

### 小論文問題についての説明

この小論文試験は、あなたの生物学の基礎知識、論理的な思考の能力、および文章力（模式図などでの表現も含む）を知ることが目的としています。問題の設定は架空です。解答にあたっては、（問題文の設定の範囲内で）自分で状況を設定して考えても、実在する生物や生命現象に基づいて考えても、どちらでも構いません。いずれの場合も、どのように考えたかを明確に表現することに留意してください。

評価にあたっては、受験生一人一人の経歴や志望研究分野による問題の難易度の違いを考慮します。

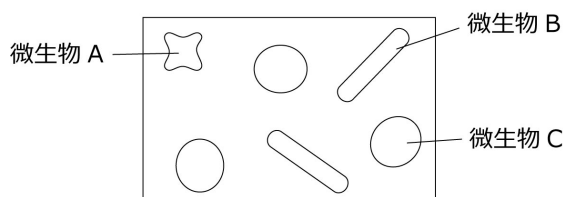
なお、前の問題が解けなくても後の問題が解けることがあります。

以下の問題文を読み、問1～3に答えてください。

- ※ 解答は解答用紙の指定のスペースからはみ出さないように記述してください。その際、解答スペースの枠の大きさは変更しないで下さい。行間等は自由に設定して構いません。
- ※ 解答は手書き、電子ファイルへの直接入力どちらでも構いません。手書きの場合は試験終了後スキャンして電子ファイル化して頂きます。
- ※ 必要な場合は、模式図や表などを用いることができます。解答を電子ファイルへの直接入力で行う場合、図表をその他のソフトで作成してから解答用紙ファイルに貼り付けることもできます。また手書きしたものを電子ファイル化後、解答用紙ファイルに貼り付けることもできます。
- ※ 試験終了後20分以内に、記入済みの解答用紙電子ファイル、手書きの場合はスキャンして電子化したファイルを、[info-soken@nig.ac.jp](mailto:info-soken@nig.ac.jp)に送付願います。

三島さんは、土壤に生息する微生物の研究をしています。三島さんは、研究所の近くにある林の湿った土を持ち帰り、その一部を、微生物増殖用の有機物を含む液体培地に懸濁しました。それから5日後に培養液を顕微鏡で観察すると3種類の微生物（A、B及びC）が見つかりました（図1）。以下のすべての実験は、これと同じ液体培地を用いて行いました。

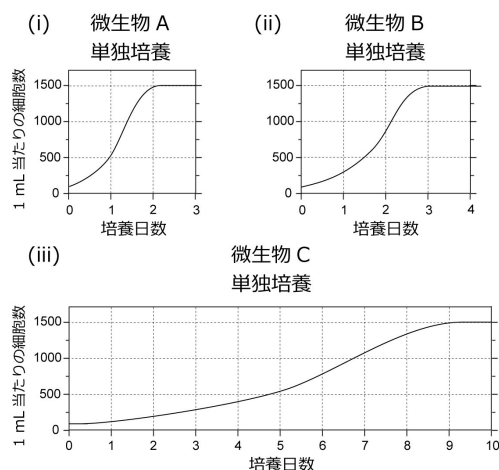
図1



微生物 A、B 及び C は種が異なる単細胞生物で、それぞれ遺伝的に同一の子孫を生じます（つまり、クローンとして増殖します）。三島さんは、それぞれの種の1細胞を単離して増殖させ、各培養株を得ました。以下の実験はこれらの培養株を用いて行いました。

微生物 A、B 及び C を、それぞれ培養液 1 mL あたり 100 細胞となるように植菌し、単独培養を行いました。各培養における細胞数の変化を図2に示します。

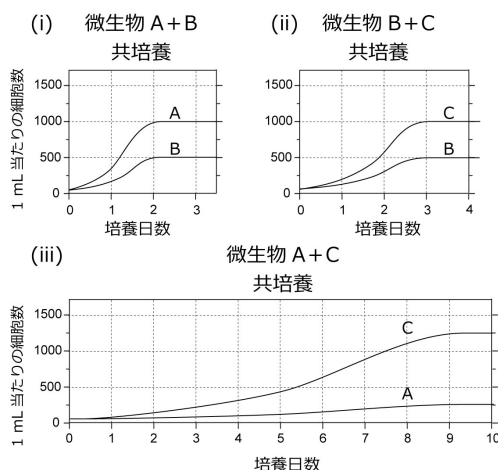
図2



**問1-1** 図2のグラフに示される結果の主な特徴（種間の類似点と相違点）を文章で、簡潔に説明してください。なお、計算をする必要はありません。

次に、微生物の種間相互作用を調べるために、2種の微生物を同一の培地で共培養する実験を行いました（AとB、BとC及びAとCの共培養）。2種の微生物を1 mLあたり50細胞（2種類の合計100細胞）となるように植菌した後の各微生物の増殖過程を図3に示します。

