

平成 23 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

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

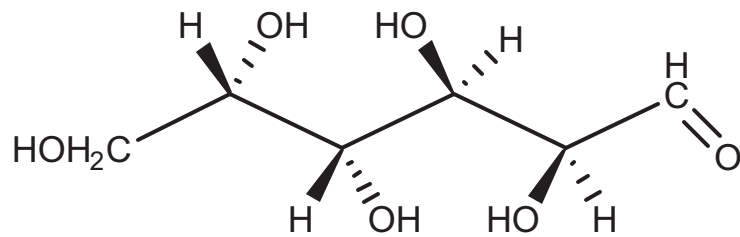
### 問題 1. (配点率 35/100)

脱炭酸反応に関する以下の問いに答えよ。

- (1) 3-オキソ酸を加熱すると容易に脱炭酸する。反応機構を記しなさい。
- (2) 3-オキソ酸の脱炭酸反応は、一級アミンにより加速される。反応機構を記しなさい。
- (3) イソクエン酸デヒドロゲナーゼは、イソクエン酸を対応する 3-オキソ酸であるオキサロコハク酸に酸化する反応を触媒するが、オキサロコハク酸は直ちに脱炭酸して 2-オキソグルタル酸を生じる。反応機構を記しなさい。
- (4) ピルビン酸デカルボキシラーゼは、脱炭酸反応を受けにくい 2-オキソ酸であるピルビン酸から脱炭酸してアセトアルデヒドを生じる反応を触媒する。反応機構を補酵素であるチアミン二リン酸の役割がわかるように記しなさい。
- (5) PEP カルボキシキナーゼは、オキサロ酢酸と GTP を基質として、脱炭酸反応を伴い、ホスホエノールピルビン酸 (PEP)を生じる反応を触媒する。反応機構を記しなさい。

問題 2. (配点率 30/100)

- (1) 下に示した図は、あるアルドヘキソースの構造を示したものである。この糖について、以下の問いに答えよ。

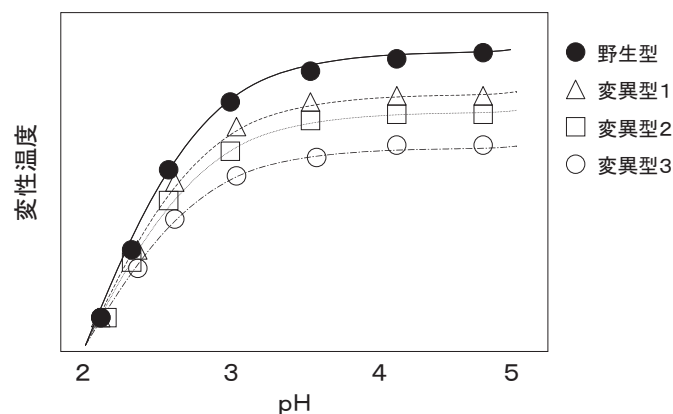


- (1-1) この糖の構造を Fischer 投影式で示しなさい。
- (1-2) この糖は、D-体であるか、L-体であるかを、その理由を付して答えなさい。
- (1-3) このような糖は、水溶液中ではいす型の環状構造をとる。存在する環状構造を、立体構造式を用いて、正確に示しなさい。
- (1-4) この糖を  $\text{NaBH}_4$  で処理するとどのようになるか、Fischer 投影式で構造を記述しつつ、具体的に答えなさい。
- (2) ケトヘキソースである D-Fructose は、水溶液中では、線状構造や環状構造など、いくつかの異なった構造を持つ化合物の混合物として存在し、互いの中で平衡関係にある。D-Fructose の水溶液中での平衡関係を具体的な構造式を用いて示しなさい。なお、線状構造については、Fischer 投影式を、また環状構造については立体構造式を用いて示しなさい。

問題3. (配点率 35/100)

