxP マウスと Y-Cre

マウスを掛け合わせて得られた Cre 遺伝子を持つ個体 (F1) と、再度 (ロ) 接合体の X-loxP マウスを掛け合わせた場合、両染色体の X 遺伝子のエキソンが欠損した X-KO マウスとそれ以外のマウスは (ハ):(ニ) の割合で誕生する。

加えて、X 遺伝子は Z 細胞に高発現していることから、Z 細胞特異的に X 遺伝子を欠損させたマウス (X^Z-KO マウス) も作製した。

【実験 3】

WT マウスおよび作製した X-KO と X^Z-KO マウスへ α ウイルス感染させることで α ウイルス感染症を発症させた。その後、感染マウスの生存率を解析した結果、図 3 のような結果を得た。

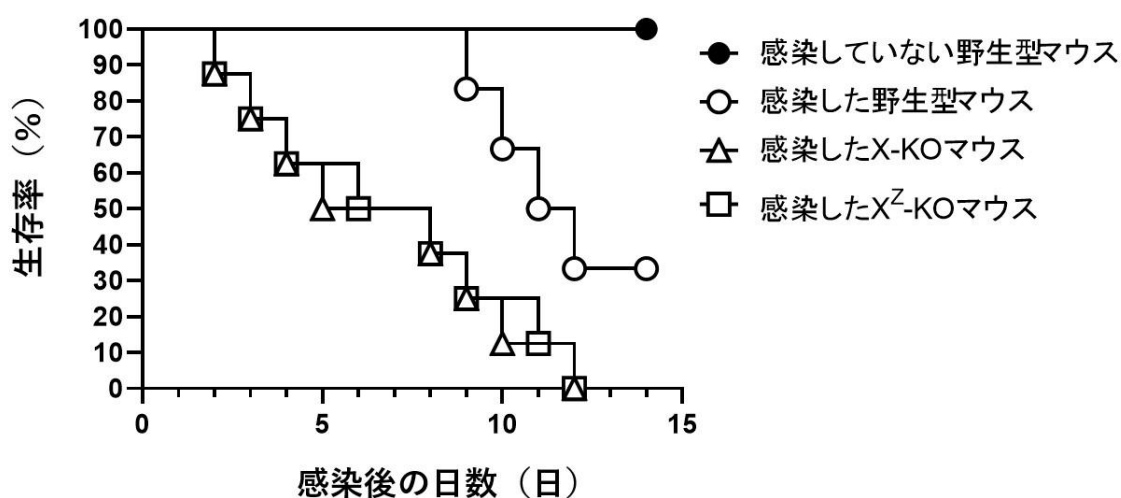


図3 α ウイルス感染症における各マウスの生存率

- (1) 問題文の空欄 A～G に適切な語句を記入せよ。
- (2) 図 2B を参考に、X 遺伝子のドメインをコードするエキソンを推定し、その根拠を 100 字以内で記述せよ。なお、複数のエキソンを選択しても良い。
- (3) 下線部①の記述に関して、Y 遺伝子として適切な遺伝子を例示し、全ての細胞における X 遺伝子のエキソンが欠損できる理由を 100 字以内で記述せよ。
- (4) 問題文の空欄イ～ニに適切な語彙または数字を記入せよ。なお、(ハ) と (ニ) にはアラビア数字を記入すること。

- (5) 図 3 から読み取れる X 遺伝子の役割を 150 字以内で記述せよ。記述する際には、まず図 3 において着目した点を指摘した後、X 遺伝子の役割を記述すること。
- (6) ある種の遺伝子では全ての細胞での遺伝子破壊をおこなうと胎生致死になる場合があり、成体におけるその遺伝子の機能を調べることが出来ないことがある。このようなケースでも、成体におけるその遺伝子（タンパク質）の機能を解析できる方法とその原理を 4 つ考えよ。文字数は問わないが、解答欄のスペース内に収めること。なお、恒常的かつ細胞特異的な遺伝子機能欠損実験は除いて考えよ。

