

## 大問3の解答と解説 (1/5)

反応 終了時刻	XX 時 XX分	プレート を渡した時刻	YY 時 YY分
------------	----------	----------------	----------

※図3-4が記載されたページにおける作業c、gにおいて指示された時刻をここに記載すること

乳酸標準 液濃度 (mmol/L)	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0313	0.0157	0
吸光度 (450 nm)	1.500	0.883	0.477	0.301	0.199	0.152	0.128	0.107

※図 3-4 が記載されたページにおける作業 f で得られた数値をここに記載すること

測定試料	測定試料 A	測定試料 B	培地のみ
吸光度 (450 nm)	0.705	0.788	0.144

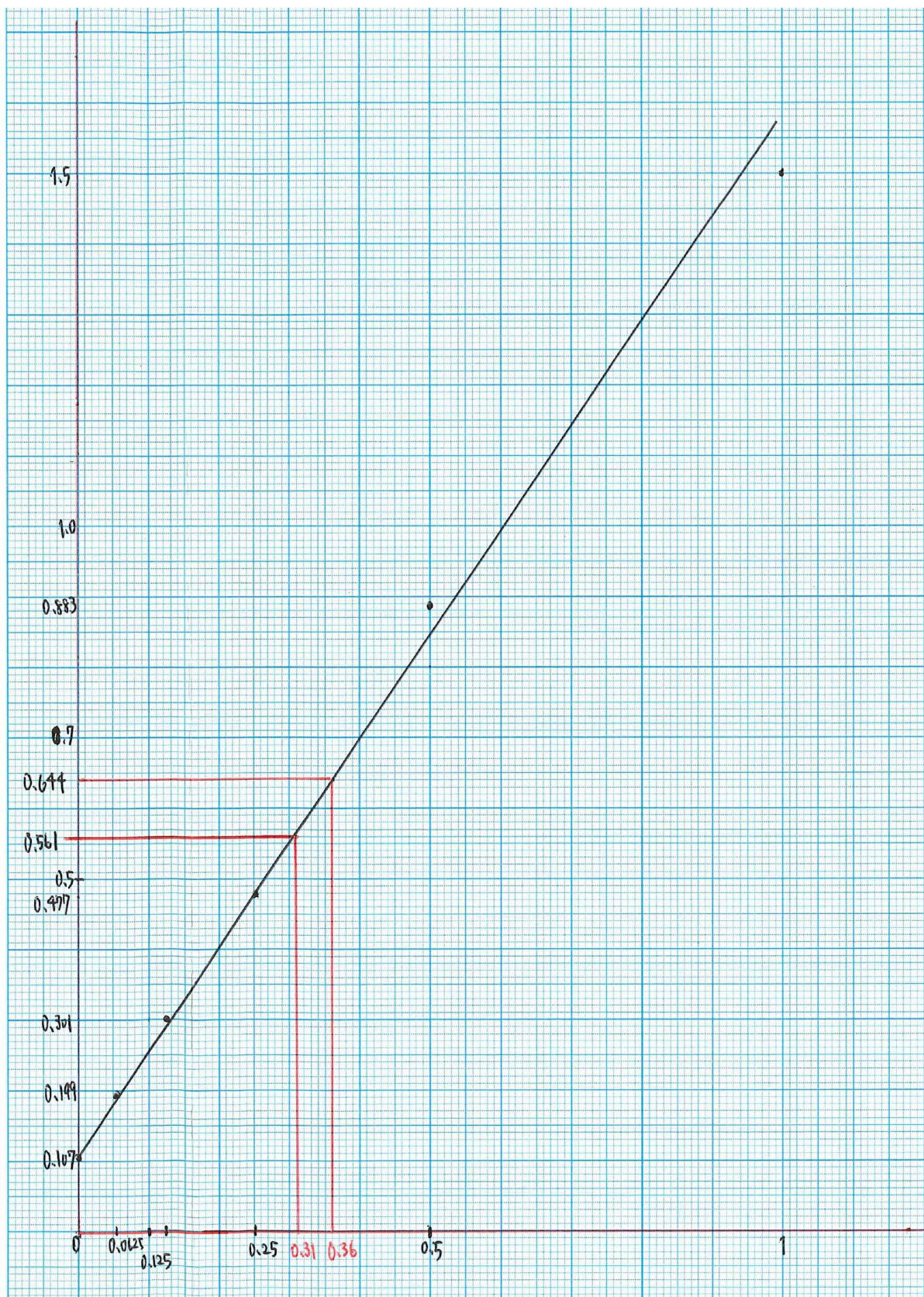
※図 3-4 が記載されたページにおける作業 f で得られた数値をここに記載すること

※上記は解答例です。実際には実験結果によって異なる数値が入ります。



# 大問3の解答と解説 (2/5)

※下記のグラフは解答例です。実際には実験結果によって検量線の引き方は異なります。





## 大問3の解答と解説 (3/5)

※下記は解答例です。実験結果によって計算式や値は異なります。

### 大問3-1の解答欄(つづき)

測定試料 A	19 mmol/L	測定試料 B	22 mmol/L
(計算式) 測定試料 A : $0.31 \text{ mmol/L} \times 60 = 18.6 \text{ mmol/L}$  測定試料 B : $0.36 \text{ mmol/L} \times 60 = 21.6 \text{ mmol/L}$			

