

東海大生物

1

以下の問題文を読み、問に答えなさい。

血小板は大きさ約 $2\mu\text{m}$ の核を持たない細胞であり、止血の機能(問 1)を担っている。血小板は、(あ)や白血球と同様に(い)で産生される。(い)には造血幹細胞やさまざまな血球の前駆細胞があり、前駆細胞は造血を促進する種々のタンパク質(造血因子)によってそれぞれの血球細胞に分化する。前駆細胞を(あ)へ分化させる造血因子は、血中の酸素濃度が低くなると(う)の尿細管間質細胞において産生が増える。血小板の造血因子であるタンパク質 A は、アルブミンなどの血しょうタンパク質と同様に(え)で作られる。図 1 に示したようにタンパク質 A は巨核球前駆細胞の表面にある受容体と結合することによりこの細胞の増殖を刺激し、さらに成熟巨核球への分化を促進する。巨核球は、細胞分裂を伴わずに核分裂を繰り返すことによって複数の核が集合(多倍体化)した巨大な核を持ち、血管壁面に開いている細かい穴(類洞)から細胞突起を血管の内側に出している。この突起がじゅず状になって分断され多数の血小板が血流中に放出される。このようにして 1 個の成熟巨核球から数千個の血小板が産生される。血小板は 1 週間程度で分解され、その分解の場は(あ)と同様に主として(お)である。血小板は常に産生されており、血中の血小板の数(血小板数)は、一定の範囲内に調節されている。血小板数が少なすぎると出血しやすくなるし、血小板数が多すぎると血液凝固のリスクが増加する。それでは、この血小板数がどのように調節されるのかを、タンパク質 A との関係で以下の実験から考察してみよう。

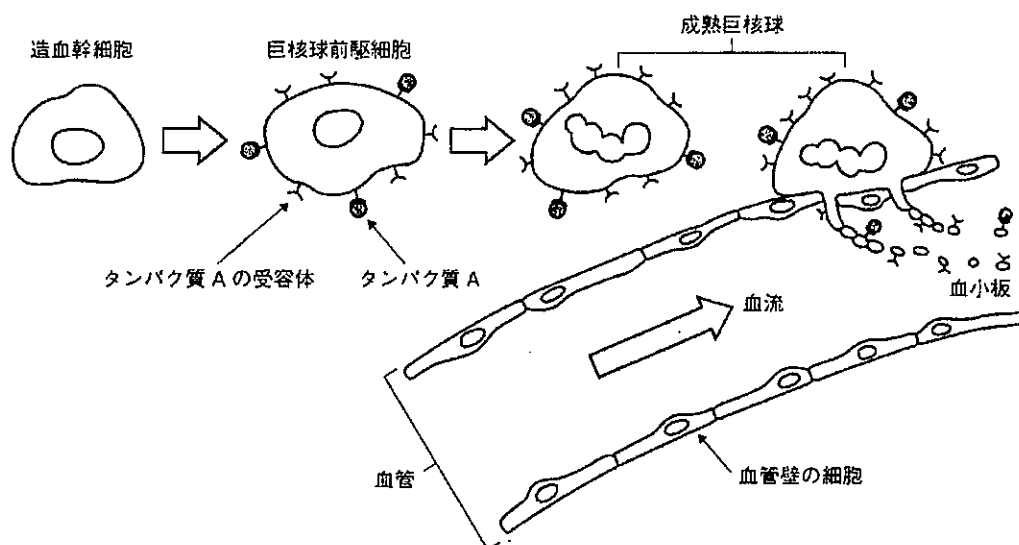


図 1 巨核球への分化と血小板の産生の過程

実験 1

DNA の複製を選択的に抑制する作用のある薬剤 Y をウサギに投与して、血小板が減少したウサギを作製した。具体的にはまず、薬剤 Y を投与する前に採血を行い、血小板数を測定した。次に薬剤 Y を 1 回だけ投与し、その後経時的に採血を行い、血小板数を測定した。その結果、図 2(A) に示すように血液中の血小板数は徐々に減少し(問 3)、15 日前後で極度の血小板減少症に陥った。その後徐々に血小板数は増加してほぼ元の血小板数に戻った。