第2問 (1) ～ (5) の各問いに答えなさい。

制限酵素は、(A) がバクテリオファージの感染など外界からの侵入に対して身を守るための防御機構として初めて発見され、その多くは外来の DNA を (B [一般的な酵素名]) 活性で分解することによって、バクテリオファージの増殖を“制限”する。制限酵素はⅠ～Ⅲ型の3種類に分けられ、一般的に遺伝子組換え実験には、Ⅱ型制限酵素が用いられる。Ⅱ型制限酵素は、多くの場合、4～8塩基対からなる相補鎖の配列も互いに同じである (C) 配列を認識し、認識部位の内部または認識配列から特定の近い距離で切断する。

大腸菌のプラスミド由来のベクターに目的とするタンパク質をコードする遺伝子を組み込むことで、大腸菌を用いて目的タンパク質を発現させることが出来る。以下に、制限酵素を用いて X 遺伝子をベクターに組み込む実験例の流れを示す。

両末端に制限酵素 *Bam*HI 認識配列を含む配列を付加した X 遺伝子の完全長 cDNA [5,000 塩基対] (図 1) と大腸菌のプラスミド由来ベクターDNA [3,000 塩基対] (図 2) を制限酵素 *Bam*HI で完全分解した。その後、*Bam*HI 処理した X 遺伝子 cDNA とベクターDNA を混ぜて DNA リガーゼ反応液中で連結した。その反応液 (DNA 濃度は 0.02 μ g/ μ L とする) のうち 1 μ L を、大腸菌懸濁液 99 μ L に形質転換し、400 μ L の高栄養液体培地を加えて 1 時間培養したのち、うち 100 μ L をアンピシリン 50 μ g/mL を含む栄養寒天培地に塗布して培養した。その結果、寒天培地上に 200 個のコロニーが形成された。

