

大学院工学研究科 物質・生命工学専攻

平成16年度 博士前期課程入学試験問題 専門科目 (c) (生物系)

微生物学

問題 1. 微生物の観察実習において、光学顕微鏡下で下記の二種類の微生物を比較観察することになった。どのような相違点を主に観察すれば良いか。また、その分類学的理由を述べよ。いずれも寒天斜面培地で培養したものである。(各問の解答は3行以内で字数は問わない)。

- 問 1 *Rhizopus* 属と *Aspergillus* 属のカビ
- 問 2 *Chaetomium* 属と *Neosartorya* 属のカビ
- 問 3 *Saccharomyces* 属と *Saccharomycodes* 属の酵母
- 問 4 *Saccharomyces* 属と *Schizosaccharomyces* 属の酵母
- 問 5 *Bacillus subtilis* と *Escherichia coli*

問題 2. 遺伝学的解析を行うには、遺伝子の交換機構の存在が重要である。微生物には様々な遺伝子交換機構が知られているが、以下の代表的な微生物では、それらがどのような機構であるか説明せよ。(配分 20/150)

- 問 1 *Escherichia coli*
- 問 2 *Bacillus subtilis*
- 問 3 *Saccharomyces cerevisiae*
- 問 4 *Neurospora crassa*
- 問 5 *Aspergillus nidulans*

問題 3. ある子囊菌について、野生型株（遺伝子型 $x^+ y^+$ ）と二重変異株（遺伝子型 $x^- y^-$ ）を交雑して胞子形成を行わせ、形成した子囊の四分子分析を行った。この時、子囊中には減数分裂を反映した順序に4つの胞子が直線的に（A-B-C-D の順に）整列して形成された。調べた120個の子囊について以下のような結果が得られた。次の間に答えなさい。

	子囊型 1	子囊型 2	子囊型 3	子囊型 4	子囊型 5
胞子 A	$x^+ y^+$	$x^+ y^-$	$x^+ y^+$	$x^+ y^-$	$x^- y^+$
胞子 B	$x^+ y^+$	$x^+ y^-$	$x^+ y^-$	$x^- y^+$	$x^+ y^+$
胞子 C	$x^- y^-$	$x^- y^+$	$x^- y^+$	$x^- y^-$	$x^- y^-$
胞子 D	$x^- y^-$	$x^- y^+$	$x^- y^-$	$x^+ y^+$	$x^+ y^-$
観察子囊数	30	30	40	2	18

問 1 減数分裂における染色体の動きを x 遺伝子の存在する染色体に注目して順を追って図示しなさい。

問 2 観察された5つの子囊型の名称（四分子型）を述べなさい。

問 3 減数分裂時に、どのようなことが起これば子囊型3の子囊が出現するか？

問 4 x 遺伝子が第2分裂分離をしているのはどの子囊型か？

問 5 x 遺伝子と y 遺伝子は染色体上でどのような位置関係にあるか？遺伝的距離を計算して説明しなさい。

問 6 交雑株 ($x^+ y^+ / x^- y^-$) を栄養増殖させていると、 $x^+ y^- / x^- y^-$ の遺伝子型を持つ株が低い頻度で生じてきた。どのようなメカニズムで出現したか図示して説明しなさい。

問題 4. 分子生物学における二つの実験方法を示したものである。図 A を参考にして問 1～4 を、図 B を参考にして問 5～7 を答えよ。

- 問 1 図 A は何を目的とした実験方法を示したものを述べよ。
 問 2 図中の下線「可能な DNA 配列」はどのようにして推定したかを述べよ。
 問 3 cDNA ライブラリーとは何かを説明せよ。
 問 4 ハイブリダイゼーションの条件として最も重要なものは何か書け。
 問 5 Exon (エクソン) とは何かを説明せよ。
 問 6 S1 ヌクレアーゼにより何が分解されるかを書け。
 問 7 アルカリアガロースゲル電気泳動によって、何が分かったかを述べよ。

