

27 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、答案用紙に空欄の番号を対応する解答とともに記入せよ。

1. 細胞の代謝に関する以下の問に答えよ。

[1] 細胞が取り込んだグルコースは解糖系で酸化的に分解され、最終的にピルビン酸へと変換されるとともに、エネルギー物質である ATP が生成される。以下の問に答えよ。

(1) 解糖系において、ATP 生成反応を触媒する酵素の名称をすべて記せ。

(2) 解糖系に関連して、酵母においてはパスツール効果と呼ばれる現象が知られている。パスツール効果とはどのような現象か、説明せよ。(2 行程度)

[2] 解糖系に入った糖質の一部はペントースリン酸経路においても分解される。以下の問に答えよ。

(1) ペントースリン酸経路では、ヌクレオチド生合成反応の出発物質である炭素数 5 の糖リン酸化合物が生成される。その化合物は何か、名称および構造を示せ。

(2) グルコースがペントースリン酸経路を経由して代謝されたとき、最初のサイクルで放出される二酸化炭素の炭素原子は、グルコースの何位の炭素原子に由来するか答えよ。また、二酸化炭素放出にかかわる反応を触媒する酵素の名称を記せ。

[3] クエン酸サイクルの中間物質であるオキサロ酢酸はアミノ酸の生合成に利用される。以下の問に答えよ。

(1) アミノ基転移反応によりオキサロ酢酸から直接生合成されるアミノ酸は何か、その名称および構造を示せ。

(2) オキサロ酢酸はアミノ酸の生合成に利用されるため、クエン酸サイクルの反応を進行させるには、オキサロ酢酸をクエン酸サイクル以外の代謝反応で供給する必要がある。その代謝反応の名称をあげ、概略を説明せよ。(3 行程度)

2. 以下の問に答えよ。

[1] ある生物の染色体 DNA 中に含まれる遺伝子 X がプラスミドベクターの SalI サイトに挿入された組換えプラスミドを次の実験操作により作製した。ただし、SalI の認識配列は遺伝子 X の配列内にはなく、またプラスミドベクターの配列内には 1ヶ所存在する。以下の問に答えよ。

- 操作 1: 染色体 DNA を鋳型とし、PCR (Polymerase Chain Reaction) により遺伝子 X を含む DNA 断片を増幅した。
- 操作 2: 増幅された DNA 断片を SalI により処理した。
- 操作 3: プラスミドベクターを SalI で処理し、次いでアルカリホスファターゼで処理した。
- 操作 4: 操作 2 および操作 3 で得られた DNA 断片をそれぞれ精製して混合し、DNA リガーゼで処理した。
- 操作 5: 操作 4 の反応液を用いて大腸菌を形質転換し、適切な抗生物質を含む寒天培地で培養した。
- 操作 6: 寒天培地上に形成されたコロニーのいくつかから大腸菌を培養してプラスミドを抽出し、解析することで目的の組換えプラスミドを保持するクローンを選抜した。

遺伝子 X の塩基配列:

```
5'-ATGAATTTATCCCCTCAGGAACAACATACCTTACACGTTCTCGCTAAAGGTAGACGTATTGCGCACGTCCGCG  
ATTCTTCAGGCCGCGCTCACTTCCGTTGAATGCTACAGCCGCGAAGGGCTGTTGCTGACCGACTGCACGCTCGCCGT  
CTTCAAAAACTCAAAACCAAAAACTTATCAAGTCCGTCAATGGCCAGCCCTATCGAATCAACACCACCGAGCTG  
AATAAAGTTCGCGCTCAGCTCGATAATCGCTAA-3'
```

制限酵素 SalI の認識配列: 5'-GTCGAC-3'

- (1) 操作 1 の PCR では、遺伝子 X が SalI の認識配列の間に配置された DNA 断片を増幅する必要がある。このような増幅をするためのオリゴヌクレオチドプライマー 1 組の配列を設計せよ。ただし、プライマーは全長 26 塩基、鋳型 DNA と相補的な配列の長さは 20 塩基とする。5'-末端と 3'-末端が明らかなように記述すること。
- (2) 操作 3 においてアルカリホスファターゼ処理を行った理由を説明せよ。(3 行程度)
- (3) 大腸菌を形質転換する方法を 2 つあげ、その概略を説明せよ。(それぞれ 2 行程度)
- (4) 目的とする組換えプラスミドを保持するコロニーを取得しやすくするために青白選抜という手法がよく用いられる。この青白選抜を行うために必要な大腸菌株とプラスミドベクターの特徴をあげ、青白選抜の原理について説明せよ。(全体で 5 行程度)