なお、図 2 はベクターDNA の構造のみであり、X 遺伝子 cDNA 断片の配列は含まない。

図 1

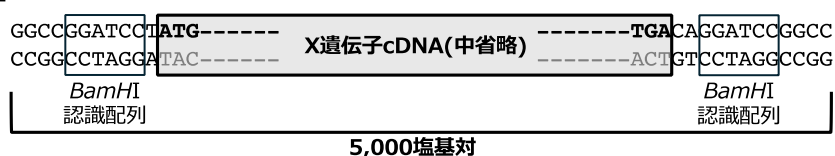
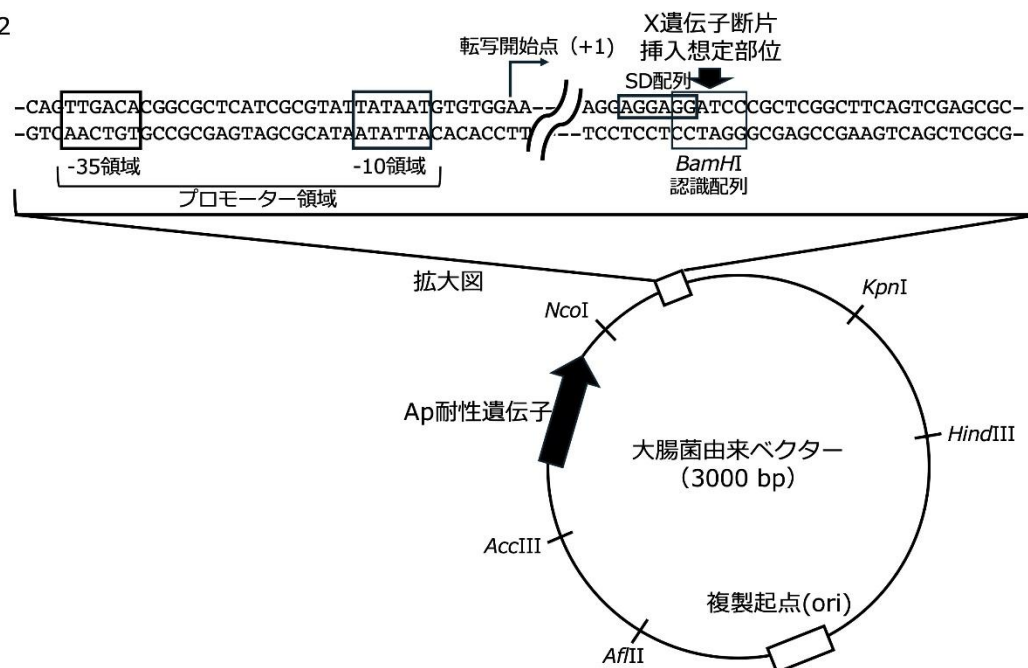
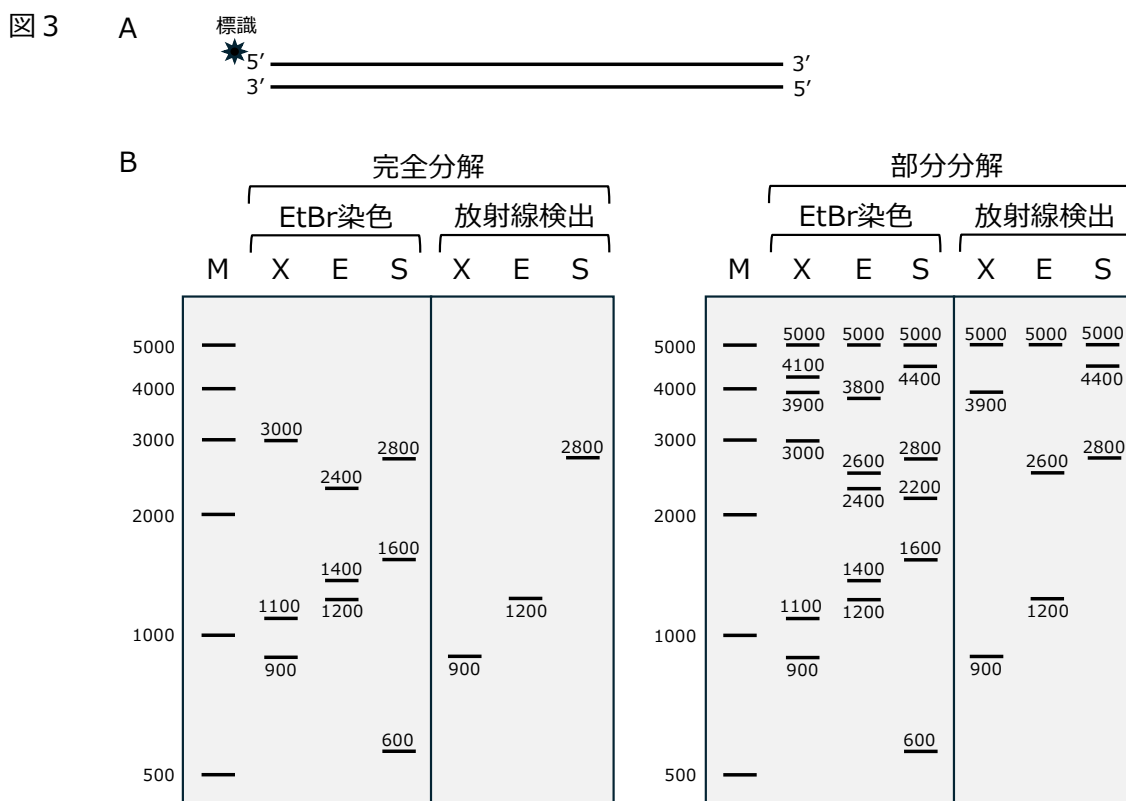


