

24 大修

専門科目 2
生物プロセス専攻

時間 13時30分～15時00分

注意事項

- (1) 本科目の配点は200点とする。
- (2) 全問解答せよ。
- (3) 解答は1題ごとに別の答案用紙を用いること。各答案用紙には1枚ごとに必ず受験番号を記入せよ。
- (4) 答案用紙の最初2行をあげ、3行目から解答することとし、冒頭に問題番号を記入せよ。答案用紙の裏面には解答しないこと。
- (5) 空欄を埋める形式の問題を解答する場合には、答案用紙に空欄の記号または番号を対応する解答とともに記入せよ。

1. 代謝に関する以下の問に答えよ。

- [1] 光合成は、二酸化炭素と水から光エネルギーを使ってグルコースと酸素を生産する反応である。その反応収支を示す式を書け。また、生成する酸素はどちらの基質に由来するか答えよ。
- [2] 解糖系は、グルコースを酸化的にピルビン酸にまで分解し、ATPを生産する反応である。その際に用いられる酸化剤は何か答えよ。また、嫌氣的な状態ではその酸化剤をどのように再生するか、例を1つあげて説明せよ。
- [3] β -酸化は、脂肪酸をアセチル-CoA にまで酸化分解する反応である。その際に用いられる酸化剤は何か答えよ。また、1分子のパルミチン酸が β -酸化により完全に分解されると何分子のアセチル-CoA が生成するか答えよ。
- [4] 放射性炭素同位体 ^{14}C で標識されたアセチル-CoA ($\text{CH}_3^{14}\text{CO-CoA}$) 中の標識炭素がTCA回路によりすべて $^{14}\text{CO}_2$ として放出されるには、回路を2サイクル以上回らなければならない。その理由を説明せよ。
- [5] 高等動物はアセチル-CoA のみから糖新生を行なうことができないが、植物や細菌の一部はそれを行なうことができる。その理由を説明せよ。

2. 以下の間に答えよ。

[1] RNAの合成に関する次の文を読み、以下の間に答えよ。

二本鎖DNAにおける一方の鎖を鋳型として、その相補配列からなる一本鎖RNAを合成することを(ア)といい、この過程でリボヌクレオチド間の(イ)結合を形成する酵素がRNAポリメラーゼである。鋳型となるDNA鎖を(ウ)、鋳型鎖と相補的なDNA鎖を(エ)という。またタンパク質の配列情報を含むRNAは(オ)とよばれる。

大腸菌のRNAポリメラーゼは複数のタンパク質の複合体からなるコア酵素に(カ)が結合することで完全なホロ酵素となる。RNAポリメラーゼホロ酵素中の(カ)は鋳型DNA鎖中の(キ)領域を認識して結合する。大腸菌では、配列が良く保存された(ク)領域と(ケ)領域[Pribnowボックス]からなる(キ)がよく研究されている。ホロ酵素によるRNA合成が開始されると(カ)は解離し、残ったRNAポリメラーゼコア酵素は鋳型DNA鎖依存的にRNA鎖を伸長させ、転写終結領域に到達すると鋳型DNA鎖から解離する。

周囲の環境変化に応じた遺伝子発現の調節は(ア)の制御で行われていることが多い。大腸菌の*lac*オペロンは(①)による負の調節と(②)による正の調節を受けることが知られている。

(1) 上の文の(ア)～(ケ)に最も適した語句または数値を記せ。

(2) 上の文の(①)および(②)に適した語句を語群より選べ。

(語群) AraC LacZ CAP-cAMP Fnr LacY OmpR FtsZ LacI

(問題2は次のページに続く)

[2] DNAに関する以下の問に答えよ。

- (1) 化学合成した DNA の 5'-末端を放射性リン同位体 ^{32}P で標識する方法について説明せよ。(3行程度)
- (2) 以下に示す一本鎖 DNA とプライマー 5'-CCTGCAGA-3'、および4種のデオキシリボヌクレオチドを混合し、適切な条件で Klenow 断片を作用させた。反応の経過および反応後の DNA について、配列と一本鎖・二本鎖構造がわかるように説明せよ。ただし、一本鎖 DNA とプライマーは等量であり、デオキシリボヌクレオチドは過剰に加えるものとする。必要に応じて図を用いてもよい。(全体で4行程度)

5'-CGGATTCAGGACGTCTTACTCTGCAGGTCGTGA-3'

- (3) ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法による DNA の増幅について、その概略を説明せよ。必要に応じて図を用いてもよい。(全体で5行程度)

3. 以下の間に答えよ。

[1] 次の文を読み、以下の間に答えよ。

タンパク質が立体構造をとるためには、アミノ酸側鎖間の結合（相互作用）が重要となる。アミノ酸側鎖間の結合（相互作用）としては、（ア）、（イ）、疎水性相互作用といった非共有結合のほか、（ウ）のような共有結合も知られている。たとえば、（ア）を担うアミノ酸としてはトレオニンやヒスチジン等が、（イ）を担うアミノ酸としてはアスパラギン酸やアルギニン等が、疎水性相互作用を担うアミノ酸としてはフェニルアラニンやトリプトファン等が、そして（ウ）を担うアミノ酸としてはシステインがあげられる。