図 A

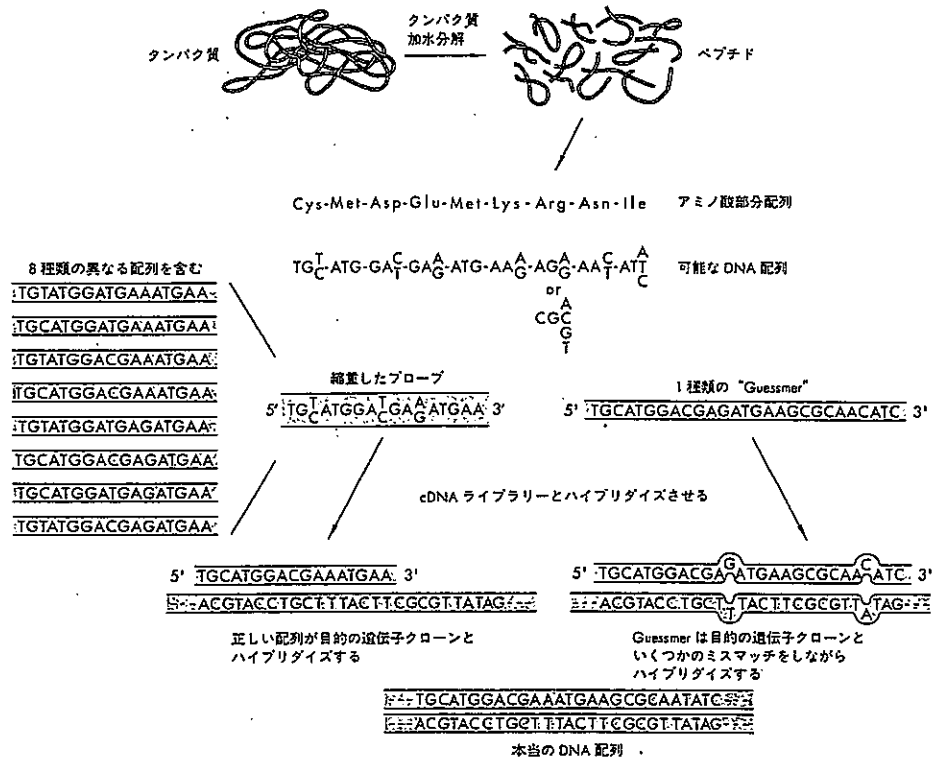
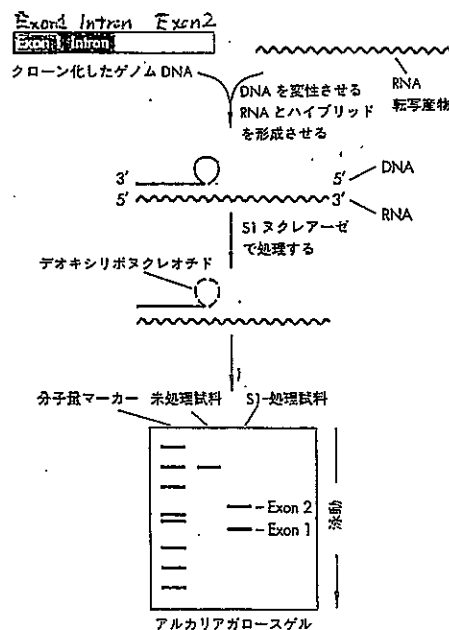


図 B



問題5. 以下の問いに答えよ。ただし1ヌクレオチドの分子質量を330ダルトン、アボガドロ数を 6×10^{23} とする。

問1 大腸菌ゲノムは4.7Mの塩基対をもつ。大腸菌1個の細胞に含まれるゲノムの重さを計算式とともにfg(フェムトグラム)で表せ。

問2 大腸菌を 1×10^9 cells/mlの時に集菌するとき、1mgの大腸菌ゲノムを調製するにはどれくらい量の培養液を用いればよいかを計算式とともに答えよ。ただし収率は25%とする。

問3 DNAの二重らせんが完全に1回転する間隔は3.4nmで、これは10塩基対に相当する。大腸菌ゲノムの長さはいくらかを計算式とともに答えよ。

問4 pUCベクターDNA(2.7kb)1 μ gを用いて大腸菌を形質転換した場合、どれくらいの数の形質転換体が理論上得られるかを計算式とともに答えよ。

問5 pUCベクターDNAを用いたエレクトロポレーション法とコンピテント細胞法の形質転換効率が、 5×10^9 cfu/ μ g (cfu: colony forming unit)と 1×10^6 cfu/ μ gであった。これは加えた何%のベクターDNAが大腸菌を形質転換したことになるかを計算式とともに答えよ。ただし大腸菌1個の細胞には、同時に2分子以上のベクターDNAは取り込まれないとする。

問題6. ある細菌が2種類のデンプン分解酵素を持っている。酵素Xはデンプンをアミロースに変換し、酵素Yはアミロースをマルトースに変換する。酵素Xと酵素Yは一本の mRNA によってコードされ、この mRNA の発現はデンプンによって誘導される。また、このオペロンは抑制調節を受けていることがわかっている。以下の問いに答えよ。

デンプン分解に関する多数の変異株が単離された。これらの変異株を酵素Xと酵素Yの細胞内活性を測定したところ以下のように分類された。

	デンプン欠乏条件下		デンプン存在条件下	
	酵素X	酵素Y	酵素X	酵素Y
野生株	低	低	高	高
変異株Ⅰ類	低	低	高	低
変異株Ⅱ類	高	高	高	高
変異株Ⅲ類	低	低	低	高
変異株Ⅳ類	低	低	低	低

