

科目記号	科目名
I	海洋生物学

解答（解答例）・出題の意図

出題内容：海洋生物学

出題番号 271

【解答例】

(1) 20

(2) Pro

(3) アミノ酸の正電荷と負電荷がつり合い、正味の電荷が 0 となる pH。

(4) pH 12.0

pH 12.0 では、 α -カルボキシ基：脱プロトン化して -COO^- (-1)， α -アミノ基：脱プロトン化して -NH_2 (0)， ϵ -アミノ基：脱プロトン化して -NH_2 (0) となる。

(5) 等電点 pI は、 $pI = (9.0 + 10.5) / 2 = 9.75$

(6) タンパク質分子内のシステイン残基同士がジスルフィド結合を形成することで、酵素の立体構造が安定化され、高圧環境下や高塩濃度下においても構造の変形や変性が抑制される可能性がある。

別の解答例：システインのチオール基は酸化還元反応に関与し、活性酸素種などによる酸化ストレスから酵素を保護するとともに、酸化還元状態の変化に応じて酵素活性を調節する役割を担っている可能性がある。

【出題の意図】

生物の様々な生命現象を担うタンパク質を構成するアミノ酸についての基本的な知識とタンパク質構成時における役割を問う。

出題番号 272

【解答例】

(1) 細菌や古細菌が侵入してきたファージなどの外来 DNA の増殖を制限すること。

(2) *SacI*

(3) *NotI*

8 塩基認識の *NotI* の切断部位の出現確率は $1/4^8$ であり、表 1 の制限酵素中では最も低いため。

(4) 制限酵素処理後の溶液をアガロースゲル電気泳動に供し、目的の DNA を含むゲルを切り出す。ヨウ化ナトリウムでゲルを溶解後、高濃度のカオトロピック塩存在下で DNA をシリカに吸着させる。シリカを洗浄して、塩類や制限酵素を除去した後、滅菌水で DNA を溶出する。

別の解答例：反応液とフェノール/クロロホルムを含む溶液を混合し、タンパク質を変性した後、遠心分離を行い、水層を回収する。次いで、塩（酢酸ナトリウムなど）を加え、終濃度で 70% となるようにエタノールを加えて遠心分離を行う。沈殿した DNA を 70% エタノールで洗浄、乾燥させたものを精製 DNA として用いる。

(5) 酵素 A：DNA リガーゼ。DNA 鎖の隣接する 5'-リン酸末端と 3'-OH 末端との間にホスホジエステル結合を形成する。

(6) ㉗と㉘。*SaII* と *XhoI* は、いずれも切断後に同一の 5' 突出末端 (5' -TCGA-3') を形成する。

そのため、異なる制限酵素によって生じた末端間でも塩基対が形成されるため。

【出題の意図】

遺伝子工学で用いられる制限酵素に関する基本的な知識と制限酵素を実際を使って DNA を扱う時の論理的思考力を問う。

出題内容：海洋微生物学

出題番号 281

【解答例】

(1) ICTV は the International Committee on Taxonomy of Viruses の省略形であり、ウイルスの分類を発展させ、かつ統括を行う国際機関である。専門家から提案された各ウイルス分類群の最新の知見を精査し、審議し、承認されたウイルスの学名のリストを維持する役割を担う。また、決定事項をウイルスの分類命名規約に反映させ、国際的に統一されたルールとして更新し、公表している。さらに、ウイルスやウイルス圏の定義や培養ができないウイルスの分類手法など、先進的な技術、概念、基準なども審議している。

(2) ウィルス圏と呼ばれる。非生物性の可動遺伝因子で占められる概念的な空間の中で、その因子を規定する主要な 6 次元の形質に基づき、ウイルスに定義される因子で占められる空間のことを意味する。ウィルス圏の核は、オルト（真正）ウィルス圏と定義され、ビリオンの定義とほぼ一致する。これを取り囲む、ペリ（周囲）ウィルス圏も提案されており、これらは ICTV でも承認されている。