図3



**問1-2** 微生物2種の共培養（図3）では、それぞれの単独培養（図2）に比べて、各微生物の最終細胞密度が低くなりました。その理由を考察して下さい。

**問1-3** 各微生物種の単独培養における増殖パターン（図2）の情報のみで、各共培養における各微生物種の増殖パターン（図3）を説明することは可能ですか。微生物AとB、BとC、AとCの共培養についてそれぞれ答えてください。またその理由も、それぞれの共培養について述べてください。

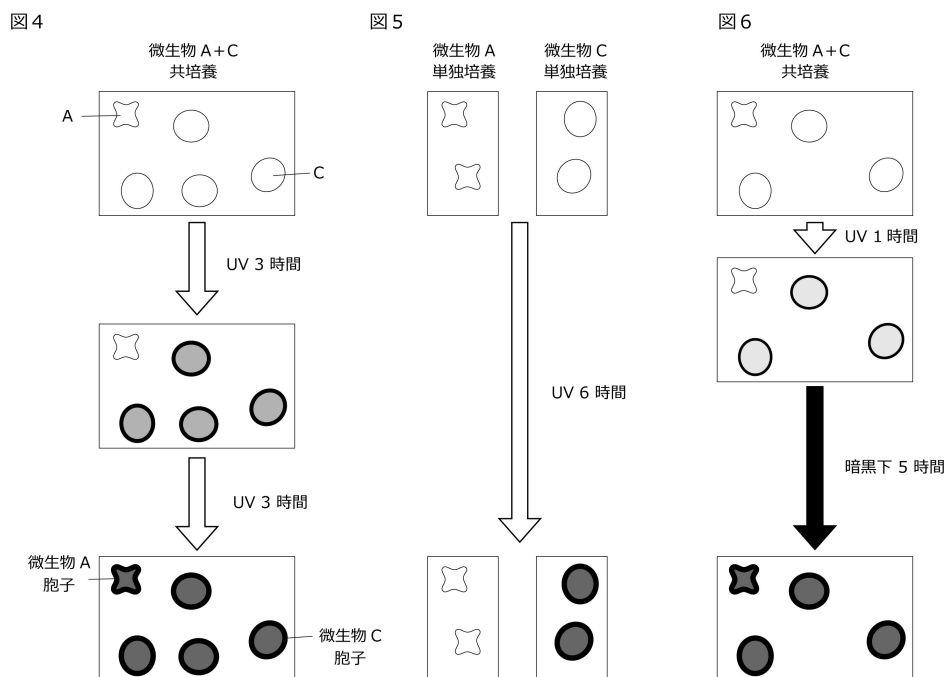
**問1-4** 問1-3で、単独培養での増殖パターンで共培養での増殖パターンを説明できないと答えたケースについて、どの様な情報を追加すれば、その共培養の増殖パターンを説明できるか述べてください。

三島さんは、微生物Aと微生物Cの共培養液に紫外線（UV）を6時間照射すると、それぞれの微生物が孢子になることを見つけました。どちらの種の孢子も厚い殻に覆われており、栄養分を吸収せず、増殖もしません。どちらの種においても、活性型の細胞から殻をもつ孢子への変化は徐々に起こります。孢子形成の過程を詳しく調べたところ、微生物CはUV照射開始直後から孢子になり始めること、これに対し微生物AはUV照射3時間後から孢子になり始めることがわかりました（図4）。

三島さんは、微生物 A 及び C の孢子形成機構に興味を持ち、さらに以下 2 つの実験を行いそれぞれ結果を得ました。

微生物 A の単独培養と微生物 C の単独培養にそれぞれ UV を 6 時間照射したところ、微生物 C は孢子になりましたが、微生物 A に変化は見られませんでした (図 5)。