問1 この mRNA のように複数のタンパク質をコードする mRNA を何と呼ぶか答えよ。

問2 4種類の変異株についてどのような変異であると予想されるかを各類について理由とともに述べよ。

問3 上記の変異株の遺伝子型を決定するにはどのような実験をすればよいか簡潔に述べなさい。

問4 酵素Xと酵素Yは基質のどのような結合を分解する酵素であると予想されるかをその理由とともに述べよ。

問5 微生物機能の利用と解明の立場から今でも変異処理は欠かすことできない手法の一つである。変異原とそのメカニズムに関して知るところを述べよ。

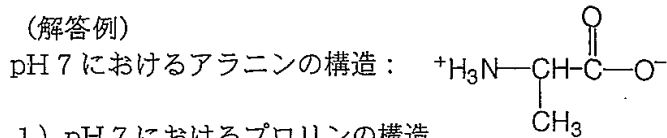
問6 変異処理以外の微生物の改良方法に関して知るところを書け。

生物化学

生物化学 A-1

I. アミノ酸のイオン化状態は溶液の pH によって異なる。以下に示した pH における各アミノ酸の構造を、そのイオン化状態がわかるように示せ。

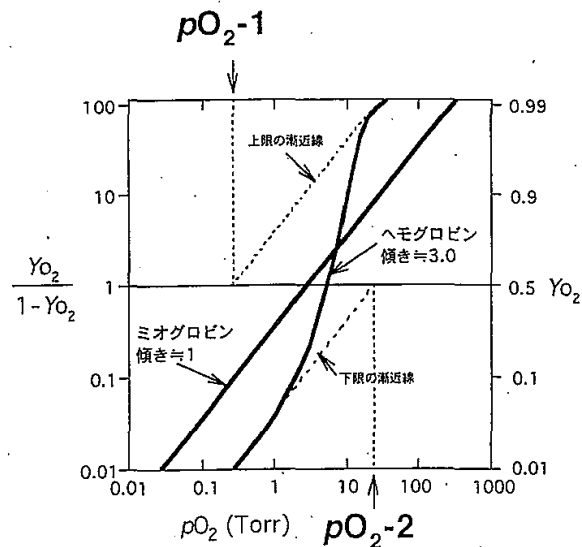
(解答例)



- 1) pH 7 におけるプロリンの構造
- 2) pH 13 におけるヒスチジンの構造
- 3) pH 8 におけるグルタミン酸の構造
- 4) pH 5 におけるアルギニンの構造
- 5) pH 1 におけるチロシンの構造

II. タンパク質の二次構造である α ヘリックスと β シートの構造的特徴を記せ。また、標準アミノ酸の中で α ヘリックスを不安定化するアミノ酸と β シートを安定化するアミノ酸をそれぞれ 2つ挙げよ。

III. 下図はミオグロビンとヘモグロビンの酸素結合曲線（ヒルプロット）である。両者のプロットの傾き（ヒル係数）が異なることから何がわかるか述べよ。また、ヘモグロビンの上限の漸近線と横軸 $[Y_{O_2}/(1-Y_{O_2})=1]$ の交点 pO_2-1 と下限の漸近線と横軸の交点 pO_2-2 はそれぞれ何を示すか述べよ。なお、 pO_2 は酸素分圧、 Y_{O_2} は飽和度（ O_2 結合部位のうち O_2 がついたものの割合）を表す。



生物化学 A-2.

I. 以下の化合物の構造を示せ。

- a) 環状の β -D-mannose (立体構造式)
- b) sucrose
- c) glucose を NaBH_4 で還元した生成物 (Fischer 投影式)
- d) γ -リノレン酸
- e) スフィンゴミエリン

II. ビタミン D_3 (コレカルシフェロール) は、動物組織では、皮膚に含まれる 7-dehydrocholesterol が紫外線を受けて生成する。7-dehydrocholesterol から ビタミン D_3 が生成する経路を、具体的な構造式を示して説明せよ。

III. ここに仮想のアルトリオースの D 体、L 体の混合物がある。この混合物は、モル旋光度 + 5.2 度を示した。この混合物中、D 体のみを Kiliani-Fisher のシアノヒドリン法により、アルドテトラオースへと変換し、更にこのアルドテトラオースを硝酸により酸化したところ、D 体アルドトリオースを含む混合物の旋光度は、モル旋光度 - 13.8 度へと変化した。最初のアルトリオース混合物の光学純度(%ee)を、計算の根拠を示して、求めよ。