タンパク質の安定性に関して以下の問いに答えよ。

- (1) タンパク質の立体構造は、共有結合によらない相互作用である A、B、C などによって安定化されている。A、B、C に当てはまる用語を、以下の設問を考慮して、記載しなさい。
- (2) A、B、C などのエネルギーは、タンパク質分子全体では合計数千  $\text{kJ mol}^{-1}$  となるが、通常のタンパク質の安定性 ( $\Delta G^\circ$ ) は  $40\sim 50 \text{ kJ mol}^{-1}$  程度である。その理由を記述しなさい。また、あるタンパク質の溶液中の天然状態と変性状態の分子の比が、 $10^5$  対 1 のとき、安定性はいくら ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) になるか示しなさい。ただし、(天然状態)  $\rightleftharpoons$  (変性状態) で、変性は可逆的な二状態転移とする。  
( $R = 8.31 \times 10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ 、 $T = 298 \text{ K}$ 、 $\ln(10) = 2.3$ )
- (3) A はアラニン、フェニルアラニン、ロイシン、D、バリン、メチオニンなどの側鎖によってもたらされる。D に当てはまる用語を記載しなさい。また、アラニン、ロイシン、バリンについて、A の効果の大きい順に示し、その理由も記述しなさい。
- (4) B は主鎖や E、F などの側鎖によってもたらされる。E、F に当てはまる用語を記載しなさい。また、B はタンパク質の立体構造中に多く存在するが、安定性にあまり寄与しない。その理由とタンパク質立体構造中の B の安定化以外の役割を記述しなさい。
- (5) C はアルギニン、アスパラギン酸などの側鎖によってもたらされる。溶液中のタンパク質について、C の効果を低下させるにはどうしたら良いか記述しなさい。
- (6) 一般に、好熱菌と中温菌のタンパク質は、相同で同じような機能を持つが、安定性が異なる。このことから考えられる知見を2つ挙げ、理由とともに記述しなさい。
- (7) 一般に、タンパク質を取扱う実験では、タンパク質を低温環境下で保存する。この理由の1つは、タンパク質の変性を防ぐためである。他に考えられる理由を記述しなさい。
- (8) 1957年に、Christian Anfinsen は、タンパク質は可逆的に変性することを示した。しかし、タンパク質を多く含むニワトリの卵は、熱によってゆで卵となり、元の状態に戻らない。その理由を記述しなさい。
- (9) あるタンパク質とその一残基アミノ酸変異型3種の熱変性実験を行った。各タンパク質とも pH を変え、変性温度を測定したところ、下の図のようになった。この図から読み取れるタンパク質の構造や安定性に関する一般的な知見を理由と共に3つ挙げなさい。アミノ酸の変異は、各変異型ともグルタミン酸をグルタミンに変異している。



## 微生物学

### 問題 1. (配点率 20/100)

自然界から有用な物質を生産する微生物を分離したところ、特徴の違う下記の微生物 A～E が得られた。以下の問いに答えよ。

(A) *Saccharomyces cerevisiae*、(B) *Lactobacillus plantarum*、(C) *Aspergillus oryzae*  
(D) *Clostridium acetobutylicum*、(E) *Streptomyces coelicolor*

- (1) 生物は大きく 3 つのドメイン(domain)と呼ばれる系統群に分けることができる。各ドメインの名称を述べ、微生物 A と微生物 E が属するドメインを答えよ。
- (2) 微生物 B のグラム染色性を答え、そのグラム染色性から予想される細胞壁構造の特徴について簡潔に説明せよ。
- (3) 分離した微生物のうち、主に菌糸細胞で栄養増殖する微生物を答えよ。
- (4) 分離した微生物のうち、胞子を形成する微生物を答えよ。
- (5) 分離した微生物のうち、日本酒を醸造する時に使用される微生物を答えよ。
- (6) 微生物の簡易同定は、現在リボソーム RNA 遺伝子情報を利用して行うことが多い。次の用語を使用して、その同定手順を簡潔に説明せよ。

【用語： ゲノム DNA、BLAST 検索、PCR、リボソーム RNA 遺伝子、塩基配列決定】

問題 2. (配点率 20/100)

図 1 の環状 DNA が、図 2 のように大腸菌染色体へ組み込まれたとする。次に、電気泳動によって分離した核酸をナイロン膜などに移して、特定の配列をもつ DNA を検出するサザンブロット法で、図 1 の DNA をプローブとして染色体 DNA の解析を行ったところ、図 3 のような DNA バンドが検出された。以下の問いに答えよ。

- (1) 本実験のサザンブロット法でも使用する制限酵素は切断した DNA の切れ口のタイプから 3 つのタイプに分類することができる。それぞれのタイプについて説明せよ。
- (2) 環状 DNA は *EcoRI-HindIII* 間の○で示した部位で染色体に組み込まれた。図 3 に示したサザンブロット解析結果から、この DNA が組み込まれた領域の 3 つの制限酵素 (*BamHI*、*EcoRI*、*HindIII*) による地図を作成せよ。なお、各制限酵素部位間の長さも記入すること。
- (3) 大腸菌に感染するファージの中には、感染後に図 2 のように染色体の中に組み込まれ、染色体の一部として複製することがある。このような現象を何と呼んでいるか答え、次のファージの中からこのような現象が起こるファージを選べ。  
【ファージ名：P1 ファージ、λ ファージ、T4 ファージ、M13 ファージ】