### 大問3-2の解答欄

測定試料 A	19.0 pmol/cell	測定試料 B	13.2 pmol/cell
(計算式) 細胞 A の総タンパク量 $5.7 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 150 \mu\text{L} = 855 \mu\text{g}$ 1 細胞は 285 pg なので $855 \times 10^{-6} \div 285 \times 10^{-12} = 3 \times 10^6 \text{ cell}$ 培地中の乳酸量を求めると $19 \times 10^{-3} \text{ mol/L} \times 3 \times 10^{-3} \text{ L} = 57 \times 10^{-6} \text{ mol}$ 乳酸量を細胞数で割ると $57 \times 10^{-6} \div 3 \times 10^6 = 19 \times 10^{-12}$ (つまり 19.0 pmol/cell) 細胞 B の総タンパク量 $9.5 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 150 \mu\text{L} = 1425 \mu\text{g}$ 1 細胞は 285 pg なので $1425 \times 10^{-6} \div 285 \times 10^{-12} = 5 \times 10^6 \text{ cell}$ 培地中の乳酸量を求めると $22 \times 10^{-3} \text{ mol/L} \times 3 \times 10^{-3} \text{ L} = 66 \times 10^{-6} \text{ mol}$ 乳酸量を細胞数で割ると $66 \times 10^{-6} \div 5 \times 10^6 = 13.2 \times 10^{-12}$ (つまり 13.2 pmol/cell)			

## 大問3の解答と解説 (4/5)

### 大問3-3の解答欄

(回答例)

細胞 B が MYC 発現低下 HT29 細胞である。がん細胞ではピルビン酸から乳酸が産生されること、そして、MYC の発現が高い細胞では解糖系も亢進していることが知られていることから、乳酸排出量が少ない細胞 B が MYC 発現低下 HT29 細胞と考えられる。

### 大問3-4の解答欄

(回答例)

細胞溶解液には内在性の LDH が存在しているため、LDH 酵素量、変異による活性変化などにより酵素量が異なり、定量検査とはならない。そのため、細胞溶解液を除タンパクしたものを測定に用いる

### 大問3-5の解答欄

(解答例)

がん細胞は不均一な細胞集団であるため、この大腸がん細胞では  $NAD^+/NADH$  値が高いものと低いものが混ざっていると考えられる。はじめのがん細胞集団では  $NAD^+/NADH$  比が高い細胞集団が優勢であったため、乳酸が産生されたが、乳酸が培地中に増加し pH が低下すると、低 pH 培養条件において増殖が可能な  $NAD^+/NADH$  値が低い細胞集団が入れ替わって増えてきたと考えられ、それら細胞集団は乳酸ががん細胞に取り込まれピルビン酸へと変換されエネルギー産生に利用されていると考えられる。

# 大問3の解答と解説 (5/5)

(解説)

## 大問3-1

グラフ用紙上に吸光度と乳酸濃度をプロットする。培地のみ測定バックグラウンドが吸光度として算出されているので、測定試料AおよびBの吸光度からバックグラウンドの吸光度を引いた値を使用し、検量線から測定試料AおよびBの濃度を算出する必要がある。したがって、回答例では測定試料Aの吸光度が $0.705 - 0.144 = 0.561$ 、測定試料Bが $0.788 - 0.144 = 0.644$ となり、検量線から乳酸濃度を求めると測定試料Aが $0.31 \text{ mmol/L}$ 、そして、測定試料Bが $0.36 \text{ mmol/L}$ となる。

また、実験に使用した測定試料AとBは12倍されていると記述があるので、実験操作にて5倍希釈したことを考慮すると、測定試料AとBの濃度は60倍希釈されており、有効数字が2桁と指定されているため、解答例の計算となる。

## 大問3-2

回答例の通り

## 大問3-3

問題文の「はじめに」の部分にて、「がん細胞ではピルビン酸から乳酸が産生される」こと、「がん細胞にて産生された乳酸は細胞外に放出される」こと、そして、「MYCの発現が高い細胞では解糖系も亢進している」ことが記載されている。また、解糖系はグルコースからピルビン酸が産生されることは高校生物で周知されている。これらを総合すると、MYC発現低下細胞は細胞外に放出される乳酸量が減少しているとわかるので、乳酸測定が成功していると細胞BがMYC発現低下HT29細胞であるとわかる。

## 大問3-4

がん細胞においてもLDHが存在しているため、LDHという酵素がタンパク質であることに気づき、タンパク質を取り除く実験操作を考察できるかを問う問題である。回答例には一例を示している。

## 大問3-5

本問題では近年考えられているがん細胞の不均一な細胞集団特性を考察させる問題である。回答例には一例示している。