ただし、L 体-酒石酸のモル旋光度を + 30 度として、計算せよ。

生 物 化 学 A - 3

ある 2 種類の化合物 A、B 間の相互変換反応 $A \rightleftharpoons 2B$ を触媒する酵素がある。
以下の問いに答えよ。

- (1) 反応溶液中に基質として A のみが存在する状態から出発して、系が平衡状態に達するまでの酵素反応の経時変化の様子を、A および B の濃度 ($[A]$, $[B]$) の変化で図示せよ。
また、酵素濃度を 2 倍にしたときに予想される $[B]$ の変化も同じ図中に示せ。
- (2) 上記の反応において、系の自由エネルギーの時間変化はどうなるか。
B の濃度の変化と共に図示せよ。
- (3) $[B]=0$ の初期状態で、A の 5 種類の濃度において酵素反応の初速度を測定したところ、Michaelis-Menten 型の速度式に従うことがわかった。
このときの実験結果を図示せよ。また、酵素濃度を半分にしたときに予想される結果も、同じ図中に示せ。
- (4) 上記 (2) の反応に用いた酵素量が $2.0 \times 10^{-8} \text{ mol}$ のとき、最大反応速度は、 $6.4 \times 10^{-6} \text{ mol/s}$ であった。 $[B]=0$ で A の濃度がこの酵素の A に対する Michaelis 定数 (K_m) に等しいときの、この酵素の比活性を求めよ。

受験番号	
------	--

生物化学 B-1

問1 テルペン類に属する植物ホルモンについて次の項目を考慮に入れて説明せよ。

【項目 ①名称（日本語名,あるいは,英語名）; ②化学構造; ③生理活性】

問2 形質転換植物の作出方法は,①生物的手法および,②物理的手法に大別できる。

各々の手法からそれぞれ1手法を選び,実際に形質転換植物を作出する立場から具体的に説明せよ。

問3 問3 植物バイオテクノロジーにおいて,遺伝子機能の抑制戦略として利用されている下記の技術を簡潔に説明せよ。(各々150字程度)