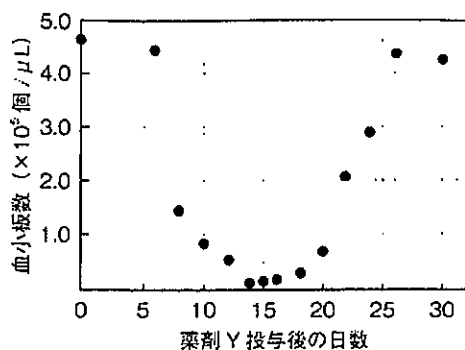


図 2 (A) 実験 1 で薬剤 Y を投与した後の血小板数の推移

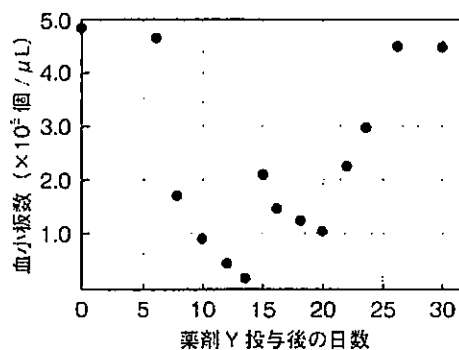


図 2 (B) 薬剤 Y を投与後 15 日目に血小板を投与した実験 2 の血小板数の推移

実験 2

薬剤 Y を投与した後 15 日目のウサギに、別の正常なウサギから得た血小板を投与した。その後、採血を行った。血小板数は、図 2(B) に示したように、一過性の上昇を示した後、徐々に減少した。その後ゆっくりと上昇して薬剤 Y 投与前の元の血小板数に戻った(問 4)。

実験 3

実験 1 と実験 2 で採血した血液から血しょう成分を得た。この血しょう成分を巨核球前駆細胞に添加し培養すると、多倍体化した巨核球へ成熟した。図 3(A) と図 3(B) では、横軸は実験 1 と実験 2 それぞれの採血日を、縦軸は多倍体化した巨核球の倍数性(問 6)を示している。

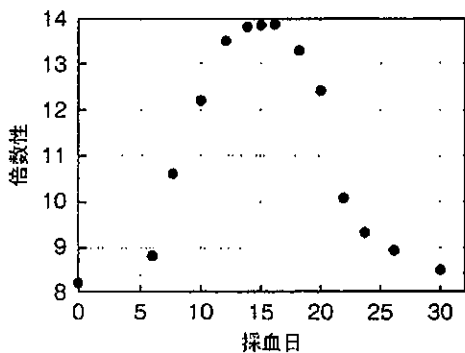


図 3 (A) 実験 1 の採血日と巨核球の倍数性の関係

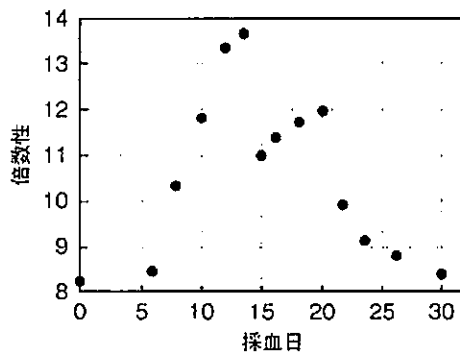


図 3 (B) 実験 2 の採血日と巨核球の倍数性の関係

実験 4

実験 3 において、人工的に合成したタンパク質 A の受容体を血しょう成分と同時に加えた場合には、倍数性はどれも大きく低下した。

問 1 傷口から出血すると血べいが傷口をふさいで止血が起こる。その機構を、**血小板**、**血しょう**、**凝固因子**、**フィブリン**、**血球**の全ての語を用いて説明しなさい。

問 2 空欄(あ)～(お)に入る適切な語句を答えなさい。

問 3 実験 1 において、薬剤 Y の投与により血小板数が減少した理由を説明しなさい。

問 4 実験 2 において、血小板の投与後に下線部のように血小板数が推移した理由を説明しなさい。

問 5 実験 2 において血小板の投与日を 10 日目に変更した場合、投与後 5 日目の血小板数は 0.4×10^5 個/ μL となった。15 日目に投与した場合に比べて、血小板数が減った理由を説明しなさい。

問 6 種によって染色体の基本数は決まっており、休止した状態のウサギの体細胞に含まれる染色体の倍数性は 2 である。図 3(A)の採血日 0 での倍数性は 8.2 であった。なぜ倍数性が増えて、整数にならないのか説明しなさい。

問 7 実験 3 において、実験 2 の 15 日目の血しょうを巨核球前駆細胞に添加した場合、図 3(B)のように倍数性が低下した。その理由を実験 3 と実験 4 の結果から答えなさい。

問 8 何らかの異常により自己の血小板を認識する抗体が作られ、血小板が破壊されることによって血小板減少症が発症する。このタイプの血小板減少症を呈するウサギの血小板数は、実験 1 で薬剤 Y の投与後 15 日目の血小板数とほぼ同値であった。しかし、このタイプの血小板減少症を呈するウサギから得た血しょう成分を巨核球前駆細胞に添加した場合の倍数性は、図 3(A)に示した採血日 15 での倍数性と比べて低かった。この理由を説明しなさい。

