

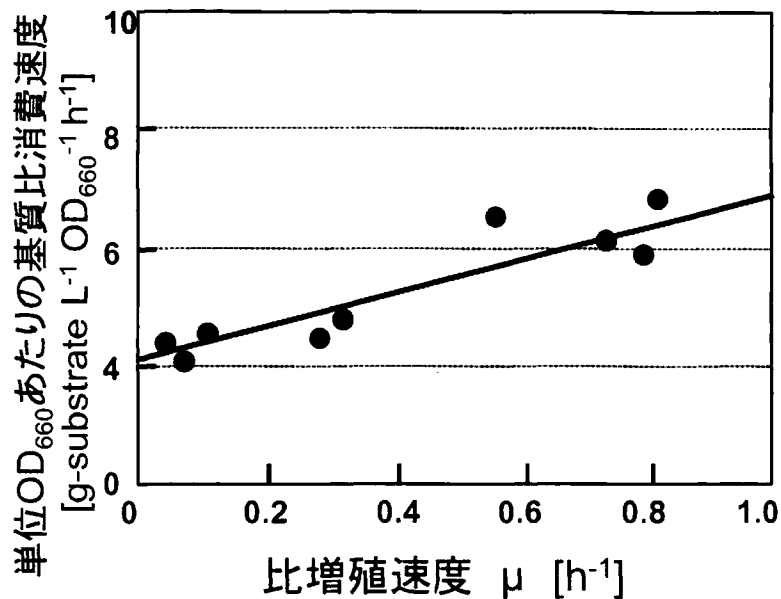
平成 21 年度 大学院博士前期課程入学試験問題

受験番号

生物化学工学

問題 1. (配点率 34/100)

ある遺伝子組換え大腸菌を用いて、初期基質濃度を様々に変化させた回分培養を行い、対数増殖期の菌体の増殖速度と基質の消費速度から下図に示す関係を得た。ただし、比増殖速度と基質の比消費速度は一定であるとの仮定をおいている。菌体濃度  $OD_{660}=1$  は  $0.25 \text{ g-dry cell L}^{-1}$  として、下記の問いに答えよ。計算結果は有効数字 2 桁にて示し、計算の過程、単位も示すこと。



(1) 上記の菌を用いてある初期基質濃度で回分培養を行った。測定を開始してから 7 時間後まで対数増殖期が続き、 $OD_{660}$  は 0.03 から 1.2 まで増加した。この間、比増殖速度一定と仮定して、世代時間を求めよ。さらに、基質の比消費速度も一定と仮定して、単位乾燥菌体量あたりの基質比消費速度を求めよ。

必要に応じて下記の数値を用いてよい。

X	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$\ln(X)$	0.693	1.10	1.39	1.61	1.79	1.95	2.08	2.20	2.30

(2) 上記の図に示すように、比増殖速度と基質比消費速度は一次関数の形で表現可能であった。この傾きと切片の意味について説明するとともに、各々の値を算出せよ。

(3) ある生産物が (1) の回分培養中に生産され、対数増殖期における比生産速度  $\rho$  [g-product g-dry cell<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>] と比増殖速度  $\mu$  [h<sup>-1</sup>] の間には、 $\rho = 0.25\mu$  の比例関係が成立していた。(1) の回分培養の対数増殖期における基質 [g-substrate] あたりの生産物収率を求めよ。

問題 2. (配点率 33/100)

図 1 の様な完全混合型の培養槽があり、培養液が連続的に流入している。培養液の流入速度は一定で培養槽からの流出速度と釣り合い、培養槽内の液量は一定に保たれている。もちろん流入する培養液には菌体は含まれていない。下記の記号の中から必要なものを用い、以下の問いに答えなさい。

- (1) 培養槽内に菌体が存在し酸素を消費しているとして、培養槽内における溶存酸素に関する物質収支式を書きなさい。
- (2) 酸素移動容量係数  $k_L a$  の値が既知の時、定常状態における溶存酸素濃度  $C_s$  と菌体濃度  $X_s$  の測定値を用いて、菌体の酸素比消費速度  $Q_{O_2}$  を求める式を示しなさい。
- (3) 菌体が存在せず、流入水中の溶存酸素濃度  $C_{in}$  が飽和溶存酸素濃度  $C^*$  に等しい時、非定常状態における培養槽内の溶存酸素濃度  $C$  の時間変化を示しなさい。但し、培養槽内の初期溶存酸素濃度を  $C_0$  とする。
- (4) 飽和溶存酸素濃度  $C^*$  と培養槽内の溶存酸素濃度  $C$  の差が、初めの  $1/e$  まで減少する時間  $\tau$  を求めなさい。