- ① アンチセンス法
- ② コサプレッション法
- ③ RNA干渉法

下の図を見て、次の3つの設問に答えよ。

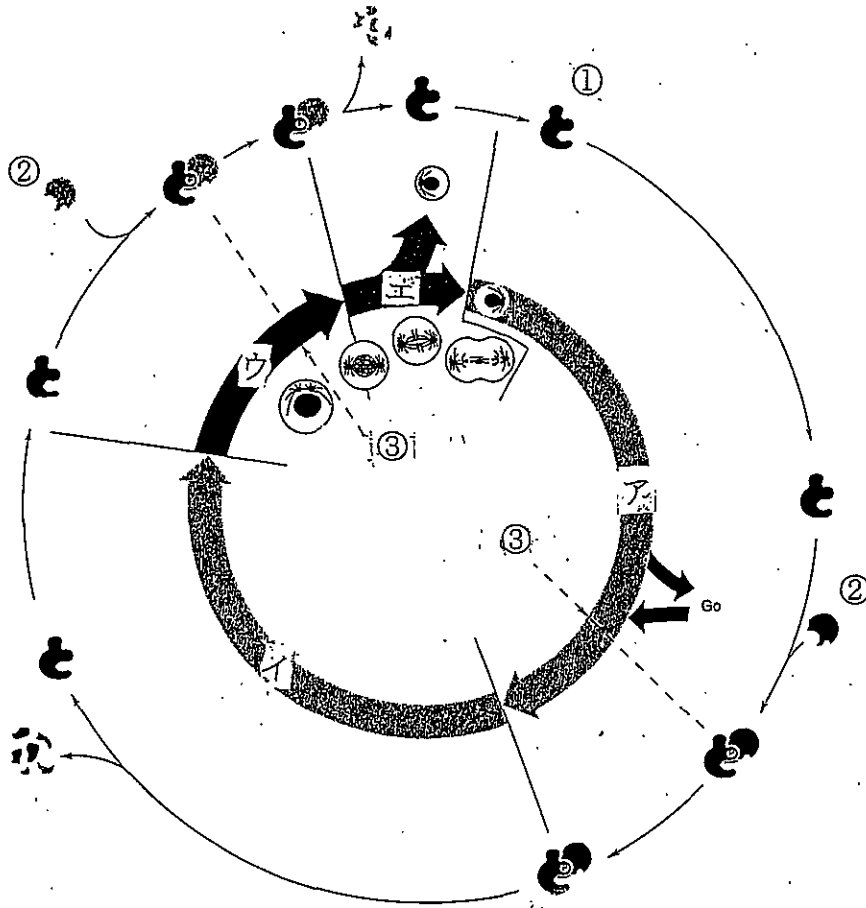
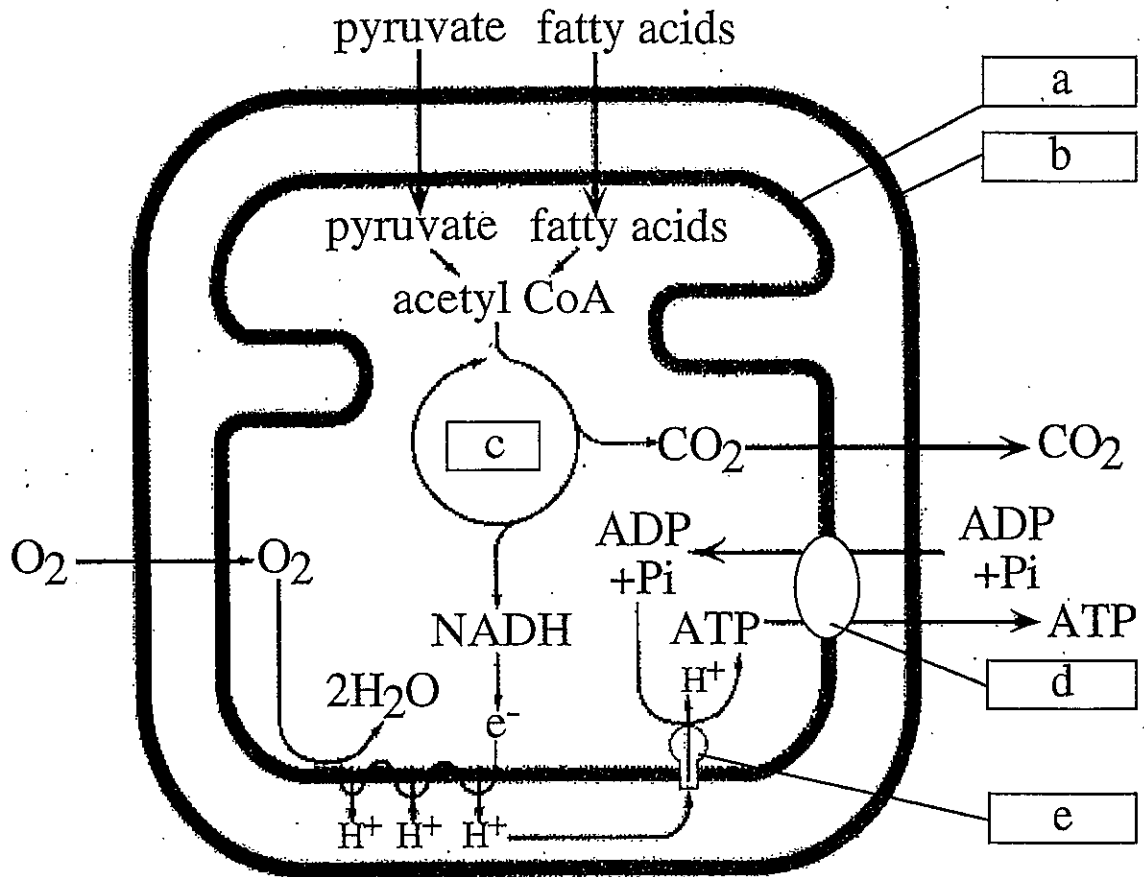


図. 細胞周期の概観

- 問1 図中の①で示した細胞周期を通じて存在するキナーゼ名, そのキナーゼと相互作用する②の一般名称を示せ. さらに細胞周期が次の段階に進む事の可否を決める点線③に相当する適切な用語を示せ. また, これらの3つの用語を用いて細胞周期がいかにかに制御され, 進行しているかについて150字程度で記述せよ.
- 問2 細胞周期を4つに区分した場合, 図中に示したそれぞれの時期ア, イ, ウ, エの名称を答えよ. また, イ, エの時期の細胞内で生じている特徴的な事柄をそれぞれ80字程度で取りまとめて記述せよ.
- 問3 エの時期に見られるDNA・タンパク質の高次複合体, およびこの高次複合体を構築する基本単位の名称を示せ. また光学顕微鏡下で可視化される高次複合体の構造を図示し, 特徴的な構造についてはその名称を, 図中での位置がわかるように矢印などを用いて記入せよ.

