

1/9
H21. 8. 24 実施

平成 22 年度博士前期課程入学試験問題

生物工学 I

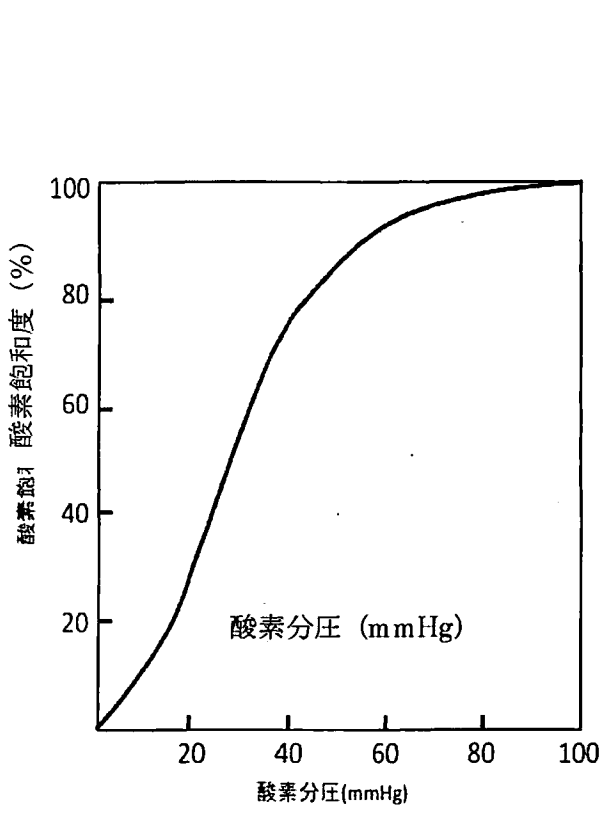
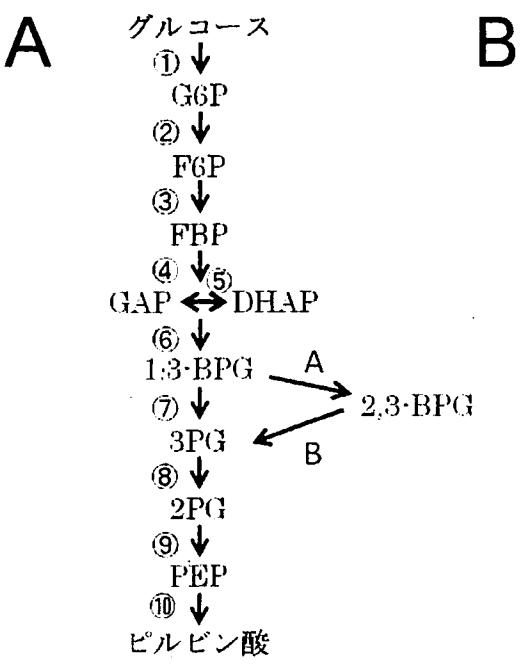
基礎生物化学、生物化学工学から 1 科目選択

但し、内部受験生は生物化学工学を必ず選択すること。

受験番号	
------	--

基礎生物化学

問題 1. (配点率 35/100)



- (1) A の図は解糖系を含む代謝経路を略称で示したものである。この図について以下の問いに答えなさい。
- (a) ATP が消費される反応、ATP が生成される反応をそれぞれ図の番号で答えなさい。
 - (b) NADH が生成される反応を図の番号で答えなさい。
 - (c) 一般に A のような反応を触媒する酵素の名称を答えなさい。
 - (d) 一般に B のような反応を触媒する酵素の名称を答えなさい。
 - (e) 2,3-BPG の名称 (日本語または英語) と構造を示しなさい。
- (2) B の図は正常の赤血球の酸素飽和度を示したグラフである。2,3-BPG はデオキシヘモグロビンに結合し、ヘモグロビンの酸素への結合能を低下させる。(a)ヘキソキナーゼを欠損した赤血球、(b)ピルビン酸キナーゼを欠損した赤血球では、それぞれ曲線が左右のどちらかにシフトするかその方向を簡単な理由をつけて答えなさい。
- (3) ヘモグロビンは酸素分子や BPG によって酸素分子との親和性が調節される。このようにタンパク質の機能が別の分子によりコンフォメーションの変化を通じて調節をうける

