

25 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. 以下の間に答えよ。

[1] 以下の文章の (ア) ~ (コ) にあてはまる適切な語句を答えよ。

- (1) アスパラギン酸は、(ア) からアミノ基転移反応によって合成される。アスパラギン酸から合成されるトレオニン、アスパラギン、(イ) および (ウ) は、アスパラギン酸ファミリーに属する。(A)トレオニン合成の律速酵素であるアスパラギン酸キナーゼは、トレオニンによる(エ)阻害により活性が制御されている。
- (2) ピルビン酸から合成されるバリン、イソロイシン、(オ) および (カ) は、ピルビン酸ファミリーに属する。(オ) はピルビン酸から一段階で合成される。このときアミノ基の供与体として利用されるのは主に (キ) である。
- (3) グルタミン酸は、(ク) からアミノ基転移反応により合成される。グルタミン酸から合成されるグルタミン、アルギニン、および (ケ) は、グルタミン酸ファミリーに属する。アルギニン合成においてオルニチンからアルギニンへの反応は、(コ) 回路の一部を利用している。

[2] 以下の間に答えよ。

- (1) 大腸菌等の細菌を使ってトレオニン生産菌を育種するにあたって、上述下線(A)の制御を解除することが重要である。変異処理を施した細胞群より、下線(A)の制御が解除された変異株を選択する手法を説明せよ。(3行以内)
- (2) JM109 株などの実験室でよく用いられる大腸菌株の多くは、最少栄養合成培地で培養する際にバリンを単独で加えると増殖が強く阻害される。その理由を説明せよ。(3行以内)

2. 以下の問に答えよ。

[1] 次の文の (ア) ~ (コ) に入る適切な語句または数字を答えよ。

アニオンになる官能基とカチオンになる官能基の両方をもつ化合物において、正味の電荷がゼロとなる pH を等電点という。アミノ酸は (ア) 基と (イ) 基を有し、等電点がある代表的な化合物である。(ア) 基を複数もつ酸性アミノ酸は等電点が (ウ) く、(イ) 基を複数もつ塩基性アミノ酸は等電点が (エ) い。多数のアミノ酸が (オ) 結合によって連結したタンパク質は、等電点より低い pH の溶液中では全体として (カ) に帯電し、高い pH では (キ) に帯電する。イオン交換カラムクロマトグラフィーは、特定の pH におけるタンパク質の静電的性質の違いを利用して、タンパク質を分離・精製する方法である。今、ある細胞抽出液から等電点の値が 4.8 の可溶性タンパク質 A を精製する場合を考える。細胞抽出液を pH 7.4 の緩衝液で平衡化した (ク) イオン交換カラムに添加し、pH 7.4 の緩衝液で十分に洗浄すると、等電点の値が (ケ) よりも高いタンパク質はカラム担体に吸着せずに素通りし、タンパク質 A はカラム担体に吸着する。その後 pH 7.4 の緩衝液の (コ) を変化させることによって、目的タンパク質 A を溶出することができる。

- [2] 酵素 B を同じ条件下で基質 X または基質 Y に作用させた時の反応速度を解析し、それぞれの基質に対する K_m 値および k_{cat} 値を求めた。その結果、基質 X に対して $K_m = 2.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ 、 $k_{cat} = 30 \text{ s}^{-1}$ 、基質 Y に対して $K_m = 1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ 、 $k_{cat} = 4.0 \text{ s}^{-1}$ であった。酵素 B はどちらの基質に対する触媒効率が高いか、理由とともに述べよ。ただし、基質濃度は K_m 値より十分に小さいものとする。
- [3] タンパク質の構造は一次構造から四次構造にわけられる。タンパク質の一次構造はアミノ酸配列のことである。タンパク質の二次構造、三次構造および四次構造を説明せよ。(それぞれ 2 行程度)
- [4] 真核細胞におけるタンパク質合成に関与する細胞内小器官であるリボソームは、遊離リボソームと粗面小胞体に結合した膜結合型リボソームにわけられる。これらのリボソームで合成されるタンパク質の違いを説明せよ。(3 行程度)

3. 以下の問に答えよ。

[1] 以下の語句を簡単に説明せよ。(それぞれ2行程度)

- (1) 岡崎フラグメント
- (2) プラスミドの不和合性
- (3) カルタヘナ法
- (4) オープンリーディングフレーム

[2] 二本鎖 DNA の溶液をある温度以上に加熱すると、相補鎖が分離してランダム構造になる。これを DNA の変性または融解といい、ある二本鎖 DNA 分子の 1/2 が変性する温度を T_m とよぶ。ある二本鎖 DNA の T_m を実験的に求める方法について説明せよ。また、二本鎖 DNA 中の GC 含量と T_m にはどのような関係があるか。理由とともに説明せよ。必要に応じて図を用いてもよい。(全体で6行程度)

[3] PCR 産物を効率的にクローニングする手法に TA クローニングがある。PCR に用いる耐熱性 DNA ポリメラーゼの特性に言及しつつ、TA クローニングの概略について説明せよ。必要に応じて図を用いてもよい。(5行程度)

[4] His タグを利用した組換えタンパク質のアフィニティー精製に関する次の文章を読み、(ア) ~ (オ) にあてはまる最も適当な語句を以下の語群より答えよ。

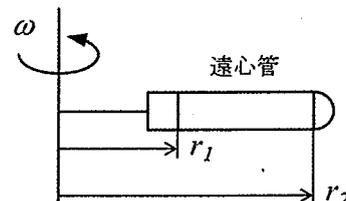
His タグを付加した組換えタンパク質の精製に際しては、(ア)などの金属イオンを固定化したアフィニティーカラムが用いられる。His タグと(ア)との間の親和性の原動力となるのは(イ)結合である。His タグを付加した組換えタンパク質のアフィニティーカラムからの溶出に際しては、①His と類似の構造をもつ(ウ)を含む緩衝液を添加する、②(エ)性 pH の緩衝液を添加する、③EDTA のような強力な(オ)剤を含む緩衝液を添加する、といった手法が用いられる。

(語群) NH_4^+ 、 Na^+ 、 Ni^{2+} 、アルカリ、イオン、イミダゾール、インドール、還元、キレート、グルタチオン、クレゾール、酸、酸化、ジスルフィド、消化、水素、疎水、中、配位、変性、マルトース

4. 以下の問に答えよ。

- [1] 直径 d (m) の球状菌体が水中を落下する場合を考える。菌体には重力、浮力、および水から受ける抵抗力が働き、3つの力が釣り合うと一定の速度 u_t (m s^{-1}) で落下する。抵抗力が $3\pi d u_t \mu$ で表される場合、力の釣り合いから u_t を求める式を示せ。なお、菌体の密度を ρ_p (kg m^{-3})、水の密度を ρ (kg m^{-3})、水の粘度を μ ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$)、重力の加速度を g (m s^{-2}) とする。

- [2] 水を入れた遠心管上部に球状菌体を移し、右図に示すように角速度 ω (rad s^{-1}) で回転した。半径 r (m) における菌体の半径方向移動速度 u_r (m s^{-1}) を求める式を示せ。



- [3] 菌体の沈降係数 s (s) を表す式を示せ。
- [4] 菌体が遠心管の r_1 から r_2 まで移動するのに要する時間 t (s) を求める式を沈降係数 s を用いて示せ。
- [5] 塩化セシウムを含む水溶液を遠心管に入れ、プラスミドを含む試料を重層し、[2] のように回転すると、プラスミドは半径方向に移動し、やがて遠心管の中間部で静止した。プラスミドが中間部で静止する理由を3行以内で説明せよ。