下の図は、ある細胞小器官の構造と機能を模式的に描いたものである。この図に関して、以下の設問に答えよ。



問1 図中の a, b, c, d, e に適切な言葉を英語で記せ。

問2 この図に適切な表題を日本語もしくは英語で付けよ。

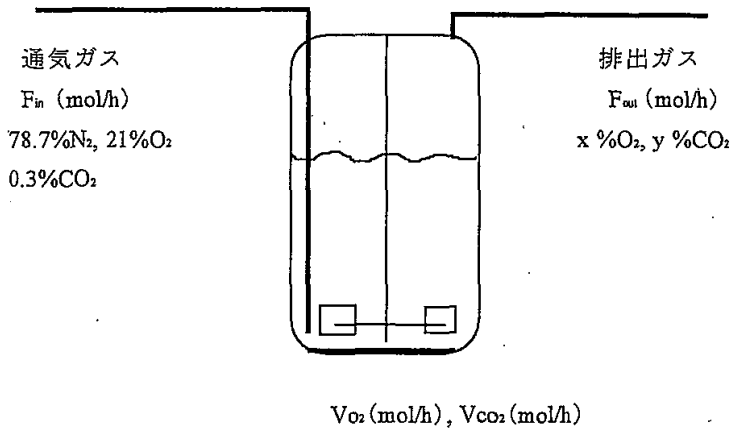
問3 この図に適切な説明文を日本語 (200 字程度) もしくは英語 (400 語程度) で記せ。

生物プロセス工学

平成16年度前期課程入試問題 生物プロセス工学-I

1, 下記のごとく醗酵槽に対して、空気（窒素 78.7%、酸素 21%、二酸化炭素 0.3%）が通気されている。排出ガス中の成分を測定すると酸素 $x\%$ 、二酸化炭素 $y\%$ であった。この培養の呼吸商（二酸化炭素生成速度/酸素の消費速度）を求める計算式を導き出せ。最終的に求める推算式の中には x, y 以外の文字式を含ませてはならない。

ヒント まず下図に示すようなフローシートを描く。次に未知の量である通気流量、排出ガス流量、酸素消費速度、炭酸ガス生成速度をそれぞれ F_{in} (L/h), F_{out} (L/h), V_{O_2} (L/h), V_{CO_2} (L/h) と仮定して図に書き込む。次に定常状態における物質収支をとる。

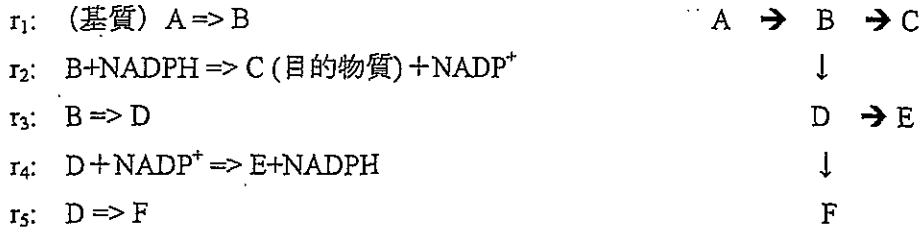


2, 醗酵槽に通気するための必要な最小限のエネルギー (W) を計算せよ。通気量は 100 L/min 醗酵槽内の液面における圧力は 0.2 気圧、スパージャーの位置は通気前において液深 2 m の位置にあり、水温、通気ガス温度共 27 °C である。なお液深 10 m は 1 気圧に相当し、1 気圧は 0.1 MPa に等しいとして計算せよ。

3, 下表は、タンパク質の吸着クロマトグラフィーについてまとめたものである。記述のある欄に習って、①～⑥の欄を埋めよ（解答は①～⑥の番号と共に解答用紙に記入すること）

	官能基	吸着の原理	溶出方法
陰イオン交換クロマトグラフィー	①	②	NaCl などの濃度を次第に上げる
疎水クロマトグラフィー	フェニル基、ブチル基など	③	④
逆相クロマトグラフィー	⑤	疎水性相互作用	⑥

問題 1. 図に示す簡単な代謝反応ネットワークを反応フラックスバランスで示したい。各フラックス r_i ($i=1,2,3,4,5$)は



を示すものとする。菌体内代謝物質 B と D の濃度変化が無い状態、すなわち、擬定常状態を仮定すれば、 r_i について 2 つの束縛条件が成り立つ。B の蓄積速度 r_B がゼロであることより

(1)

D の蓄積速度 r_D がゼロであることより

(2)

また、NADPH の蓄積速度 r_{NADPH} がゼロであることより

(3)

これらの式をベクトル、マトリックスを用いて表せば次のように表せる。

$$H \begin{bmatrix} r_1 \\ r_2 \\ r_3 \\ r_4 \\ r_5 \end{bmatrix} = 0 \quad (4) \quad (H \text{ はマトリックス})$$