制御の総称を答えなさい。また図の①から⑩において、同様の制御を受けている段階がある。その番号と酵素の名称（日本語または英語）を示しなさい。

問題 2. (配点率 35/100)

タンパク質の立体構造の主鎖コンフォメーションマップであるラマチャンドラン・ダイアグラム (図 1) に関連する以下の問いに答えなさい。

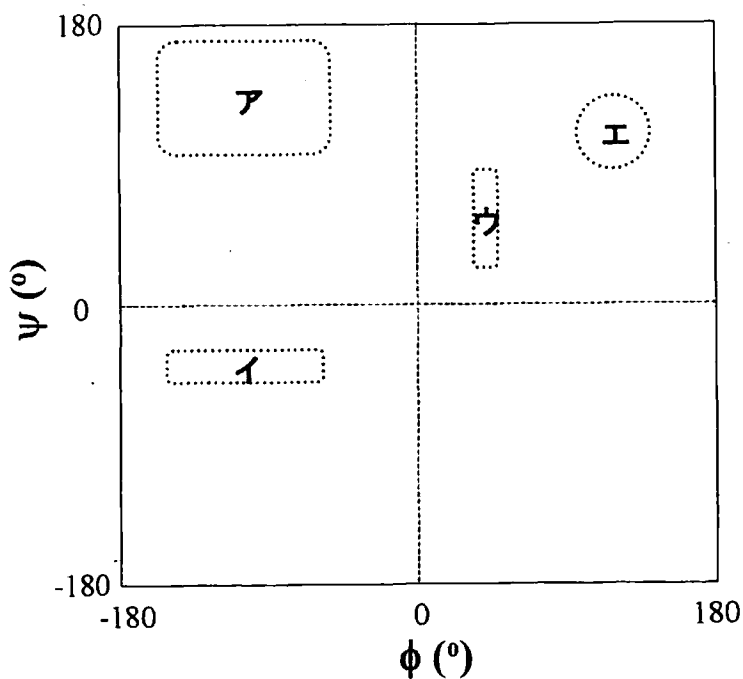


図 1 ラマチャンドラン・ダイアグラム

- 1) ポリペプチド主鎖の二面角 ϕ と ψ を、例にならって原子 (N、C α 、C) と残基番号 (n-1、n、n+1) を用いて、4つの原子を使って表しなさい。
【例】 C_n-C α _n : N_n-C_{n+1}
- 2) ϕ と ψ 以外のもうひとつの二面角はほとんど同じ角度をとる。(A) その角度を答えなさい。また、あるアミノ酸は一部異なるコンフォメーションをとることができる。(B) そのアミノ酸を答えなさい。(C) そのアミノ酸が異なるコンフォメーションを形成している場合、タンパク質の構造形成にどのような影響をおよぼすと考えられるか答えなさい。
- 3) 図 1 のア～ウの領域は、どのような二次構造を形成するか答えなさい。
- 4) 図 1 のア～ウの領域以外のコンフォメーションをとることができるアミノ酸を答え、その理由も述べなさい。

- 5) あるタンパク質において、図1のウとエの領域のコンフォメーションをとるアラニンがそれぞれ存在した。それらをそれぞれグリシンに置換した変異体タンパク質を作製し、その安定性を野生型と比較したところ、一方は大きく安定化(①)し、もう一方はあまり変化していなかった(②)。それぞれのアラニン(ウ、エ)の変異体の安定性の結果(①、②)はどちらと予想されるか理由とともに答えなさい。ただし、置換アミノ酸の側鎖と主鎖の相互作用以外の相互作用は無視し、また、置換による構造変化はほとんどなしとする。
- 6) バリンは、図1のア〜ウのどの領域において、他のアミノ酸よりも存在する率が高い傾向にあるか理由とともに答えなさい。
- 7) あるタンパク質において、図1のイの領域のコンフォメーションをとるイソロイシンが分子外部と分子内部にそれぞれ存在した。それらをそれぞれアラニンに置換した変異体タンパク質を作製し、その安定性を野生型と比較した。それぞれのイソロイシン(外部、内部)の変異体について、予想される安定性の結果とその要因を推測して記述しなさい。ただし、置換による構造変化はほとんどなしとする。
- 8) コンフォメーション病とよばれる病気では、それぞれの原因タンパク質が構造変化をおこすことが要因と考えられている。(A) それらの構造変化したタンパク質は、図1のア〜ウのどの領域のコンフォメーションをとっているか答えなさい。また、(B) その構造変化した形態の特徴を述べなさい。(C) コンフォメーション病を2つ挙げなさい。