(3) リンネの階層分類の考え方である。分子系統解析やゲノム配列決定の技術の進展に伴い、ウイルスの分類にも、従来の Baltimore 分類を基盤としつつ、単系統性を加味した階層分類と二名法が導入され現在のウイルスの分類規約が策定されている。しかし、細胞生物の分類規約に比べ、ウイルスの分類規約は発展途上の点が多く、今後の知見の蓄積に伴い充実するものと考えられる。従って、ウイルスの分類を規定する唯一の体系は現状では存在しない。

(4) ウィルスが未分離などの理由で系統を遡ることができず、共通祖先の推定が極めて難しいか、あるいは出来ない系統が多数存在するため。

(5) ウィルスもゲノム全域あるいは各分類群や系統に特定のマーカー遺伝子の配列に基づき、既存のウイルス配列データベースから検索する。最新のウイルスの定義と連動し、既知種および未知種ともに、分子系統解析を基本とするアプローチが主流である。ゲノム全域を対照とした種間や属間の類似度の閾値も提案されつつあり、既知のウイルスに関しては、その値に基づき種の同定を進めることができる。

これらに加えて、個々の分類群や分類階級の具体例を、それぞれの解答に加えることが望ましい。

【出題の意図】

海洋生物工学に関する研究を大学院で主体的に進めるにあたり、先進的な知見を収集・整理し、サイエンス・コミュニティーでコンセンサスが得られている最新の情報を自身の研究に反映させ、質的に向上させていくことが必要である。ウイルスの多様性研究は、広範な科学分野において、ホットトピックスの一つであり、ウイルスの定義も矛盾がないものに改善され、分類学的なアプローチ

も日進月歩で進展している。ウイルスの分類命名に関する国際委員会の報告を例として、ウイルスの分類・同定・命名の正しい進め方と現状の問題点や将来的な方向性を問う問題を出题した。

出題番号 282

【解答例】

最新のウイルスゲノムの合成法は、ウイルスゲノムの材料となる合成オリゴヌクレオチドを試験管内あるいは宿主細胞内で繋げる方法論をとる。SCoVの事例のように分離されていないウイルスのゲノムを決定する方法論と組み合わせることにより、培養に依存せずにウイルスゲノムを合成していくことも可能になっている。ウイルスゲノムの合成はワクチン開発や治療薬の開発速度の向上に寄与するほか、ウイルスベクターの開発とも貢献する。ウイルスの同定技術と組み合わせることにより、未知のウイルスの宿主を推定し、ウイルスの機能を調べることも可能となっている。しかし、未知のウイルスおよび既知ウイルスともに、重篤な病原性に関する遺伝子やゲノム領域の特定は未だに困難な場合も多く、未知の組換え病原性ウイルスを作出する可能性が倫理上の問題点として挙げられる。

これらに加えて、ウイルスのゲノムを合成する個別技術の進展に関する解答を加えることが望ましい。

【出題の意図】

海洋生物工学に関する質の高い研究を大学院で主体的に進めるにあたり、先進的な知見を収集・整理し、最新の情報を自身の研究に反映させていくことが必要である。ゲノム科学や合成生物学のパイオニアである研究者の総説を例として、ウイルスのゲノムを合成する方法論に関する知識を出题した。また、この分野の研究は、dual useなどの様々な重要かつ重大な倫理的な問題を含むことから、これに関する倫理感も解答を求めた。

出題内容：魚病学

出題番号 301

【解答例】

(1) 抗生物質は、微生物が産生する物質またはその半合成誘導体で、細菌など他の微生物の増殖を抑制または死滅させるものをいう。一方、合成抗菌剤は、微生物の産生物を出発物質とせず、化学的に合成された抗菌作用を有する物質をいう。

(2) 細菌は、染色体遺伝子の突然変異、またはプラスミド、トランスポゾンなどを介した耐性遺伝子の水平伝播によって薬剤耐性を獲得する。獲得した遺伝子や変異により、薬剤を分解または修飾して不活化する、薬剤の作用点を変化させる、細胞膜の透過性を低下させる、排出ポンプによって薬剤を菌体外へ排出する、などの機構が生じ、薬剤が作用しにくくなる。

