

発生生物学 (1 / 2)

(注意) 問題 [1] [2] [3] はそれぞれ別の答案用紙に解答すること。

[1] 動物の初期発生において細胞周期の型は発生段階に応じて変化する。以下の各発生段階(両生類)における細胞周期の特徴について、() 内の用語を用いて簡単に説明しなさい。(計 35 点)

(1) 卵成熟 (MPF、M I、M II、CSF、APC/C) (15 点)

(2) 卵割期 (MPF、SPF、M 期、S 期) (10 点)

(3) 中期胞胚期以降 (チェックポイント、G1 期、G2 期、G0 期) (10 点)

[2] 両生類 (アフリカツメガエル) 胚の背腹軸決定の機構について、次の文章を読んで以下の問いに答えなさい。(計 30 点)

受精の際、アフリカツメガエルの精子は雌が放卵した未受精卵の (a) の部分に融合する。その後、受精卵は、動物極から (b) を放出し、続いて、受精卵の植物半球の表層が中央部の卵黄塊に対して精子陥入点の反対側に向かって回転する、cortical rotation を起こす。その回転に伴って植物極の卵表層に局在していた (c) が将来の背側に移動する。その結果、放射相称であった卵は左右相称となる。(c) は、Wnt シグナル伝達系の構成要素で、移動した先の将来の胚の背側において GSK-3 β (glycogen synthase kinase 3 β) の働きを阻害する。そのため胚のその部位においてだけ (d) が分解を免れて、核内に移動し *siamois* 遺伝子の発現を抑制していた Tcf3 に働きかけて *siamois* 遺伝子を発現させる。その *siamois* 遺伝子の産物は、シュペーマンによって神経誘導の活性を持つことが示された原腸胚の (e) の部分において特異的に *goosecoid* の発現を引き起こす。*goosecoid* 遺伝子産物は、その他の (e) に特異的に発現する遺伝子産物とともに背側中軸構造を形成してゆく。

(1) 文章中の (a) ~ (e) 内にはいる適当な語を答えなさい。ただし、c と d については、次の中から選択して答えなさい。(10 点)

activin、BMP4、dishevelled、bicoid、 β -catenin、chordin、nanos、brachyury、nodal、retinoic acid

(2) 下線部 1 の cortical rotation の動きを引き起こす仕組みを「微小管」という語を用いて簡潔に説明しなさい。(5 点)

(3) cortical rotation の起こる時期に植物半球に紫外線を照射するとその胚はどうなるか。その理由も含めて簡潔に答えなさい。(5 点)

(4) 8細胞期胚の植物半球の腹側の2つの割球に (d) を顕微注入するとその胚はどのようなと考えられるか。その理由も含めて簡潔に答えなさい。(5 点)

(5) (d) は、ここで示されている転写調節因子としての働き以外にも細胞接着において重要な働きをしている。その働きを簡潔に説明しなさい。(5 点)

発生生物学（2 / 2）

（注意）問題 [1] [2] [3] はそれぞれ別の答案用紙に解答すること。

[3] 以下はヒトの ES 細胞を作成するためのプロトコルの一部である。下の問いに答えなさい。（計 35 点）

不妊治療のために人工授精によって得られて凍結保存されていた blastocyst 期のヒトの胚を融解して実験に用いた。zona pellucida を除くために酸性 Tyrode (Acid Tyrode, AT) 液を利用し、trophectoderm を除いて ICM を得るために免疫手術を行って ES 細胞を樹立した。（この実験はアメリカ合衆国においてヒト胚からの ES 細胞作成についての法律と倫理規定に従って実施されたものである。）

方法：(A. E. Chen and D. A. Melton, JoVE, 2007 より改変)

- ① blastocyst を AT 液の液滴中に移す。ピペットで次々に新たな液滴中に移し、3 番目の AT 液滴中で zona pellucida の溶解を確認する（通常 5-30 秒）。AT 液に長く浸けすぎないこと。
- ② ヒト ES 細胞作成用の培地の液滴中を次々とくぐらせて blastocyst に付着した AT 液を洗い去る。
- ③ 次に blastocyst を一次抗体液（rabbit anti-human red blood cell antibody）中に入れて 37℃ で 30 分間インキュベートする。
- ④ 新しいヒト ES 細胞作成用の培地の液滴をくぐらせて余分な一次抗体を洗い流す。
- ⑤ 次にモルモットの補体を含む液滴を順次くぐらせ、3 番目の液滴中で trophectoderm の溶解を確認する。
- ⑥ さらに新しいヒト ES 細胞作成用の培地の液滴中をくぐらせ補体を洗い去る。
- ⑦ trophectoderm を除去して単離した ICM を、マウス胚由来の繊維芽細胞上に静かにおき数日静置して培養を続ける。
- ⑧ ICM の塊から増えて出てきた細胞を継代培養して ES 細胞であるかどうかを ES 細胞のマーカー抗原の発現で確認する。

- (1) blastocyst の日本語名を答えなさい。次にヒトの blastocyst 期の胚の簡単な模式図を描きなさい。図中に zona pellucida, trophectoderm, ICM がどこにあたるかをわかるように記入しなさい。（8 点）
- (2) zona pellucida とは何か。日本語名称を記し、簡潔に説明しなさい。（4 点）
- (3) ICM とは何の略か。英語名称と日本語名称を記し、簡潔に説明しなさい。（4 点）
- (4) trophectoderm とは何か。日本語名称を記し、簡潔に説明しなさい。（4 点）
- (5) ICM を得るために行った免疫手術で trophectoderm が溶解する原理を補体の説明を含めて簡潔に説明しなさい。（5 点）
- (6) プロトコル⑦で用いるマウス胚由来の繊維芽細胞には、ある処理をあらかじめ施しておかなくてはならない。その処理とは何かを簡潔に説明しなさい。（5 点）
- (7) ES 細胞や iPS 細胞のマーカーとしてよく用いられる抗原名を 1 つあげなさい。（5 点）