微生物 A と微生物 C の共培養液に UV を 1 時間だけ照射すると、その後暗黒下においても、微生物 A と微生物 C は両方とも孢子になりました (図 6)。



**問2-1** 図 4、5 及び 6 の結果に基づいて、UV 照射によって微生物 A と C が孢子形成を開始する簡潔なメカニズムを提唱してください。あなたの提唱するメカニズムが、どのように図 4、5 及び 6 の結果を説明できるのかも述べてください。

三島さんは微生物 A と微生物 C が休眠孢子になるメカニズムをさらに調べるために、微生物 C を変異原処理し、微生物 A と微生物 C のいずれかまたは両方の休眠孢子形成に異常を生じる微生物 C の変異体 3 種類 (それぞれ変異体  $w$ 、 $x$ 、 $z$ ) を得ました。

各変異体では、ゲノム中の 1 カ所の塩基置換により 1 つの遺伝子の機能が失われています。ここでは変異原処理しなかった細胞を「野生型」と呼びます。微生物 C の野生型または各変異体を、微生物 A と共培養し、UV を 6 時間照射した後の各微生物の状態を表 1 に示します。

表1 微生物 A と微生物 C の共培養に UV を6時間照射した後の各生物の状態

微生物 C	野生型	変異体 $w$	変異体 $x$	変異体 $z$
	孢子	孢子	活性型細胞	活性型細胞
微生物 A	孢子	活性型細胞	活性型細胞	孢子

### 問2-2

表1の結果から、微生物 C の変異体  $w$ 、 $x$  または  $z$  と微生物 A の共培養では、問2-1で提唱したメカニズムのどの部分に異常が起きていると考えられますか。もし、問2-1で提唱したメカニズムで表1の結果を説明できない場合には、その改訂版を提示しつつ解答してください。

### 問2-3

微生物 C の変異体  $w$  と微生物 A をそれぞれ 1 mL あたり 50 細胞となるように植菌し(合計で 1 mL あたり 100 細胞)ました。その後、図3 (iii) と同様の条件で培養し、培養開始 5 日後から培養液に UV を照射しました。UV を当てる前と後で微生物 C の変異体  $w$  と微生物 A の増殖速度はどの様に変化すると予想しますか。また、微生物 C の変異体  $w$  と微生物 A は最終的に何細胞まで増えると予想しますか。理由とともに答えてください。

**問3** 微生物 A、B および C の増殖または休眠孢子形成現象に関する研究を提案して下さい。上記のどのトピックに基づいた研究でも構いません。また、生物 A、B および C のうち複数に関する研究でも、どれか一種のみに関する研究でも構いません。研究のタイトル、目的、実験・解析の方法、得られる結果と考察について記述してください。

## **Instructions:**

This examination is aimed at measuring your creativity, your abilities in logical thinking and writing (including drawing schematics), and your basic knowledge in biology. The setting of the question is basically imaginary. You are free to choose experimental settings unless they are described, but please describe your settings clearly in the answer sheet.

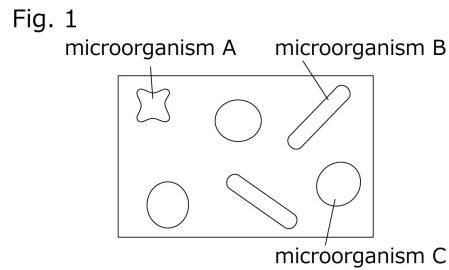
When we evaluate the answers, we will take your research background and future research interests into consideration.

Even if you cannot answer a given question (or a part of a question), you may be able to answer subsequent questions (or subsequent parts of a question).

## **Read the following story and answer Questions 1 to 3.**

- \* Please write and draw your answers within the assigned spaces in the answer sheet. Please do not change the size of the space. You are free to set the line spacing.*
- \* The answer may be entered directly to the electronic file (Microsoft Word or pdf) and/or in handwriting on a printed answer sheet. A handwritten answer should be converted to an electronic file within 20 minutes after the exam.*
- \* You may use schematics and/or tables as appropriate. If you enter your answer directly to the electronic file, you may prepare schematics and/or tables by any software before pasting them on the file of your answer sheet. Alternatively, you may scan handwritten schematics and/or tables and paste them on the file of your answer sheet.*
- \*At the end of the written exam, an electronic file of complete answer sheet should be submitted by e-mail within 20 minutes (before submission, a handwritten answer should be converted to an electronic file (e-mail address: [info-soken@nig.ac.jp](mailto:info-soken@nig.ac.jp))).*