さて、 r_1, r_2, r_5 がそれぞれ 100 (mol/h), 41 (mol/h), 22 (mol/h) と測定されたデータがある。このとき r_3, r_4 の最も確からしい値を以下のように求めたい。式(4)を変形して

$$Gr_c = Kr_m \quad (5)$$

と書く。ただし $r_m = [r_1, r_2, r_5]^T$, $r_c = [r_3, r_4]^T$ であり、上添え字 T は転置を表す。 r_c は

$$J_1 = [Gr_c - Kr_m]^T [Gr_c - Kr_m] \quad (6)$$

で定義される式誤差 J_1 を最小にするように求められる。そのための必要条件は J_1 を r_c で 1 回微分した式を 0 とすることであり、具体的に導かれる式は

$$X \cdot r_c = G^T K \cdot r_m \quad (7)$$

となる。さて、式(7)は r_c を未知変数とする線形代数方程式であるから、掃きだし法によって解くことができる。

以下の設問に答えなさい。

- 1-1. 式(1)~(3)を具体的に書きなさい。
- 1-2. 式(4)、(5)のマトリクス H、G、K を具体的に数値で書きなさい。
- 1-3. 式(7)の X を G、K を用いて表し、また具体的に数値で表現しなさい。
- 1-4. 式(7)を掃きだし法を用いて解きなさい。(掃きだし法以外で解いても解答にはならない)

- 1-5. 式誤差最小の十分条件を示し、求めた解がこの条件を満たすことを確かめよ。

- 1-6. 目的物質 C の基質 A に対する理論最大収率はいくらになるかを考えなさい。

(ヒント：副生成物ができるだけ少ないとき、収率最大になる)

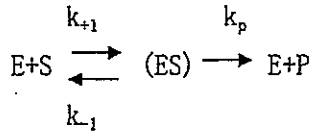
問題2. 次の設問に答えよ。

- 2-1. 地球温暖化現象における赤外吸収の役割を簡単に説明せよ。
- 2-2. 河川の自浄作用について溶存酸素濃度をキーワードとして簡潔に説明せよ。

平成 16 年度 大学院博士前期課程入学試験問題
生物プロセス工学 III

問 1

酵素反応のカイネティクスモデルとしてよく用いられる Michaelis-Menten 式について以下の問いに答えよ。



酵素反応が上図のように酵素 E と基質 S が結合し、複合体 (ES) を形成したのち、酵素から生成物 P が解離して反応が進行すると考える。酵素と基質を試験管に同時に入れ、反応を開始したとき、時間 t における反応液中の遊離の酵素、基質、酵素-基質複合体、生成物の各濃度を [E]、[S]、[ES]、[P] とする。酵素が基質に結合する反応 r_1 の速度を: $r_1 = k_{+1}[E][S]$ 、複合体が基質と酵素に逆反応で解離する反応 r_2 の速度を: $r_2 = k_{-1}[ES]$ 、複合体が生成物に変換される反応 v を: $v = k_p [ES]$ とする。以下の問いに答えなさい。

- ① r_1 、 r_2 、 v の反応が、定常状態であるとして、複合体の濃度 [ES] を [E] および [S] で表しなさい。
- ② 複合体と遊離の酵素濃度の和は最初に加えた酵素の濃度 $[E_0]$ に等しいことを利用して、生成物の生成反応速度 v を [S]、 $[E_0]$ 、 k_{+1} 、 k_{-1} 、 k_p の関数として表し、Michaelis-Menten 式を完成させよ ([ES]、[E] は含まない形に導くこと)。
- ③ この反応機構に従う酵素の反応速度 v と基質濃度 S の関係を図示せよ。またこの図の特徴について述べよ。

問 2. 培養タンクの $k_L a$ を、通気を止めて溶存酸素 (DO) 濃度を下げてから通気を再開して行う動的測定法 (ダイナミック法) により測定し、以下のデータが得られた。

時刻	8:50	9:00	9:10	9:11	9:13	9:15	9:20	9:22	9:23	9:35
DO 濃度 (%飽和)	97	98	96	95	50	5	5	62	75	95
備考	培養状態	培養状態	通気停止				通気再開			DO 定常

- ① 呼吸速度 (酸素消費速度) を計算せよ。
但し、大気下の培地への酸素溶解度は、 0.2 mmol/L とする。
培養槽内は大気圧とする。
- ② $k_L a$ (1/h) を計算せよ。(計算には添付の自然対数表を使用せよ。)

問 3. 次の問のなかから 2 問を選んで答えなさい。(配点率 10/150)

- ① エアリフト発酵槽について説明しなさい。
- ② 菌体濃度の測定法を列挙し、その長所と短所を比較せよ。
- ③ 菌体、基質、生産物についての物質収支式を、流加培養 (半回分培養) について示せ。
- ④ 菌体増殖速度および生産速度に関するモデル式を一つずつ挙げて説明せよ。

