

大学院水産科学院修士課程

筆記試験【専門科目】問題紙

令和6年8月20日(火)

解答上の注意

- 試験開始の合図があるまで問題紙を開いてはいけない。
 - 自分が志望する「専攻名」「講座名」が、下欄に正しく表示されているか確認すること。
 - 解答用紙は、出題番号(=出題内容)ごとに1枚である。4題を選択解答することになるため、解答用紙は合計4枚になる。
 - 解答用紙には必ず、「受験番号」「科目記号」「出題番号・出題内容」を記入すること。記入しなかった場合は無効となることもあるので注意すること。
 - 別紙の「選択した出題内容記入票」は、答案とともに回収するので、試験終了までに記入を終えること。
 - 問題紙によっては複数ページにわたるものがあるので注意すること。
 - 試験開始の合図があったらまず最初に、問題紙に落丁、印刷の不鮮明等がないか確かめること。
- ※ この問題紙は、試験終了後回収する。

専攻名： 海洋応用生命科学専攻
講座名： 増殖生物学講座

科目記号	科目名	出題番号	出題内容	備考
G	増殖生物学	211	水族生理学	出題番号 211, 212, 221, 222, 231, 232 の計6題から, 4題を選択解答
		212	水族生理学	
		221	水族繁殖学	
		222	水族繁殖学	
		231	水族生化学	
		232	水族生化学	

科目記号	科目名
G	増殖生物学

出題番号 211, 212, 221, 222, 231, 232 の計 6 題から、4 題を選択して解答しなさい。

解答用紙には、科目記号・科目名、出題番号を記入すること。

出題内容：水族生理学

出題番号 211

脊椎動物の筋細胞（筋線維）の分化に関する以下の文章を読み、問い合わせに答えなさい。

一般に細胞が分化するとき、細胞はその細胞が持つ特異的な機能を獲得する。たとえば、筋細胞が分化するには、その機能を発揮するために必要となるアクチンやミオシンなどのタンパク質を合成し、細胞内にアクチンフィラメントとミオシンフィラメントを作り出し、さらにこれらを正しく配列させてサルコメアを形成し、これを正しく連結させて線維状の構造体である筋原線維を作りださなければならない。筋原線維で満たされた筋細胞は、その機能である収縮能を獲得する。すなわち、アクチンやミオシンなどのタンパク質合成の調節が、筋細胞分化の調節に直結すると言える。

アクチンやミオシンの遺伝情報は DNA に保存されている。これらのタンパク質を合成するには、それぞれの遺伝情報が DNA から mRNA へと転写され、その後タンパク質へと翻訳されることで起こる。タンパク質合成の調節が起こる重要な段階の一つが転写段階であり、その調節をつかさどる因子は（ア）と呼ばれる。遺伝子には（イ）と実際に転写される領域とがあり、（イ）は転写開始に必要な領域（プロモーター）と転写頻度の制御に必要な領域（ウ）からなる。（ウ）には、（ア）が結合すると転写を活性化する（エ）配列と抑制する（オ）配列がある。

筋細胞の分化調節には 4 つの（ア）① が関与することが知られている。これらのうち、アクチンやミオシンの合成を調節するのは MyoD および Myogenin である。これらは E-Box と呼ばれる（エ）配列に結合することで、アクチンやミオシン遺伝子の転写を活性化する。

- (1) 文章中の（ア）～（オ）にあてはまる語句を答えなさい。（10 点）
- (2) 下線部①に示した因子のうち、MyoD および Myogenin 以外の 2 つの因子の名前とそれとの筋細胞分化における機能を答えなさい。（8 点）
- (3) ミオシンフィラメントとそれを構成するミオシン分子の構造を模式図を用いて説明しなさい。（7 点）