(3) 細菌集団中に薬剤耐性を有する細菌が存在する場合、薬剤投与によって感受性菌が優先的に死滅または増殖抑制される一方、耐性菌は生残する。その結果、耐性菌が選択され、その割合が増加する。同じ薬剤を繰り返し使用することでこの選択圧が継続し、最終的に薬剤の治療効果が低下した可能性がある。

(4) 病魚から細菌が分離されたという事実だけでは、その細菌が死亡原因であるとは断定できな

い。常在菌、二次感染菌または採材時の汚染菌である可能性があるため、分離の事実のみを根拠として抗菌性物質の使用を決定することは適切ではない。

複数の病魚および可能であれば同一群の健常魚を検査し、病魚の病変部や腎臓、脾臓などから同一菌が再現性よく優勢に分離されるかを調べる。併せて、臨床症状、解剖所見、病理組織学的所見、病変部における菌の局在との対応を確認し、ウイルス、寄生虫、水質異常など他の死亡原因も検討する。分離菌は生化学的試験や PCR 等で同定し、必要かつ倫理的に妥当な場合には感染試験による疾病の再現と同一菌の再分離を行う。

原因菌である可能性が高いと判断された場合には、薬剤感受性試験を行い、対象魚種および対象疾病について承認された薬剤を選択し、用法・用量および使用禁止期間を守って使用する。

【出題の意図】海洋生物工学に関する研究を大学院で主体的に進めるにあたり、関連する専門分野の基礎知識を身につけ、得られた情報を科学的に整理・判断する能力が必要である。本問では、海洋生物工学を構成する専門分野の一つである魚病学に関連して、魚類細菌感染症の治療に用いられる抗菌性物質を取り上げた。抗生物質と合成抗菌剤の違い、細菌が薬剤耐性を獲得する機構、抗菌性物質の反復使用によって耐性菌が選択される過程についての知識を出題した。また、病魚から細菌が分離された場合に、その細菌が疾病の原因であるかを検証し、抗菌性物質を使用することの是非を判断するために必要な論理的思考力についても解答を求めた。

出題番号 302

【解答例】

(1) セツソウ病は細菌性疾病であり、その原因細菌は *Aeromonas salmonicida* である。これはグラム陰性、非運動性、通性嫌気性の短桿菌である。サケ科魚類に感染した場合、典型的な症状として体側部の膨隆患部が形成される。

(2) 感染症の発生と重症度は、病原体の存在だけでなく、宿主、病原体および環境の相互作用によって決まる。宿主側の要因としては、魚種や系統、年齢、免疫状態、栄養状態などによって、セツソウ病に対する感受性が異なることが挙げられる。また、病原体側の要因としては、菌株による病原性の違いや感染菌量などが発病や死亡の程度に影響する。

環境要因としては、水温、水質、飼育密度などが挙げられる。さらに、選別、移送、過密飼育などによるストレスは魚の感染抵抗性を低下させ、発病を促進する可能性がある。

したがって、同じ病原体への感染であっても、宿主の感受性、病原体の病原性、および飼育環境の条件が異なることにより、発病率や死亡率に差が生じる。

(3) 注射法の他には、経口法、浸漬法といったワクチン投与法が存在する。注射法はこうした手法と比較した場合、生体に多量の抗原を確実に生体へ投与することが可能である。また、アジュバントも利用できることから、高いワクチン効果を得やすく、現在多用される。一方で、他の手法とは異なり、人や機械によって、魚一匹ずつに対してワクチン液を投与する必要があり、労力を要する。こうした手間を軽減するために、ワクチン投与作業の更なる機械化が望まれる。

【出題の意図】サケ科魚類で発生するセツソウ病を題材とし、本疾病の特徴とその防疫に関して、論理的に整理・説明する力を評価することを目的とする。本疾病に対して適切な対応策を構想できるか問うことで、大学院レベルの研究能力の基礎となる課題設定力・思考力・表現力を測ることを

意図している。