

平成 22 年度博士前期課程入学試験問題

生物工学 II

生物化学、微生物学、分子細胞生物学から 2 科目選択

受験番号	
------	--

生物化学

問題1 (配点率 35/100)

解糖で生じる重要化合物であるピルビン酸の代謝反応に関わる次の文章を読み、下線部(1)~(6)について、触媒反応機構を、構造式を用いて電子の移動がわかるように説明しなさい。また、それぞれの反応を触媒する酵素名を記しなさい。あわせて、補酵素が関与する場合は、関与する補酵素名を記しなさい。

解糖系において、(1)ホスホエノールピルビン酸は、ADP と反応し、ピルビン酸とATP を生成する。 筋肉内の嫌気条件下では、NADH を再酸化するために、(2)ピルビン酸は直接還元されて乳酸になる。 一方、酵母では、(3)ピルビン酸は脱炭酸されアセトアルデヒドになり、(4)生じたアセトアルデヒドが還元されてエタノールが生成する。

糖新生において、ピルビン酸からホスホエノールピルビン酸を生じる反応はピルビン酸がエノール化してリン酸化されるのではない。(5)ピルビン酸は、まず、二酸化炭素と反応してオキザロ酢酸となる。 次に、(6)オキザロ酢酸が脱炭酸を伴ってGTP と反応しホスホエノールピルビン酸を生じる。

問題2 (配点率 30/100)

(1) ビタミン D₃ は、コレステロールの誘導体である 7-dehydrocholesterol から紫外線による光分解、熱異性化を経て生成し、最終的には 1 α ,25-dihydroxycholecalciferol という活性型になる。

7-dehydrocholesterol から、1 α ,25-dihydroxycholecalciferol の生成過程を、構造式を示しながら、順次説明しなさい。

(2) 以下の文章に関して、以下の設問に答えなさい。

生体リン脂質の一つである 1-acyl-2-arachidonyl-3-*sn*-phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate は、生体膜成分として膜の構造、流動性などに重要な働きをするのみならず、細胞外からの刺激により情報伝達物質前駆体1種類、及び情報伝達物質2種類を生成する原料となる。前駆体は、phospholipase A₂ の作用により生成する (A) であり、(A) からは各種酵素の作用を経て、最終的には局所ホルモンであるプロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエンが生合成される。他の二つは、上記リン脂質に phospholipase C が作用して生じる (B) と (C) であり、これらはそれ自身が細胞内セカンドメッセンジャーとして働く。(B) は生成後、膜中に留まり、protein kinase C を活性化することを通じてその作用を発揮する。一方、(C) は細胞質中に放出され、細胞内の貯蔵 Ca²⁺ を遊離させ、細胞内 Ca²⁺ 濃度を上昇させることを通じてその作用を発揮する。

設問1) 化合物 (A)、(B)、(C) の名称と構造を示しなさい。

設問2) セカンドメッセンジャーの意味を説明し、上記以外の典型的なセカンドメッセンジャーを1種類挙げなさい。

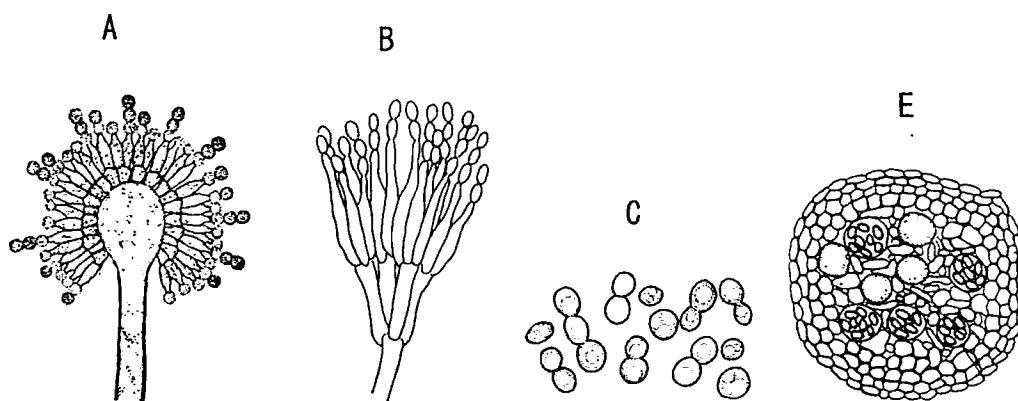
問題3 (配点率 35/100)

卵アルブミン、ヒトヘモグロビン、卵白リゾチーム、ウシ膵臓トリプシンの4つの蛋白質がある。卵アルブミンは等電点 4.0、分子量 43 kDa の蛋白質である。ヒトヘモグロビンは等電点 7.0、分子量 62 kDa の蛋白質で、赤血球に存在し酸素を肺から毛細血管に運搬する役割を担っている。卵白リゾチームは等電点 11.0、分子量 14 kDa の蛋白質で、細菌の細胞壁や昆虫のキチンを分解する。ウシ膵臓トリプシンは等電点 10.5、分子量 23 kDa の蛋白質で、蛋白質を分解する。

- 1) 卵アルブミン、ヒトヘモグロビン、卵白リゾチームの混合物を 10 mM Tris-HCl (pH 8.0) に溶かした後、同緩衝液で平衡化した陰イオン交換カラムクロマトグラフィーに供した。その後、カラムに吸着した蛋白質を、カラムに通す緩衝液の食塩濃度を直線的に上昇させることによりカラムから溶出させた。この時、上記 3 つの蛋白質はどのように分画されるか述べてよ。なお、いずれの蛋白質も陰イオン交換樹脂と静電的相互作用以外の相互作用をしないものと仮定する。
- 2) 卵アルブミン、ヒトヘモグロビン、ウシ膵臓トリプシンの混合物を 50 mM Tris-HCl (pH 8.0) に溶かした後、同緩衝液で平衡化したゲルろ過カラムクロマトグラフィーで分画した。では、これらの蛋白質はどのような順番でカラムから溶出するか答えよ。なお、カラムには分子量 1 万から 10 万までの蛋白質を分画できる樹脂を充填するものとする。またいずれの蛋白質もこの樹脂とは相互作用しないものとする。
- 3) 卵アルブミン、ヒトヘモグロビン、ウシ膵臓トリプシンの混合物を 50 mM Tris-HCl (pH 8.0) に溶かした後、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で解析したところ、3 本のバンドが得られた。では、これらの中で最も移動度の小さなバンドはどの蛋白質のバンドか答えよ。
- 4) ヘモグロビン S はヘモグロビンの変異体の 1 つでこの遺伝子をもつ人は鎌状赤血球貧血になる。では、この遺伝子をもつとなぜ赤血球が鎌状化するのかその理由を述べよ。
- 5) 卵白リゾチームの酵素活性の至適 pH は pH 5 付近であるが、なぜ pH 5 以上でも pH 5 以下でも活性が低下するのかその理由を述べよ。
- 6) 卵白リゾチームは糖鎖の $\beta(1 \rightarrow 4)$ 結合を加水分解するが、この時還元末端の C1 位と非還元末端の C4 位に水酸基が付く。では、水分子由来の水酸イオンはどちらの位置に付くか答えよ。また、それはどのような実験を行うことにより証明されたか述べてよ。
- 7) ウシ膵臓トリプシンの活性部位を構成する 3 つのアミノ酸は何か答えよ。
- 8) ウシ膵臓トリプシンは特定のアミノ酸残基の C 末端側でペプチド結合を加水分解する。では、どのようなアミノ酸の C 末端側でペプチド結合を加水分解するか答えよ。
- 9) ウシ膵臓トリプシンがペプチド結合を加水分解する時に生じる中間体の構造を書け。ただし、タンパク質は R-X、ペプチド結合は $R_1\text{-CONH-R}_2$ と記載してよい (X は官能基の構造を記載すること)。
- 10) ウシ膵臓トリプシンは活性部位付近にオキシアニオンホールをもつが、このオキシアニオンホールの役割を述べよ。
- 11) ウシ膵臓トリプシンは不活性なトリプシノーゲンとして分泌された後、活性化される。では、トリプシノーゲンはどのような仕組みで活性化されるのか述べてよ。また、トリプシノーゲンのような不活性な蛋白質加水分解酵素の前駆体 (プロ酵素) のことを一般に何というのかその名称を答えよ。

微生物学

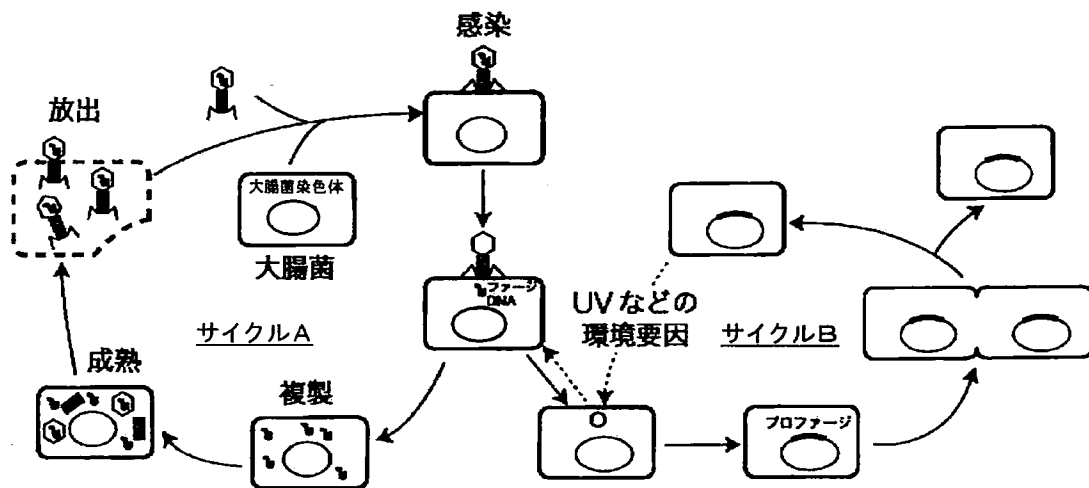
問題 1. ある試料から微生物を分離培養したところ、下図のような 3 種類の形態を示す微生物 (A、B、C) と、細胞の形態は C とよく似ているが、細胞サイズが小さくて $1\mu\text{m}$ ほどしかない微生物 D が出現した。また、A の培養では E も観察された。以下の設問に答えよ。(配点率 20/100)



- 1) A と B の微生物の属名を決定したい。もし、有性生殖世代が観察できない場合、それぞれの属名の第一候補を答えよ。(アルファベット文字で記述のこと。)
- 2) A では培養観察を続けるうちに、有性生殖世代の器官 E を形成した。E の名称を答え、このことから A は、ツボカビ門 (Chytridiomycota)、接合菌門 (Zygomycota)、子囊菌門 (Ascomycota)、担子菌門 (Basidiomycota) のうちどれに属するか答えよ。
- 3) C は $5\sim 10\mu\text{m}$ サイズの細胞で、通称「酵母」と呼ばれる微生物であることがわかった。前述の門の分類群のうち、酵母が属する門を答えよ。
- 4) 微生物は 3 つのドメイン (domain) すべてに分布している。3 つのドメイン名を答えよ。また、D がどのドメインに属するかを決定するためには、どの遺伝子の塩基配列を調べるのが最も有効かその理由と共に答えよ。
- 5) D の細胞を卵白リゾチームで処理すると溶菌した。このことから D の細胞壁組成についてわかることを理由と共に答えよ。

問題2. ウイルスに関する次の文を読んで、以下の設問に答えよ。(配点率 10/100)

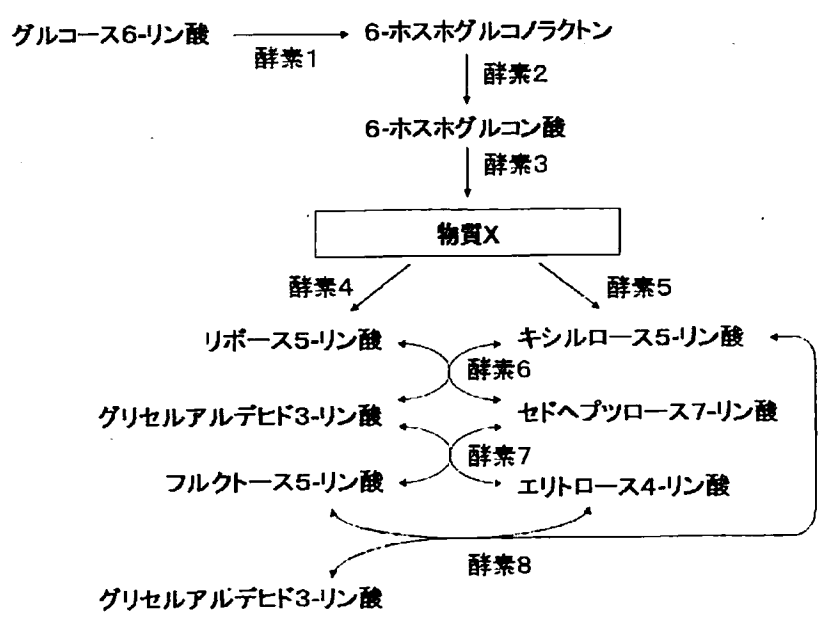
ウイルスには、動物、植物、微生物を宿主とする様々な種類があり、核酸がタンパク質に包まれた基本構造をしている。下図は大腸菌のあるウイルスの感染サイクルを模式的に示したものである。ウイルスの感染は、通常宿主細胞表層にあるウイルス特異的なレセプターへウイルスが結合することにより始まる。



- 1) ウイルスは、核酸のタイプで分類することができる。分類に使用される核酸のタイプを列挙せよ。
- 2) サイクルAとBは、それぞれ何サイクルと呼ばれているか答えよ。
- 3) インフルエンザウイルスはゲノムが変化しやすく、その原因はウイルス自体のゲノム構造であると考えられている。原因と考えられているゲノムの特徴を2つ答えよ。

問題3. 微生物のグルコースを酸化する経路として、解糖系とは異なるペントースリン酸経路が存在する。ペントースリン酸経路は、解糖系によりグルコースから生じたグルコース6-リン酸より下記の図に示すような経路である。以下の設問に答えよ。(配点率20/100)

- 1) 物質Xは何か。その物質名を英語で書け。また、構造式を開環型で示せ。
- 2) 補酵素を必要とする酵素反応は、酵素1-8のうちどの酵素であるか。酵素番号1-8で示せ。また、関わる補酵素の名称を略号で示せ。
例) PQQ
- 3) 酵素名4、7を英語で示せ。
- 4) ペントースリン酸経路の生物学的意義を100字以内で書け。



問題4. 生物を構成する主要成分元素である窒素は、自然界でさまざまな形で循環している。大気中の窒素ガス N_2 は、特定の微生物により窒素源として利用可能な物質に変換される。さらに、植物を含む多様な生物によりさまざまな化合物へと変換されて、利用される。以下の設問に答えよ。(配点率 15/100)

- 1) 窒素ガス N_2 を固定できる原核生物がマメ科植物の根粒に見られる。根粒を形成する原核生物の属名を一つ挙げよ。(アルファベット文字で記述のこと)
- 2) 窒素ガス N_2 は酵素により、物質 (イオン) A へと変換される。この窒素固定に関わる酵素名を示し、どのような特徴を持った酵素かを述べよ。また、物質 A は何か。化学式で示せ。
- 3) 酵素反応により生じた物質 (イオン) A は、細胞内でアミノ酸合成に利用される。この物質 (イオン) A は、合成酵素により、ATP を消費して、物質 B となる。また、デヒドロゲナーゼにより、2-オキシグルタル酸と反応し、物質 C となる。物質 B と物質 C について、そのアミノ酸名を書け。
- 4) 物質 (イオン) A は、さらに土壌中で酸化されて NO_2^- を経て、物質 (イオン) D となる。
 - ① 物質 (イオン) D は何か。化学式で示せ。
 - ② この酸化過程は、どのように呼ばれているか。
 - ③ 物質 (イオン) $A \rightarrow NO_2^-$ の過程に関わっている微生物について、一般的な名称で記せ。例) 腸内細菌、光合成細菌
- 5) エネルギー源として無機の電子供与体を利用できる微生物は、独立栄養的な増殖ができる場合がある。還元型無機窒素化合物を用いて化学反応を行い、増殖できる微生物について、どのようにしてエネルギーを得ているか。60 字以内で述べよ。

問題5. 突然変異に関連して以下の設問に答えよ。(配点率 20/100)

- 1) missense mutation、nonsense mutation とは、それぞれどのような mutation か説明せよ。
- 2) 表1はトリプレットコドンとアミノ酸との対応を示したものである。nonsense mutation には3種類ある。それらの nonsense mutation の慣用名を答えよ。
- 3) suppressor mutation のうち、translational suppressor (または informational suppressor とも言う) mutation とはどのような suppressor mutation か説明せよ。
- 4) いくつかの tRNA 遺伝子は、1つの塩基置換によって、UAG nonsense suppressor に変わり得る。それらの suppressor mutation によって挿入されるアミノ酸を全て答えよ。
- 5) tRNA 遺伝子に nonsense suppressor mutation が起こると、正常なタンパク合成の終結も阻害される可能性が考えられる。しかし実際にはそうした不都合は起こらない。それはなぜか説明せよ。

表1. 遺伝暗号

1 番目 (5'末端)	2 番目				3 番目 (3'末端)
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Stop	Stop	A
	Leu	Ser	Stop	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

問題6. 以下は生命現象を遺伝学的な手法で解析しようとする場合に重要な3つの解析法である。それぞれについて、その原理と何を明らかにすることができるかについて答えよ。(配点率 15/100)

- 1) Dominance-recessiveness test
- 2) Complementation test
- 3) Epistasis-hypostasis test

分子細胞生物学

問題1. 光合成に関する問1の文章を読んで、(1)から(3)の設問に答えなさい。
また問2および問3に答えなさい。(配点率35/100)

問1: 光合成の過程は大きく2組の反応に分けられる。第1段階は太陽光のエネルギーが吸収され、二つの重要な生体分子に化学エネルギーとして蓄えられる。第2段階は第1段階で作られた生体分子に蓄えられたエネルギーを用いて二酸化炭素から(A)が合成される。

- (1) 第1段階と第2段階の反応はそれぞれどう呼ばれているか答えなさい。
- (2) 第1段階で作られる2つの重要な生体分子の名前を答えなさい。
- (3) (A)に当てはまる物質名を答えなさい。

問2: 次の文章を読んでカッコ内に当てはまる最も適切な用語を答えなさい。

光合成における光吸収反応は、(①)と呼ばれる大きな(②)複合体で行われる。酸素発生型の光合成で用いられている2つの反応を触媒する一つめの反応系を(③)といい、(④)のエネルギーを水分子中におけるエネルギー準位よりもさらに低いエネルギーの谷底から中間地点まで押し上げる。もう一つの反応系である(⑤)は中間地点から(⑥)よりもさらに高い準位にまでエネルギーを押し上げる。(③)の反応中心は(⑦)とよばれる(⑧)二量体である。(⑤)の反応中心は(⑨)とよばれる。太陽光線がチラコイド膜に当たると、そのエネルギーは(③)、(⑤)両方の(⑩)に吸収され、反応中心に送られる。

問3: 葉緑体とミトコンドリアの2つの細胞小器官は元来、独立した原核生物であったとされる。またこれら2つの小器官が現存する酸素依存性の真核生物全てを生き出したとされる。どのようにして現存の酸素依存性の真核生物が生き出されたと考えられるのか、その進化的過程について、それを裏付ける事実を提示しつつ、200字以内で論じなさい。

問題2. 以下は、細胞のガン化に関する文章である。これを読み、文中の下線①～⑦に対応するそれぞれの間に答えなさい。(配点率 35/100)

ガン原遺伝子の発見は、Rous によるトリ肉腫ウイルスの発見にさかのぼる。このウイルスは遺伝物質として RNA を持つ①RNA ウイルス (レトロウイルス) である。この遺伝情報を解析した結果、肉腫発生の原因となる *src* 遺伝子が発見された。この発見に引き続いて、ヒトのガン原遺伝子として *ras* 遺伝子が見つかった。この実験では、正常な個体に由来する培養細胞にガン細胞由来の DNA を断片化したものを添加し、培養細胞をガン化 (形質転換) させる遺伝子として *ras* 遺伝子が同定された。その後の研究から、正常な細胞にも *ras* や *src* と同じ遺伝子が存在することがわかった。そして、*src* の遺伝子産物は膜受容体の一種であり、成長因子などのリガンドが結合すると二量体化し細胞内ドメインの②触媒部位が活性化することがわかっている。また、*ras* の遺伝子産物は、③細胞内情報伝達にかかわる重要な役割を持っていることが明らかとなっている。ガン化の過程では、*src* や *ras* 遺伝子に変異が生じるか、ウイルス感染等によって変異型遺伝子が導入されることで、④*src* や *ras* 遺伝子産物の下流に位置する細胞内情報伝達が活性化することがガン化の原因となっている。この二つのガン原遺伝子以外にも、⑤損傷を受けた DNA を修復する酵素や⑥テロメラーゼなどの遺伝子の変異がガン化の原因となっている例が発見されている。このように、ガン化に関係する遺伝子は、これまでに多数同定されているが、それぞれ単独では細胞をガン化することができない。これまでの研究から、⑦正常な細胞がガン化するには、多数の遺伝子に変異が蓄積しなければならないことが明らかとなっている。

問1: RNA ウイルスが宿主の細胞内で遺伝情報を複製するためには、通常の DNA もしくは RNA 合成酵素とは異なる酵素が必要である。この酵素の名前を述べなさい。

問2: どのような触媒活性であるのかを述べなさい。

問3: *ras* 遺伝子産物の生理的役割について100字以内で具体的に述べなさい。

問4: このことに基づいて、ガン原遺伝子が遺伝的に優性か劣性かを答えなさい。

問5: 紫外線照射によって生じやすい DNA 損傷の名称を述べなさい。

問6: テロメラーゼの発見は「DNA 末端の複製問題」を解決するものであった。この「DNA 末端の複製問題」とは何か、100字以内で説明しなさい。

問7: 培養細胞系では、ガン細胞由来の遺伝子 (*ras* 遺伝子) を1個導入するだけで細胞をガン化 (形質転換) することができた。この実験事実は、下線⑦の記述と矛盾するように思われる。その原因について100字以内で説明しなさい。

問題3. 以下の文章を読み、問1から問5について答えなさい。(配点率30/100)

微小管は重合と脱重合を繰り返す動的な細胞内骨格である。(1) 微小管は極性を持つことから、生細胞内における微小管の機能は、その位置と方向性に依存している。例えば、微小管をレールとして細胞小器官やタンパク質を移動させる(2) モータータンパク質は、移動方向が決まっている。細胞内の微小管形成は、微小管形成中心(MTOC)から起こる。さらに、(3) 微小管は細胞分裂や繊毛・鞭毛運動にも役割を果たす。

問1: 微小管を英語で記しなさい。

問2: 下線部(1)の性質は微小管の構造に起因している。微小管を構成するタンパク質を挙げて、下線部(1)の性質を50字以内で述べなさい。

問3: 移動方向が異なる下線部(2)のモータータンパク質を2つ挙げて、酵素活性や分子構造の特徴を100字以内で述べなさい。分子構造の説明に図を用いてもよい。

問4: 動物細胞と植物細胞において、細胞分裂時におけるMTOCの性質が異なる。この違いについて50字以内で述べなさい。

問5: 下線部(3)について、以下の用語を用いながら、150字以内で説明しなさい。説明に図を用いてもよい。

染色体、隔膜形成体(phragmoplast)、精子、9+2構造