図 2



- (1) 文中の (A)、(B)、(C) に当てはまる語句を答えなさい。
- (2) X 遺伝子の導入実験で、形質転換した DNA 1 μg あたり、計算上何個のコロニーが形成されるかを答えなさい。
- (3) 下線部で形成された独立したコロニーのうちランダムに選定した 10 個の大腸菌について、それぞれ X タンパク質の発現有無を確認したところ、いずれの大腸菌からも目的タンパク質の発現が見られなかった。その考えられる原因と改善法を 2 つ、それぞれ 200 字以内で答えなさい。なお、以下の 3 点に留意して答えること。
- ① クローニング過程で X 遺伝子 cDNA 断片およびベクターの配列に変異は生じない
 - ② X 遺伝子が大腸菌に正しく導入された場合には十分なタンパク質発現が起こる
 - ③ X 遺伝子 cDNA 断片内部に制限酵素 *AccIII*、*AflIII*、*BamHI*、*HindIII*、*KpnI*、*NcoI* の認識配列は存在しない
- (4) 図 1 に示した X 遺伝子 cDNA 断片 (5,000 塩基対) の開始コドン側の 5'末端を放射性同位元素で標識した (図 3A)。次に、標識した X 遺伝子断片を 3 種類の制限酵素 (*XbaI*, *EcoRI*, *SmaI*) のそれぞれで完全分解および部分分解し、切断された DNA 断片を電気泳動した。図 3B は、泳動後にエチジウムブロマイド (EtBr) で DNA を染色し紫外線で可視化した泳動像、同じく泳動後にオートラジオグラフィーで検出した泳動像である。この DNA 断片を 3 種類全ての制限酵素で完全分解したとき、最も短い DNA 断片と最も長い DNA 断片の長さ (塩基対) をそれぞれ答えなさい。なお、M はサイズマーカー、X, E, S はそれぞれ *XbaI*、*EcoRI*、*SmaI* で処理した DNA 断片の泳動像を示す。



(5) 以下の問いに答えなさい。

生物種によって保有する tRNA プールは多様であり、一般的に、使用頻度の高いコドンを読み解く tRNA は細胞内の存在量が多く、使用頻度の低いコドンを読み解く tRNA は少ないとされている。表 1 にヒトと大腸菌のコドン使用頻度の例を示す。ヒトのタンパク質を大腸菌で発現させた場合、効率良く目的タンパク質が得られないことがある。アミノ酸を 1 つ例に挙げてその原因を考察し、発現効率を上げるための改善法と併せて 200 字以内で答えよ。

表 1 ヒトと大腸菌のコドン使用頻度の例 (*1,000 コドンあたりの使用頻度)

著作権の関係上、省略

出典：かずさ DNA 研究所のデータをもとに作成

ヒト(homo sapiens) :<http://www.kazusa.or.jp/codon/cgi-bin/showcodon.cgi?species=9606>

大腸菌(Escherichia coli): <http://www.kazusa.or.jp/codon/cgi-bin/showcodon.cgi?species=37762>

第3問 自由エネルギー変化に関する以下の問題に答えなさい

(1) 定温、定圧下では反応系の自由エネルギー変化 ΔG とエンタルピー変化 ΔH 、エントロピー変化 ΔS の関係は $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ であらわされる。 T は絶対温度である。以下の文章の(a) (b) (c)にそれぞれあてはまる数式、語句、不等号を入れなさい。

可逆過程では $\Delta S = (a)$ である。吸熱反応でかつエントロピーが(b)する反応は自然の状態では進行しない。発熱反応でかつエントロピー変化の符号が負である場合、 $|\Delta H|$ (c) $|T\Delta S|$ のときに反応が進行する。

(2) 解糖系はグルコースを酸化してエネルギーを ATP の形で獲得し、他の代謝経路に中間体を供給する重要な代謝経路である。ホスホエノールピルビン酸のピルビン酸への変換はピルビン酸キナーゼによって触媒される。表 1 のデータを用いて、この反応の標準自由エネルギー変化を求めよ。反応温度は 298K で、pH は 7.0 とする。有効数字は 3 桁とする。

(3) 栄養素の酸化過程で放出された電子は NADH あるいは $FADH_2$ の形で捕捉され、これらが電子伝達系で再酸化される時に ATP が合成される。このように栄養素の酸化では一連の酸化還元反応が連携している。電子伝達複合体 I によって触媒される反応の標準自由エネルギー変化を表 2 のデータを用いて求めよ。標準自由エネルギー変化と標準還元電位の関係は次の式で表される。

$$\Delta G^{\circ} = -nF \Delta E_0'$$

n : 電極反応に関与する電子数

F : ファラデー定数 $96.5 \text{ kJ V}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ $\Delta E_0'$: 標準還元電位の差