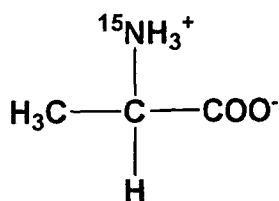
問題3. (配点率 30/100)

次の文章を読み、下の問いに答えなさい。

アミノ酸の窒素部分、すなわちアミノ基の多くは、アミノトランスフェラーゼが触媒するアミノ基転移を受ける。肝臓ではアミノ基は主にグルタミン酸としてミトコンドリアに集められる。ミトコンドリアに集められたグルタミン酸は、グルタミン酸デヒドロゲナーゼの作用（酸化的脱アミノ）を受けてアンモニアを生じる。有毒なアンモニアは直ちに尿素回路に取り込まれ、最終的に無毒な尿素に変換され肝臓から腎臓に運ばれる。

アミノ基を ^{15}N で標識したグルタミン酸が上記経路において代謝された場合に、下記に示す A~E の代謝物のどの原子にアイソトープが入るか A~E の代謝物の化学構造式を描き、標識されると考えられる窒素原子を $[^{15}\text{N}]$ で示しなさい。なお、グルタミン酸からオルニチンへのアミノ酸の生合成は起こらないものとする。

例



- A シトルリン
- B アルギニン
- C 尿素
- D オルニチン
- E アスパラギン酸

生物化学工学

問題 1. (配点率 34/100)

微生物を増殖させて目的の物質を生産させる場合、目的物質の生産性が培地の設計の良否で変化する。培地に関する下記の問いに答えよ。計算結果は有効数字2桁にて示し、計算の過程も示すこと。

(1) 下記の微生物の培地に関する文を読んで (あ) ~ (お) 内に入る語句を答えよ。

各種の栄養源が既知の化合物からのみ構成されている培地を (あ) 培地と呼ぶ。(あ) 培地で最小限の化合物から構成されている培地を (い) 培地と呼ぶ。これに対して (う) や (え) のような、その組成が詳しくわかっていない成分を含む培地を (お) 培地と呼ぶ。

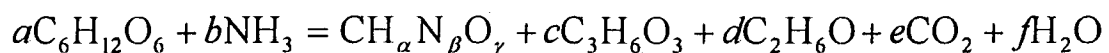
(2) ある微生物を下記に示す培地で嫌気培養を行った。その際にグルコースを炭素源として得られた基質あたりの収率 $Y_{X/S}$ (g-乾燥重量/g-グルコース) および、生産物である乳酸ならびにエタノールの収率 $Y_{P/S}$ (mol-生産物/mol-グルコース) を以下に示す。

	$Y_{X/S}$	$Y_{P/S}$	
		乳酸	エタノール
培地 A	0.30	0.20	1.57
培地 B	0.18	0.20	1.53
培地 C	0.13	0.20	1.50

培地 A、B、C が、上記の(1)の (あ) 培地、(い) 培地、(お) 培地、いずれに相当するかを示せ。また、 $Y_{X/S}$ が培地によって変化する理由を 50-100 字にて記せ。

(3) 培地 C を用いてグルコースを炭素源として上記の微生物を培養した。培養終了後、菌体を乾燥させ、その元素分析を行ったところ、C : H : N : O の比が 48:6:14:32 (重量%) であった。菌体が C、H、N および O からなり立っていると仮定した場合の菌体の組成を化学式 ($\text{CH}_\alpha\text{N}_\beta\text{O}_\gamma$) にて表現せよ。

(4) 上記(3)の培養における下記の化学量論係数 $a \sim f$ を求めよ。



問題 2. (配点率 33/100)

連続発酵における発酵槽体積の算出を行う。いま、菌体の増殖は、グルコースを唯一の制限基質とした Monod 式に従うとし、最大比増殖速度 $\mu_m = 0.10 \text{ h}^{-1}$ 、飽和定数 $K_s = 1.0 \text{ kg/m}^3$ 、菌体対糖収率 $Y_{X/S} = 0.50 \text{ kg-cell/kg-substrate}$ 、流入グルコース濃度 $S_0 = 24.0 \text{ kg/m}^3$ として、以下の問いに答えよ。