次の文章を読み、問 1～8 に答えよ。

ヒトのリンパ球は、多様な抗原に対して特異的に反応できる。B 細胞はリンパ球の一種で、抗体を産生する。1 分子の抗体は、(1)2 本の H 鎖と 2 本の L 鎖の合計 4 本のポリペプチドからなる。どの抗体の構造も基本的に似ているが、抗体ごとに H 鎖と L 鎖のどちらにもアミノ酸配列の異なる部分がある。この部分は可変部とよばれ、抗原と特異的に結合する。可変部以外の部分を定常部という。

少ない数の抗体遺伝子で多様な抗原に対応できるのは、抗体遺伝子が再編成されるためである。未分化な B 細胞では、H 鎖と L 鎖の可変部に相当する遺伝子は、H 鎖では 3 つの領域(V, D, J), L 鎖では 2 つの領域(V, J)に分かれて存在する。それぞれの領域内では、塩基配列の少しずつ異なる遺伝子断片が複数ある。B 細胞が成熟するにつれて、それぞれの領域から 1 つずつ断片が選ばれて連結され、遺伝子が再編成される。その結果、1 つの B 細胞は特定の組み合わせの H 鎖遺伝子と特定の組み合わせの L 鎖遺伝子をもつことになる。さらに、H 鎖と L 鎖の遺伝子の組み合わせにより、膨大な種類の可変部ができるようになる。(2)この再編成された遺伝子から RNA が転写され、キャップ構造やポリ A 鎖の付加などの加工を受け、mRNA が生成される。この mRNA が翻訳されて、H 鎖と L 鎖のポリペプチドが合成される。このようにして、多様な抗原に対する抗体がつくられる。

抗体遺伝子を調べるために、マウス(ハツカネズミ)を用いて以下の実験を行った。

(実験 1) マウスの脾臓(ひぞう)から RNA を抽出した。この RNA 溶液に(3)チミンヌクレオチドが 20 個つながったプライマーと(4)ウイルス由来の DNA 合成酵素を加えて、(5)DNA 鎖を合成した。

(実験 2) H 鎖の遺伝子について、V 領域の 1 つの断片の開始コドンを含む部分と、定常部の終止コドンを含む部分にそれぞれ結合する 1 組のプライマーを作製した。実験 1 で合成した DNA 鎖を鋳型にし、これらのプライマーにはさまれた領域の DNA を(6)PCR 法によって増幅した。

問 1 下線部(1)について、4 本のポリペプチドはどのような結合でつながっているか答えよ。

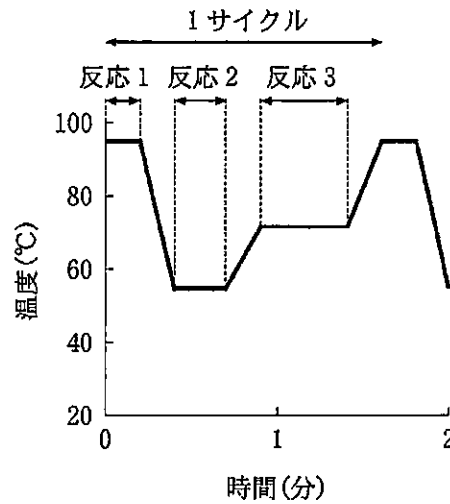
問 2 下線部(2)について、転写された RNA から mRNA ができるとき、ほかにどのような加工があるか。加工の名称と過程を述べよ。

問 3 実験 1 で、下線部(3)のプライマーを用いるのはなぜか。理由を説明せよ。

問 4 下線部(4)の(i)ウイルスと(ii)酵素をそれぞれ何とよぶか答えよ。

問 5 下線部(5)の DNA 鎖を何とよぶか答えよ。

問6 下線部(6)について、PCR法では下図の1サイクルの反応を繰り返す。反応1~3に相当するものを以下の㉔~㉑からそれぞれ1つ選び、記号で答えよ。



- | | |
|-------------------|-----------------------|
| ㉔ プライマーが分解される。 | ㉑ プライマーがDNAに結合する。 |
| ㉕ 2本鎖DNAが切断される。 | ㉒ 2本鎖DNAが1本鎖に分かれる。 |
| ㉖ 岡崎フラグメントが合成される。 | ㉓ DNAポリメラーゼが相補鎖を合成する。 |