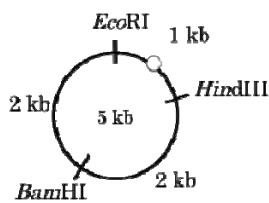


図 1. 環状 DNA の構造

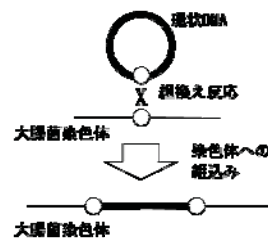


図 2. 環状 DNA の染色体への組み込み

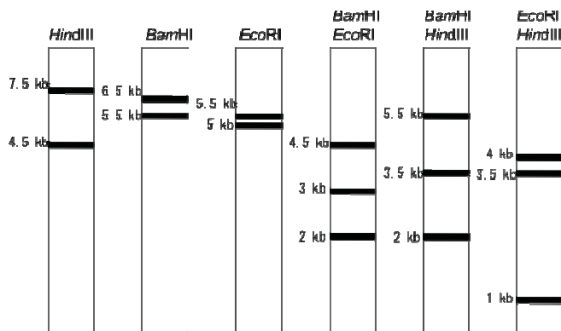


図 3. サザンブロット法による解析結果

各制限酵素で形質転換体の染色体 DNA を処理した後、図 1 の環状 DNA 全体をプローブとしてサザンブロット解析し、検出した DNA バンドをサイズとともに模式的に示した。

問題 3. (配点率 20/100)

食酢は、酢酸菌と呼ばれる微生物により、アルコールが酢酸に変換されて生産される。以下の問いに答えよ。

- (1) 酢酸菌には、主としてどのようなものがあるか。2つ挙げてその属名をアルファベットで示せ。
- (2) アルコールがどのように変換されて酢酸が生成するか。
  - (2-1) 関与する物質の構造式と変換経路を示せ。
  - (2-2) その経路に関与する酵素名を示せ。
- (3) 酢酸菌の一種は、グルコースなどの糖類を醗酵して、いわゆる「ナタデココ」を生産する。このナタデココは、どのような物質か。その構造式を示せ。
- (4) 酢酸菌の分離には  $\text{CaCO}_3$  とエタノールを含む培地が用いられることが多い。どのような原理で酢酸菌を検出することが可能か。2行程度で説明せよ。

問題 4. (配点率 20/100)

細胞内に取り込まれたグルコースは、解糖系やクエン酸回路により種々の物質に変換される。生成した各物質は、さらに別の糖質やアミノ酸などの生合成に用いられる。以下の問いに答えよ。

- (1) 図の中の物質 1 の構造を描け。
- (2) 図の中の物質 1 と物質 3 について、その名前を英語で書け。
- (3) Pyruvate と L-Glutamate を基質として、あるアミノ酸が生産される。生産するアミノ酸の構造を示せ。この反応を触媒する酵素名を述べよ。
- (4) クエン酸回路において、Acetyl-CoA は多段階の反応を経て代謝される。1 分子の Acetyl-CoA がクエン酸回路により完全に代謝されて  $\text{CO}_2$  が生じる正味の反応について、その物質収支式 (或いは化学反応式) を示せ。
- (5) クエン酸回路は、高いエネルギー物質を生み出すために重要である。高いエネルギー物質を生み出す原料は何か。高いエネルギー物質とは何かを答えよ。また、原料から高いエネルギー物質を生み出すその原理について、3 行程度で説明せよ。

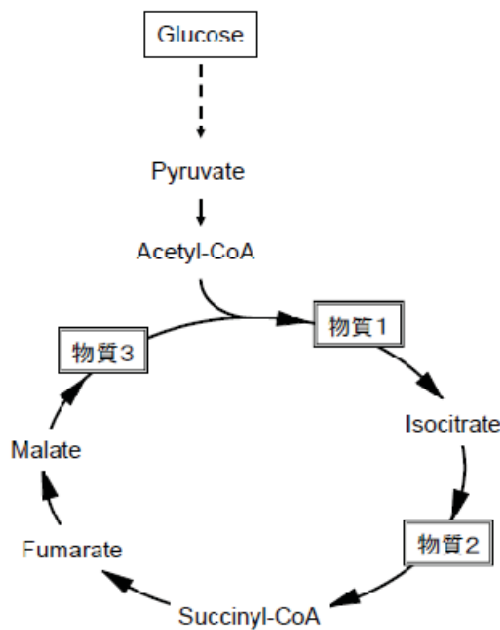


図. クエン酸回路



問題 5. (配点率 20/100)