- (1) 攪拌槽型培養装置 (完全混合) における菌体およびグルコースの物質収支式を記せ。
- (2) この培養装置にて、流入速度 $F = 0.24 \text{ m}^3/\text{h}$ 、出口の菌体濃度 $X_1 = 11.0 \text{ kg/m}^3$ となるよう定常運転を行う。希釈率 (D)、槽体積 (V) ならびに槽内のグルコース濃度 (S) を求めよ。
- (3) 上述の培養装置において、菌体生産速度 ($D_1 X_1$) が最大となる流入速度 (F) を求めよ。
- (4) 直列 2 槽の連続発酵を設計する。2 槽とも攪拌槽型培養装置 (完全混合) にて、流入速度 $F = 0.24 \text{ m}^3/\text{h}$ 、2 槽目出口の菌体濃度 $X_2 = 11.0 \text{ kg/m}^3$ となる場合、総体積が最小となる個々の槽体積を求めよ。

問題3. 次の設問に答えよ。答案用紙には計算式も書くこと。(配点率 33/100)

(1) 50 kDa のタンパク質 P の遺伝子を大腸菌に組み込んで発現させたところ、タンパク質 P は全タンパク質の 2% を占めていた。この大腸菌の培養液を 20 倍希釈して 600 nm の濁度 (以下 OD_{600}) を測定したところ、0.25 であった。元の培養液 50 mL を 12.50 g の遠心分離用チューブに入れて遠心分離して上清を捨て、沈殿を適量の水に懸濁して再度遠心分離した。上清を丁寧に取り除いた後、そのチューブの重さを量ったところ、12.80 g であった。得られた沈殿を少量の水に懸濁して全量を 5.000 g のガラス容器に移し、105°C の乾燥器に入れた。2 時間後から 1 時間ごとにガラス容器の重量を測定したところ、表のような結果を得た。

表 乾燥時間と重量の関係

乾燥時間(h)	重量(g)
2	5.095
3	5.080
4	5.075
5	5.075
6	5.075

- 1) $OD_{600}=1.0$ のとき、1 L の培養液にはこの大腸菌は湿菌体として何グラム含まれるか。
- 2) $OD_{600}=1.0$ のとき、この大腸菌の乾燥菌体濃度を求めよ。
- 3) この大腸菌の乾燥菌体の 5 割がタンパク質であるとする。タンパク質 P が全て可溶性の状態で発現しているとすれば、その細胞内のモル濃度はいくらか。大腸菌の比重は 1.0 とし、沈殿の細胞の間隙の水の量は無視し、細胞膜と細胞壁の厚みも無視して考えよ。
- 4) この大腸菌からタンパク質 P を抽出・精製し、30 mg の精製タンパク質を得たい。細胞からの抽出効率を 0.9、精製時の収率を 0.4 とすると、どれぐらいの培養液が必要か。

(2) ある粒子懸濁液を $6000 \times g$ の遠心力まで耐えるチューブを用いて遠心分離する場合、ローターの上限の回転速度は毎分何回転か。ただし、ローターの最大回転半径は 8.0 cm であり、重力加速度は $9.8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$ とする。

(3) ゲル濾過クロマトグラフィーによって分子サイズによる分画を行うとき、試料の分離を悪化させる要因を 4 つ挙げ、それぞれ、どのように影響するかを 100 字以内で簡潔に述べよ。

(4) ある細胞を、培地の pH を 7 に制御して培養し、培地中に物質 X を生産させた。次のそれぞれの場合について、物質 X の工業的な分離・精製法として最も経済的と考えられるものを①～⑨の中から一つ選び、番号で答えよ。

- 1) 物質 X がグルタミン酸である場合
- 2) 物質 X がエタノールである場合
- 3) 物質 X が等電点 11 のタンパク質である場合

- ①蒸留 ②塩析 ③晶析 ④透析 ⑤限外濾過 ⑥陽イオン交換樹脂への吸着
⑦陰イオン交換樹脂への吸着 ⑧等電点電気泳動 ⑨ゲル濾過クロマトグラフィー