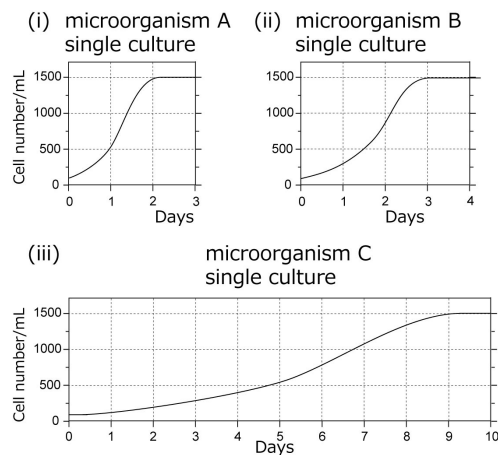
Dr. Mishima is studying microorganisms that inhabit soil. She sampled wet soil from a forest behind her institute and suspended a small piece of the soil in an organic medium for microbial growth. Five days later, she viewed the medium with a microscope and saw three distinct morphologies (microorganisms A, B and C) (Fig. 1). The same medium was used for all the experiments described below.



You can assume that A, B and C are different species of unicellular organisms and that all three species propagate clonally (i.e., produce genetically identical offspring). Dr. Mishima isolated single cells of each species and grew them separately to make stock cultures. The studies described below were conducted using these populations.

She diluted stock cultures of A, B, and C separately (single culture) into the fresh growth medium with starting concentrations of 100 cells/mL. She then allowed the cultures to grow. Fig. 2 shows cell counts over time in these cultures.

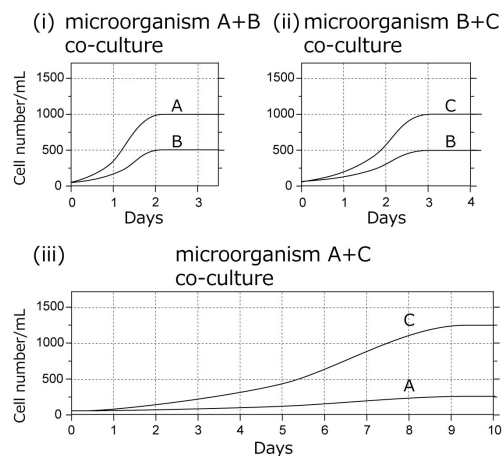
Fig. 2



**Q1-1** Please briefly describe in words (no need for calculations) the main findings of the experiments shown in Fig. 2. Please note the similarities and differences among species.

In order to examine inter-species effects on cellular growth of respective species, Dr. Mishima conducted co-cultures (growth in the same medium) of each pairs of species: A/B, B/C, and A/C. In each co-culture, two species were inoculated into the medium to give concentrations of 50 cells/mL for each species (total concentration, 100 cells/mL). The courses of population growth in these co-cultures are shown in Fig. 3.

Fig. 3



**Q1-2**

The final concentrations for each species in the co-culture (Fig. 3) were lower than their concentrations in single cultures (Fig. 2). Please propose an explanation for this difference in the final cellular concentrations.

**Q1-3** Do the single culture growth patterns in Fig. 2 predict the co-culture growth patterns in Fig. 3? In other words, are the single culture growth patterns sufficient to explain the co-culture growth patterns? Please give separate answers for the three graphs (A/B co-culture, B/C co-culture and A/C co-culture in Fig. 3) and explain your reasoning in each case.