野生型酵母菌はメチオニンを生合成する。メチオニン大量生産菌の育種を最終的な目的として、メチオニンの生合成に関与する遺伝子がいくつあるか、そうした遺伝子はどのような遺伝子かを明らかにする基礎的な研究を行うことにした。遺伝学的アプローチによってこの研究を行うとして、以下の問いに答えよ。

- (1) 着目する現象に対する遺伝学的アプローチの重要なもののひとつに変異株の分離がある。上記の目的のためには、どのような表現型の変異株を分離すればよいか、具体的に述べよ。
- (2) 首尾よくそれらの変異株が分離できたとする。変異が優性か劣性かを決めるにはどのような遺伝学的試験(実験)を行えばよいか、その手順と原理を述べよ。
- (3) それらの変異株のうち、劣性変異株を利用した簡便な遺伝学的な試験法によってメチオニンの生合成にいくつの遺伝子が関わっているかを明らかにすることができる。その遺伝学的試験の名称、手順と原理を述べよ。
- (4) 分離した変異株において変異が起こっている遺伝子がどのような遺伝子かを知るためクローニングを行うことを計画した。その原理と方法についてできるだけ具体的に説明せよ。
- (5) 遺伝子クローニングによってクローン化された遺伝子が、どのような働きを持っているかを明らかにしたい。どのようなアプローチが可能か答えよ。

# 分子細胞生物学

## 問題 1. (配点率 30/100)

以下の文章を読み、問いに答えよ。

(1) 細胞間相互作用に関する以下の文章を読み、以下の問題に答えなさい。

(①) と (②) は、それぞれ動物と植物の細胞において、隣接する細胞間の連絡が行われる部位である。(①) の分子構造は単純で、ほとんどが (③) という膜タンパク質のみにより構成されている。(③) はコネクソンと呼ばれる多サブユニット型集合体を作り、これにより、隣接する細胞の細胞質をつなぐ。(②) は円筒状の細胞質チャンネルで、隣接する細胞の細胞壁を貫いている。通常は、2つの細胞の細胞内小器官の一つから派生したと考えられる (④) とよばれる詰まった中心構造を持っている。

(1-1) ①～④に当てはまる最も適切な用語を答えなさい。

(1-2) ①をどのような分子が拡散できるかを知りたい。どのような実験を行うのが良いだろうか。100字以内で論じなさい。

(1-3) 上記の実験に結果、①を 1000 Da の A 分子は拡散できたが、800 Da の B 分子は拡散できなかったとする。この結果を説明する2つの分子間の違いを150字以内で論じなさい。

(2) 一般に細胞膜には数多くの膜タンパク質が存在する。膜タンパク質は脂質二重層との位置関係によって大きく3つのグループに分けられる。

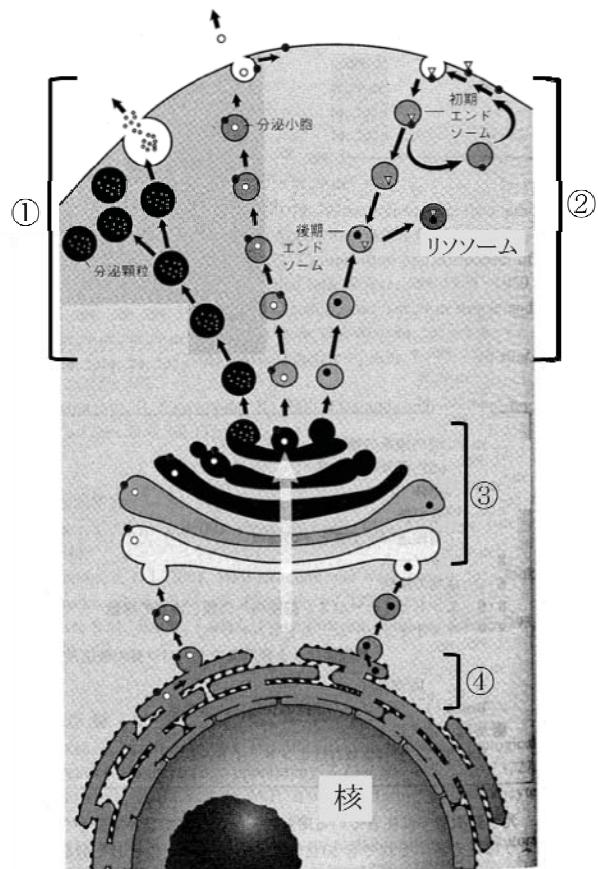
(2-1) 3つのグループの名称を答えなさい。

(2-2) 膜貫通領域をもつ膜タンパク質を可溶化、単離するためには、多くの場合界面活性剤を必要とする。界面活性剤が必要なのはなぜか。膜タンパク質と界面活性剤の物性と関連づけて150字以内で論じなさい。