問7 実験2で増幅されたDNAのもととなるmRNAの鋳型となったゲノムDNAにも、実験2で作製した1組のプライマーが結合する部分がある。しかし、プライマーにはさまれた領域のDNA配列は、実験2で増幅されたDNA配列とは異なる。どのように異なるか説明せよ。

問8 実験1のマウスの脾臓のT細胞のゲノムDNAにも、実験2で作製した1組のプライマーが結合する部分がある。しかし、プライマーにはさまれた領域のDNA配列は、実験2で増幅されたDNA配列とは異なる。どのように異なるか説明せよ。

解答例

第1問

問1 組織が破綻して出血すると、出血部位に血小板が集まり最初の止血を行う。次いで組織などから放出される様々な血液凝固因子とカルシウムイオンによりプロトロンビンがトロンビンに変化する。トロンビンが血漿中フィブリノーゲンをフィブリンに変え、フィブリンが繊維状となり血球を絡めて血餅を生じ、出血部位を完全にふさいで止血する。

問2 (あ): 赤血球 (い): 骨髄
(う): 腎臓 (え): 肝臓
(お): 脾臓

問3 DNA複製阻害によって造血幹細胞の分裂や核の多倍体化が抑制され、新たな血小板が作られず、既存の血小板も寿命に従って破壊されていったから。

問4 15日目までは実験1と同様に血小板が減少するが、15日目で別のウサギの血小板により血小板がいったん増加しそれが寿命に従って徐々に減少した。20日目以降は薬剤Yが代謝分解され効果が失われたため血小板が再生成されもとに血小板数に戻ったと考えられる。

問5 血小板寿命が短く、10日に血小板を投与してしまうと15日には投与した血小板も一定量破壊され減少する。実験2よりこの時点ではまだ血小板の再生成がないと考えられるため血小板数は比較的少なくなった。

問6 巨核球前駆細胞から成熟巨核球に分化する過程におけるDNA複製は細胞分裂の場合と異なりランダムであったり、回数が巨核球ごとに異なっており様々な巨核球を平均すると小数値になってしまうから。

問7 投与した血小板に存在するタンパクAの受容体に血漿中のタンパク質Aが結合してしまったためにタンパク質Aの濃度が減少し(消費され、)、成熟巨核球の多倍体化が抑制されたため。

問8 自己抗体により血小板減少症を呈したウサギの血漿中には破壊された血小板の受容体が存在しており、遊離タンパク質Aが使い果たされてしまっている。したがってこの血漿をいかなる巨核球前駆細胞に添加しても多倍体化を促進するだけのタンパク質Aの量を担保できないから。

《血小板増殖因子》

トロンボポエチンと呼ばれる血小板合成因子と、ITP（免疫性血小板減少性紫斑病）を題材とした考察問題である。図1のように絵でイメージが記されているから、タンパク質Aと巨核球をイメージしながら解答すれば解答できる。差のつく難問である。

問1 基本的な知識論述である。血小板の凝集と血液凝固をそれぞれ一次止血、二次止血と呼ぶ。これらの名称は教科書では出てこないが、両者を合わせて止血の機序として覚えておくのは基本である。

問3 細胞分裂阻害で一番ダメージを受けるのは分裂の盛んな骨髄や毛根などである。抗がん剤治療で汎血球減少（血球すべてと血小板が減少する。）するのも細胞分裂阻害によるものである。加えて、本問では巨核球の多倍体化が言及されているから、これも論述に加えたほうが良いと考えられる。

問4・5 実験1より、20日もたてば薬剤Yの効果は薄れる。そのためやがて血小板は作られる。しかし、実験2で血小板を15日目に注入すると血小板は「補充され」一定期間は新しく作られることはないことに注意したい。

問6 核分裂の回数や分裂する染色体はランダムである（ショウジョウバエのだ腺染色体を想起せよ）ことから、細胞内・細胞間でばらつきがあるとわかる。両方の記述が必要である。

問7・問8 巨核球の表面の受容体に、血清に遊離しているタンパク質Aが吸着して使い果たされてしまったことをイメージすれば本問は解答できる。しっかり図を用いるなどして自身で状況を整理することができたかがカギである。

第2問

問1 S-S[ジスルフィド]結合

問2 スプライシング

過程…mRNA 前駆体からイントロンを取り除きエキソンをつなぎ合わせる事。

問3 mRNAの3'末端にはポリA鎖があるので、そこに相補的に結合するから。

問4 (i) レトロウイルス (ii) 逆転写酵素

問5 cDNA [相補的DNA]

問6 1 ㉔ 2 ㉕ 3 ㉖

問7 スプライシングで取り除かれるイントロンの部分も含まれている。

問8 イントロンの部分と3つの領域のすべての遺伝子断片も含まれている。