反応温度は 298K で、pH は 7.0 とする。有効数字は 3 桁とする。

(4) 嫌氣的解糖の最終産物である乳酸は乳酸デヒドロゲナーゼによってピルビン酸から産生される。反応 $A \rightarrow B$ の自由エネルギー変化 $\Delta G'$ は反応物と生成物の濃度に依存し一定の温度と圧力の下では以下の関係が成り立つ。

$$\Delta G' = \Delta G^{\circ} + RT \ln \frac{[B]}{[A]}$$

R : 気体定数 $8.31 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ T : 絶対温度 (K) $\ln$: 自然対数

$[A]$: 反応物の実際の濃度 $[B]$: 生成物の実際の濃度

(a) この反応における標準自由エネルギー変化を求めよ。有効数字は 3 桁とする。

(b) この反応の平衡定数を求めよ。反応温度は 298K で、pH は 7.0 とする。 $e^5 = 148$, $\sqrt{e} = 1.65$ として計算せよ。有効数字は 3 桁とする。

表1 加水分解反応における標準自由エネルギー変化

化合物	ΔG° (kJ mol ⁻¹)
ATP → AMP + PPi	-32.2
ATP → ADP + Pi	-30.5
PPi → 2Pi	-19.2
グルコース1-リン酸 → グルコース + Pi	-20.9
グルコース6-リン酸 → グルコース + Pi	-13.8
ホスホエノールピルビン酸 → ピルビン酸 + Pi	-61.9

表2 標準還元電位

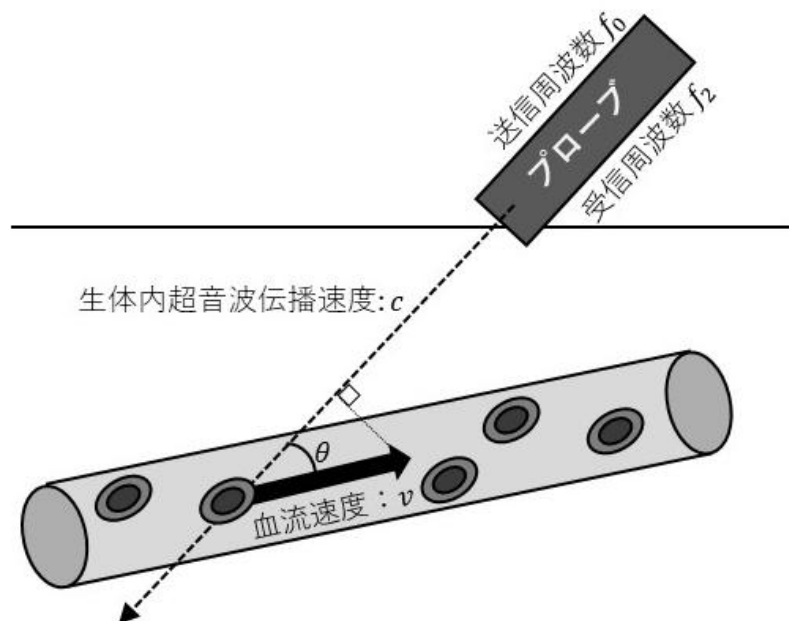
反応	E_0' (V)
$\text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$	-0.320
$\text{CoQ} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{CoQH}_2$	0.0450
$\text{シトクロムc (Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{シトクロムc (Fe}^{2+})$	0.260
$\text{ピルビン酸} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{乳酸}$	-0.185