自然对数表(Table of lnX)

e = 2.718281828

X	ln(X)	X	ln(X)	X	ln(X)	X	ln(X)
1.00	0.00000000	1.50	0.40546511	2.00	0.69314718	2.50	0.91629073
1.01	0.00995033	1.51	0.41210965	2.01	0.69813472	2.51	0.92028275
1.02	0.01980263	1.52	0.41871033	2.02	0.70309751	2.52	0.92425890
1.03	0.02955880	1.53	0.42526774	2.03	0.70803579	2.53	0.92821930
1.04	0.03922071	1.54	0.43178242	2.04	0.71294981	2.54	0.93216408
1.05	0.04879016	1.55	0.43825493	2.05	0.71783979	2.55	0.93609336
1.06	0.05826891	1.56	0.44468582	2.06	0.72270598	2.56	0.94000726
1.07	0.06765865	1.57	0.45107562	2.07	0.72754861	2.57	0.94390590
1.08	0.07696104	1.58	0.45742485	2.08	0.73236789	2.58	0.94778940
1.09	0.08617770	1.59	0.46373402	2.09	0.73716407	2.59	0.95165788
1.10	0.09531018	1.60	0.47000363	2.10	0.74193734	2.60	0.95551145
1.11	0.10436002	1.61	0.47623418	2.11	0.74668795	2.61	0.95935022
1.12	0.11332869	1.62	0.48242615	2.12	0.75141609	2.62	0.96317432
1.13	0.12221763	1.63	0.48858001	2.13	0.75612198	2.63	0.96698385
1.14	0.13102826	1.64	0.49469624	2.14	0.76080583	2.64	0.97077892
1.15	0.13976194	1.65	0.50077529	2.15	0.76546784	2.65	0.97455964
1.16	0.14842001	1.66	0.50681760	2.16	0.77010822	2.66	0.97832612
1.17	0.15700375	1.67	0.51282363	2.17	0.77472717	2.67	0.98207847
1.18	0.16551444	1.68	0.51879379	2.18	0.77932488	2.68	0.98581679
1.19	0.17395331	1.69	0.52472853	2.19	0.78390154	2.69	0.98954119
1.20	0.18232156	1.70	0.53062825	2.20	0.78845736	2.70	0.99325177
1.21	0.19062036	1.71	0.53649337	2.21	0.79299252	2.71	0.99694863
1.22	0.19885086	1.72	0.54232429	2.22	0.79750720	2.72	1.00063188
1.23	0.20701417	1.73	0.54812141	2.23	0.80200159	2.73	1.00430161
1.24	0.21511138	1.74	0.55388511	2.24	0.80647587	2.74	1.00795792
1.25	0.22314355	1.75	0.55961579	2.25	0.81093022	2.75	1.01160091
1.26	0.23111172	1.76	0.56531381	2.26	0.81536481	2.76	1.01523068
1.27	0.23901690	1.77	0.57097955	2.27	0.81977983	2.77	1.01884732
1.28	0.24686008	1.78	0.57661336	2.28	0.82417544	2.78	1.02245093
1.29	0.25464222	1.79	0.58221562	2.29	0.82855182	2.79	1.02604160
1.30	0.26236426	1.80	0.58778666	2.30	0.83290912	2.80	1.02961942
1.31	0.27002714	1.81	0.59332685	2.31	0.83724752	2.81	1.03318448
1.32	0.27763174	1.82	0.59883650	2.32	0.84156719	2.82	1.03673688
1.33	0.28517894	1.83	0.60431597	2.33	0.84586827	2.83	1.04027671
1.34	0.29266961	1.84	0.60976557	2.34	0.85015093	2.84	1.04380405
1.35	0.30010459	1.85	0.61518564	2.35	0.85441533	2.85	1.04731899
1.36	0.30748470	1.86	0.62057649	2.36	0.85866162	2.86	1.05082162
1.37	0.31481074	1.87	0.62593843	2.37	0.86288996	2.87	1.05431203
1.38	0.32208350	1.88	0.63127178	2.38	0.86710049	2.88	1.05779029
1.39	0.32930375	1.89	0.63657683	2.39	0.87129337	2.89	1.06125650
1.40	0.33647224	1.90	0.64185389	2.40	0.87546874	2.90	1.06471074
1.41	0.34358970	1.91	0.64710324	2.41	0.87962675	2.91	1.06815308
1.42	0.35065687	1.92	0.65232519	2.42	0.88376754	2.92	1.07158362
1.43	0.35767444	1.93	0.65752000	2.43	0.88789126	2.93	1.07500242
1.44	0.36464311	1.94	0.66268797	2.44	0.89199804	2.94	1.07840958
1.45	0.37156356	1.95	0.66782937	2.45	0.89608802	2.95	1.08180517
1.46	0.37843644	1.96	0.67294447	2.46	0.90016135	2.96	1.08518927
1.47	0.38526240	1.97	0.67803354	2.47	0.90421815	2.97	1.08856195
1.48	0.39204209	1.98	0.68309684	2.48	0.90825856	2.98	1.09192330
1.49	0.39877612	1.99	0.68813464	2.49	0.91228271	2.99	1.09527339
1.50	0.40546511	2.00	0.69314718	2.50	0.91629073	3.00	1.09861229