- (1) 上の文の（ア）～（ウ）にあてはまる結合（相互作用）の名称を記せ。
- (2) トレオニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、アルギニン、フェニルアラニン、トリプトファンおよびシステインの名称を1文字表記で表し、それらの側鎖部分の化学構造を示せ。

[2] 次の文を読み、以下の間に答えよ。

抗原で免疫したマウスより取り出した脾臓細胞とマウスミエローマ細胞との融合細胞を（ア）という。クローン化した（ア）が生産する抗体がモノクローナル抗体である。IgG抗体は1分子あたり（イ）ヶ所の抗原結合部位をもつ。IgGタイプのモノクローナル抗体の抗原に対する親和性は、結合定数 K_A を求めることにより評価することができる。結合定数は

$$\text{結合定数} = \frac{\text{[抗原と結合した結合部位の濃度]}}{\text{[遊離の抗原濃度]} \times \text{[遊離の結合部位の濃度]}} \quad \text{①}$$

で表される。いま、抗体濃度を Ab_0 、抗原濃度を Ag_0 、そして抗体の結合部位のうち、抗原と結合している部位の割合を R とすると

$$\frac{1}{K_A(1-R)} = \frac{Ag_0}{R} - 2Ab_0 \quad \text{②}$$

の関係が得られる。したがって、 Ag_0 を変化させたときの R を実測し、 Ag_0/R を $1/(1-R)$ に対してプロットして得られる直線の傾きから、 K_A を求めることができる。このプロットは（ウ）プロットとよばれる。

- (1) 上の文の（ア）～（ウ）にあてはまる適切な語句または数値を記せ。
- (2) 式①から式②を導け。導出の過程も示せ。
- (3) 「ある抗原」に対するモノクローナル IgG 抗体を考える。60 $\mu\text{g mL}^{-1}$ の抗体溶液 1.0 mL と 2.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ の抗原溶液 1.0 mL を混合し、抗原-抗体反応を行った。その結果、抗体の抗原結合部位の 40% が「ある抗原」と結合していることが明らかとなった。このモノクローナル抗体の「ある抗原」に対する結合定数 (M^{-1}) を計算せよ。計算の過程も示せ。ただし、「ある抗原」の分子量は 1,000、抗体の分子量は 150,000 とする。

4. 次の文を読み、以下の問に答えよ。

ジーンターゲティング法による遺伝子改変マウスの作製が可能となった背景には2つの基盤技術の確立がある。1つは、(ア)の樹立とそれを用いたマウス個体作製技術の確立である。(ア)は、マウス発生初期段階の胚盤胞の一部である(イ)より作製される幹細胞である。もう1つは、染色体上の特定の位置に変異を導入する標的遺伝子改変技術の確立である。これは染色体上の標的遺伝子の塩基配列を、(ウ)とよばれる現象を利用して、変異を導入したターゲティングベクターの配列によって置き換える方法である。

- [1] 上の文の(ア)～(ウ)に入る最も適切な語句を答えよ。
- [2] (ア)のもつ能力について3行以内で説明せよ。
- [3] ターゲティングベクターを(ア)に導入する際に用いられている最も適切な遺伝子導入法の名称を答え、その概略を2行以内で答えよ。さらにその方法を選択した理由を2行以内で説明せよ。
- [4] [3]の遺伝子導入法以外に、動物細胞への遺伝子導入法として用いられている方法の名称を2つあげ、その概略をそれぞれ2行以内で説明せよ。

5. 制限基質としてグルコースを用い酵母の培養を行った。以下の問に答えよ。

- [1] 酵母の好気条件における増殖速度 r ($\text{kg m}^{-3} \text{h}^{-1}$) は菌体濃度 x (kg m^{-3}) に比例し、比増殖速度 μ (h^{-1}) のグルコース濃度 s (kg m^{-3}) 依存性は Monod の式に従った。 μ と s の関係を数式で表せ。なお、飽和定数と最大比増殖速度はそれぞれ K_s (kg m^{-3})、 μ_m (h^{-1}) とせよ。また、 μ の s 依存性を表すグラフを示し、 K_s と μ_m を図示せよ。
- [2] 回分培養を行ったところ、添加したグルコースのほとんどが消費された。培養槽内の s と x の経時変化の概略をそれぞれグラフで表せ。また、菌体収率 $Y_{x/s}$ を数式で表せ。なお、培養開始時の菌体濃度とグルコース濃度はそれぞれ x_0 (kg m^{-3})、 s_0 (kg m^{-3}) とせよ。
- [3] 完全混合型の培養槽を用いて連続培養を行った。容積 1.0 (m^3) の培地に、 0.20 ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$) の流量で新鮮培地を連続的に供給し、同じ流量で培養槽から連続的に培養液を排出したところ、培養槽内酵母の菌体濃度は 10.0 (kg m^{-3}) で一定となった。培養槽内酵母の比増殖速度を求めよ。
- [4] 培地の粘度 c を求めるために、平らな固定面と面積 A を持つ平らな移動面の間に培地を入れ、移動面を一定速度 u で引いた。その際、移動面を引くために要する力は F であった。固定面と移動面の隙間は y である際、粘度を表す式を示せ。また、粘度の単位を SI 基本単位で示せ。
- [5] ある温度において酵母の死滅速度は菌体濃度に比例し、99%の酵母を死滅させるのに 7 分を要した。99.9%死滅させるには同じ温度で何分を要するか示せ。