(問題 2 は次のページに続く)

[2] 核酸に関する以下の問に答えよ。必要なら図を用いてもよい。

- (1) 生物は遺伝子の本体として RNA ではなく DNA を用いている。その理由を構成糖の化学構造の違いをもとに考察せよ。(4行程度)
- (2) ウラシル (U) とチミン (T) では塩基対合性は同じにもかかわらず、RNA には U が、DNA には T が用いられている。生物が DNA に U ではなく T を用いていることの利点を考察せよ。(5行程度)

3. 以下の問に答えよ。

[1] 細胞小器官に関する次の文を読み、(1)～(18)に最も適切な語句を記せ。

真核細胞は染色体 DNA を含む小器官である(1)をもつ。(1)はリン脂質の二重膜でできている(2)で覆われている。(2)上に存在する(3)を通じて(1)の内部と(4)との物質のやり取りが可能である。

(5)はタンパク質生合成のための小器官である。その組成は、約40%がタンパク質で、約60%が(6)である。小胞体は、(5)が結合した(7)と結合していない(8)の2つに分類され、(7)では分泌タンパク質や膜タンパク質などの生合成と修飾が行われる。(5)で生合成された新生タンパク質には特定の小器官に輸送されるための(9)配列をもつものがある。小胞体で修飾を受けたタンパク質の一部は(10)に輸送され、さらに修飾を受けたのち成熟タンパク質となる。(10)は3つの部位に分けることができ、最も細胞膜側の部位は(11)部とよばれ、タンパク質はここから特定の部位に輸送される。

ミトコンドリアの(12)上には電子伝達系を構成する複合体Iから複合体IVのタンパク質群が存在している。複合体Iは、解糖系およびクエン酸サイクルの一連の反応で生成した(13)を酸化する。複合体IIは(14)ともよばれるクエン酸サイクルの酵素である。複合体IIIは補酵素Qから電子を受け取り(15)を還元する。さらに複合体IVは還元型の(15)を酸化すると同時に(16)を還元して(17)を生成する。一連の電子伝達反応で形成された H^+ 濃度勾配を利用して(18)が生成される。

[2] 真核細胞の小器官の1つであるリソソームの機能を述べよ。(2行程度)

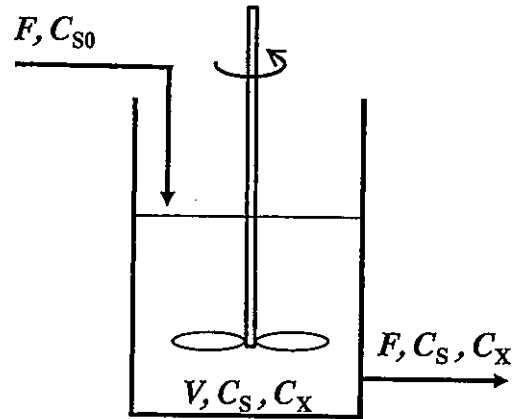
[3] 細胞膜を介した物質の運搬過程であるエンドサイトーシスとエキソサイトーシスの概略を説明せよ。(それぞれ2行程度)

[4] 細胞死には能動的な死と受動的な死がある。それぞれの細胞死は何と呼ばれているか記せ。また、2つの細胞死に見られる特徴をそれぞれ2行程度で述べよ。

4. グルコースを唯一の制限基質とする培地を用い、大腸菌の培養を行った。以下の問に答えよ。

[1] 大腸菌の増殖は Monod の式に従うとし、増殖速度 r_X ($\text{kg h}^{-1} \text{m}^{-3}$) を、基質濃度 C_S (kg m^{-3})、菌体濃度 C_X (kg m^{-3})、最大比増殖速度 μ_m (h^{-1}) および飽和定数 K_S (kg m^{-3}) を用いて表せ。

[2] 容積が V (m^3) の培養槽 (図) を用い、培地の供給速度および培養液の排出速度を一定値 F ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$) に保ち連続培養を行った。定常状態における培養槽内基質濃度 (C_S) を、 V 、 F 、 μ_m および K_S を用いて表せ。なお、供給培地に菌体は含まれていない。



図

[3] [2]の条件において培養槽内菌体濃度 (C_X) を、 V 、 F 、 μ_m 、 K_S 、菌体収率 ($Y_{X/S}$) および供給培地の基質濃度 (C_{S0}) を用いて表せ。

[4] [2]の連続培養において F の値を段階的に増加させたところ、ある値 (F_{crit}) を超えると培養槽内菌体濃度がゼロとなった。 F_{crit} を、 V 、 μ_m 、 K_S および C_{S0} を用いて表せ。