以下の英文を読み、下記の（1）～（3）の問い合わせに答えなさい。

Extracts prepared from tissues containing buccal ring nerve or longitudinal radial nerve of sea cucumber induce oocyte maturation and ovulation from ovarian tissues. We purified two small peptides, a pentapeptide and a heptapeptide, from the buccal tissues of Japanese common sea cucumber, *Apostichopus japonicus* (A). Both peptides induced oocyte maturation and gamete spawning. The pentapeptide was identified as NGIWYamide. This peptide induced *in vitro* germinal vesicle breakdown and ovulation of fully grown oocytes at less than 1 pM and *in vivo* spawning at 10 nM. A synthetic derivative of the pentapeptide, NGLWYamide, was 10-100 times more potent compared to the natural NGIWYamide. The heptapeptide was less potent, inducing ovulation at 1 μ M. NGIWYamide and NGLWYamide induced a characteristic spawning behavior when injected into sexually matured individuals. Mature eggs artificially spawned were fertilized, and developed normally and metamorphosed into young sea cucumbers. The details of the production and the mechanism of action of NGIWYamide are still unclear, but the high biopotency of the peptide will aid understanding of the neuronal and hormonal control of reproduction of sea cucumber.

S. Kato et al. (2009) Neuronal peptides induce oocyte maturation and gamete spawning of sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. Developmental Biology, 326, 169-176 より一部改変し抜粋。

- (1) 下線部 (A) を和訳しなさい。(10点)
- (2) ヒトデにおいて、この文章に記載されている活性と同様の生理活性を持つ、すでに分離・同定された物質の名称を答えなさい。(1点)
- (3) この文章に記載されている生理活性物質の分離・同定を目指すことに至った水産業の背景および目的を答えなさい。(14点)

出題内容：水族繁殖学

出題番号 221

以下の文章を読み、問い合わせに答えなさい。

魚類の生殖腺の性決定は基本的には（ア）的に決まるが、多くの魚種で仔魚期（生殖腺の（イ）性分化以前）の環境水温が性決定に影響を与えることがわかっている。また、水温以外にもいくつかの環境要因も魚類の性決定に影響を与えることが知られている。例えば、シクリッドの仲間 *Apistogramma* 属では、仔魚期の環境水（ウ）が低いと雄の割合が増加する。またヨーロッパウナギでは、稚魚期の（エ）飼育により雄の割合が増加することが知られている。これらの環境要素が生殖腺の性分化に影響を与える機序は全くわかつていなかったが、近年、ヒラメやメダカにおいて、温度が性分化に影響を与える作用機序が明らかにされつつある。

- (1) () 内ア～エに入る用語を答えなさい。(8点)
- (2) ヒラメとメダカ以外で、仔魚期の環境水温によって性分化が大きな影響を受ける魚種を2種答えなさい。(4点)
- (3) ヒラメの性決定は基本的にはオスヘテロ型（XX/XY）の遺伝的性決定様式とされるが、仔魚期（性分化時期）の環境水温によって性転換がひき起こされる。どのような温度条件で表現型の性比がどのように変動するのかを XX と XY それぞれについて説明しなさい。(6点)
- (4) ある環境水温によって性転換がひき起こされる際に生殖腺で生じる分子機構は、ヒラメとメダカでは異なる。その違いを FSH シグナルの関わりを交えて転写調節の観点から説明しなさい。(7点)

出題番号 222

魚類の産卵年周期について以下の問い合わせに答えなさい。

- (1) 魚類の生殖周期は大きく3つのグループに分けられる。周年産卵するグループ以外で2つのグループそれぞれの産卵周期の様式を説明し、そのグループに属する魚種をそれぞれ2種答えなさい。(5点)
- (2) 春産卵魚を例に、環境変化が産卵周期を制御する要因について説明しなさい。(5点)
- (3) 春産卵魚が秋に再び産卵することは少ない。その考えられる理由を説明しなさい。(5点)
- (4) 春から夏にかけて産卵するタイリクバラタナゴの産卵開始、産卵停止に関わる環境要因の変化を説明しなさい。(5点)
- (5) 生殖年周期は環境刺激のみで支配されているものではない。その例を、ニジマスとヒラメの過去の研究例をもとに説明しなさい。(5点)

出題内容：水族生化学

出題番号 231

以下の英文を読み、下記の（1）～（5）の問い合わせに答えなさい。

Lipids plays a number of roles in animal life histories. These include structural functions in membranes, use as a substrate for catabolism, provision of physical protection for organs, insulation, buoyancy, and various functions as chemical messengers, both intracellularly and extracellularly. In teleost fish, as in other animals, lipids are also prominent components of egg yolk and are thus a major source of nutrient for the embryo. (A)