(3) 右は細胞内膜系の細胞小器官による物質輸送の概略図である。この図を見て以下の問題に答えなさい。

(3-1) ①、②の経路名、および③、④の小器官名を答えなさい。

(3-2) リソソームは動物細胞の細胞小器官である。図には (②) 経路によって取り込まれた分子がリソソームで消化される様子が記されている。リソソームのその他の役割を2つ、それぞれ50字以内で答えなさい。



図：細胞内膜系の細胞小器官による物質輸送の概略図 (カープ分子細胞生物学 (東京化学同人) より抜粋)

問題 2. (配点率 35/100)

以下の文章を読み、問いに答えよ。

G<sub>2</sub>期からM期への移行には、(1) サイクリン依存性キナーゼ (Cdk) が必要である。Cdkは、細胞が有糸分裂に入ることに必要な基質をリン酸化する酵素である。そのような基質には、(2) 間期から有糸分裂への転換を特徴づける、染色体や細胞骨格の動的変化に必要なタンパク質が含まれている。Cdkの基質のひとつである(3) コンデンシンは染色体凝縮に参与するタンパク質複合体である。

細胞内のいつ、どこでキナーゼが基質をリン酸化するかを知るには、2種類の蛍光タンパク質を利用して(4) 蛍光共鳴エネルギー転移 (FRET)を計測するイメージング技術が有効である。このような蛍光イメージング技術は、組織、器官、個体のような3次的に厚みのある材料に対しても使われ始めている。

- (1) 下線部(1)のサイクリン依存性キナーゼを英語で答えなさい。なお、Cdkは略称である。
- (2) 下線部(2)の転換にはDNA損傷や細胞の異常を検知する機構が働く。その機構について100字以内で論じなさい。
- (3) 下線部(3)のコンデンシンと似た構造を持つタンパク質複合体は、姉妹染色分体の接着に役割を果たすことが報告されている。そのタンパク質複合体の名称を答え、機能を100字以内で論じなさい。
- (4) 基質の構造変化を利用することで、下線部(4)の方法により、リン酸化をイメージングする実験計画を立案し、以下の用語を使用して250字以内で答えなさい。  
用語  
【用語： CFP、YFP、励起エネルギー、供与体、受容体、蛍光基間の距離】
- (5) 蛍光イメージングにより厚みのあるサンプルを解析する手法として、共焦点走査型光学顕微鏡（コンフォーカル顕微鏡）が優れている。従来の蛍光顕微鏡に比較して、共焦点走査型光学顕微鏡が厚みのあるサンプルを解析できる理由について、図を用いて250字以内で論じなさい。

問題 3. (配点率 35/100)

遺伝子発現は転写、プロセッシング、翻訳、翻訳後のさまざまなレベルで調節されている。遺伝子の発現調節に関して以下の問いに答えよ。

- (1) 次の文章は原核細胞と真核細胞における転写について述べたものである。①～⑤に当てはまるもっとも適切な用語を答えなさい。
  - (1-1) 原核細胞と真核細胞はともに DNA からの転写は(①)という酵素によって反応が進む。転写にさきだって(①)が結合する部位は(②)とよばれている。
  - (1-2) 原核細胞の遺伝子発現の調節においては、通常1つの代謝経路の酵素をコードする一連の遺伝子は(③)とよばれる機能的な複合体として染色体上にかたまって存在する。
  - (1-3) 真核細胞においては(④)とよばれる DNA 因子が存在し、遺伝子から数千から数万塩基対も離れた位置からも転写が調節されている。またコアクチベーターは基本転写装置と相互作用するだけでなく、(⑤)を修飾することによりクロマチン構造を変化させ、転写の活性化状態を制御する。
- (2) 真核細胞 mRNA は原核細胞とは異なったプロセッシングをうけ、遺伝子発現の調節にも重要な働きをしている。一般的な真核細胞の mRNA の構造とプロセッシングの過程について模式図を用いて150字程度で論じなさい。
- (3) 真核細胞の遺伝子発現は翻訳レベルでも調節されている。翻訳レベルでの調節の例について mRNA の構造との関連を含めて論じなさい。