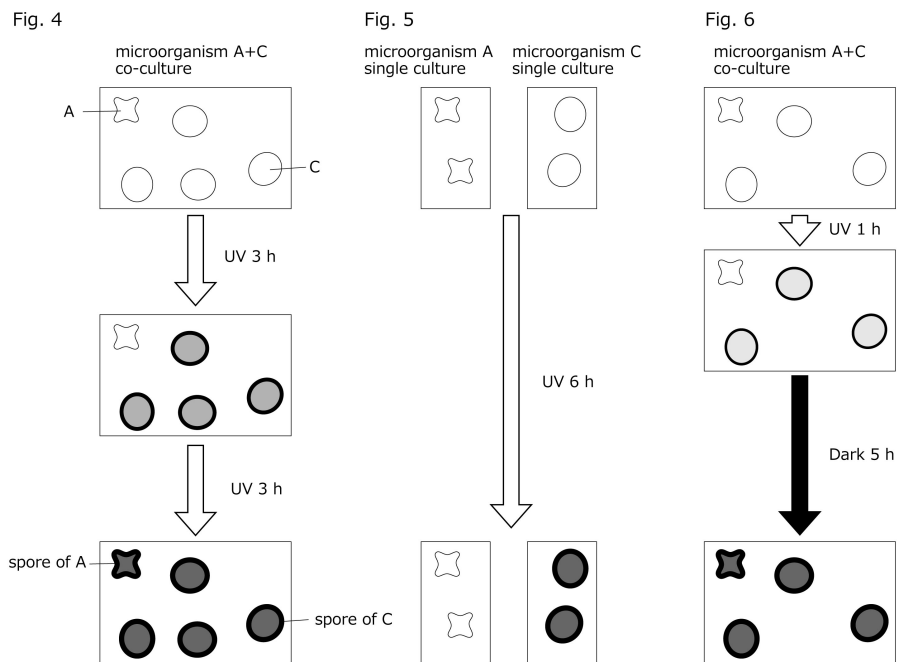
**Q1-4** For the case(s) in which you answered no (i.e. single culture growth patterns are not sufficient to explain co-culture growth patterns) in Q1-3 above, please propose a possible explanation for the observed co-culture growth pattern.

Dr. Mishima found that co-cultured microorganisms A and C form “spores” when the co-culture is exposed to UV light for 6 hours. Spores are dormant cells surrounded by a characteristic thick casing. Spores consume very little nutrients and do not proliferate. Cell casing formation occurs gradually during the transition from active cells to spores. Closer inspection revealed that microorganism C initiates spore formation immediately upon UV illumination whereas microorganism A started the sporulation process 3 hours after the onset of UV illumination (Fig. 4).

Dr. Mishima became interested in the mechanism of spore formation in microorganisms A and C. She performed two experiments described below.

When microorganisms A and C were cultured separately and exposed to UV light for 6 hours, microorganism C formed spores whereas no obvious change was observed in microorganism A (Fig. 5).

When a co-culture of microorganisms A and C was exposed to UV light for 1 hour and then kept in the dark for 5 hours, both microorganisms A and C formed spores (Fig. 6).



**Q2-1** Based on the results shown in Figs. 4, 5 and 6, propose a simple mechanism of initiation of spore formation upon UV illumination in microorganisms A and C. Please explain how your model accounts for the results shown in Figs. 4, 5 and 6.

In order to obtain further insights into the mechanisms of spore formation in microorganisms A and C, Dr. Mishima mutagenized microorganism C. She obtained three kinds of mutants (mutants *w*, *x*, *z*), in which spore formation in organism A and/or C is impaired in the co-culture.

Each mutant strain has a nucleotide substitution that inactivates a single gene. Un-mutated strains will be referred to as "wild-type". Wild-type and mutant strains of microorganism C were co-cultured with wild-type microorganism A and exposed to UV light for 6 hours. Phenotypes of the resulting organisms are summarized in Table 1.

**Table 1.** Phenotypes of microorganisms A and C after exposure of co-cultures to UV light for 6 hours

Microorganism C	Wild type	Mutant <i>w</i>	Mutant <i>x</i>	Mutant <i>z</i>
	Spores	Spores	Active cells	Active cells
Microorganism A	Spores	Active cells	Active cells	Spores

**Q2-2** Based on the results shown in Table 1, please explain which part(s) of the mechanism you described above (your answer to Q2-1) are impaired in the co-cultures of microorganism C mutants *w*, *x* or *z* and wild-type microorganism A. If you cannot explain the effects of mutations based on the mechanism (your answer to Q2-1), please propose a modification of your model so that it can account for the findings in Table 1 and then describe your answer.

**Q2-3** Microorganism A and mutant strain *w* of microorganism C were inoculated into the growth medium to give concentrations of 50 cells/mL for each species (total 100 cells/mL) and co-cultured. The initial conditions were similar to the experiments in Fig. 3 (iii), but the co-culture was exposed to UV light 5 days after the inoculation. Please predict any growth rate changes for microorganism A and mutant strain *w* of microorganism C upon exposure to UV light. In addition, predict the final concentrations of microorganism A and strain *w* of microorganism C after cultivation in UV light. Please be sure to explain your reasoning.