Yolk is properly defined as all material deposited in an oocyte that subsequently serves as nutrient for the embryo. In teleost fishes, the major yolk components consist of lipoproteins, phosphoproteins and, frequently, discrete lipid inclusions ranging in form from small, scattered droplets to a large globule. The lipoprotein yolk complex (B) includes both phospholipids and neutral lipid, primarily triacylglycerol (TAG). The discrete lipid droplets or globules (C) are normally composed of one or more neutral lipids, namely TAG, wax ester or steryl ester. Frequently in the literature, the term “yolk” is restricted to the lipoprotein-phosphoprotein complex and the discrete lipid inclusions are designated as “oil”.

In most studies of egg or oocyte lipid composition, separation of lipoprotein yolk from oil has not been performed prior to analysis of the lipid. Rather, lipid extracts have been prepared from whole ovaries, ovulated eggs or embryos. Because lipoprotein yolk in possessing discrete oil droplets also contains neutral lipid, this approach reduces the precision of knowledge concerning the compartmentalization of the various neutral lipid classes in the different yolk components. (D)

Wiegand, M. D. (1996) Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries 6, 259–286より一部改変して抜粋。

- (1) 下線部(A)を和訳しなさい。(5点)
- (2) 下線部(B)の前駆物質名を答えなさい。(2点)
- (3) (2)で答えた物質の産生機構について、脳下垂体を起点とした種々のホルモンによる調節を、各ホルモンの受容体を介した作用機序を含めて説明しなさい。(8点)
- (4) 下線部(C)について、卵母細胞内にそれが見られる魚種名を5つ挙げなさい。ただし、一つの属につき1種のみとする。(5点)
- (5) 下線部(D)について、何故そうなるのか理由を説明しなさい。(5点)

出題番号 232

以下の文章を読み、下記の（1）～（5）の問い合わせに答えなさい。

魚類の成長は様々な生体分子により制御されている。ここで、ある養殖対象魚種 Aにおいて、血液中に存在する成長因子 B に着目し、その機能解明に向けた研究を行いたい。なお、成長因子 B は分子量約 5 万の蛋白質であり、別種の先行研究では、筋肉を構成する細胞上の受容体を介して同細胞群の増殖・成長を促す。

- (1) 成長因子 B の全翻訳領域を含む組換え蛋白質を、大腸菌発現系を用いて作製する際、連続した 6 残基のヒスチジン (His タグ) を成長因子 B の C 末端に付加した。His タグは組換え蛋白質の作製過程に利用できる。あなたが考える His タグの利用目的を 1 つ挙げ、何故 His タグが利用できるのか述べなさい。(5 点)
- (2) 組換え成長因子 B の精製過程において、同蛋白質を含む溶液を濃縮し、かつ同溶液の緩衝液を別の緩衝液に置換したい。あなたならどの様な方法で行うか、具体的な実験操作名を挙げその原理説明も含めて記述しなさい。(5 点)
- (3) 精製した組換え成長因子 B の純度が高いことを示すには、どの様な生化学的な解析を行い、どの様な結果が示されれば良いか記述しなさい。(4 点)
- (4) 精製した組換え成長因子 B を抗原として用い、家兔抗 B 血清を作製した。この抗血清中に存在し、一般に「抗体」と呼ばれる蛋白質の名称を述べなさい。(1 点)
- (5) ゲノム編集を用い、成長因子 B をコードする遺伝子 B のエクソン 1 に変異を導入したホモ接合型変異導入系統の魚種 A を 2 種類 (①1 塩基欠損系統、②連続した 3 塩基欠損系統) 作出了した。野生型系統と各変異導入系統の血液を用い、作製した家兔抗 B 血清を用いたウェスタンプロット法により成長因子 B の検出を行った場合、それぞれどの様な結果が予想されるか理由と共に述べなさい。また、各変異系統が、野生型系統と比較してどの様な成長形質を示すと予想されるか理由と共に述べなさい。(10 点)