記号

$C$	溶存酸素濃度 ( $\text{g-O}_2 \text{ m}^{-3}$ )
$C^*$	飽和溶存酸素濃度 ( $\text{g-O}_2 \text{ m}^{-3}$ )
$F$	培養液の流入または流出速度 ( $\text{m}^3 \text{ h}^{-1}$ )
$k_L a$	酸素移動容量係数 ( $\text{h}^{-1}$ )
$P$	生産物濃度 ( $\text{g-product m}^{-3}$ )
$Q_{O_2}$	菌体の酸素比消費速度 ( $\text{g-O}_2 \text{ g-dry cell}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )
$T$	培養温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )
$t$	時間 ( $\text{h}$ )
$\tau$	時定数 ( $\text{h}$ )
$V$	培養槽内の液量 ( $\text{m}^3$ )
$X$	菌体濃度 ( $\text{g-dry cell m}^{-3}$ )
$\mu$	菌体の比増殖速度 ( $\text{h}^{-1}$ )

添え字

in	流入
out	流出
s	定常状態
0	初期状態

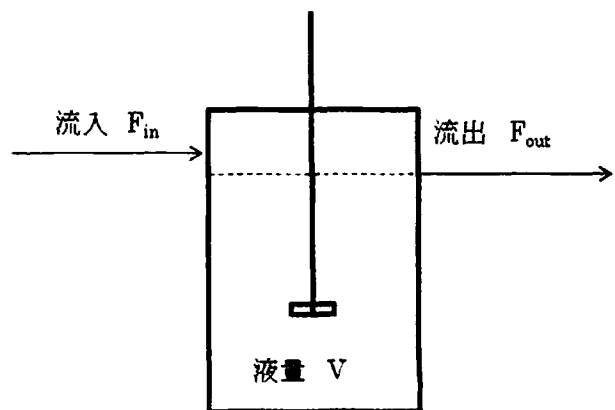
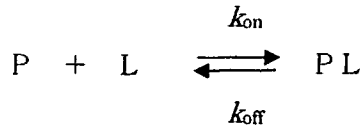


図 1 完全混合型連続培養槽

問題 3. (配点率 33/100)

1. タンパク質 P と、これを特異的に認識するリガンド L が次式のように反応して P と L の 1 : 1 の複合体を形成するとき、次の設問に答えよ。



- (1) 遊離のタンパク質濃度を  $p$  [M]、遊離のリガンド濃度を  $l$  [M]、P と L の複合体の濃度を  $x$  [M]、会合速度定数を  $k_{\text{on}}$  [ $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ]、解離速度定数を  $k_{\text{off}}$  [ $\text{s}^{-1}$ ] とするとき、 $x$  の変化速度 ( $dx/dt$ ) を表す式を記せ。
- (2) 解離定数  $K_D = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$  と定義する。P と L の反応が平衡に達したとき、 $K_D$  を  $p$ 、 $l$ 、 $x$  で表せ。
- (3) P の全濃度 (複合体濃度と遊離の P の合計の濃度) を  $p_0$  [M]、L の全濃度 (複合体濃度と遊離の L の合計の濃度) を  $l_0$  [M] とし、リガンドと複合体を形成している P の割合を  $F$  とするとき ( $F = x/p_0$ )、 $F$  を  $K_D$  と  $l_0$  で表せ。ただし、 $l_0$  は  $p_0$  よりも十分に大きく、 $l_0 = l$  と近似できるものとする。
- (4)  $K_D = 10^{-7}$  [M] であるとき、縦軸に  $F$ 、横軸に  $\log l_0$  をとったグラフの概形を  $10^{-9} \leq l_0 \leq 10^{-5}$  [M] の範囲で示せ。

2. 細胞破砕液から目的タンパク質を、(A) 硫酸塩析、(B) 疎水クロマトグラフィー、(C) ゲル濾過クロマトグラフィーの 3 つの手段を用いて精製する時、最も適切な順序を番号で答え、その理由を 50 字以内で簡潔に説明せよ。

- ① A→B→C    ② A→C→B    ③ B→A→C  
 ④ B→C→A    ⑤ C→A→B    ⑥ C→B→A

3. 下記の単語群から、A~F の括弧内に入る最も適当な言葉を一つ選び、番号で答えよ。

- (1) 等電点が 5.0 のタンパク質が pH 7.0 の溶液中にある時、このタンパク質は ( A ) に荷電しており、イオン強度が十分に低ければ ( B ) イオン交換樹脂に吸着させることができる。この ( B ) イオン交換樹脂には官能基として ( C ) 基などが用いられる。
- (2) タンパク質には、疎水性アミノ酸が多い領域があり、( D ) などを添加することによって ( E ) 基を導入したゲルに吸着させることができる。
- (3) 抗原を免疫したマウスなどの血液から抗体をアフィニティ精製するには、抗原を固定したカラムを用いる方法の他に、( F ) を固定したカラムを用いる方法がある。

- ①正 ②負 ③陽 ④陰 ⑤diethylaminoethyl ⑥carboxymethyl ⑦butyl  
 ⑧塩化ナトリウム ⑨尿素 ⑩アセトニトリル ⑪硫酸アンモニウム  
 ⑫concanavalin A ⑬protein A ⑭ribonuclease A ⑮glutathione ⑯His-tag