**Q3** You are asked to conduct research related to growth and/or spore formation of microorganisms A, B, and/or C. You can focus on any topic or finding described above that interests you. Please construct a proposal that includes the following parts: “title of research”, “research aims”, “outline of experiments/analyses” and “expected results and conclusions”.

**解答用紙： 受験番号**

以下に各問を簡単に記載してありますが、必ず問題用紙の情報に基づいて解答して下さい。解答スペースのサイズは変更しないでください。解答スペース内の行間は自由に変更して構いません。

問 1-1 図 2 のグラフに示される結果の主な特徴（種間の類似点と相違点）（計算をする必要はありません。）

問 1-2 最終細胞密度の違いの理由

問 1-3 各微生物種の単独培養における増殖パターン（図 2）の情報のみで、各共培養における各微生物種の増殖パターン（図 3）を説明することは可能ですか。微生物 A と B、B と C、A と C の共培養についてそれぞれ教えてください。またその理由も、それぞれの共培養について述べてください。

微生物 A と B の共培養の場合

微生物 B と C の共培養の場合

微生物 A と C の共培養の場合

問 1-4 問 1-3 で、単独培養での増殖パターンで共培養での増殖パターンを説明できないと答えたケースについて、どの様なことを想定すれば、その共培養の増殖パターンを説明できるか述べてください。

解答用紙： 受験番号

問 2-1 図 4、5 及び 6 の結果に基づいて、UV 照射によって微生物 A と C が孢子形成を開始する簡潔なメカニズムを提唱してください。あなたの提唱するメカニズムが、どのように図 4、5 及び 6 の結果を説明できるのかも述べてください。

解答用紙： 受験番号

問 2-2 表 1 の結果から、微生物 C の変異体  $w$ 、 $x$  または  $z$  と微生物 A の共培養では、問 2-1 で提唱したメカニズム（またはその改訂版）のどの部分に異常が起きていると考えますか。

解答用紙： 受験番号

問2-3 UVを当てる前と後で微生物Cの変異体wと微生物Aの増殖速度はどの様に変化すると予想しますか、また、微生物Cの変異体wと微生物Aは最終的に何細胞まで増えると予想しますか。理由とともに教えてください。



問 3

研究のタイトル：

目的：

実験・解析の方法：

得られる結果と考察：

## Answer sheet : Application Number

Note that the exam questions are only briefly summarized in the answer sheet. Please be sure to read the exam for the full information and questions. Please do not change the size of the space. You are free to set the line spacing in the given spaces.

Q1-1 The main findings of the experiments shown in Fig. 2 (no need for calculations; note the similarities and differences among species).

Q1-2 An explanation for the difference in the final cellular concentrations.

## Answer sheet : Application Number

**Q1-3** Do the single culture growth patterns in Fig. 2 predict the co-culture growth patterns in Fig. 3? Please give separate answers for the three graphs (A/B co-culture, B/C co-culture and A/C co-culture in Fig. 3) and explain your reasoning in each case.

A/B co-culture

B/C co-culture

A/C co-culture

**Q1-4** For the case(s) in which you answered no (i.e. single culture growth patterns are not sufficient to explain co-culture growth patterns) in Q1-3 above, please propose a possible explanation for the observed co-culture growth pattern.

**Answer sheet : Application Number**

**Q2-1** Based on the results shown in Figs. 4, 5 and 6, propose a simple mechanism of initiation of spore formation upon UV illumination in microorganisms A and C. Please explain how your model accounts for the results shown in Figs. 4, 5 and 6.

**Answer sheet : Application Number**

**Q2-2** Based on the results shown in Table 1, please explain which part(s) of the mechanism you described above (your answer to Q2-1 or a modified version) are impaired in the co-cultures of microorganism C mutants *w*, *x* or *z* and wild-type microorganism A.

**Answer sheet : Application Number**

**Q2-3** Predict any growth rate changes for microorganism A and mutant strain *w* of microorganism C upon exposure to UV light. In addition, predict the final concentrations of microorganism A and strain *w* after cultivation in UV light. Please be sure to explain your reasoning.

**Answer sheet : Application Number**

Q3

Title of research:

Research aims:

Outline of experiments/analyses:

Expected results and conclusions: