

平成 23 年度 大学院博士前期課程入学試験問題

生物工学 I

生物化学工学，基礎生物化学から 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

解答には、問題ごとに 1 枚の解答用紙を使用しなさい。

受験番号	
------	--

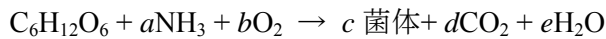
生物化学工学

問題 1. (配点率 33/100)

微生物が栄養源を取り込み、代謝によって増殖そして代謝産物生成を行う際には反応熱が生成する。微生物反応は、発熱反応であり、炭素そしてエネルギーATPに変換され、残りは熱として放出される。よって、培養においては、熱収支を考慮して除熱する必要がある。多くの好気培養では、発熱速度 (Q_{Gr} (J/h)) は酸素吸収速度 (Q_{O_2} (mol/h)) の1次式で近似されることが多く、 $Q_{Gr} = aQ_{O_2}$ (ここでは、 $a = 5.20 \times 10^5$ J/mol) と表わされる。

いま、ある菌体を好氣的に連続発酵した際の発熱速度 (除去すべき熱量) を算出する。炭素源としてグルコース、窒素源としてアンモニアを含む培地にて培養を行い、発酵体積 $V = 10$ m³、菌体濃度 $X = 10$ kg/m³、希釈率 $D = 0.25$ h⁻¹ とする。以下の問いに答えよ。

- (1) この菌体の組成は、元素分析結果により $C_6H_{10}NO_3$ で、その時の増殖収率は $Y_{X/S} = 0.125$ g/g であった。好気発酵における量論式が、



のとき、各量論係数 ($a - e$) を求めよ。

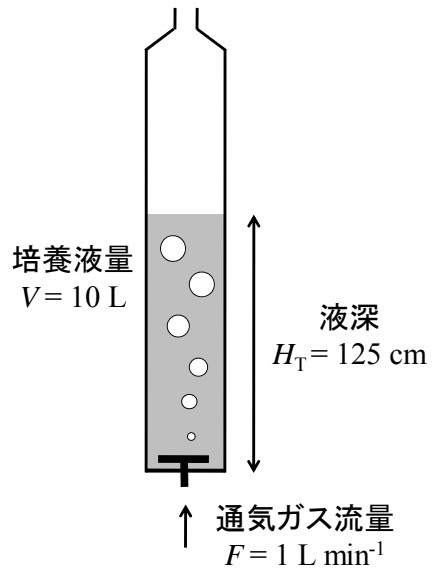
- (2) 菌体の生成速度 dX/dt (kg/h) を求めよ。
(3) 菌体の対酸素収率 $Y_{X/O}$ (g/g) を求めよ。
(4) 酸素吸収速度 Q_{O_2} (mol/h) を求めよ。
(5) 発熱速度 Q_{Gr} (J/h) を求めよ。

問題 2. (配点率 33/100)

右図のような気泡塔型培養装置を用いて、ある微生物の培養を行った。

培養が停止期（菌体、酸素、および二酸化炭素濃度が一定）にあるとして、以下の問いに答えよ。解答には計算の過程も示すこと。

- (1) 通気を一時的に停止したところ、1分間で培養槽内の溶存酸素濃度が 1 mM 低下した。培養槽内における酸素消費速度(mol h^{-1})を求めよ。
- (2) 停止期において培養槽内の溶存酸素濃度は飽和溶存酸素濃度の 80%に保たれていた。飽和溶存酸素濃度は 5 mM であるとして、この培養条件における酸素移動容量係数 $k_L a$ (h^{-1})を求めよ。
- (3) 通気ガス中の酸素分圧を 2 倍としたときの、培養槽内の溶存酸素濃度(mM)を求めよ。通気ガス組成の変化によって微生物の酸素消費速度は変化しないものとする。
- (4) $k_L a$ を変化させずに、培養液量を 125 倍にスケールアップしたい。図の培養装置と完全な相似形を保った培養装置を用いることとし、スケールアップ前後のいずれの培養装置でも下の関係式が成立することが確認されているものとする。



$$k_L a \propto F \cdot H_L^{2/3} / V$$

ただし、 F は通気ガス流量(L min^{-1})、 H_L は液深(cm)、 V は培養液量(L)である。

液深が大きくなることによる圧力変化は無視できるものとして、スケールアップ後に必要な通気ガス流量($\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$)を求めよ。

なお、必要に応じて以下の数字を用いてよい。

$$5^{1/2} = 2.24, \quad 5^{1/3} = 1.71, \quad 5^{1/4} = 1.50, \quad 5^{1/5} = 1.38$$

問題 3. (配点率 34/100)

懸濁微粒子を含む溶液をフィルターによりろ過したい。ろ過速度が次式で表わされる時、以下の問いに答えよ。

ろ過速度式

$$\frac{dv}{dt} = \frac{\Delta P g_c}{(R_m + R_c)\mu} \quad (1)$$

ここで、 v は単位ろ過面積あたりのろ過液量、 t はろ過時間、 ΔP はケーキおよびフィルターによる圧力損失、 R_m はフィルターによるろ過抵抗、 R_c はケーキによるろ過抵抗、 g_c は重力換算係数、 μ はろ液の粘度を示す。

なお、 R_c はろ過面積 A 、ケーキ中の乾燥固形物質量 W_c とケーキのろ過比抵抗 α_r と次の関係が成り立つものとする。

$$R_c = \frac{\alpha_r W_c}{A} \quad (2)$$

また、単位ろ液あたりのケーキ中の乾燥固形物質量を ρ_0 とすると $W_c = \rho_0 v$ が成り立つ。

- (1) ΔP が一定 (定圧ろ過) の条件において、上のろ過速度式(1)から次式が得られることを示しなさい。なお、上に示したいいずれかの記号を用いて v_0 および K が表わせることも示すこと。

$$v^2 + 2vv_0 = Kt \quad (3)$$

- (2) 設問(1)の(3)式を変形すると、

$$t/v = v/K + 2v_0/K \quad (4)$$

となる。ろ過時間 t の経過にともなう単位ろ過面積あたりのろ過液量 v の変化が測定された時、 v_0 および K を(4)式に基づいて図解により求める方法を示しなさい。

- (3) v_0 および K が求まった時、フィルターによるろ過抵抗 R_m およびケーキによるろ過抵抗 R_c を、上記いずれかの記号を用いて示しなさい。

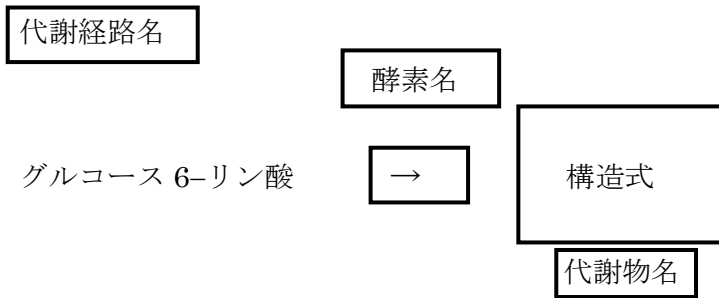
基礎生物化学

問題 1. (配点率 34/100)

以下の問いに答えよ。

- (1) グルコース 6-リン酸が代謝中間体として関与する代謝経路名をすべて挙げなさい。
- (2) また、それぞれの代謝経路においてグルコース 6-リン酸の関連する反応すべてを、下記の例に従い示しなさい。

(例)



注) 反応の方向を示す矢印は、上記以外に反対方向、両方向のものを適時使い分けること。
全く同じ反応がある場合には、同じ反応を有する代謝経路名を併記しなさい。

問題 2. (配点率 33/100)

脂質に関する以下の問いに答えよ。

脂肪酸とは、長い炭化水素鎖をもつカルボン酸である。動植物の脂肪酸の半分以上は、不飽和で二重結合を持つ。炭素数 18 の飽和脂肪酸である **a** は、9 位の不飽和化により **b**、つづく 12 位の不飽和化により **c** となる。

c は、15 位の不飽和化により **d** になる一方、6 位の不飽和化により **e** となる。脂肪酸の二重結合はほとんどみな A (シス形、トランス形) である。炭化水素は、そこで B (30 度、45 度) 曲がるので、不飽和脂肪酸は、飽和脂肪酸より充填性が C (良く、悪く) **f** 相互作用が D (増加、減少) する。そのため (i) 不飽和度が高いほど融点が E (高く、低く) なる。

動物の脂肪、油の多くは、脂肪酸とグリセロールとの **g** 結合による F (トリアシルグリセロール、グリセロリン脂質) として存在している。一方、G (トリアシルグリセロール、グリセロリン脂質) は、化学的には、**h** の誘導体であり、脂肪酸と **g** 結合する。H (疎水性、親水性、両親媒性) を持ち、**i** を形成して糖脂質や (ii) ステロール と共に生体膜の主要な構成成分となるほか、生体内でのシグナル伝達にも関わる。

- (1) 文章中の a~i の名称を記しなさい。
- (2) a~e、および、h の構造式を示しなさい。
- (3) A~H の括弧の用語のいずれかを選んで記しなさい。
- (4) 下線(i)を参考にして、生体膜中の不飽和脂肪酸が多い生物では、温度感受性に関しどのようなことが期待できるか？ 理由と併せて述べなさい。
- (5) 植物の多くは、遺伝子組換え操作が可能である。設問(4)に関し、温度感受性が異なる植物を作成するにはどのような遺伝子組換え操作をすればよいか。低温耐性の植物を作成する場合、高温耐性の植物を作成する場合についてそれぞれ説明しなさい。
- (6) 下線(ii)について、動物、酵母、植物における主要なステロールをそれぞれ記しなさい。

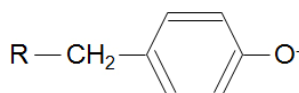
問題 3. (配点率 33/100)

リボヌクレアーゼ A (RNase A) は 124 残基からなり RNA の加水分解を触媒する。その触媒部位は pK 5.4 の His12 と pK 6.4 の His119 で構成される。以下の問いに答えよ。

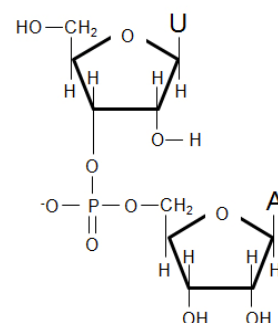
- (1) pH 3 における His12 の側鎖の構造をそのイオン化状態がわかるように示しなさい。

(解答例)

pH13 における Tyr の構造 :



- (2) ジヌクレオチド UpA の構造を右図に示す。RNase A はこのジヌクレオチドをモノヌクレオチドに加水分解する。この時、反応中間体として 2',3'-環状ヌクレオチドが生成する。つまり、RNase A による UpA の加水分解反応は、UpA が 2',3'-環状ヌクレオチドとモノヌクレオチドに加水分解される反応と 2',3'-環状ヌクレオチドがモノヌクレオチドに加水分解される反応の 2 段階から成る。1 段階目の反応においては His12 と His119 はそれぞれ一般酸、一般塩基として働く。2 段階目の反応においては His12 と His119 はそれぞれ一般塩基、一般酸として働く。では、ジヌクレオチド UpA が 2',3'-環状ヌクレオチドとモノヌクレオチドに加水分解される 1 段階目の反応機構を示しなさい。なお、His の構造は、His12-Im (プロトン化されていないイミダゾール基)、His12-ImH⁺ (プロトン化されたイミダゾール基) のように記載して良い。電子の流れを矢印で示すこと。
- (3) RNase A による UpA の加水分解は 2 段階の反応から成るが、2',3'-環状ヌクレオチドがモノヌクレオチドに加水分解される 2 段階目の反応機構を設問(2) と同様に示しなさい。
- (4) ジヌクレオチド UpA を RNase A で完全に加水分解すると 2 種類のモノヌクレオチドが得られるが、その名称を述べなさい。



解答例 : グアノシン、3'-グアノシン-リン酸 (G、3'-GMP は不可)

- (5) RNase A の反応機構を理解するためには、酵素と基質の複合体の結晶構造を決定する必要がある。しかし、酵素が働く条件 (生理条件) 下で結晶化すると、基質は酵素によりたちまち加水分解されてしまう。では、生理条件下で RNase A と UpA などの基質の複合体を結晶化させるためにはどのような方法が有効と考えられるか述べなさい。
- (6) 酵素反応においては、基質 (反応物) は遷移状態を経て生成物になる。反応物、遷移状態、生成物の自由エネルギーを比較すると、遷移状態の自由エネルギーが最も高く、生成物の自由エネルギーがもっとも低い。遷移状態の自由エネルギーから反応物の自由エネルギーを引いた値を活性化自由エネルギー、反応物の自由エネルギーから生成物の自由エネルギーを引いた値を反応の自由エネルギーという。では酵素は、これらの自由エネルギーをどのように変化させることにより反応速度を促進するのか、遷移状態図 (自由エネルギーを反応座標に対してプロットした図) を用いて説明しなさい。