第4問

体表から観察できない体内の状態を観察する方法の1つとして、超音波検査（エコー検査）があげられる。超音波検査では、①プローブ（探触子）を用いて体表から超音波をあて、体内の組織に反射し返ってきた反射波を電気信号に変換し画像として表示させる。②断層像を得るときには、切れ目なく連続する超音波（連続超音波）ではなくごく短時間のみ連続する超音波（パルス超音波）を用いる。超音波パルスを送ってから反射波を受信するまでの時間を計測することで、超音波を反射できる構造物が体表からどのくらいの深さにあるかを概算できる。超音波検査では、③深部ほどシグナルが減弱するため、シグナル強度を判定するには注意が必要である。

また、血管中の血流からの反射信号を基にその動態を評価する方法として、超音波ドプラ法が知られている。超音波ドプラ法では、波の発生源と観測者との間に相対的な速度が存在するときに、波の周波数が実際とは異なる値として観察される現象（ドプラ効果）を原理として用いている。送信波の周波数を f_0 、血流速度を v 、音速を c 、血流と送信超音波ビームの交差角を θ とすると（下図）、血球に照射される超音波の周波数 f_1 は（A）と表される。一方、血球の散乱エコーがプローブにより受信される際の周波数 f_2 は f_1 を用いて（B）と表される。従って f_2 は f_0 を用いて（C）と表される。血流は音速と比較して十分に遅いため（ $c \gg v$ ）、（C）式は、二乗項を含まず分母に三角関数を含まない近似式（D）と表せる。従って、送受信における周波数のシフト δf は（E）と表せる。血流がプローブに向かうとき δf は（F）となる。また、血流があるときでも（G）の時にはドプラ効果は消失し、血流の向きは判定できない。従って血流の向きを調べるとき、血管に対するプローブの向きは重要となる。

- (1) 下線部①について、通常、体表に検査用ゼリーを塗布してからプローブを体表にあてる。これはプローブのすべりをスムーズにする以外に、断層像を得るためには必須の工程である。どうして検査用ゼリーが必要なのかに関して理由を考察せよ。
- (2) 下線部②に関して、パルス超音波ではなく連続超音波を用いると正確な断層像を得ることができない。その理由を記述せよ。
- (3) 下線部③に関して、どのような理由で深部ほどシグナルが減弱すると考えられるか？その理由を3つ記述せよ。
- (4) 文中の（A）、（B）、（C）、（D）、（E）、（F）、（G）に当てはまる数式をかけ。



第5問

以下の文章を読み、問いに答えよ。

幸福度は年齢とともにどのように変化するのだろうか？これは高齢化社会の日本において重要な社会科学的な問いである。議論はいまだ続いているが、ある研究によれば、幸福度は年齢に対してU字曲線を描くとされる（右図）。この研究では幸福度と人生の満足度をほぼ同義としており、幸福度は若年期の後に低下し、老年期に再び上昇する。

このU字曲線を生み出す要因は何であろうか？一つの仮説によれば、個々人にかかるストレス量で

説明できるとされる。例えば、50歳前後では、仕事面で中間管理職としての責務が増え、私生活では子育ての金銭的負担や親の介護の苦労が増加する。

本設問では、このU字曲線がストレス量以外の未知の生物学的な要因によって引き起こされるという立場で検証を試みる。検証を単純化するために、U字曲線が国、性別、婚姻状況、収入に関わらず認められるものと仮定する。

- (1) あなたの生物学的要因に関する仮説を1文で述べよ。
- (2) その仮説に至った推論を100字以内で述べよ。
- (3) その仮説を確かめる実験を考案し、200字以内で述べよ。

仮に動物を用いた実験を行う際は、動物の寿命としてヒトは85年、ニホンザルは25年、マウスは3年とすること。ただし、仮説検証に必ずしも実験動物を用いなくてもよい。

- (4) 考案した実験の問題点を100字以内で述べよ。

著作権の関係上、省略

図：年齢と人生に対する満足度の関係。米国の研究の一例。2008年から2018年まで調べた1906993回分の共変量補正データはU字曲線を示す。(Journal of Population Economics, Vol. 34, “Is happiness U-shaped everywhere? Age and subjective well-being in 145 countries” by Blanchflower, 2021, Springer Nature より改変)